

## EFEITO DA MASTITE SOBRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EM OVELHAS DA RAÇA BERGAMÁCIA

Melissa Hartman<sup>1,\*</sup>  
Roberto Ximenes Bolsanello<sup>1</sup>  
Paulo Francisco Domingues<sup>1</sup>  
Amilton Souza de Mello Júnior<sup>2</sup>  
Hélio Langoni<sup>1</sup>

### RESUMO

Mastite é o processo inflamatório da glândula mamária, principalmente de origem infecciosa, caracterizada por alterações físico-químicas e microbiológicas do leite e patológicas do tecido glandular mamário. No presente estudo foram analisadas amostras de leite (n=241) de ovelhas da raça Bergamácia, durante oito semanas de lactação, com intuito de verificar o efeito da mastite subclínica avaliada pelo *California Mastitis Test* (CMT) e cultivo microbiológico, na contagem de células somáticas (CCS), procedida em aparelho eletrônico. Amostras de leite provenientes de glândulas mamárias sadias revelaram valores com média correspondente a 36.285 células/ mL e amostras de leite reativas ao CMT, representado por +, 2+ ou 3+, de acordo com o grau de inflamação, valores médios equivalentes a 70.600 células/ mL, 288.714 células/ mL e 653.285 células/ mL, respectivamente. Verificou-se ainda que independente do escore de inflamação, amostras de leite positivas ao CMT exibiram valores na média de 267.579 células/ mL na ausência de microrganismos e 489.400 células/ mL quando associadas ao isolamento microbiano, ou seja, nas condições de infecção intramamária. Os microrganismos isolados foram *Staphylococcus* spp. (59,46%), *Streptococcus* spp. (16,22%), *Bacillus* spp. (16,22%), *Corynebacterium* spp. (5,40%) e *Serratia* spp. (2,7%). Através dos resultados do CMT e cultivo bacteriano, foi observado efeito significativo (P<0,0001) da inflamação e infecção intramamária na CCS. Sendo assim, pôde-se concluir que o aumento de células somáticas no leite esteve diretamente relacionado aos resultados obtidos no CMT, bem como com a presença de microrganismos, ressaltando-se a importância destas análises como métodos complementares entre si no diagnóstico de mastite no rebanho ovino.

**Palavras-chave:** mastite subclínica, leite, ovelhas, microrganismos, células somáticas.

### THE MASTITIS EFFECT ON SOMATIC CELLS COUNTING (SCC) IN BERGAMACIA BREED EWES.

#### ABSTRACT

Mastitis is the inflammation of the mammary gland, mainly of infectious origin, characterized for physical-chemical and microbiological alterations of the milk and pathological of mammary gland tissue. In this study milk samples (n=241) of Bergamacia breed ewes were analyzed, during eight weeks of lactation, to see subclinical mastitis response through *California Mastitis Test* (CMT) and microbiological culture, in the somatic cells counting (SCC) proceeded in electronic equipment. Milk samples obtained of healthy mammary glands showed average values corresponding to 36,285 cells/mL and milk samples reactive to CMT represented by +, 2+, or 3+, according to inflammation degree, average values equivalent to 70,600 cells/mL, 288,714 cells/mL, and 653,285 cells/mL, respectively. Regardless to inflammation score, positive response to CMT milk samples showed average values at about 267,579 cells/mL in microorganisms absence and 489,400 cells/mL when associated to microbial isolation, i.e., in mammary infection conditions. The microorganisms isolated were *Staphylococcus* spp. (59.46%) *Streptococcus* spp. (16.22%), *Bacillus* spp. (16.22%),

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisas em Mastites – NUPEMAS – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu – SP.

<sup>2</sup> University of Nebraska, Department of Animal Science, Lincoln – NE, USA, 68583-0908.

