

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

DISSERTAÇÃO

**Caracterização ultrassonográfica e histopatológica de lesões de glândulas
mamárias de vacas de descarte**

Bianca Pachiel Medeiros

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**CARACTERIZAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA E HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES
DE GLÂNDULAS MAMÁRIAS DE VACAS DE DESCARTE**

BIANCA PACHIEL MEDEIROS

Sob orientação da Professora
Rita de Cássia Campbell Machado Botteon

e coorientação do Professor
Daniel Guimarães Ubiali

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Março, 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a)

M488c Medeiros, Bianca Pachiel, 1989-
Caracterização ultrassonográfica e histopatológica
de lesões de glândulas mamárias de vacas de descarte /
Bianca Pachiel Medeiros. - 2017.
70 f.: il.

Orientadora: Rita de Cássia Campbell Machado
Botteon.
Coorientador: Daniel Guimarães Ubiali.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas),
2017.

1. mastite. 2. bovinos. 3. histopatologia. 4.
ultrassonografia. I. Botteon, Rita de Cássia Campbell
Machado, 1964-, orient. II. Ubiali, Daniel Guimarães,
1985-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas). IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

BIANCA PACHIEL MEDEIROS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

TESE APROVADA EM 27/04/2017



Rita de Cássia Campbell Machado Botteon (Ph. D) UFRRJ
(orientador)



Aline Emerin Pinna (Ph. D) UFF



Bruno Gonçalves de Souza (Ph. D) UFRRJ



Saulo de Andrade Caldas (Ph. D) UFRRJ

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, *Rita Botteon*, um agradecimento carinhoso por toda dedicação a este trabalho, paciência e conhecimento compartilhado e ainda pela convivência agradável e amizade.

A *minha família* por ser meu combustível nos momentos de fraqueza, confiar em mim, sorrir com minhas conquistas e compreender as ausências necessárias para seguir esse caminho. E ainda pela sólida formação acadêmica e pessoal que possibilitou que eu chegasse até aqui. Em especial a minha pequena *Maria Júlia*, que traz mais leveza a minha vida e me traz motivos para querer buscar sempre o melhor.

Ao meu namorado *Daniel Prado*, por toda ajuda durante o experimento, pelas viagens, caixas de isopor e muitos cafés, sua presença foi fundamental em todas as etapas, além de ser companheiro pra todas as horas, me escutar, apoiar e incentivar.

Ao *Prof. Daniel Ubiali*, e ao *Dr. Cristiano Veiga*, sem os quais esse trabalho não teria acontecido, pelas horas de dedicação, pelos conhecimentos passados e dúvidas sanadas.

Ao *Prof. Paulo Botteon*, por sempre estar por perto pra ajudar e tirar todas as dúvidas em relação ao curso.

Ao colega *Dr. Alexandre* e a todos do Frigorífico Irapuru, pela boa vontade em mudar a rotina e prontidão em me atender, essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

A grande amiga *Ana Paula Lopes Marques*, por despertar meu interesse pela pós-graduação, pelo cuidado, conselhos e ter sido como uma ponte pra me ajudar a chegar até aqui.

Aos amigos de laboratório, *Janne Paula*, *Fátima Valdés*, *Jéssica D'ávilla* e *Rosangela Terra*, pelos trabalhos desenvolvidos, troca de experiências, aprendizado e boa companhia.

Aos queridos *amigos do HVGA*, por estarem sempre dispostos a ajudar em tudo que necessitei.

A todos os *professores do PPGMV*, pelos ensinamentos transmitidos.

A todos outros amigos que estiveram presentes durante o mestrado, dividindo o peso dessa jornada e comemorando cada conquista comigo.

