

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 15/03/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E SONOGRÁFICOS
NO DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR DE LESÕES
FIBRÓTICAS EM PARÊNQUIMA MAMÁRIO DE FÊMEAS
OVINAS**

Yuri da Silva Bonacin

Médico Veterinário

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E SONOGRÁFICOS
NO DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR DE LESÕES
FIBRÓTICAS EM PARÊNQUIMA MAMÁRIO DE FÊMEAS
OVINAS**

Discente: Yuri da Silva Bonacin

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Marques

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Aléscio Canola

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária.

B697a Bonacin, Yuri da Silva
Aspectos clínico-laboratoriais e sonográficos no diagnóstico complementar de lesões fibróticas em parênquima mamário de fêmeas ovinas / Yuri da Silva Bonacin. -- Jaboticabal, 2021
104 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, Jaboticabal
Orientador: Prof. Dr. José Antonio Marques
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Alécio Canola

1. Leite. 2. Mastite. 3. Leite Proteínas. 4. Ultrassonografia. 5. Doenças crônicas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E SONOGRÁFICOS NO DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR DE LESÕES FIBRÓTICAS EM PARÊNQUIMA MAMÁRIO DE FÊMEAS OVINAS

AUTOR: YURI DA SILVA BONACIN

ORIENTADOR: JOSÉ ANTONIO MARQUES

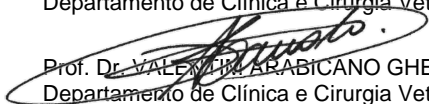
COORDENADOR: PAULO ALÉSCIO CANOLA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. PAULO ALÉSCIO CANOLA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

p/



Prof. Dr. VALERIO ARABICANO GHELLER (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária-UFMG / Belo Horizonte/MG

p/



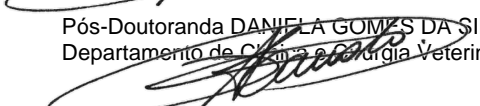
Prof. Dr. ANDRÉ MOREIRA SANTANA (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária-UEM / Umuarama/PR

p/



Pós-doutorando VICTOR JOSÉ CORREIA SANTOS (Participação Virtual)
Depto de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

p/



Pós-Doutoranda DANIELA GOMES DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 15 de março de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

YURI DA SILVA BONACIN – nascido em Santa Rosa de Viterbo /SP, em 1º de setembro de 1989, filho de Alvaro Antonio Bonacin e Carla Maria da Silva Bonacin. Ingressou no curso de Medicina Veterinária em 2008, pela Universidade Federal do Paraná, campus Palotina, recebendo o título de Médico Veterinário em 2012. Concluiu o Programa de Aprimoramento Profissional em Medicina Veterinária e Saúde Pública, na área de Clínica Cirúrgica e Anestesiologia de Grandes Animais, junto ao Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel", com início em fevereiro de 2013 até fevereiro de 2015. Mestre em Cirurgia Veterinária (2015 - 2017) pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), bolsista CAPES, sob orientação do Prof. Dr. José Antonio Marques e coorientação do Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia.

**“A ciência consiste em substituir o saber que parecia seguro por uma teoria,
ou seja, por algo problemático”**

(José Ortega y Gasset)

A Deus
Aos Meus pais Carla e Alvaro
e minha irmã Nabila

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que iluminou meu caminho durante esta jornada e tornou a realização deste sonho possível.

À minha mãe Carla e meu pai Alvaro, pelo dom da vida, amor incondicional, bem como pelos conselhos e total apoio em todas minhas escolhas pessoais e profissionais. Sem vocês nada disto seria possível.

À minha irmã Nabila pelo amor fraterno e longas conversas sobre o futuro.

À Samara, a qual me acompanhou por um longo período da minha vida, me apoiando e contribuindo de forma imprescindível para que me tornasse uma pessoa melhor e conseguisse lidar com todos os intemperes.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. José Antonio Marques, por todos os ensinamentos, apoio, conselhos, amizade, paciência e pela oportunidade que me foi dada no ano de 2012, sem a qual não seria possível o caminho até aqui. Agradeço pela confiança em ceder sua sala para que eu pudesse continuar, mesmo que de forma modesta, o seu trabalho como docente e iniciar minha carreira.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Paulo Alécio Canola, o qual considero um grande amigo. Agradeço por todo incentivo, pelas longas e produtivas conversas e grande auxílio na confecção deste trabalho. Não poderia deixar de agradecer as oportunidades e confiança em mim depositadas dentro da Universidade, sem as quais eu não seria metade do profissional que hoje sou. Muito obrigado.

Aos amigos André Santana e Daniela Silva, por toda a disponibilidade e empenho nas análises das amostras lácteas realizadas durante o experimento, bem como por toda contribuição teórica. Sem a ajuda de vocês este trabalho não seria realidade.

Ao Prof. Dr. José Jurandir Fagliari por ceder o laboratório, aparelhos e técnicos para análise das amostras lácteas.

Aos amigos Victor Santos e Marjury Maronezi por toda a paciência, companheirismo e perseverança na obtenção das imagens e dados da elastografia. Vocês foram essências para a qualidade deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcus Feliciano, o qual disponibilizou seus orientados, tempo, bem como equipamento para a realização da elastografia. Obrigado pela confiança.

À Roselia, Michele e Bia, as quais foram de grande auxílio durante a realização da fase prática deste trabalho, dispensando excelentes cuidados com os animais, além do companheirismo e amizade, este trabalho tem um pouco de vocês.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal por ter me acolhido e contribuído para minha formação profissional, bem como a todos os colegas do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária.

A direção do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel e funcionários do Setor de Grandes Animais por ceder alimentação e estadia aos animais, contribuindo para o bem-estar de todos.