\* Universidade Estadual Paulista – UNESP. Distrito de Rubião Jr. s/n. – Botucatu – SP. Tel.: 14-3811-6270. Fax.: 14-3811-6075. E-mail: [me\\_hartman@hotmail.com](mailto:me_hartman@hotmail.com)

*Corynebacterium* spp. (5.40%), and *Serratia* spp. (2.7%). Through CMT results and bacterial culture a significative effect ( $P < 0.0001$ ) of inflammation and mammary infection in SCC was observed. Therefore, it can conclude that the increase of milk somatic cells was related with the results of the CMT as well as with the presence of isolated microorganisms that reinforce the importance of these tests as complementary methods in the diagnosis of mastitis in flock ewes.

**Key words:** subclinical mastitis, milk, ewes, microorganisms, somatic cells.

## EFEECTO DE LA MASTITIS EN LA CONTAGEN DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN OVEJAS DE LA RAZA BERGAMÁCIA

### RESUMEN

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria de orígenes infecciosa y se caracteriza por alteraciones físico- químicas y microbiológicas de la leche y patológicas del tejido glandular de la mama. En el presente estudio fueron analizadas muestras de le leche ( $n = 241$ ) de ovejas de la raza Bergamácia, durante 8 semanas de lactação, con el fin de verificar el efecto de la mastitis subclínica a través del cultivo microbiológico, contage electrónica de las células somáticas (CCS), y por *California Mastitis Test*. Las muestras de leche provenientes de glándulas mamarias sanas, revelan valores en media correspondiente a 36.285 células /mL y muestras de leche reactivas al CMT representadas por +, 2+ o 3+, de acuerdo al grado de inflamación, tienen sus valores medios equivalentes a 70.600 células/ mL, 288714 células/ mL y 653.285 células/ ml respectivamente. Se observo que independientemente del nivel de inflamación, muestras de leche positivas al CMT mostraran valores en media de 267.579 células/ mL en la falta de microorganismos y 489.400 células/ mL cuando existen aislamiento microbiano, o sea, en condiciones de infección intra mamaria. Los microorganismos aislados fueron *Staphylococcus* spp. (59,46%), *Streptococcus* spp. (16,22%), *Bacillus* spp (16,22%), *Corynebacterium* spp. (5,40%) e *Serratia* spp. (2,7%). Por los resultados del CMT y del cultivo bacteriano hubo efecto significativo ( $P < 0,0001$ ) de inflamación e infección intra mamaria en la CCS. Siendo así, podemos concluir que el aumento de células somáticas en la leche, esta directamente relacionado la presencia de microorganismos, resaltando la importancia en el diagnostico de la mastitis del rebaño ovino.

**Palabras-clave:** mastitis subclínica, leche, ovejas, microorganismos, células somáticas.

### INTRODUÇÃO

Mastite é a inflamação da glândula mamária conseqüente, principalmente, a processos infecciosos. Caracteriza-se por alterações físico-químicas e bacteriológicas do leite e patológicas do tecido glandular mamário. É considerada a principal afecção que acomete rebanhos leiteiros, com significativa importância econômica, pois promove depreciação do valor nutritivo do leite e diminuição no rendimento de subprodutos, além de perdas relacionadas à sanidade do animal e impacto negativo à saúde pública, pela veiculação de patógenos causadores de infecções e toxinfecções alimentares consideradas zoonoses, e resíduos de antimicrobianos no leite (LANGONI et al., 2004). A mastite subclínica tem sido considerada a forma mais preocupante, pois se caracteriza pela ausência de sinais clínicos, o que dificulta a sua detecção e conseqüente intervenção terapêutica (FERREIRA et al., 1999), sendo assim, pode permanecer silenciosamente no rebanho, sem alterações evidentes do úbere e da secreção láctea, porém, com efeitos significativos tanto na produção como na qualidade do leite (RADOSTITS et al., 2002).