RESUMO

MEDEIROS, Bianca Pachiel. **Caracterização ultrassonográfica e histopatológica de lesões de glândulas mamárias de vacas de descarte.** 2017. 68p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Propôs-se com este estudo caracterizar por ultrassonografia e histopatologia as lesões de glândulas mamárias de vacas de descarte. Para isso, foram coletadas 50 úberes (200 quartos mamários) de vacas abatidas para consumo em um frigorífico no Estado do Rio de Janeiro. Cada quarto mamário foi inspecionado externa e internamente, sendo avaliadas as lesões e as alterações presentes. Vinte e seis glândulas foram avaliadas por ultrassonografia utilizando-se transdutor retal de 7,5 MHz. Para o exame histopatológico foram coletados fragmentos com alterações macroscópicas, acondicionados em frascos contendo formol a 10% tamponado, processados rotineiramente, corados com hematoxilina e eosina e avaliados em microscopia óptica. A maior parte das alterações macroscópicas ocorreu no parênquima mamário e poucas alterações foram observadas na pele e nos tetos. As alterações mais encontradas no parênquima foram fibrose, seguida de hiperemia, hipertrofia, abscessos e edema. Além destas foram observados diferentes tipos de secreção: leitosa com aspecto normal, leitosa com grumos esbranquiçados ou amarelados, espessa de coloração amarelo-esverdeada, gelatinosa com aspecto homogêneo translúcido variando entre incolor, amarelada e amarelo-amarronzada. Na ultrassonografia foram observados no parênquima, cisterna da glândula e dos tetos alterações de ecotextura, ecogenicidade, presença de gás, nódulos e conteúdo com alta celularidade. A maioria dos tetos apresentou parede normoecoica, seguida por hiperecoica e poucos de ecogenicidade mista. A observação de conteúdo não foi possível na maioria das cisternas do teto, e quando observado a maioria apresentava baixa celularidade (normal). No parênquima, a maioria dos conteúdos observados apresentaram ecogenicidade mista ou aumentada, a maioria de ecotextura heterogênea. No exame histopatológico dos tecidos mamários, o achado mais frequente foi a presença de infiltrado inflamatório, mais comumente consistindo de linfócitos e macrófagos. As células inflamatórias estavam com maior frequência no interior dos túbulos e circundando os ácinos e ductos galactóforos. Na pele foi observada ortoqueratose, nos tetos papiloma e dermatite granulomatosa crônica multifocal leve ou moderada. Em linfonodos apenas observou-se uma alteração caracterizada como linfadenite purulenta aguda multifocal moderada. Além dos infiltrados inflamatórios, no parênquima mamário foi observada a presença de *corpora amylacea* em sete amostras. Conclui-se que os métodos de avaliação macroscópica, ultrassonográfica e histopatológica, somados ao exame físico podem promover um diagnóstico mais completo e eficiente para as enfermidades de glândulas mamárias desta espécie.

Palavras chave: bovinos, histopatologia, mastite, úbere, ultrassonografia.

ABSTRACT

MEDEIROS, Bianca Pachiel. **Ultrasound and histopathological characterization of mammary glands lesions of slaughter cows**. 2017. 68p. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Institute of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

The aim of this study was to characterize by ultrasonography and histopathology the injuries of cows discarded. For this, 50 mammary glands were collected from cows slaughtered for food in a frigorific on Rio de Janeiro state. Each mammary quarter was externally and internally inspected and we evaluated the presence of injuries and alterations. Twenty-six glands were evaluated by ultrasonography using a 7.5 MHz transrectal transducer. For the histopatological examination we collected fragments with macroscopic alterations that were placed in flasks containing formalin 10% buffered solution of routinely processed, stained with hematoxylin and eosin and evaluated in microscopy. The most of macroscopic changes occurred in the mammary parenchyma and few changes were observed in the skin and teats. The most frequent changes in the parenchyma were fibrosis, followed by hyperemia, hypertrophy, presence of abscesses and edema. In addition, different types of secretion were observed: milky with normal appearance, milky with whitish or yellowish lumps, thick yellowish-greenish, gelatinous with homogeneous translucent appearance, ranging from colorless, yellowish and brownish yellow. In ultrasonography, changes in ecotexture, echogenicity, presence of gas, nodules and high cellularity content were observed in the parenchyma, gland cistern and teats. The most of teats showed normal wall, followed by hyperechoic and few of mixed echogenicity. The content observation was not possible in most of the teats cisterns, and when we observed, the majority had content without cellularity (normal). In the parenchyma, the most of the contents observed showed mixed or increased echogenicity, most of heterogeneity ecotexture. In the histopathological examination of the mammary tissues, the most frequent finding was the presence of inflammatory infiltrates more commonly consisting of lymphocytes and macrophages. Inflammatory cells were most frequently within the tubules and surrounding the acini and galactophore ducts. In the skin was observed orthokeratosis and in teats the papilloma in addition moderate or mild multifocal chronic granulomatous dermatitis. In lymph nodes only one alteration characterized as moderate multifocal acute purulent lymphadenitis was observed. In addition to inflammatory infiltrates, the presence of corpora amylacea in seven samples was observed in the mammary parenchyma. It is concluded that the macroscopic, ultrasonographic and histopathological evaluation methods added to the physical examination can promote a more complete and efficient diagnosis for the diseases of the mammary glands of this species.