Ao Centro Universitário Moura Lacerda por ceder os animais utilizados e disponibilizar o laboratório para realização das análises microbiológicas, através do intermédio da Prof. Dra. Naiá Lago e sua orientada Ana Carolina.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigado.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|-----------|
| CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS..... | iii |
| RESUMO..... | iv |
| ABSTRACT | vi |
| CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS..... | 1 |
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Revisão de Literatura | 2 |
| 2.1 Anatomia..... | 3 |
| 2.2 Etiologia das mastites | 6 |
| 2.3 Qualidade do leite e contagem de células somáticas | 8 |
| 2.4 Proteinograma | 11 |
| 2.5 Elastografia ARFI..... | 14 |
| 3. Objetivo Geral | 16 |
| 3.1 Objetivos específicos | 16 |
| 4. Referências..... | 16 |
| CAPÍTULO 2 – Análise da composição láctea e avaliação por técnicas de imagem da glândula mamária de ovelhas. Parte 1: A presença de lesões fibrosas no parênquima pode alterar a resposta de proteínas de fase aguda na mastite subclínica? ¹ | 31 |
| Resumo..... | 31 |
| 1. Introdução | 32 |
| 2. Material e Métodos | 36 |
| 2.1 Animais | 36 |
| 2.2 Colheita de amostras lácteas..... | 37 |
| 2.3 Contagem de células somáticas | 38 |
| 2.4 Proteína total e fracionamento eletroforético por gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) | 39 |
| 2.5 Análise Estatística..... | 40 |
| 3. Resultados | 41 |
| 3.1 Contagem de células somáticas | 41 |
| 3.2 Proteína total e Fracionamento eletroforético (SDS-PAGE) | 42 |
| 4. Discussão | 46 |
| 5. Conclusão..... | 54 |

| | |
|--|-----------|
| 6. Referências..... | 54 |
| CAPÍTULO 3 – Análise da composição láctea e avaliação por técnicas de imagem da glândula mamária de ovelhas. Parte 2: A elastografia ARFI da glândula mamária e linfonodo supramamário pode ser utilizada como ferramenta auxiliar ao diagnóstico de mastite subclínica em fêmeas ovinas naturalmente infectadas? ¹ | 65 |
| Resumo..... | 65 |
| 1. Introdução | 67 |
| 2. Material e Métodos | 70 |
| 2.1 Animais | 70 |
| 2.2 Colheita de amostras lácteas..... | 70 |
| 2.3 Contagem de células somáticas | 71 |
| 2.4 Ultrassonografia modo B de lesões fibrosas e parênquima mamário | 71 |
| 2.5 Elastografia ARFI de lesões fibrosas e parênquima mamário | 72 |
| 2.6 Ultrassonografia modo B dos linfonodos supramamários..... | 72 |
| 2.7 Elastografia ARFI dos linfonodos supra-mamários..... | 73 |
| 2.8 Análise estatística | 73 |
| 3. Resultados | 73 |
| 4. Discussão | 78 |
| 5. Conclusão | 82 |
| 6. Bibliografia | 83 |

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Uso da elastografia ARFI para diagnóstico complementar de lesões nodulares em parênquima mamário, induzidas por mastite infecciosa crônica em fêmeas ovinas”**, protocolo nº 017013/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Yuri da Silva Bonacin, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 06 de dezembro de 2018.

| | |
|---------------------|---------------------------|
| Vigência do Projeto | 15/12/2018 a 15/09/2019 |
| Espécie / Linhagem | <i>Ovis aries</i> / Mista |
| Nº de animais | 30 |
| Peso / Idade | 50kg/ 5 anos |
| Sexo | Fêmeas |
| Origem | Propriedade privada |

Jaboticabal, 06 de dezembro de 2018.

Fabiana Pilarski
Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E SONOGRÁFICOS NO DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR DE LESÕES FIBRÓTICAS EM PARÊNQUIMA MAMÁRIO DE FÊMEAS OVINAS

RESUMO – O presente estudo avaliou 27 fêmeas ovinas e suas glândulas mamárias, no 60º dia de lactação. Os objetivos foram a detecção de alterações nas concentrações das proteínas do soro lácteo, contagem de células somáticas frente à mastite crônica e subclínica de ocorrência natural, bem como o possível uso da elastografia por impulso de força de radiação acústica (ARFI) como diagnóstico de mastite em glândulas com parênquima fibrosado. Os grupos experimentais foram divididos de acordo com a CCS em: GC com CCS < 500.000 cls/ml sem fibrose em parênquima; Baixa contagem de células somáticas (CB) com CCS < 500.000 cls/ml e presença de fibrose na glândula; CA com CCS > 500.000 cls/ml e presença de fibrose. Para a análise das proteínas e CCS, foram utilizadas 48 amostras de soro lácteo. A CCS obtida nos três grupos apresentou valores médios de $136,63 \times 10^3 \pm 98,09$ cls/ml, $122,06 \times 10^3 \pm 94,83$ cel/ml e $3.979,55 \times 10^3 \pm 2943,81$ cls/ml. Através do método SDS-PAGE, foi possível identificar seis proteínas: Lactoferrina, Albumina Sérica, IgG Pesada, IgG Leve, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina. Através da comparação entre grupos, notou-se aumento da Lactoferrina entre GC e CA, aumento da albumina sérica entre CB e CA e aumento da IgG de cadeia pesada entre GC e CA, bem como entre CB e CA. Acredita-se que o valor limite de CCS em 500.000 cls/ml seja seguro para a detecção de mastites subclínicas. O aumento da albumina sérica e IgG de cadeia pesada em animais que possuem lesões no parênquima e CCS alta, quando comparados aos demais grupos pode indicar a presença de mastite. Não houve diferenças na composição proteica avaliada que diferenciasses glândulas sadias de fibrosas, dentro da mesma faixa de CCS. Cabe ressaltar que há a necessidade de estudos avaliando outros componentes lácteos, bem como compará-los ao grau de fibrose da glândula. O parênquima mamário e linfonodos também foram submetidos à ultrassonografia em modo-B, com posterior elastografia ARFI, obtendo-se variáveis qualitativas (ecogenicidade e ecotextura) e quantitativas (velocidade de cisalhamento, profundidade e proporção eixo curto/longo) de 52 glândulas mamárias. Através da elastografia ARFI em áreas sadias da glândula nos grupos, foi possível observar aumento da velocidade de cisalhamento ($p < 0,05$) no grupo CB quando comparado ao grupo GC, o que ocorreu também quando comparados CB e CA. Quando comparadas as áreas de fibrose nos grupos CB e CA, com suas respectivas áreas normais, a velocidade aumentou nos dois grupos: CB ($p < 0,05$; $t = 4,07$) e CA ($p < 0,05$; $t = 6,92$). Ao comparar as áreas de fibrose em CB e CA com o parênquima de GC, houve aumento em CB ($p < 0,05$; $t = 4,95$) e CA ($p < 0,05$; $t = 5,49$). Ao avaliar o linfonodo supramamário de cada glândula, a velocidade de cisalhamento aumentou quando comparados os grupos GC e CA ($p < 0,05$, $T = 2,11$), apresentando-se maior no último. Os resultados da ultrassonografia em modo-B apontam predomínio da ecogenicidade hipoecóica nos linfonodos, bem como redução da proporção do eixo curto/longo em casos de mastite subclínica ativa. A elastografia ARFI pode indicar pontos de corte para que haja diferenciação de um processo de mastite ativa de mastites que já se curaram, seu uso é excelente ferramenta para diferenciação das áreas normais de