O leite é composto por células somáticas que constituem diferentes tipos leucocitários e pequena porcentagem de células epiteliais provenientes da esfoliação dos ácinos galactóforos do úbere, cisterna mamária e cisterna do teto (GALIERO e MORENA, 2000). Segundo Menzies e Ramanoon (2001), o leite de ovelha em condições fisiológicas é composto por 50 a 70% de macrófagos, 15 a 40% de leucócitos polimorfonucleares, 6 a 14% de linfócitos, e menos de 5% por células epiteliais. Bergonier et al. (2003) observaram 45 a 85% de macrófagos, 10 a 35% de leucócitos polimorfonucleares, 10 a 17% de linfócitos e menos de 2 a 3% de células epiteliais em amostras de leite procedentes de ovelhas sadias. Gomes et al. (2006) verificaram maior prevalência de leucócitos mononucleares, com valor

mediano de  $0,94 \times 10^6$  comparado aos leucócitos polimorfonucleares, com mediana de  $0,63 \times 10^6$  células/ mL de leite proveniente de ovelhas saudáveis. Já no início da infecção, verifica-se predomínio de neutrófilos no tecido mamário e secreção láctea, correspondendo a 90% ou mais do total de leucócitos (SORDILLO et al., 1989). Moroni e Cuccuru (2001) constataram 31,1 a 52,6% e 65,9 a 77,6% de neutrófilos em leite de ovelhas sadias e com infecção intramamária, respectivamente.

Dentre os testes indicadores da prevalência da mastite subclínica no rebanho, que avaliam a porcentagem de células somáticas presentes no leite, destacam-se o *Califórnia Mastitis Test* (CMT), que estima a contagem de células somáticas pela viscosidade e alteração de cor do indicador utilizado no teste, e a Contagem de Células Somáticas (CCS), usualmente procedida em aparelho eletrônico. O aumento da CCS é considerado a principal característica para a determinação do diagnóstico de mastite subclínica (PERSONN et al. 1992).

A literatura ainda é escassa principalmente no que se refere aos limites estabelecidos quanto ao número de células somáticas presentes fisiologicamente e em condições de mastite no leite de ovelhas. Devido a fatores não patológicos, como estágio e número de lactação, período do dia e manejo de ordenha, as amostras de leite de glândulas mamárias sadias durante a lactação apresentam variação de 100.000 a 250.000 células/ mL (PAAPE et al., 2001). Estudos têm revelado CCS de até 1.600.000 células/ mL de leite em ovelhas híginas. Há a citação de contagem celular, em glândulas mamárias normais, no valor equivalente a 250.000 células/ mL (MENZIES, 2000; PENGOV, 2001). Barbosa et al. (2004), pela contagem eletrônica de células somáticas em leite de ovelhas da raça Santa Inês, observaram mediana de 114.500 células/ mL em amostras de leite negativas ao CMT. Gomes et al. (2006) obtiveram valores medianos de CCS eletrônica e microscópica de  $0,11 \times 10^6$  e  $0,16 \times 10^6$  células/ mL de leite em ovelhas sadias, respectivamente. Nos casos de isolamento microbiano, o valor obtido foi de 778.000 células/ mL. Clements et al. (2003) sugerem para determinação de amostras positivas ao cultivo microbiano o uso do CMT 3+ ou CCS de 1.200.000 células/ mL. Há divergências quanto ao limite de CCS para realização de cultivo microbiano. O valor mais comumente aceito é de 1.000.000 células/ mL, porém, consideram-se desde baixas (100.000 células/ mL) a altas (1.660.000 células/ mL) contagens (MENZIES e RAMANOON, 2001). Nunes et al. (2007) relataram valores médios e desvios-padrões de 732.061 (+/- 1.436.400) e 2.713.727 (+/- 2.811,892) células/ mL de leite procedente de ovelhas sadias e com infecção intramamária, respectivamente. Estudo a partir de citometria de fluxo e técnicas de fluorescência assinala contagens entre 3.000 a 100.000.000 células/ mL de leite, estabelecendo-se em 150.000 células/ mL, para glândulas mamárias normais e nas infecções subclínicas em 14.000.000 células/ mL de leite (MCFARLAND et al., 2000).

No presente estudo, a avaliação dos resultados do CMT associada às análises microbiológicas pelo cultivo bacteriológico em amostras de leite de ovelhas, objetivou averiguar o impacto da inflamação e infecção intramamária na contagem de células somáticas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ANIMAIS E PROPRIEDADE

Foram estudadas 241 amostras de leite provenientes de ovelhas da raça Bergamácia, pertencentes à Fazenda Edgárdia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, município de Botucatu, SP, durante o período de lactação correspondente a oito semanas, entre os meses de agosto a outubro de 2005.