Keywords: bovines, histopathology, mastitis, udder, ultrasonography.

LISTA DE ABREVIATÖES E SÍMBOLOS

CCS - contagem de células somáticas

cm - centímetros

CMT - California Mastitis Test

IV - Instituto de Veterinária

Kg - quilogramas

LPC - Laboratório de Pesquisas Clínicas

MHz -Mega Hertz

NDN - nada digno de nota

pH - potencial Hidrogeniônico

PMN - polimorfosnucleares

RJ - Rio de Janeiro

ECN - Estafilococos Coagulase Negativos

UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

WMT - Wisconsin Mastitis Test

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas internas da glândula mamária bovina esquematizada. Fonte: Jairo Serrano (2014). Adaptado.....	8
Figura 2 - Corte histológico de glândula mamária não infectada e infectada. a) Quarto mamário não infectado: D: ductos com grande lúmen contendo secreções; S: estroma; A: alvéolos; b) Quarto mamário infectado por <i>S. aureus</i> . Observa-se maior quantidade de estroma (S). Aumento 180x. Fonte: Nickerson; Kautz e Nace (2013).....	9
Figura 4 - Posição da glândula mamária e do examinador durante a ultrassonografia. Avaliação do quarto posterior esquerdo.	10
Figura 3 - Glândula mamária bovina. Posicionamento em relação ao avaliador. Quartos maiores e mais separadas correspondem às glândulas anteriores, direita e esquerda.	11
Figura 5: Parênquima mamário heterogêneo com áreas de coloração amarelada infiltradas sugerindo substituição do parênquima por tecido conjuntivo.	13
Figura 6 - Parênquima de glândula mamária com aspecto irregular, áreas pálidas e avermelhadas indicando congestão ou hiperemia.	13
Figura 7 - Glândula mamária bovina apresentando os quartos caudal e cranial direitos aumentados de volume (esquerda). Ao toque notava-se a consistência firme e ao corte (direita) parênquima heterogêneo.....	13
Figura 8 - Parênquima mamário evidenciando conteúdo denso, branco, com grumos em área delimitada por cápsula fibrosa. Abscesso.....	14
Figura 9 - Presença de sangue no tecido subcutâneo de glândula mamária bovina - hematoma.	14
Figura 10 - Parênquima de glândula mamária com aspecto irregular, coloração esbranquiçada, aspecto gorduroso. Friável.....	15
Figura 11 - À esquerda: múltiplos nódulos hemolinfáticos em glândula mamária bovina. A direita: nódulo hemolinfático seccionado longitudinalmente.....	15
Figura 12 - Teto com aspecto normal (esquerda) e com parede espessada (direita), de uma mesma glândula mamária.	16
Figura 13 - Glândula mamária de vaca evidenciando ao corte a presença de abundante secreção branco-esverdeada, espessa com grumos.....	18
Figura 14 - Teta de vaca evidenciando ao corte a presença de secreção gelatinosa, translúcida, homogênea e área de congestão e pequenas hemorragias na parede da teta.	18