áreas fibrosadas em parênquima. A avaliação nos linfonodos supramamários, com altas velocidades de cisalhamento, podem indicar mastites, porém o comportamento no parênquima mamário é diferente, produzindo maiores valores em mastites já crônicas, necessitando de estudo com mais animais e mastites induzidas artificialmente, para padronização de valores de corte.

Palavras-chave: Fibrose, Leite, Modo-B, Proteinograma, Proteoma, Ultrassom

CLINICAL-LABORATORY AND SONOGRAPHIC ASPECTS IN THE COMPLEMENTARY DIAGNOSIS OF FIBROTIC LESIONS IN THE BREAST PARENCHYMA OF EWES

ABSTRACT – The present study evaluated 27 ewes and their mammary glands, on the 60th lactation day. The aims were the detection in whey proteins, somatic cell count against chronic and subclinical mastitis, as well as the possible use of ARFI elastography as a diagnosis tool of mastitis in glands with fibrous parenchyma. The experimental groups were divided according to the SCC into: GC with SCC < 500,000 cls/ml without parenchyma fibrosis; CB with SCC < 500, cls/ml and presence of fibrosis; CA with CCS > 500,000 cls/ml and fibrosis. For proteins and SCC, 48 samples of milk serum were used. The SCC obtained in the three groups showed mean values of $136.63 \times 10^3 \pm 98.09$ cell / ml, $122.06 \times 10^3 \pm 94.83$ cell / ml and $3,979.55 \times 10^3 \pm 2943.81$ cls/ml. Through the SDS-PAGE method, it was possible to identify six proteins: Lactoferrin, Serum Albumin, Heavy IgG, Light IgG, β -lactoglobulin, and α -lactalbumin. According to the group's analysis, there was an increase in lactoferrin between GC and CA, an increase in serum albumin between CB and CA, and an increase in heavy IgG between GC and CA, as well as between CB and CA. The CCS high limit value of 500,000 cls/ml is believed to be safe for the detection of subclinical mastitis. The increase in serum albumin and heavy IgG in animals with lesions in the parenchyma and high CCS, when compared to the other groups, may indicate the presence of active mastitis. There were no differences in the protein composition evaluated that differentiated healthy and fibrous glands, using the same CCS range. Major studies evaluating other whey components, as well as comparing them to the degree of gland fibrosis are needed. The mammary parenchyma and supramammary lymph node were also submitted to B-mode ultrasonography, with subsequent ARFI elastography, obtaining qualitative (echogenicity and echotexture) and quantitative (shear speed, depth and short/long axis ratio) variables from 52 mammary glands. Through ARFI elastography in healthy areas of the gland in the groups, it was possible to observe an increase in shear velocity ($p < 0.05$) in CB group when compared to the GC group, which also occurred when comparing CB and CA. When comparing the fibrous areas in the CB and CA groups, with their respective normal areas, the speed increased in the two groups: CB ($p < 0.05$; $t = 4.07$) and CA ($p < 0.05$; $t = 6.92$). When comparing the areas of fibrosis in CB and CA with the parenchyma of GC, there was an increase in CB ($p < 0.05$; $t = 4.95$) and CA ($p < 0.05$; $t = 5.49$). When assessing the supramammary lymph node of each gland, the shear velocity increased when the groups GC and CA were compared ($p < 0.05$, $T = 2.11$), being higher in the last one. The results of B-mode ultrasonography indicate a predominance of hypoechoic echogenicity in nodes, as well as a reduction in the proportion of the short/long axis in cases of active subclinical mastitis. ARFI elastography can indicate cut off points for differentiating an active mastitis process from mastitis that has already healed, its use is an excellent tool for differentiating normal areas from fibrous areas in the parenchyma. The evaluation in the supramammary lymph nodes, with high shear speeds, may indicate active mastitis, but the behavior in the mammary parenchyma is different, producing higher values in already chronic mastitis, Further studies are needed using more animals and artificially induced mastitis, for standardization cut off values.

Keywords: Fibrosis, Milk, B-mode, Proteinogram, Proteoma, Ultrasound

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

A inflamação da glândula mamária, precedida ou não por processo infeccioso, é descrita como mastite, a qual é uma das mais importantes doenças em rebanhos leiteiros, podendo causar mortalidade e redução na produção leiteira, além de descarte antecipado dos animais (Bergonier e Berthelot, 2003). Quando quantificada a produção mundial de leite em todas as espécies animais, os ovinos contribuem com apenas 1,26% do montante final (FAO, 2018), porém é uma área em expansão no Brasil, o qual produziu 1.652.000 litros de leite em 2017, onde 60% é oriundo da agricultura familiar (IBGE, 2017). Em geral, o leite ovino é destinado à fabricação de queijos finos, com alto valor agregado (Manca et al., 2016), além de desempenhar importante papel na subsistência de comunidades carentes e países subdesenvolvidos (Wodajo et al., 2020).

De forma majoritária, as mastites são de origem infecciosa, onde frequentemente é possível isolar bactérias do gênero *Staphylococcus* spp., promovendo mastites clínicas (Contreras et al., 2007; Arsenault et al., 2008), além de bactérias do gênero *Streptococcus* e outras menos incidentes, causando mastites subclínicas (Bergonier et al., 2003; Gonzalo et al., 2004; Contreras et al., 2007).