### PROCEDIMENTOS CITOLÓGICOS

Inicialmente as ovelhas foram submetidas ao *Califórnia Mastitis Test* (CMT) para avaliação do grau de inflamação da glândula mamária, que consiste na ejeção de aproximadamente 2 mL de leite, após descarte dos primeiros jatos, em placa no formato raquete, com receptáculos individuais para cada teto, e acrescentados 2 mL do reagente CMT, procedendo-se suaves movimentos circulares para subsequente homogeneização e interpretação da reação segundo Schalm e Noorlander (1957). Os resultados foram considerados negativos (-), fracamente positivos (+), positivos (2+) e fortemente positivos (3+), de acordo com a viscosidade e alteração da coloração do indicador utilizado no teste.

Posteriormente, coletaram-se aproximadamente 20 mL de leite de amostras compostas das duas glândulas mamárias, individual para cada ovelha, tanto de úberes negativos como positivos ao CMT, em frascos plásticos contendo conservante bronopol, e encaminhados ao Núcleo de Pesquisa em

Mastites (NUPEMAS), do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ – UNESP, Botucatu, para realização da contagem de células somáticas em aparelho eletrônico, Somacount 300 (*Bentley Instruments*<sup>®</sup>).

### PROCEDIMENTOS MICROBIOLÓGICOS

Foram realizados cultivos de amostras de leite que se apresentaram positivas ao CMT, em ao menos uma colheita. Com auxílio de alça de platina e bico de Bünsen, semeou-se 0,1 mL de leite em Placas de Petri contendo os meios ágar-sangue ovino a 5% e de ágar MacConkey. De forma usual, as placas permaneceram incubadas à temperatura de 37°C, e procedendo as leituras após 24, 48 e 72 horas, com observação do desenvolvimento microbiano. Os microrganismos foram identificados de acordo com as características macroscópicas das colônias, morfotintoriais pela coloração de Gram e por prova bioquímica de acordo com Carter e Cole Júnior (1990).