Figura 15 - Parênquima de glândula mamária com a presença de secreção gelatinosa, aspecto homogêneo e coloração amarela amarronzada.	19
Figura 16 - Glândula mamária bovina evidenciando ao corte a presença de secreção espessa, branco-avermelhada, com grumos amarelados.	19
Figura 17 - glândulas mamárias bovinas evidenciando secreções de diferentes aspectos. À esquerda secreção serosa amarelada. No centro secreção seropurulenta. À direita secreção purulenta.	20
Figura 18 - À esquerda dois tetos de um mesmo úbere evidenciando a diferença de tamanho (hipertrofia). À direita imagem ultrassonográfica do canal do teto evidenciado como uma fina linha hiperecoica central e parede espessada.	22
Figura 19 - Observa-se a cisterna do teto como uma estrutura hipocóica com conteúdo de alta celularidade evidenciada por ecogenicidade variável.	23
Figura 20 - A esquerda cisterna do teto com discreto acúmulo de conteúdo anecóico . A direita cisterna do teto com muito conteúdo mais hiperecóico em relação ao anterior.	24
Figura 21 - Cisterna do teto com presença de pontos hiperecoicos sugestivos de gás (seta amarela).	24
Figura 22 - Parede do teto de mamas craniais esquerdas de diferentes glândulas com espessura similar (1,91 e 1,92 cm), ecogenicidade normal (esquerda) e aumentada (direita) da parede. Conteúdo da cisterna com ecogenicidade aumentada indicando aumento de celularidade do conteúdo.	25
Figura 23 - Parênquima mamário com áreas hiperecogênicas (seta amarela) formadoras de sombra acústica, de distribuição heterogênia em comparação ao padrão uniformemente ecogênico do parênquima descrito como normal.	26
Figura 24 - imagem ultrassonográfica de glândulas mamárias de vacas. Evidencia-se no parênquima áreas irregulares hipocogênicas correspondentes aos ductos lactíferos.	27
Figura 25 - Cisterna de diferentes glândulas com conteúdo hipocóico (esquerda) e com ecogenicidade aumentada e heterogênia, sugerindo aumento de celularidade na secreção (direita).	27
Figura 26 - Parênquima de glândula mamária bovina com áreas hiperecoicas sugestivas de gás (seta amarela).	28
Figura 27 - Cisterna da glândula mamária com conteúdo de ecogenicidade mista evidenciando-se pontos hiperecoicos no tecido adjacente.	28