Para o diagnóstico da mastite subclínica, utiliza-se a Contagem de Células Somáticas do leite (Gonzalo et al., 2010) e o California Mastitis Test (Clements; Taylor; Fitzpatrick, 2003). Porém, o padrão ouro é resumido à cultura bacteriana das amostras lácteas (Fthenakis, 2004; Contreras et al., 2007; Fragkou; Boscos; Gonzalo et al., 2010; Fthenakis, 2014). Ademais, outras técnicas podem ser utilizadas no intuito de identificar componentes do leite, os quais possam determinar a ocorrência de um processo infeccioso ativo, tal como a identificação de proteínas inflamatórias em sangue e soro lácteo, dentre elas a técnica de fracionamento eletroforético em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (Gordon, 1985), a qual possui eficiência comprovada em medicina veterinária (Hogarth et al., 2004; Alonso-Fauste et al., 2011; Santana et al., 2018). Outros métodos de detecção em tempo real do processo inflamatório da glândula mamária, tal como a ultrassonografia em modo-

B, podem ser utilizados e também possuem eficácia comprovada, ao diferenciar mastites em ovelhas (Hussein, El-Khabaz, Malek, 2015; Barbagianni et al., 2016). Além do parênquima mamário, os linfonodos supramamários são importante local a ser escaneado e segundo Bradley e colaboradores (2001), são representativos de processo inflamatório, quando apresentam linfadenomegalia.

Hodiernamente, houve o aperfeiçoamento de técnicas ultrassonográficas, sendo possível, através de software e aparelho específico, a mensuração de forma qualitativa e quantitativa, da força de cisalhamento do impulso sônico, técnica descrita como elastografia por Força de Impulso de Radiação Acústica (ARFI) (Nightingale, 2011). Esta técnica é utilizada na medicina humana, para diferenciação em tempo real de tumores mamário malignos de benignos (Zhou et al., 2016), bem como para o mesmo propósito, em medicina veterinária (Feliciano et al., 2017).

De acordo com a literatura consultada (Bergonier, Berthelot, 2003; Radaelli et al., 2011), as mastites podem causar perdas quantitativas e qualitativa na produção leiteira, através da substituição do parênquima normal, por tecido fibroso, diminuindo assim a capacidade produtiva, porém não existem estudos comparando a qualidade do leite em ovinos portadores crônicos. No intuito de diagnosticar mastites crônicas em glândulas mamárias de fêmeas ovinas, bem como diferenciar este processo em animais que ainda apresentam processo inflamatório ativo, o proteoma de soro lácteo de glândulas com alta contagem de CCS e fibrose, comparado a glândulas com baixa CCS, pode prover importantes informações quanto à qualidade do leite. Auxiliar ao proteinograma, a elastografia ARFI, pode compor uma importante ferramenta diagnóstica auxiliar, em tempo real, no intuito de diferenciar processos crônicos ainda ativos, podendo auxiliar no acompanhamento de tratamentos e manutenção de animais no rebanho, evitando o descarte precoce.

4. Referências

ADAM, Z. A.; RAGAB, G. A.; AWAAD, A. S.; TAWFIEK, M. G.; MAKSOUD, M. K. M. Abdel. Anatomical and radiographical studies on the arterial supply of the udder in goat and their. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 3, p. 291–298, 2016. DOI: 10.1016/j.bjbas.2016.08.001.

AKERS, E. M. A 100-Year Review: Mammary development and lactation. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.12, p.10332-10352, 2017. doi: 10.3168/jds.2017-12983

ALBA, D. F.; ROSA, G.; HANAUER, D.; SALDANHA, T. F.; SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; SANTOS, D. S.; PIOVEZAN, A. P.; GIRARDINI, L. K.; SILVA, A. S. Subclinical mastitis in Lacaune sheep: Causative agents, impacts on milk production, milk quality, oxidative profiles and treatment efficacy of ceftiofur. **Microbial Pathogenesis**, v.137, p.103732, 2019. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103732.

ALONSO-FAUSTE, I.; ANDRÉS, M.; ITURRALDE, M.; LAMPREAVE, F.; GALLART, J.; ÁLAVA, M. A. Proteomic characterization by 2-DE in bovine serum and whey from healthy and mastitis affected farm animals. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 10, p. 3015–3030, 2011. DOI: 10.1016/j.jprot.2011.11.035.

ARSENAULT, J.; DUBREUIL, P.; HIGGINS, R.; BÉLANGER, D. Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 87, p. 373–393, 2008. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2008.05.006.

BAMBER, J.; COSGROVE, D.; DIETRICH, C. F.; FROMAGEAU, J.; BOJUNGA, J.; CALLIADA, F.; CANTISANI, V.; CORREAS, J-M.; D'ONOFRIO, M.; DRAGONAKI, E.; FINK, M.; FRIEDRICH-RUST, M.; GILJA, O. H.; HAVRE, R. F.; JENSSEN, C.; KLAUSER, A. S.; OHLINGER, R.; SAFTOIU, A.; SCHAEFER, F.; SPOREA, I.; PISCAGLIA, F. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. **Ultraschall in der Medizin**, v.34, n.2, p.169-184, 2013. DOI: 10.1055/s-0033-1335205.

BARBAGIANNI, M. S.; MAVROGIANNI, V. S.; VASILEIOU, N. G. C.; FTHENAKIS, G. C.; PETRIDIS, I. G. Ultrasonographic examination of the udder in sheep. **Small Ruminant Research**, p. 1–14, 2016. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2016.12.009.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X. New advances in epizootiology and control of ewe

mastitis. **Livestock Production Science**, v. 79, n. 1, p. 1–16, 2003. DOI: 10.1016/S0301-6226(02)00145-8. Disponível em:

BERGONIER, D.; CRÉMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFFOUL, G.; BERTHELOT, X..
Review article Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 689–716, 2003. DOI: 10.1051/vetres:2003030 689.

BERTHELOT, X.; LAGRIFFOUL, G.; CONCORDET, D.; BARILLET, F.; BERGONIER, D. Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. **Small Ruminant Research**. v.6, n. 1-2, p.27-31, 2006.

BOEHMER, J. L.; WARD, J. L.; PETERS, R. R.; SHEFCHECK, K. J.; MCFARLAND, M. A.; BANNERMAN, D. D. Proteomic analysis of the temporal expression of bovine milk proteins during coliform mastitis and label-free relative quantification. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 593–603, 2010. DOI: 10.3168/jds.2009-2526.

