

ARTIGO



AUTORES:

Maiara Garcia Blagitz¹

Camila Freitas Batista¹

Giovanna Rocha Nunes¹

Fernando Nogueira de Souza¹

Viviani Gomes¹

Milton Ricardo Azedo¹

Maria Cláudia Araripe
 Sucupira¹

Alice Maria Melville
 Paiva Della Libera¹

¹ FMVZ/USP, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, 05508-270 - Cidade Universitária, São Paulo/SP - Brasil

Recebido: 03/02/2009

Aprovado: 01/08/2010

AUTOR CORRESPONDENTE:

Maiara Garcia Blagitz
 E-mail: magblagitz@usp.br

PALAVRAS-CHAVE:

Mastite,
 Composição Láctea,
 Involução,
 Lactação,
 Ovinos.

KEY WORDS:

Mastitis,
 Milk Composition,
 Involution,
 Lactation,
 Sheep.

Características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção mamária de ovelhas Santa Inês no período lactante e pós-desmame

The physico-chemical, cellular and microbiological characteristics of mammary gland secretions of Santa Inês ewes during lactation and after weaning

Resumo: As alterações na composição da secreção láctea que ocorrem durante os estágios iniciais da involução indicam rápidas mudanças estruturais na glândula e nos mecanismos envolvidos na secreção e síntese láctea. Desta forma, o presente estudo buscou elucidar as características físico-químicas e celulares da secreção láctea de ovelhas da raça Santa Inês durante o período inicial de involução mamária, avaliando a concentração hidrogeniônica, a contagem de células somáticas (CCS) e os teores de lactose, proteína, gordura e sólidos totais, além do exame bacteriológico. No período pós-desmame foram observadas alterações significativas na composição da secreção láctea, como aumento no pH e no teor de proteína, redução nos teores de lactose, sólidos totais e gordura, além de uma tendência no aumento da CCS. Nos animais positivos no exame bacteriológico foram encontradas também alterações semelhantes às que ocorrem na involução ativa, excetuando-se a gordura. Tanto no final do período lactante quanto no período de involução ativa foi isolado exclusivamente o gênero *Staphylococcus*.

Abstract: Alterations in mammary gland secretions during the beginning of involution point to structural changes and alterations in the mechanisms involved in milk synthesis and secretion. The aim of this trial was to evaluate the physicochemical and cellular characteristic of the mammary gland secretions of Santa Ines ewes during the lactation and involution period by way of assessment of hydrogen ion concentration, somatic cell count and concentration of lactose, protein, fat and total solids, in addition to bacteriological screening. Higher protein and hydrogen ion concentrations, lower concentrations of lactose, fat and total solids, were observed, in addition to a tendency for somatic cell counts to be higher. In positive bacteriological milk samples, a similar change was found, with the exception of the findings for fat. Coagulase-negative staphylococci was the only bacteria isolated for both periods.

1 Introdução

O desmame e, conseqüentemente, a interrupção da remoção do leite provocam aumento da pressão no interior dos alvéolos, resultando na inibição da produção láctea pelas células alveolares, levando à regressão e início do processo denominado involução da glândula mamária (WHEELLOCK et al., 1967; AKERS et al., 1990; MARTI et al., 1997).

A regressão da mama é um processo fisiológico, não inflamatório, que destrói o tecido secretor da mama pelo processo denominado apoptose, considerado evento fisiológico da glândula mamária de ruminantes (BRYSON; HURLEY, 2002). As alterações na composição da secreção mamária, que ocorrem durante os estágios iniciais da involução, indicam rápidas mudanças estruturais na glândula e nos mecanismos envolvidos na secreção e síntese láctea (HURLEY, 1989).