Figura 28 - Formações nodulares delimitadas por áreas hipoeóicas, formadoras de sôbra acústica lateral, características de abscessos encapsulados e conteúdo com alta celularidade. À esquerda abscessos com conteúdo mais ecogênico (hipereóico) e alta celularidade.....	29
Figura 29 - Parênquima de glândula mamária contendo em seu interior formação nodular delimitada, caracterizada como nódulo hemolinfático. À direita a imagem em maior aumento.	29
Figura 30 - Área hipoeóica em formato riniforme ou de elipse (córtex) e área central com aumento da ecogenicidade (medular) como uma linha irregular, e pontos de hipereogenicidade difusas, externamente ao córtex na área inferior. Ecotextura homogenia formando i imagem espelhada de linfonodo retromamário de vaca.	31
Figura 31 - Linfonodo retromamário de vaca. Nota-se a presença de pontos hipereóicos na área central e adjacentes à cortical (lado direito).	31
Figura 32 - Linfonodo retromamário de vaca. Nota-se a presença de áreas hipereogênicas no centro, indicado pela seta vermelha (cortical) e áreas de ecogenicidade aumentada (reforço acústico) adjacentes à cortical, indicada pela seta amarela (inferior).....	32
Figura 33 - Linfonodo retromamário de vaca. Observam-se áreas de ecogenicidade aumentada, formato irregular, sugerindo a presença de gás ou fibrose entre uma área hipoeogênica, delimitada e uma linha hipereogênica central.	32
Figura 34 - Três áreas circulares, hipoeóicas, de ecotextura homogenia, tamanhos variados, contornos definidos, tecidos adjacentes com áreas hipereóicas formando sombra acústica. Nódulos hemolinfáticas no tecido subcutâneo.	33
Figura 35 - Área elíptica hipoeóica no interior do parênquima mamário hipereóico e homogêneo. Nódulo hemolinfático.	33
Figura 36 - Infiltrado inflamatório linfocítico periacinar. HE, 20x.	39
Figura 37 - Infiltrado inflamatório linfocítico periacinar com leve quantidade de macrófagos. HE, 40x.	39
Figura 38 - Neutrófilos no interior de ácinos de um lóbulo mamário. HE, 40x.....	40
Figura 39 - Neutrófilos no interior de ácinos de um lóbulo mamário. HE, 40x.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alterações macroscópicas úberes de vacas de descarte abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.	12
Tabela 2 - Secreções observadas na avaliação macroscópica de glândulas mamárias de vacas de descarte abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.	17
Tabela 3 - Ecogenicidade e ecotextura da parede dos tetos de glândulas mamárias de vacas abatidas para consumo. Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2016.	22
Tabela 4 - presença, quantidade e celularidade do conteúdo observado no interior da cisterna da teta de vacas abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.	23
Tabela 5 - Ecogenicidade e ecotextura do parênquima de glândulas mamárias de vacas abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.....	25
Tabela 6 - Conteúdo dos Ductos Lactíferos e sua celularidade de 100 quartos mamários de vacas abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016. .	27
Tabela 7 - Tipo de células presentes no infiltrado inflamatório de glândulas mamárias de vacas de descarte abatidas para consumo. Exame histopatológico. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.	36
Tabela 8 - Localização do infiltrado inflamatório de glândulas mamárias de vacas de descarte abatidas para consumo. Exame histopatológico. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Mastite.....	2
2.1.1	Definição e formas	2
2.1.2	Importância.....	2
2.1.3	Etiologia	3
2.1.4	Diagnóstico.....	4
2.1.5	Tratamento e Controle.....	4
2.2	Exame Ultrassonográfico.....	5
2.3	Morfologia e Histopatologia da Glândula Mamária	7
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1	Local e Animais	10
3.2	Exame Ultrassonográfico.....	10
3.3	Exame Macroscópico das Glândulas Mamárias	11
3.4	Exame histopatológico.....	11
3.5	Análise Estatística.....	11
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4.1	Exame Macroscópico.....	12
4.2	Exame ultrassonográfico.....	20
4.2.1	Técnica	20
4.2.2	Tetas	21
4.2.3	Parênquima	25
4.2.4	Mastite.....	29
4.2.5	Linfonodos	30
4.3.1	Pele.....	33
4.3.2	Tetos	34
4.3.3	Linfonodos	35
4.3.4	Mama.....	36
5	CONCLUSÕES	44
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1 INTRODUÇÃO

De etiologia multifatorial, a mastite pode ter apresentação clínica ou subclínica, e evolução superaguda, aguda ou crônica. Tem grande prevalência em rebanhos leiteiros, gerando grandes prejuízos pela redução da quantidade de leite produzida ou perda total da capacidade secretora da glândula mamária afetada, devido aos custos do tratamento, descarte de leite e reposição de animais, além de modificar as características químicas, físicas e microbiológicas do leite comprometendo sua qualidade (HOGAN et al., 1999).

A forma clínica é facilmente diagnosticada pela visualização das alterações no leite (grumos, sangue, pus ou leite aguado) e na glândula mamária (nódulos, edema, calor, dor e vermelhidão). Para mastite subclínica o principal critério para diagnóstico é o aumento das células somáticas do leite. As células somáticas podem ser avaliadas por métodos automatizados ou em lâminas, e por testes indiretos como o *California Mastitis Test* (CMT). A cultura microbiológica é um método definitivo para demonstrar a presença de microrganismos no leite e caracterizar a infecção.

A ultrassonografia, cada vez mais utilizada no diagnóstico das afecções do úbere permite a visualização e a avaliação completa de estruturas anatômicas e permite identificar alterações de dimensão, ecogenicidade e ecotextura relacionadas à inflamação indicando lesões como edema, hematoma, abscessos, atrofia e fibrose no parênquima mamário.

O exame histopatológico não é convencionalmente utilizado no diagnóstico de mastite. No entanto, sua utilização em associação com o exame ultrassonográfico, pode fornecer uma relação direta com os achados físicos possibilitando maior compreensão das lesões e dos processos patológicos da glândula mamária.