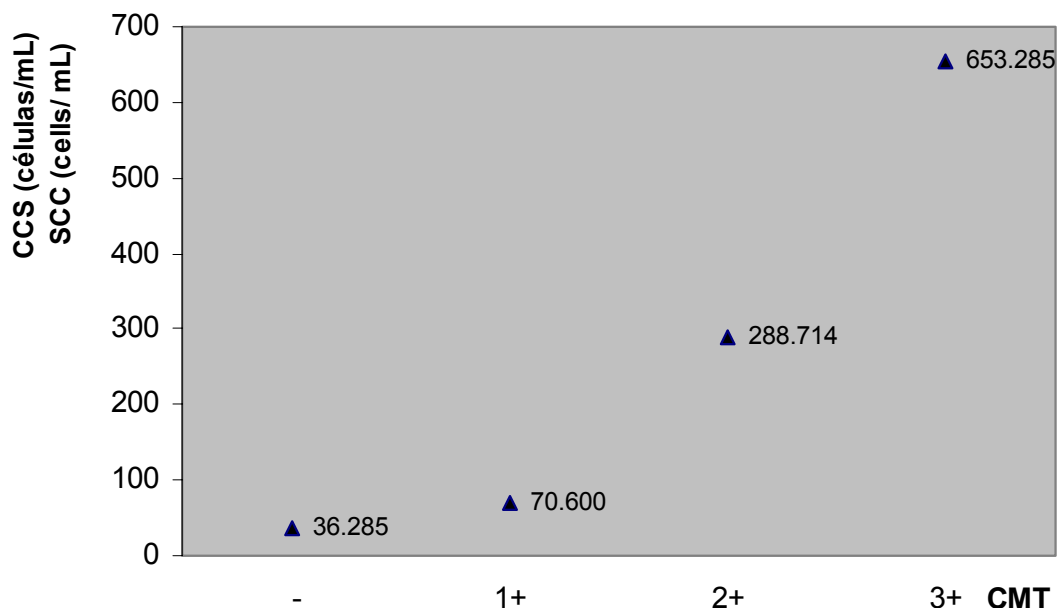
### ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a avaliação dos dados de contagem de células somáticas foi utilizado o procedimento GLIMMIX do programa SAS (SAS, 2002) pela análise de variância (ANOVA) em que médias foram consideradas significativas quando  $P \leq 0.05$ . Utilizou-se o modelo experimental  $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_k + (\alpha\beta)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$  onde:  $Y_{ijk}$  = valor de CCS obtido sobre influência ou não da presença de microrganismos  $k$  e sobre influência ou não de mastite  $i$ ,  $\mu$  = média total,  $\alpha_i$  = valor adicional determinado pela presença ou não de mastite  $i$ ,  $\beta_k$  = valor adicional determinado pela influência ou não de microrganismos  $k$ ,  $(\alpha\beta)_{ik}$  = valor adicional da interação mastite  $i$  x microrganismo  $k$  e  $\varepsilon_{ijk}$  = erro total do experimento. Considerou-se presença de mastite em úberes com ao menos um teto com reação +1 ao CMT. De acordo com o *design* de tratamento, o padrão de covariância que melhor se encaixou no modelo experimental foi o de primeira ordem ante-dependente (ANTE 1) por apresentar menores valores de critérios de informação Akaike e Bayesian (AIC e BIC respectivamente). Utilizou-se também o denominador de aproximação de grau de liberdade Kenward-Roger. Quando significativas, as médias foram separadas usando as funções LSMEANS, DIFF e LINES. Para a interação, as médias foram separadas usando as funções LSMEANS, SLICE e SLICEDIFF.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da CCS eletrônica, amostras de leite provenientes de glândulas mamárias sadias revelaram valores entre 1.000 e 816.000 células/ mL, com média correspondente a 36.285 células/ mL. Pôde-se verificar ainda, de acordo com escore de inflamação, representado ao CMT por +, 2+ e 3+, uma média equivalente a 70.600 células/ mL, 288.714 células/ mL e 653.285 células/ mL, respectivamente (Figura 1). Os valores obtidos no presente estudo referente ao número máximo de 816.000 células/ mL de leite nas condições de saúde da glândula mamária está de acordo com o limite de normalidade de  $1 \times 10^6$  células/ mL, estabelecido por El-Masannat (1987) pela contagem eletrônica.

Das amostras de leite positivas ao cultivo microbiológico, em apenas 1 (4%) observou-se CCS acima de  $1 \times 10^6$  células/ mL, com escore 3+ ao CMT, em que o microrganismo isolado foi *Staphylococcus* spp., obtido com maior frequência (59,46%) nas amostras de leite analisadas. Foi observado também o isolamento de *Streptococcus* spp. (16,22%), *Bacillus* spp. (16,22%), *Corynebacterium* spp. (5,40%) e *Serratia* spp. (2,7%). Ariznabarreta et al. (2002) em estudo entre associação do isolamento bacteriano e CCS em leite ovino, verificaram prevalência de *Staphylococcus* spp (78,9%), e maior número de células somáticas na presença dos patógenos “maiores”, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mannheimia haemolytica*. Pengov (2001) relata que algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos, apesar de serem considerados patógenos “menores” ou comensais, também podem ocasionar alta CCS. Lafi (2006) verificou que dentre as amostras negativas ao cultivo microbiológico, 91% apresentaram contagem de células somáticas inferiores a  $1 \times 10^6$  células/ mL e 80%, com reações 2 + ao CMT. Das amostras com desenvolvimento microbiano, apenas 9% apresentaram contagem de células somáticas inferior a  $1 \times 10^6$  células/ mL, e nenhuma, com reação inferior a 3 + ao CMT. Billon e Decremoux, (1998) consideraram significativa a correlação entre CMT e CCS. O CMT, apesar de ser um teste subjetivo, pode detectar casos de infecção subclínica quando não se é possível mensurar a contagem celular.