BRADLEY, K. J.; BRADLEY, A. J.; BARR, F. J. Ultrasonographic appearance of the superficial supramammary lymph nodes in lactating dairy cattle. **Veterinary Record**, n. 148, p. 497–502, 2001. DOI: 10.1136/vr.148.16.497

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 2018, n. 230, p. 9, 30 nov. 2018.

BROOKER, B. E. An ultrastructural study of the sinus epithelium in the mammary gland of the lactating ewe. **Journal of anatomy**, v. 138, p. 287–96, 1984.

BURVENICH, C.; GUIDRY, A. J.; PAAPE, M. J. Natural defense mechanisms of the lactating and dry mammary gland. *In*: Third IDF International Mastitis Seminar: Tel-Aviv. **Proceedings of the Third IDF International Mastitis Seminar: Tel-Aviv**. Israel, 1995. p.1.3-1.13

CECILIANI, F.; CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; SAUERWEIN, H. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v.75, n.14, p. 4207–4231, 2012. doi: 10.1016/j.jprot.2012.04.004.

CHANDRAMOHAN. A.; THERESE, M.; ABHRAHAM, D.; PAUL, T. V.; · JACOB MAZHUVANCHARY, P. Can ARFI elastography be used to differentiate parathyroid from thyroid lesions? **Journal of Endocrinological Investigation**, v.41, p.111-119, 2018. DOI: 10.1007/s40618-017-0694-y.

CHANETON, L.; PÉREZ SÁEZ, J. M.; BUSSMANN, L. E. Antimicrobial activity of bovine β -lactoglobulin against mastitis-causing bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.1, p.138-145, 2011. DOI: 10.3168/jds.2010-3319.

CINTRA, C. A.; FELICIANO, M. A. R.; SANTOS, V. J. C.; MARONEZI, M. C.; CRUZ, I. K.; GASSER, B.; SILVA, P.; CRIVELLENTI, L.Z.; USCATEGUI, R.A.R. Applicability of ARFI elastography in the evaluation of canine prostatic alterations detected by b-mode and Doppler Ultrasonography. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 72, n. 6, p. 2135-2140, 2020. DOI: 10.1590/1678-4162-12116

CLEMENTS, A. C. A.; TAYLOR, D. J.; FITZPATRICK, J. L. Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. **Journal of Dairy Research**, v. 70, n. 2, p. 139–148, 2003. DOI: 10.1017/S0022029903006022.

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, n. 1–2, p. 145–153, 2007. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2006.09.011.

DELOUIS C.; RICHARD, P. La Lactation. In: THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M. C. **La reproduction chez les mammifères et l'homme**. Paris: INRA, 1991. p. 487-514.

ECKERSALL, P. D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic, 2008.p.125-129.

FAILS, A. D.; MAGEE, C. **Anatomy and physiology of farm animals**. 8 ed. Hoboken: Wiley & Sons, 2018. p. 501-516.

FAO. Livestock Primary Data. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>>. Acesso em: 27 mai. 2020.

FELICIANO, M. A. R.; USCATEGUI, R. A. R.; MARONEZI, M. C.; SIMÕES, A. P. R.; SILVA, P.; GASSER, B.; PAVAN, L.; CARVALHO, C. F. ; CANOLA, J. C.; VICENTE, W. R. R. Ultrasonography methods for predicting malignancy in canine mammary tumors. **PLoS ONE**, p. 1–14, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0178143

FERNANDES, J. C. T.; CARDOSO, M. R. I. Mamite ovina causada por *Staphylococcus aureus*. Primeira observação no Brasil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRGS**, v.13, p.71-74, 1985.

FERREIRA, A. M.; BISLEV, S. L.; BENDIXEN, E.; ALMEIDA, A. M. The mammary gland in domestic ruminants: A systems biology perspective. **Proteomics**, v. 94, p. 110-123, 2013. doi: 10.1016/j.jprot.2013.09.012

FRAGKOU, I. A.; BOSCOS, C. M.; FTHENAKIS, G. C. Diagnosis of clinical or subclinical mastitis in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 118, n. 1–3, p. 86–92, 2014. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2013.12.015

FRANZ, S.; FLOEK, M.; HOFMANN-PARISOT, M. Ultrasonography of the bovine udder and teat. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.25, p.669-685, 2009. doi: 10.1016/j.cvfa.2009.07.007

FRANZ, S.; HOFMANN-PARISOT, M.; GÜTLER, S.; BAUMGARTNER, W. Clinical and ultrasonographic findings in the mammary gland of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v.51, p.238–243, 2003. doi: 10.1080/00480169.2003.36373

FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. T. The Effect of Inoculation of Coagulase-negative Staphylococci into the Ovine Mammary Gland. **Journal of Comparative Pathology**, v. 102, n. 2, p. 211–219, 1990. DOI: 10.1016/S0021-9975(08)80126-0.

FTHENAKIS, G. C.; LEONTIDES, L.; SKOUFOS, J.; TAITZOGLU, I. A.; TZORA, A. Case report: high prevalence rate of ovine mastitis , caused by coagulase-negative staphylococci and predisposed by increased gossypol consumption. **Small Ruminant Research**, v. 52, n. 1–2, p. 185–189, 2004. DOI: 10.1016/S0921-4488(03)00232-3.

GARCÍA-MONTOYA, I. A.; CENDÓN, T. S.; ARÉVALO-GALLEGOS, S.; RASCÓN-CRUZ, Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1820, n. 3, p. 226–236, 2012. DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.06.018.

GODDI, A.; BONARDI, M.; ALESSI, S. Breast elastography: a literature review. **Journal of Ultrasound**, v.15, p.192-198, 2012. doi: 10.1016/j.jus.2012.06.009

GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. C.; GONZALO, C.; SAN PRIMITIVO, F.; CÁRMENES, P. Relationship between somatic cell count and intra-mammary infection of the half udder in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2753–2759, 1995.

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.

GONZALO, C.; BOIXO, J. C.; CARRIEDO, J. A.; PRIMITIVO, F. S. Evaluation of Rapid Somatic Cell Counters Under Different Analytical Conditions in Ovine Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3623–3628, 2004. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73500-6.

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. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77094-6.

GONZALO, C.; CARRIEDO, J. A.; GARCÍA-JIMENO, M. C.; PÉREZ-BILBAO, M.; DE LA FUENTE, L. F. Factors influencing variation of bulk milk antibiotic residue occurrence, somatic cell count, and total bacterial count in dairy sheep flocks. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1587–1595, 2010. DOI: 10.3168/jds.2009-2838.