Após o desmame, o volume máximo de fluido mamário ocorre entre o segundo e o terceiro dia (NOBLE; HURLEY, 1999), seguido por decréscimo substancial do volume destes fluidos na glândula entre o terceiro e sétimo dia, que continua a reduzir por um período mínimo de 16 dias e máximo de 30 dias (SMITH; TODHUNTER, 1982; HURLEY, 1999; NOBLE; HURLEY, 1999). Estas mudanças influenciam na resposta imune local (LEE; OUTTERIDGE, 1981; TATARCZUCH; PHILIP; LEE, 1997; TATARCZUCH et al., 2000), notadamente pela redução da função fagocítica neste período (TATARCZUCH et al., 2002). A variação na susceptibilidade a infecções intramamárias também pode ser influenciada pela habilidade da secreção mamária de inibir o crescimento bacteriano (DUTT; EBERHART; WILSON, 1986) e, portanto, a ocorrência de novas infecções (SMITH; TODHUNTER, 1982).

As mudanças na composição do leite podem ser utilizadas no diagnóstico da mastite, ou até mesmo na seleção de animais para subsequente avaliação bacteriológica. A intensidade destas alterações está subordinada à patogenicidade do agente etiológico envolvido e da área tecidual afetada (PYÖRÄLLÄ, 2003).

São escassos os dados relacionados à composição da secreção láctea de ovinos no período seco, em especial de raças não especializadas na produção leiteira, como, no caso, a raça Santa Inês. O presente estudo teve como objetivo avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e celulares do leite de ovelhas da raça Santa Inês durante o período ini-

cial da involução mamária.

2 Material e Métodos

Foram selecionadas de forma casualizada 12 ovelhas da raça Santa Inês, as quais tiveram as amostras de leite coletadas em dois momentos. O primeiro momento foi no período lactante, com seu cordeiro em amamentação (12 dias antes do desmame) e o segundo foi após o desmame abrupto dos cordeiros (sete dias após o desmame).

As amostras de leite, coletadas assepticamente, foram submetidas ao exame bacteriológico, determinação da concentração hidrogeniônica, da contagem automática de células somáticas (CCS), dos teores de lactose, proteína, gordura e sólidos totais. As amostras destinadas a CCS e ao teor de lactose, proteína, gordura e sólidos totais foram destinadas ao Laboratório de Referência credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, onde se procedeu à leitura em contador eletrônico infravermelho.

A determinação da concentração hidrogeniônica - pH foi realizada em um pH-metro modelo B474, da Micronal®, calibrado em temperatura ambiente, com soluções de pH 7,0 e 4,0.

No exame bacteriológico as amostras de leite foram semeadas em placa de Petri contendo ágar-sangue de ovino desfibrinado (5%) e incubadas a 37 °C por 24 e 48 h, para posterior identificação dos microrganismos, utilizando as provas bioquímicas e morfotintoriais descritas por Lennette et al. (1985), seguida da classificação conforme critérios estabelecidos por Krieg e Holt (1994).

Os dados foram analisados utilizando o programa estatístico Minitab 15 Statistical Software® (Minitab Inc., USA). O efeito do desmame e da presença bacteriana nas mamites sob a CCS, a concentração hidrogeniônica e os teores de proteína, lactose, gordura e sólidos totais foram avaliados utilizando a análise de variância (Anova) para a comparação das médias, seguido pelo teste de Turkey-Kramer, Barlett e Kolmogorov e Smirnov para comparações múltiplas.

3 Resultados e Discussão

A análise dos resultados das características físico-químicas e celulares da secreção láctea demonstrou significativa influência deste período sobre os parâmetros avaliados ($P < 0,05$). Os resultados da

concentração hidrogeniônica, CCS, lactose, proteína, gordura e sólidos totais nos dois distintos períodos, de acordo com a classificação dada pelo exame bacteriológico, encontram-se na Tabela 1.

No exame bacteriológico foram observadas, durante a lactação, que 50% (12 das 24 metades mamárias avaliadas) das amostras foram positivas, e no pós-desmame, 46% (11 das 24 metades mamárias avaliadas) das amostras foram positivas, tendo sido isolado apenas o gênero *Staphylococcus*. Encontrou-se também uma persistência do quadro infeccioso de 87,5%, sendo que dois tetos infectados durante a fase lactante obtiveram cura espontânea na fase pós-desmame e apenas um teto se infectou durante estes períodos, considerando-se o exame microbiológico como o teste de referência para o diagnóstico da infecção intramamária.

Tabela 1 Valores de pH, CCS*, lactose, proteína, gordura e sólidos nos distintos períodos, de acordo com a classificação dada pelo exame bacteriológico.