**FIGURA 1.** Contagem de células somáticas (CCS) eletrônica, de acordo com a média encontrada em amostras de leite provenientes de glândulas mamárias saudáveis e inflamadas nos escores 1+, 2+ e 3+, de ovelhas da raça Bergamácia, durante o período de lactação correspondente a oito semanas. Botucatu, 2007.

**FIGURE 1.** Electronic somatic cell count (SCC), according with the average of the milk samples from health and inflamated mammary glands in scores 1+, 2+ e 3+, of Bergamacia ewes, during the period of lactation corresponding to eight weeks. Botucatu, 2007.

A partir dos resultados do CMT e cultivo microbiológico, avaliou-se a contagem de células somáticas, como observado na Tabela 1. Amostras de leite que apresentaram reação ao CMT, independente do grau de inflamação, exibiram valores entre 2.000 e 3.368.000 células/ mL, com médias de 267.579 células/ mL na ausência de microrganismos e 489.400 células/ mL nas condições de infecção intramamária. Berthelot et al. (2006) demonstraram diferença significativa ( $P < 0,001$ ) entre log CCS de amostras de leite de ovelhas negativas e positivas ao cultivo microbiológico, nos valores de 2,19 (+/- 0,7) e 3,02 (+/- 0,8), respectivamente. No presente estudo, pôde-se observar pelos resultados do CMT e cultivo microbiológico, efeito significativo ( $P < 0,0001$ ) na CCS. A inflamação da glândula mamária, avaliada pelo CMT, associada à presença de microrganismos, ou seja, nas condições de infecção intramamária, revela um maior número de células somáticas.

**TABELA 1.** Contagem de células somáticas avaliadas de acordo com os resultados do CMT, independentemente do grau de inflamação da glândula mamária, e cultivo microbiológico, em amostras de leite de ovelhas da raça Bergamácia, durante o período de estudo correspondente a oito semanas de lactação. Botucatu, 2007.

**TABLE 1.** Somatic cell count evaluated according to the results of CMT, independently of the grade of the mammary gland inflammation, and microbiological culture, in Bergamacia ewe milk samples, during the period of study corresponding to eight weeks of lactation. Botucatu, 2007.

CCS (células/ mL) SCC (cells/ mL)	Microrganismos (Microorganisms)	
	Ausente (Absent)	Presente (Present)
<b>CMT</b>		
Positivo (Positive)	267.579 <sup>A*b**</sup>	489.400 <sup>Bb</sup>
Negativo (Negative)	36.285 <sup>Aa</sup>	77.760 <sup>Ba</sup>

\* Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa na contagem de células somáticas em relação à presença ou não de microrganismos.

\*\* Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa na contagem de células somáticas em relação à CMT positivo ou negativo.

## CONCLUSÕES

Pôde-se concluir pelo presente estudo que houve efeito significativo dos resultados considerados positivos ao CMT e da presença de microrganismos, no aumento da CCS, ressaltando-se a importância destas análises como métodos complementares entre si no diagnóstico de mastite no rebanho ovino.

## REFERÊNCIAS

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

BARBOSA, D.A.; BLAGITZ, M.G; KITAMURA, S.S.; GOMES, V.; BASTOS, C.R ; BENITES, N.R.; VERÍSSIMO, C.J.; MADUREIRA, K.M.; LIBERA, DELLA, PAIVA, A.M.M. Comparação entre a contagem de células somáticas em leite de ovinos empregando técnicas direta e indireta. **Arq. Inst. Biológico**, v.71, p.384-387, 2004.

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

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

BILLON, P.; DECREMOUX, R. Mastitis of dairy ewes: etiology, detection, and control. In: GREAT LAKES DAIRY SHEEP SYMPOSIUM, 4., 1998, Spooner. **Proceedings...** Spooner, 1998.

Hartman, M. *et al.* Efeito da mastite sobre a contagem de células somáticas (CCS) em ovelhas da raça Bergamácia. **Vet. e Zootec.**, p.213-220, v.16, n.1, mar., 2009.

CARTER, G. R.; COLE JUNIOR, J.R. **Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology**. 5.ed. New York: Academic Press, 1990. 620p.

CLEMENTS, A.C.A.; TAYLOR, D.J.; FITZPATRICK, J.L. Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. **J. Dairy Res.**, v.70, p.139-148, 2003.