A ultrassonografia para avaliação reprodutiva é amplamente utilizada no Brasil. Assim, pode-se utilizar o mesmo equipamento para avaliação reprodutiva e do úbere. Nesse contexto, objetivou-se realizar a caracterização macroscópica, ultrassonográfica e microscópica de lesões em glândula mamária de vacas, buscando-se dados auxiliares ao diagnóstico de mastite bovina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mastite

2.1.1 Definição e formas

Mastite, a inflamação da glândula mamária segundo a forma de apresentação, é classificada em clínica ou subclínica, e quanto às formas duração e intensidade dos sinais em superaguda, aguda, subaguda e crônica (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Caracteriza-se por alterações nas características físicas, químicas e geralmente microbiológicas do leite e/ou por alterações no tecido glandular da mama (RADOSTITIS et al., 2007).

A mastite clínica é caracterizada por alterações visíveis no leite, como presença de gomos, pus, sangue, fibrina, e ainda pode ocorrer alterações na glândula mamária, como edema, endurecimento, dor e aumento de temperatura (RIBEIRO et al., 2003). Dependendo do patógeno envolvido, pode haver comprometimento sistêmico com manifestações como apatia, desidratação e febre, principalmente em casos hiperagudos, que podem colocar em risco a vida do animal (BRITO et al., 2007).

A forma de maior prevalência é a subclínica, na qual não há alterações visíveis no leite e no úbere (BRITO et al., 2007), e no entanto há aumento nas células somáticas, podendo sua confirmação ser feita por meio de isolamento microbiológico (RIBEIRO et al., 2003).

2.1.2 Importância

A mastite é considerada a doença mais prejudicial à atividade leiteira em todo o mundo (TOZZETTI; BATAIER; ALMEIDA, 2008). Os prejuízos envolvem além dos animais, os produtores, a indústria que utiliza o leite como matéria-prima e o consumidor final (HUIJPS et al., 2008).

O impacto econômico deve ser ressaltado, principalmente, pelas perdas decorrentes de baixa produção, alto custo com o tratamento, perda de quartos mamários, honorários veterinários, morte ou descarte dos animais acometidos, além dos prejuízos a indústria de laticínios (LANGONI et al., 2015).

A possibilidade de transmissão de agentes com potencial zoonótico, os efeitos tóxicos e o desencadeamento de processos alérgicos decorrentes do uso de antibióticos no controle da infecção, constituem um risco potencial à saúde dos consumidores (CASSOL et al., 2010).

No Brasil, a alta prevalência em rebanhos leiteiros representa prejuízo de 16 a 71% na produção (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004), custos estimados em R\$ 28,68 por vaca com mastite clínica subaguda e R\$110,43 por vaca acometida com mastite aguda (LOPES et al., 2012). Carneiro et al. (2004) estimaram perdas de US\$ 100,43 por vaca/ano, por cada caso de mastite clínica, sem incluir as despesas com prevenção.

Os prejuízos causados pela mastite ambiental são estimados em R\$ 200,00 por caso clínico, sendo que cerca de 90% desse custo ocorre por redução da produção (cerca de 450 kg/caso) e descarte do leite (cerca de 260 kg/caso) (SANTOS, 2012). Estes valores evidenciam a importância da doença nos sistemas de produção de leite e justificam os esforços para o controle da doença.

2.1.3 Etiologia

A inflamação da glândula mamária e sua intensidade dependem da interação entre fatores relacionados ao animal, ao homem, ao ambiente e presença de agentes patogênicos. A etiologia é complexa, e a reação inflamatória da glândula mamária pode ser ocasionada por agressões físicas, químicas, térmicas, alérgicas, e mais frequentemente por bactérias, além de fungos, leveduras, vírus ou algas. Mais de 130 espécies de microrganismos pertencentes a 35 gêneros, classificados como patógenos contagiosos ou ambientais, de acordo com o reservatório primário e o modo de transmissão estão envolvidos com a etiologia da mastite (SCHOCKEN-ITURRINO et al., 1996; RIBEIRO et al., 2003).