GORDON, A. H. **Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels** .1. ed. New York: Elsevier, 1985, 231 p.

HA, M.; BEKHIT, A. E. D.; MCCONNELL, M.; MASON, S.; CARNE, A.. Fractionation of whey proteins from red deer (*Cervus elaphus*) milk and comparison with whey

proteins from cow, sheep and goat milks. **Small Ruminant Research**, v. 120, n. 1, p. 125–134, 2014. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2014.04.012.

HA, M.; SABHERWAL, M.; DUNCAN, E.; STEVENS, S.; STOCKWELL, P.; MCCONNELL, M.; EL-DIN BEKHIT, A.; CARNE, A.. In-depth characterization of sheep (*Ovis aries*) milk whey proteome and comparison with cow (*Bos taurus*). **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0139774.

HARDWICK, L. J. A.; PHYTHIAN, C. J.; FOWDEN, A. L.; HUGHES, K.. Size of supernumerary teats in sheep correlates with complexity of the anatomy and microenvironment. **Journal of Anatomy**, v. 236, n. 5, p. 954–962, 2020. DOI: 10.1111/joa.13149.

HOGARTH, C. J.; FITZPATRICK, J. L.; NOLAN, A. M.; YOUNG, F. J.; PITT, A.; ECKERSALL, P. D.. Differential protein composition of bovine whey : A comparison of whey from healthy animals and from those with clinical mastitis. **Proteomics**, v. 4, n. 7, p. 2094–2100, 2004. DOI: 10.1002/pmic.200300723.

HUSSEIN, A. H.; EL-KHABAZ, K. A. S.; MALEK, S. S. Is udder ultrasonography a diagnostic tool for subclinical mastitis in sheep ? **Small Ruminant Research**, 2015. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2015.05.010.

IBGE. **Censo Agropecuário**: SIDRA 2017. Rio de Janeiro. 2017.

KANDEEL, S. A.; MORIN, D. E.; CALLOWAY, C. D.; CONSTABLE, P. D. Association of California Mastitis Test Scores with Intramammary Infection Status in Lactating Dairy Cows Admitted to a Veterinary Teaching Hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.32, n,1, p. 497-505, 2018. DOI: 10.1111/jvim.14876

KERN, G.; TRAUlsen, I.; KEMPER, N.; KRIETER, J. Analysis of somatic cell counts and risk factors associated with occurrence of bacteria in ewes of different primary purposes. **Livestock Science**, v. 157, n. 2–3, p. 597–604, 2013. DOI: 10.1016/j.livsci.2013.09.008.

KIRK, J.H.; GLENN, J.S. Mastitis in ewes. **Compendium on Continuing Education for the Practising**, v.18, p.582–591, 1996.

KNIGHT, C. H.; PEAKER, M. Mammary Development and Regression During Lactation in Goats in Relation To Milk Secretion. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, v. 69, n. 2, p. 331–338, 1984. DOI: 10.1113/expphysiol.1984.sp002809.

LEE, P.-C.; CHIOU, Y.-Y.; CHIU, N.-C.; CHEN, P.-H.; LIU, C.-A.; KAO, W.-Y.; HUO, T.-I.; HUANG, Y.-H.; HOU, M.-C.; LIN, H.-C.; WU, J.-C.; SU, C.-W. Liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse elastography predicted prognoses of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-58988-3

LEGARRA, A.; UGARTE, E. Genetic parameters of udder traits, somatic cell score, and milk yield in Latxa sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.2238–2245, 2005. DOI: 10.3168/jdsS0022-0302(05)72899-X

LINZELL, J. L. The innervation of the mammary glands in the sheep and goat with some observations on the lumbo-sacral autonomic nerves. **Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences**, v. 44, n. 2, p. 160–176, 1959. DOI: 10.1113/expphysiol.1959.sp001382.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1883-1886, 2000. DOI: 10.1590/S1516-35982000000600038.

MANCA, M. G.; SERDINO, J.; GASPA, G.; URGEGHE, P.; IBBA, I.; CONTU, M.; FRESI, P.; MACCIOTTA, N. P. P. Derivation of multivariate indices of milk composition, coagulation properties, and individual cheese yield in dairy sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4547–4557, 2016. DOI: 10.3168/jds.2015-10589.

MAROGNA, G.; ROLESU, S.; LOLLAI, S.; TOLA, S.; LEORI, G.. Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. **Small Ruminant Research**, v. 88, n. 2–3, p. 119–125, 2010. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2009.12.019.

MATSUDA, E.; FUKUHARA, T.; DONISHI, R.; TAIRA, K.; KOYAMA, S.; MORISAKI, T.; FUJIWARA, K.; TAKEUCHI, H. Clinical Utility of Qualitative Elastography Using

Acoustic Radiation Force Impulse for Differentiating Benign from Malignant Salivary Gland Tumors. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 47, n.2, p. 279-287, 2021. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.10.007

McDOUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D. Relationships 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, p.245-254, 2001. doi:10.1016/S0921-4488(01)00185-7

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. DOI: 10.1016/S0749-0720(15)30032-3.

MIOČ, B.; PRPIĆ, Z.; ANTUNAC, N.; ANTUNOVIĆ, Z.; SAMARŽIJA, D.; VNUČEC, I.; PAVIĆ, V.. Milk yield and quality of Cres sheep and their crosses with Awassi and East Friesian sheep. **Mljekarstvo**, v. 59, n. 3, p. 217–224, 2009.

MONCAYO, S.; MANZOOR, S.; ROSALES, J. D.; ANZANO, J.; CACERES, J. O. Qualitative and quantitative analysis of milk for the detection of adulteration by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). **Food Chemistry**, v. 232, p. 322–328, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.017.

MURAWSKI, M.; SCHWARZ, T.; JAMIESON, M.; AHMADI, B.; BARTLEWSKI, P. M.. Echotextural characteristics of the mammary gland during early lactation in two breeds of sheep varying in milk yields. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 4, p. 853–858, 2019. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2019-0025.