Grupo	Bacteriológico	pH	CCS*	Lactose	Proteína	Gordura	Sólidos
Ovelhas Lactantes	Negativo	6,76 ^b	173.500 ^{ab}	4,71 ^a	4,96 ^b	9,23 ^{ac}	17,05 ^a
	Positivo	6,81 ^b	635.500 ^{ab}	4,58 ^a	5,37 ^b	10,57 ^a	17,50 ^a
Ovelhas pós-desmame	Negativo	7,44 ^a	34.000 ^a	3,80 ^a	8,19 ^a	4,88 ^b	12,89 ^b
	Positivo	7,66 ^a	3.057.000 ^b	2,04 ^b	8,81 ^a	7,00 ^{bc}	9,34 ^b

*Contagem Automática de Células Somáticas.

4 Discussão

A fisiologia do período seco diverge bastante da do período lactacional (HURLEY, 1999). A transição do período lactante para o período seco se inicia após a interrupção da remoção láctea, resultando em alterações na composição da secreção mamária (HURLEY, 1989). A composição da secreção mamária é importante em termos da presença de fatores que conferem resistência à glândula mamária durante este período. Mudanças na composição podem refletir mudanças em funções celulares que ocasionam implicações na resistência da glândula mamária (HURLEY, 1989; TATARCZUCH; PHILIP; LEE, 1997; TATARCZUCH et al., 2000; TATARCZUCH et al., 2002).

Os achados do presente estudo revelaram aumento do pH no início do período seco, também relatado por Carrol (1961) e Birgel (2006) em vacas, resultante do relaxamento dos complexos juncionais entre as células (HURLEY, 1989), o que culminaria na infiltração de componentes alcalinos sanguíneos, também observado em casos de infecções intramamárias (SCHALM; CARROL; JAIN, 1971).

Os valores de pH para as glândulas mamárias positivas ao exame bacteriológico no período lactante foram superiores aos encontrados na literatura (6,51 a 6,71) para os animais com baixa CCS, mas similares àqueles descritos em animais infectados (6,63 a 6,93) (MULKALWAR et al., 1999; BIANCHI et al., 2004; ALBENZIO et al., 2005).

O rápido declínio durante os períodos iniciais da involução mamária (HURLEY, 1999), demonstrado por Smith, Wheelock e Dodd (1967), Hurley et al. (1987); Hurley (1989), Wheelock et al. (1967) e Birgel (2006), em vacas, também foi observado neste estudo. Isso ocorreu, provavelmente, devido à inibição da síntese pelas células alveolares. Nas metades mamárias positivas ao exame bacteriológico foi encontrada redução significativa dos teores de lactose, o que pode ser resultante da destruição parcial do tecido secretor, ou até mesmo da passagem para o fluido extracelular (PYÖRÄLLA, 2003). Os valores de lactose encontrados no período lactante são similares aos descritos em outros estudos em ovelhas sadias e infectadas (MULKALWAR et al., 1999; BIANCHI et al., 2004; ALBENZIO et al., 2004).

O aumento no teor de proteínas foi equivalente aos relatados por Hurley (1987; 1989) e Birgel (2006), em vacas. Destaca-se, neste período, o aumento da proteína total decorrente da maior concentração de proteínas plasmáticas, entre elas a lactoferrina, as imunoglobulinas e a albumina sérica, e ainda devido à reabsorção de água (HURLEY, 1989; 1999). Contrariamente, se observou redução da síntese de proteínas lácteas (HURLEY, 1989). Os valores de proteína total no período lactante encontrados neste estudo foram similares aos relatados por Mckusick et al. (2002) e Jaeggi et al. (2003), porém inferiores àqueles encontrados por Gonzalo et al. (1994) e Sevi et al. (2000). A infecção intramamária não interferiu nos teores de proteína, o que corrobora com achados reportados por Albenzio et al. (2005), havendo tendência de teores mais elevados nos animais infectados, como mencionado por Albenzio et al. (2004) e Bianchi et al. (2004).