EL-MASANNAT, E.T.S. **A study of ovine mastitis with special reference to mastitis caused by *Pasteurella haemolytica***. 1987. Tese (PhD), London.

FERREIRA, J.L.; LINS, J.L.F.H.A.; AGUIAR FILHO, J.L.C.; CRISPRIM, L.S. Perfil de sensibilidade de microorganismos causadores de mastite bovina em rebanhos leiteiros no estado do Piauí. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE, 3., Botucatu. **Anais...** Botucatu, 1999. p.164.

GALIERO, G.; MORENA, C. The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. **Bubalus bubalis**, n.4, p.26-27, 2000.

GOMES, V.; BLAGITZ, M.G.; DELLALIBERA, A.M.M.P.; XAVIER, A.L.A.; PONTE, G.C.T.G.; MADUREIRA, K.M. Cytology of milk of Lacaune sheep breed in Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Cienc. Vet.**, v.4, Supl.1, p.12, 2006.

LAFI, S.Q. Use of somatic cell counts and california mastitis tests results from udder halves milk samples to detect subclinical intramammary infection in Awassi sheep. **Small Ruminant Res.**, v.62, p.83-86, 2006.

LANGONI, H.; ARAUJO, W.N.; VICTORIA, C. Contribuição ao estudo das mastites ovinas: aspectos microbiológicos. **Napgama**, v.7, p.3-6, 2004.

MCFARLAND, M.; HOLCOMBE, D.; KING, D.; ALLEN, J.; REDELMAN, D. **Quantification of subclinical mastitis in sheep**. Reno: The University Nevada, 2000. Disponível em: <<http://www.ag.unr.edu/AB/Extension/Cattleman/Cattleman2000/16.htm>>. Acesso em: 14 mar. 2007.

MENZIES, P.I. Mastitis of sheep: overview of recent literature. In: GREAT LAKES DAIRY SHEEP SYMPOSIUM, 6., 2000, Guelph. **Proceedings...**Guelph, 2000. Disponível em <[http://www.uwex.edu/ces/animalscience/sheep/Publications\\_and\\_Proceedings/Pdf/Dairy/Healph%20and%20Nutrition/Mastitis%20of%20sheep.pdf](http://www.uwex.edu/ces/animalscience/sheep/Publications_and_Proceedings/Pdf/Dairy/Healph%20and%20Nutrition/Mastitis%20of%20sheep.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2007.

MENZIES, P.I.; RAMANOON, S.Z. Mastitis of sheep and goats. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.17, p.333-358, 2001.

MORONI, P.; CUCCURU, C. Relationship between mammary gland infections and some milk immune parameters in Sardinian breed ewes. **Small Ruminant Res.**, v.41, p.1-7, 2001.

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. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico de mastite ovina. **Biológico**, v.69, p.113-198, 2007.

PAAPE, M.J.; POUTREL B.; CONTRERAS, A.; MARCO, J.C.; CAPUCO, A.V. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. **J. Dairy Sci.**, v.84, p.237-244, 2001.

PENGOV, A. The Role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and Associated Somatic Cell Counts in the ovine mammary gland. **J. Dairy Sci.**, v.84, p.572-574, 2001.

PERSONN, K.; SANDGREN, C.H.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Studies of endotoxin-induced neutrophil migration in bovine teat tissues using indium –III labeled neutrophils and biopsies. **Am. J. Vet. Res.**, v.53, p.2235-2240, 1992.

RADOSTITS, O.M. et al. **Clínica veterinária**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap.15, p.541-629.

SAS. **SAS/STAT User's Guide. Versão 9.1**. Cary: SAS Institute, 2002.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D.D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.130, p.199-204, 1957.

SORDILLO, L.M.; NICKERSON, S.C.; AKERS, R.M. Pathology of *Staphylococcus aureus* mastitis during lactogenesis relationship with bovine mammary structure and function. **J. Dairy Sci.**, v.72, p.228-240, 1989.

**Recebido em: 23/01/2008**

**Aceito em: 08/08/2008**