NUDDA, A.; CORREDDU, F.; ATZORI, A.; MARZANO, A.; BATTACONE, G.; NICOLUSSI, P.; BONELLI, P.; PULINAA, G. Whole exhausted berries of *Myrtus communis* L. supplied to dairy ewes: Effects on milk production traits and blood metabolites. **Small Ruminant Research**, v.155, p.33–8, 2017. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2017.08.020

NIGHTINGALE, K.. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging : A Review.

Current Medical Imaging Reviews, v. 7, p. 328–339, 2011. DOI: 10.2174/157340511798038657

NIGHTINGALE, K.; SOO, M. S.; NIGHTINGALE, R.; TRAHEY, G. Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v.28, n.2, p.227-235, 2002.

PAAPE, M. J.; WIGGANS, G. R.; BANNERMAN, D. D.; THOMAS, D. L.; SANDERS, A. H.; CONTRERAS, A.; MORONI, P.; MILLER, R. H. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1–2, p. 114–125, 2007. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2006.09.014.

PARK, Y. W.; ALBENZIO, M.; SEVI, A.; HAENLEIN, G.F.W. Milk quality standards and controls. In: Park, Y.W.; Haenlein, G. **Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health**. Oxford: Wiley, 2013. p. 261–287.

PELLEGRINI, A.; HULSMEIERS, A. J.; HUNZIKER, P.; THOMAS, U. Proteolytic fragments of ovalbumin display antimicrobial activity. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1672, n.2, p.76–85, 2004.

PEREIRA, P. F. V.; REWAY, A.P.; FÉLIX, A.; BEUTEMMÜLLER, E. A.; PRETTO-GIORDANO, L. G.; ALFIERI, A. A.; LISBÔA, J. A. N.; MÜLLER, E. E. Mammary gland health of Santa Inês ewes at the drying and puerperium and evaluation of a dry-off therapy with gentamicin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 12, p. 2194–2200, 2018. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5563.

PÉREZ, M. D.; SANCHEZ, L.; ARANDA, P.; ENA, J. M.; ORIA, R.; CALVO, M. Effect of beta-lactoglobulin on the activity of pregastric lipase. A possible role for this protein in ruminant milk. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1123, n.2. p.151–155, 1992.

PERSSON, K.; CARLSSON, A.; HAMBLETON, C.; GUIDRY, A. J. Immunoglobulins , Lysozyme and Lactoferrin in the Teat and Udder of the Dry Cow during Endotoxin-Induced Inflammation. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 39, p. 165–174, 1992. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1992.tb01154.x

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of Acute Phase Protein Measurements in Veterinary Clinical Chemistry. **Veterinary research**, v.35, n.2, p.163-187, 2004. doi:10.1051/vetres:2004002

PHILPOT, W. N.; NICKERSON S. C **Mastitis Counter Attack: A Strategy to Combat Mastitis**. Illinois: Babson Bros., 1991. 150 p.

PISANU, S.; GHISAURA, S.; PAGNOZZI, D.; FALCHI, G.; BIOSA, G.; TANCA, A.; ROGGIO, T.; UZZAU, S.; ADDIS, M. F.. Characterization of sheep milk fat globule proteins by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis/mass spectrometry and generation of a reference map. **International Dairy Journal**, v. 24, p. 78–86, 2012. DOI: 10.1016/j.idairyj.2011.05.009.

PLUMMER, P.; PLUMMER, C.. Diseases of the Mammary Gland. *In*: PUGH, D. G.; BAIRD, A. N. **Sheep and Goat Medicine**. 2ed. Missouri: Elsevier, 2012. p. 442–465.

PUGLIESE, C.; ACCIAIOLI, A.; RAPACCINI, S.; PARISI, G.; FRANCI, O. Evolution of chemical composition, somatic cell count and renneting properties of the milk of Massese ewes. **Small Ruminant Research**, v. 35, n. 1, p. 71–80, 1999. DOI: 10.1016/S0921-4488(99)00070-X.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v. 34, p. 565-578, 2003. DOI:10.1051/vetres:2003026

QUINLIVAN, T. D. Survey observations on ovine mastitis in New Zealand stud Romney flocks. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 16, n. 10–11, p. 149–153, 1968. DOI: 10.1080/00480169.1968.33765.

RADAELLI, E.; CASTIGLIONI, V.; LOSA, M.; BENEDETTI, V.; PICCININI, R.; NICHOLAS, R. A. J.; SCANZIANI, E.; LUINI, M. Outbreak of bovine clinical mastitis caused by *Mycoplasma bovis* in a North Italian herd. **Research in Veterinary Science**, v. 91, n. 2, p. 251–253, 2011. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.01.006.

RAINARD, P.; RIOLLET, C.. Innate immunity of the bovine mammary gland. **Veterinary Research**, v. 37, n. 3, p. 369–400, 2006. DOI: 10.1051/vetres:2006007.

RANDOLPH, H. E.; ERWLN, R. E.; RICHTER, R. L. Influence of Mastitis on Properties of Milk . VII . Distribution of Milk Proteins 1. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 1, p. 15–18, 1974. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(74)84824-1.

RODRÍGUEZ-AMIGO, B.; DELCANALE, P.; ROTGER G.; JUÁREZ-JIMÉNEZ, J.; ABBRUZZETTI, S.; SUMMER, A.; AGUT, M.; LUQUE, F. J.; NONELL, S.; VIAPPIANI, C. The complex of hypericin with β -lactoglobulin has antimicrobial activity with potential applications in dairy industry. *Journal of Dairy Science*, v.98, n.1, p.89–94, 2015. DOI: 10.3168/jds.2014-8691.

ROVAI, M.; CAJA, G.; SUCH, X. Evaluation of udder cisterns and effects on milk yield of dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 12, p. 4622–4629, 2008. DOI: 10.3168/jds.2008-1298.

SANTANA, A. M.; THOMAS, F. C.; SILVA, D. G.; MCCULLOCH, E.; VIDAL, A. M. C.; BURCHMORE, R. J. S.; FAGLIARI, J. J.; ECKERSALL, P. D. Reference 1D and 2D electrophoresis maps for potential disease related proteins in milk whey from lactating buffaloes and blood serum from buffalo calves (Water buffalo, *Bubalus bubalis*). **Research in Veterinary Science**, v. 118, p. 449–465, 2018. DOI: 10.1016/j.rvsc.2018.04.010.