As bactérias mais frequentemente isoladas em casos de mastite pertencem aos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium* (LAFFRANCHI et al., 2001; TENHAGEN et al., 2006; FERREIRA et al., 2007; PIEPERS et al., 2007; LAKEW; TOLOSA; TIGRE, 2009; MEDEIROS; SOUZA, 2009; ERICSSON UNNERSTAD et al., 2009; SPANAMBERG et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

Como em outros países, também no Brasil, as bactérias do gênero *Staphylococcus* são responsáveis por mais de 50% das mastites subclínicas (LANFFRANCHI et al., 2001; FREITAS et al., 2005; FERREIRA et al., 2007; SOUTO et al., 2010; MOTA et al., 2012; CHAGAS et al., 2012; BRITO et al., 2014).

As principais bactérias causadoras de mastites possuem comportamentos distintos quanto ao habitat, forma de colonização do úbere, potencial de infecção e resposta do hospedeiro (FERNANDES, 2006). Com base nas características das bactérias envolvidas, a mastite é classificada em contagiosa e ambiental (PHILPOT; NICKERSON, 1991).

Os agentes ambientais incluem bactérias como *Streptococcus uberis* e outros estreptococos, enterobactérias, *Actinomyces pyogenes* e *Pseudomonas* sp., além de fungos, principalmente leveduras, e algas clorofiladas do gênero *Prototheca* sp. (COSTA, 2010). Estes habitam normalmente o ambiente das vacas leiteiras (MENDONÇA et al., 2001), bem como estão presentes nos utensílios utilizados na ordenha e nas mãos dos ordenhadores. Os tetos são expostos à infecção principalmente, no intervalo entre as ordenhas (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Os agentes contagiosos como *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, e *Corynebacterium bovis* têm como habitat a superfície da pele e tetos onde podem permanecer desde semanas a anos. Por outro lado, apresentam pouco tempo de sobrevivência no ambiente externo (HARMON, 1994), sendo transferidos de um animal para outro principalmente no momento da ordenha (PHILPOT; NICKERSON, 2002). São bem adaptados à sobrevivência no úbere e usualmente estabelecem infecções subclínicas, geralmente de longa duração ou crônica, apresentando alta contagem de células somáticas. (FONSECA; SANTOS, 2000).

Ribeiro et al. (2004) observaram para a mastite contagiosa prevalência de 97,1% de casos subclínicos frente a 2,9% de casos clínicos.

Segundo Philpot e Nickerson (2002) existe outro grupo etiológico da mastite, os microrganismos oportunistas em que predominam os estafilococos coagulase negativos (ECN), como o *S. epidermidis*, *S. chromogenes* e *S. simulans* principalmente associados a casos subclínicos. A presença desses microrganismos é maior em propriedades que reduziram o número de infecções causadas por outros patógenos, sendo mais frequentes em animais de primeira lactação com frequência de isolamento entre 14% a 68% (LAFFRANCHI et al., 2001; MACHADO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011; MOTA et al., 2012; BRITO et al., 2014).

2.1.4 Diagnóstico

A mastite clínica caracteriza-se por apresentar os sinais clássicos da inflamação: rubor, hipertermia, algemia, tumefação e edemaciação. Segundo Dirksen et al. (1993) o leite pode estar aquoso, contendo grumos além de outras substâncias como fibrina, soro, sangue e pus; podem ou não ocorrer manifestações sistêmicas como perda de apetite, apatia e às vezes, pode levar à morte. O isolamento bacteriano e o respectivo antibiograma além de úteis para confirmar o diagnóstico clínico e orientar o tratamento podem indicar medidas específicas de controle (RUEGG, 2003).

O teste mais utilizado para o diagnóstico de mastite clínica se baseia na observação de anormalidades nos primeiros jatos de leite recolhidos em um recipiente de fundo escuro (caneca telada). Este teste auxilia também no estímulo da descida do leite e diminui a contagem de bactérias no leite após a ordenha, uma vez que a maior parte delas está presente nos primeiros jatos (RIBEIRO et al., 2003).

Na forma subclínica, não se observam alterações macroscópicas do leite e não há sinais visíveis de inflamação do úbere (CULLOR et al., 1994).