A gordura apresentou redução no período pós-desmame, similar ao observado por Smith, Wheelock e Dodd (1967), Wheelock et al. (1967) e Hurley (1989), e diverge de Birgel (2006), em vacas, sendo ainda relatado uma incoerência de dados, já que ocorre redução da síntese pelas células alveolares (WHELOCK et al., 1967; MARTI et al., 1997; AKERS et al., 1990), enquanto há reabsorção de água da secreção (SMITH; TODHUNTER, 1982).

Os valores de gordura encontrados no período lactante são maiores que os observados na literatura (GONZALO et al., 1994; SEVI et al., 2000; BIANCHI et al., 2004; ALBENZIO et al., 2004), o que pode estar associado ao estágio lactacional, ao intervalo entre ordenhas e à fração coletada (GONZALO et al., 1994; MCKUSICK et al., 2002). Estes valores, portanto, apresentam-se similares aos descritos por Mckusick et al. (2002), em intervalo entre ordenhas de 4 horas, e inferiores aos outros intervalos entre ordenhas, de 8, 12, 16, 20 e 24 h, demonstrando que os teores de gordura na cisterna são inferiores ao alveolar. Além disso, a gordura láctea é considerada como o componente no leite de ruminantes que mais sofre variações (BARNICOAT et al., 1956).

A metodologia aplicada também pode influenciar a avaliação deste parâmetro, pois os aparelhos de determinação empregados são calibrados especificamente para bovinos, em virtude do menor diâmetro dos glóbulos de gordura do leite de ovinos (3,30 μm) e caprinos (3,49 μm) sobre o de bovinos (4,55 μm) (PARK et al., 2007). O teor de gordura não foi influenciado pela presença de infecções intramamárias, como relatado por Park et al. (2007), e discordando de Bianchi et al. (2004).

Os teores de sólidos totais no período pós-desmame apresentaram-se menores que no período lactante, o que discorda de Birgel (2006), apesar de descrito uma variação deste parâmetro no decorrer do processo de secagem de vacas, o que também refletiria nas modificações sofridas pelo teor de gordura na secreção (FUERTES et al., 1998; BIRGEL, 2006). No entanto, os valores encontrados foram semelhantes aos determinados por Fuertes et al. (1998). Não foi observada influência da presença bacteriana nos teores de sólidos totais, o que corrobora com Park et al. (2007) e diverge de Jaeggi et al. (2003).

No presente estudo foi observado aumento na CCS apenas nas metades mamárias positivas, no exame bacteriológico. A baixa CCS encontrada nos animais negativos, no período involutivo, pode ser consequência da interferência dos glóbulos de gordura na CCS automática, especialmente nos ovinos que apresentam maiores teores de gordura (GREEN, 1984).

Desta forma, devido ao emprego de aparelho para bovinos, sugere-se a utilização de fatores de correção ou o uso de calibrações específicas para ovinos. Neste período há migração de macrófagos para o tecido glandular que fagocita as células

alveolares degradadas, como também a gordura e a caseína (LEE; OUTERIDGE, 1981; SMITH; TODHUNTER, 1982), tornando o tipo celular predominante neste período (FTHENAKIS, 1996), além da migração de linfócitos e polimorfonucleares (SMITH; TODHUNTER, 1982).

A migração destas células (macrófagos e polimorfonucleares) tem finalidade de proteção imunológica e fagocitose de células degeneradas, gordura e caseína (PAAPE et al., 2003). No entanto, a gordura e a caseína modificam a morfologia dos fagócitos, interferindo na sua função fagocítica (PAAPE et al., 2003). No entanto, no presente estudo observou-se uma tendência, em ambos os períodos, de aumento na CCS nos animais considerados infectados.

Em todas as amostras positivas nas provas bacteriológicas isolaram-se *Staphylococcus* spp. coagulase-negativa (ECN), a qual é a principal causa dos quadros inaparentes, considerados subclínicos, em ovelhas (BERGONIER et al., 2003; CONTRERAS et al., 2007). As infecções por estes patógenos geralmente persistem, do período seco até a próxima lactação (POUTREL, 1984).