SHAMAY, A.; HOMANS, R.; FUERMAN, Y.; LEVIN, I.; BARASH, H.; SILANIKOVE, N.; MABJEESH, S. J. Expression of Albumin in Nonhepatic Tissues and its Synthesis by the Bovine Mammary Gland. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 2, p. 569–576, 2005. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72719-3.

SHIMAZAKI, K. I.; KAWAI, K.. Advances in lactoferrin research concerning bovine mastitis. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 95, n. 1, p. 69–75, 2017. DOI: 10.1139/bcb-2016-0044.

SILVA, P. D. A.; USCATEGUI, R. A. R.; SANTOS, V. J. C.; TAIRA, A. R.; MARIANO, R. S. G.; RODRIGUES, M. G. K.; SIMÕES, A. P. R.; MARONEZI, M. C.; AVANTE, M. L.; VICENTE, W. R. R.; FELICIANO, M. A. R. Qualitative and quantitative ultrasound attributes of maternal-foetal structures in pregnant ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, n. 3, p. 725-732, 2018. doi: 10.1111/rda.13163

SIMÕES, A. P. R.; MARONEZI, M. C.; USCATEGUI, R. A. R.; RODRIGUES, M. G. K.; MARIANO, R. S. G.; ALMEIDA, V. T.; SANTOS, V. J. C.; DA SILVA, P. D. A.; VICENTE, W. R. R.; FELICIANO, M. A. R. Placental ARFI elastography and biometry evaluation in bitches. **Animal Reproduction Science**, v. 214, p. 106289. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2020.106289

SINGH, B. 2018. **Dyce, Sack, and Wensing's Textbook of Veterinary Anatomy**, 5 ed. New York: Elsevier, 2018. p.609-611.

SORDILLO, L. M.; NICKERSON, S. C. Quantification and Immunoglobulin Classification of Plasma Cells in Nonlactating Bovine Mammary Tissue. **Journal of d**, v. 71, p. 84–91, 1988. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79528-4.

SORDILLO, L. M.; NICKERSON, S. C.; AKERS, R. M. Pathology of Staphylococcus aureus Mastitis During Lactogenesis : Relationships with Bovine Mammary Structure and Function. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 228–240, 1989. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79101-3

TSINGOTJIDOU, A. S.; PAPADOPOULOS, G. C. Anatomic organization of the ascending branch of the milk-ejection reflex in sheep: Primary afferent neurons. **Journal of Comparative Neurology**, v. 460, n. 1, p. 66–79, 2003. DOI: 10.1002/cne.10641.

TSIOLI, V.; FTHENAKIS, G. C. Udder surgery in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 181, n. April, p. 76–84, 2019. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.06.019.

UNIÃO EUROPÉIA (2004). European Parliament and Council. **Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council, laying down specific hygiene rules for food of animal origin**. Official Journal of the European Union L226, ano 2004, p.22–82, 29 abr. 2004.

USDA (2006). Department of Agriculture. **Regulations of the Department of Agriculture Code of Federal Regulations**. Office of the Federal Register Nation Archives and Record Administration, parte 53-209, ano 2006, n. 7, p.107, 01 jan. 2006.

VAN MIERT, A. S. Pro-inflammatory cytokines in a ruminant model: pathophysiological, pharmacological, and therapeutic aspects. **Veterinary Quarterly**, v. 17, n. 2, p. 41-50, 1995. DOI: 10.1080/01652176.1995.9694530

VELS, L.; RØNTVEDM, C. M.; BJERRINGK, M.; INGVARTSEN, K. L. Cytokine and acute phase protein gene expression in repeated liver biopsies of dairy cows with a lipopolysaccharide-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 92. n. 3, p. 922 - 934, 2009. DOI: 10.3168/jds.2008-1209.

WODAJO, H. D.; GEMEDA, B. A.; KINATI, W.; MULEM, A. A.; VAN EERDEWIJK, A.; WIELAND, B. Contribution of small ruminants to food security for Ethiopian smallholder farmers. **Small Ruminant Research**, v. 184, p. 106064, 2020. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2020.106064.

WÓJTOWSKI, J.; ŚLÓSZARZ, P.; JUNKUSZEW, A.; MILERSKI, M.; SZYMANOWSKA, A.; SZYMANOWSKI, M. Application of ultrasound technique for cistern size measurement in dairy goats (short communication), **Archives Animal Breeding**, v.49, p.382–388, 2006. doi: 10.5194/aab-49-382-2006.

WONG, D. W. S.; CAMIRAND, W. M.; PAVLATH, A. E.; PARRIS, N.; FIEDMAN, M. Structures and functionalities of milk proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, n. 8, p. 807–844, 1996. DOI: 10.1080/10408399609527751.

YEN, H. H.; MURRAY, C. M.; WASHINGTON, E. A.; KIMPTON, W. G.; DAVIES, H. M. S. Characterisation of ovine lymphatic vessels in fresh specimens. **PLoS ONE**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0209414.

YEN, H. H.; WASHINGTON, E.; KIMPTON, W.; HALLEIN, E.; ALLEN, J.; LIN, S. Y.; BARBER, S. Development of an ovine efferent mammary lymphatic cannulation model with minimal tissue damage. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2016. DOI: 10.1186/s12917-016-0908-0.

ZAFALON, L. F.; JÚNIOR, G. A. F.; VASO, C. O.; LOPES, N. S. S.; VESCHI, J. L. A.; SANTANA, R. C. M. Influence of lactation stages and rain periods on subclinical mastitis in meat producing ewes | Influência dos estágios de lactação e ocorrência de

chuvas sobre a mastite subclínica em ovelhas com aptidão para produção de carne. **Ciencia Rural**, v. 46, n. 10, p. 1797–1803, 2016. DOI: 10.1590/0103-8478cr20151068.

ZALESKA-DOROBISZ, U.; KACZOROWSKI, K.; PAWLUŚ, A.; PUCHALSKA, A.; INGLOT, M. Ultrasound Elastography – Review of Techniques and its Clinical Applications. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v.23, n.4, p. 645-655, 2014.

ZHOU, J.; YANG, Z.; ZHAN, W.; ZHANG, J.; HU, N.; DONG, Y.; WANG, Y.. Original Contribution BREAST LESIONS EVALUATED BY COLOR-CODED ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) IMAGING. **Ultrasound in Medicine and Biology**, p. 1–9, 2016. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2016.02.014.