Todavia, os parâmetros avaliados podem ser influenciados por fatores como idade, estágio lactacional, produção, estação do ano, fração láctea coletada, infecções virais como maedi-visna, fatores nutricionais e variações entre animais e raças (BERGONIER et al., 2003), além da patogenicidade do agente etiológico envolvido, o qual determina a intensidade da resposta inflamatória, podendo refletir na avaliação dos testes analisados (GONZALO, ARIZNABARRETA; CARRIEDO, 2002; ZAFALON et al., 2005).

5 Conclusões

A involução da mama leva a alterações fisiológicas que ocasionam mudanças significativas na secreção mamária, muito semelhante àquelas observadas durante processos inflamatórios da mesma, como aumento do pH, no teor de proteínas e na CCS e redução do teor de lactose.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo apoio financeiro concedido.

Referências

- AKERS, R.M.; BEAL, W.E.; MCFADDEN, T.B.; CAPUCO, A.V. Morphometric analysis of involuting bovine mammary gland tissue after 21 or 42 days on non-suckling. *Journal of Animal Science*, v. 68, p. 3604-3613, 1990.
- ALBENZIO, M.; CAROPRESE, M.; SANTILLO, A. et al. Effects on somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese-making properties of ewe milk. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 533-542, 2004.
- _____. Proteolytic patterns and plasmin activity in ewe's affected by somatic cell count and stage of lactation. *Journal of Dairy Research*, v. 72, p. 86-92, 2005.
- BARNICOAT, C.R.; MURRAY, P.F.; ROBERTS, E.M.; WILSON, G.S. Milk secretion studies with New Zealand Romney ewes. *Journal of Agriculture Science*, v. 48, p. 9-35, 1956.
- BERGONIER, D.; CRÉMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFOUL, G.; BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, v. 34, p. 689-716, 2003.
- BIANCHI, L.; BOLLA, A.; BUDELLI, E.; CAROLI, A.; CASOLI, C.; PAUSELLI, M.; DURANTI, E. Effect of udder health status and lactation phase on characteristics of Sardinian ewe milk. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 2401-2408, 2004.
- BIRGEL, D.. *Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça holandesa*. 2006. 191f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – USP, São Paulo, 2006.
- BRYSON, J.M.; HURLEY, W.L. *Role of cell loss in mammary gland function*. 2002. Disponível em: <http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=151>. Acesso em: 27 out. 2009.
- CARROL, E.J. Whey proteins of drying-off secretions, mastitic milk, and colostrum separated by ion exchange cellulose. *Journal of Dairy Science*, v. 44, p. 2194-2211, 1961.
- CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.C.; MARCO, J.C.; PAAPE, M.J.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, v. 68, p. 145-153, 2007.
- DUTT, K.W.; EBERHART, R.J.; WILSON, R.A. In vitro growth of mastitis pathogens in mammary gland secretions of the dry and peripartum periods. *Journal of Dairy Science*, v. 69, n.9, p. 2408-2415, 1986.
- FTHENAKIS, G.C. Somatic cell counts in milk of Welsh-Mountain, Dorset-Horn and Chios ewes throughout lactation. *Small Ruminant Research*, v. 20, p. 155-162, 1996.
- FUERTES, J.A.; GONZALO, C.; CARRIEDO, J.A.; SANPRIMITIVO, F. Parameters of test day milk and milk components for dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 1300-1307, 1998.
- GONZALO, C.; CARRIEDO, J.A.; BARO, J.A.; SANPRIMITIVO, F. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat, and protein in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, v. 77, p. 1537-1542, 1994.
- GONZALO, C.; ARIZNABARRETA, A.; CARRIEDO, J.A. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, v. 85, p. 1460-1467, 2002.
- GREEN, T.J. Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in ewes. *Veterinary Record*, v. 114, p. 43, 1984.
- HURLEY, W.L. Mammary function during the nonlactating period: enzyme, lactose, protein concentration, and pH of mammary secretions. *Journal of Dairy Science*, v. 70, p. 20-28, 1987.
- _____. Symposium: Mammary Gland Function During Involution and the Declining Phase of Lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 72, p. 1637-1646, 1989.
- _____. Mammary gland involution and the dry period. *Lactation Biology*. n: *LACTATION Biology Course*. Champaign: University of Illinois, Department of Animal Sciences, 1999. Disponível em: <<http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308involution.html>>. Acesso em: 01 jul 2007.
- JAEGGI, J.J.; GOVINDASAMI-LUCEY, S.; BERGER, Y.M.; JOHNSON, M.E.; MCKUSICK, B.C.; THOMAS, D.L.; WENDORFF, W.L. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups somatic cells count. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 3082-3089, 2003.
- KRIEG, N.R.; HOLT, J.C. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
- LEE, C.S. ; OUTERIDGE, P.M. Leukocyte of sheep colostrum, milk and involution secretion, with particular reference to ultrastructure and lymphocyte subpopulations. *Journal of Dairy Research*, v. 48, p. 225-237, 1981.
- LENNETE, E.M.; BALLOWS, A.; HAVSLER Jr., W.J.; SHADOMY, H.J. *Manual of clinical microbiology*. 4th ed. Washington, DC: American Society of Microbiology, 1985.
- MARTI, A.; FENG, Z.; ALTERMAN, H.J.; JAGGI, R. Milk accumulation triggers apoptosis of the mammary epithelial cells. *European Journal of Cell Biology*, v. 73, p. 158-165, 1997.
- MCKUSICK, B.C.; THOMAS, D.L.; BERGER, Y.M.; MARNETT, P.G. Effect of milking interval on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, v. 85, p. 2197-2206, 2002.
- MULKALWAR, D.B.; PARKNI, C.P.; MANGLE, N.S.; KALOREY, D.R.; PATHAK, V.P. Effect of udder health on pH, lactose and acid citric levels in sheep milk. *Indian Veterinary Journal*, v. 76, p. 1088-1090, 1999.

- NOBLE, M.S.; HURLEY, W.H. Effects of secretion removal on bovine mammary gland function following an extended milk stasis. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 1723-1730, 1999.
- PAAPE, M.J.; BANNERMAN, D.D.; ZHAO, X.; LEE, J.W. The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk. *Veterinary Research*, v. 34, p. 597-627, 2003.
- PARK, Y.W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAELLEIN, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v. 68, p. 88-113, 2007.
- POUTREL, B. Udder infection of goats by coagulase-negative staphylococci. *Veterinary Microbiology*, v. 9, p.131-137, 1984.
- PYÖRALÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*, v. 34, p. 565-578, 2003.
- SCHALM, O.W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. *Bovine mastitis*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360p.
- SEVI, A.; TAIBI, L.; ALBENZIO, M.; MUSCIO, A.; ANNICCHIARICO, G. Effect of parity on milk yield, composition, somatic cell count, renneting parameters and bacteria counts of Comisana ewes. *Small Ruminant Research*, v. 37, p. 99-107, 2000.
- SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A. The physiology of mammary gland during the dry period and the relationship to infection. In: ANNUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 26., 1982, Arlington. *Proceedings...* Arlington, 1982. p. 87.
- SMITH, K.L.; WHEELLOCK, J.V.; DODD, F.H. Changes in the quantity and composition of mammary gland secretions in the dry period between lactations. II. The complete dry period. *Journal of Dairy Research*, v. 34, p. 13-19, 1967.
- TATARCZUCH, L.; PHILIP C.; LEE C.S. Involution of the sheep mammary gland. *Journal of Anatomy*, v. 190, p. 405-416, 1997.
- TATARCZUCH, L.; BISCHOF R.; LEE C.S. Leukocyte phenotypes in involuting and fully involuted mammary glandular tissues and secretions of sheep. *Journal of Anatomy*, v. 196, p. 373-379, 2000.
- TATARCZUCH, L.; BISCHOF, R.; PHILIP C.; LEE C.S. Phagocytic capacity of leukocytes in sheep mammary secretions following weaning. *Journal of Anatomy*, v. 201, p. 351-361, 2002.
- WHEELLOCK, J.V.; SMITH, A.; DODD, F.H.; LYSTER, R.L.J. Changes in the quantity and composition of mammary gland secretion in the dry period between lactations. I. The beginning of the dry period. *Journal of Dairy Research*, v. 34, p. 151-161, 1967.
- ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.25, n. 3, p. 150-163, 2005.