A presença de patógenos e suas toxinas no úbere induzem à resposta inflamatória caracterizada pela elevação dos níveis de leucócitos (células somáticas) e alterações dos componentes do leite (RADOSTITS et al., 2007). O aumento na contagem de células somáticas (CCS) é a principal característica utilizada para o diagnóstico de mastites subclínicas em vacas individual e para estimar os índices de mastite no rebanho. Testes como contagem microscópica direta em lâminas, *California Mastitis Test* (CMT), *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) e contagem eletrônica podem ser empregados para avaliar CCS do leite (OLIVEIRA et al., 2013).

A composição do leite mastítico sofre mudanças consideráveis. Aumento do teor de cloreto e diminuição de caseína, gordura, sólidos totais e lactose são as alterações mais relevantes (BRITO; SALES, 2007).

Os métodos mais usados para diagnóstico de mastite subclínica incluem exames microbiológicos, métodos químicos indiretos e a CCS do leite dos quartos mamários individuais, dos animais ou do rebanho (QUINN et al., 1994; PEREIRA, 2005).

Além dos métodos já citados o comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite, pode ser utilizado como método auxiliar em diagnóstico de mastite subclínica. Quando a glândula está acometida pela mastite, há uma diminuição na concentração de potássio e aumento na concentração de sódio e cloreto, levando a um aumento na condutividade elétrica do leite (ZAFALON et al., 2005).

Com o avanço da tecnologia e seu uso em medicina veterinária, outros métodos de diagnóstico de mastite foram surgindo, a exemplo da ultrassonografia da glândula mamária (BLOND; BUCZINSKI, 2009) pelo qual é possível evidenciar alterações como edemas, hematomas, abscessos, aumento na densidade do leite, atrofia e fibrose (FRANZ et al., 2009; SANTOS et al., 2014).

2.1.5 Tratamento e Controle

O tratamento das infecções intramamárias é realizado com maior eficácia e segurança, se baseado no resultado da cultura microbiológica, complementada com o teste de sensibilidade *in vitro* para diferentes antimicrobianos (MULLER, 2002; DIAS, 2007).

O antibiograma testa a sensibilidade do agente frente a uma variedade de drogas, determinando a qual delas o microrganismo é resistente ou sensível (MARGATHO et al., 1998; PHILPOT; NICKERSON, 2002), permitindo escolher o tratamento com a certeza de

se estar utilizando o produto que melhor se aplica no combate aos agentes de mastite na propriedade (FERNANDES, 2006).

Casos de mastite clínica devem ser tratados imediatamente, observando o perfil microbiológico e de sensibilidade, dose e via de aplicação (DIAS, 2007), iniciando-se o tratamento de imediato e posteriormente observando o perfil de sensibilidade microbiológica com mudança do antibiótico quando o utilizado se mostra resistente. Para o tratamento das mastites subclínicas devem ser levados em consideração o custo, o tempo de eliminação dos antibióticos e a perda de leite. Recomenda-se o mínimo de aplicações, de forma a buscar a cura dos animais e o retorno rápido à produção com perda menor de leite pelo descarte (WILSON et al., 1996, CULLOR, 1993). A vaca em tratamento ou a tratada recentemente, deve ser ordenhada diariamente e seu leite descartado (RADOSTITS et al., 2007).

A administração intramamária de antimicrobianos é a forma mais frequente de tratamento (POL; RUEGG, 2007). Terapia parenteral deve ser empregada somente em casos de envolvimento sistêmico, visto que a ação bactericida sob o tecido mamário é baixa, devido ao comprometimento da difusão do antibiótico na mama, o que não ocorre em casos de intensa inflamação, pois envolve maior aporte sanguíneo para região (MULLER, 2002; DIAS, 2007).

Tanto o início como final do período de lactação são os momentos de maior risco para o desenvolvimento de infecções intramamárias, onde o úbere torna-se mais susceptível (RADOSTITS et al., 2007). Assim, preconiza-se a medicação das vacas na interrupção da lactação (secagem), por via intramamária, com produto de longa ação. Esta medida tem por finalidade a cura de possíveis infecções subclínicas e também a prevenção de infecções durante o período seco (MULLER, 2002; DIAS, 2007).

Os programas de controle da mastite incluem diferentes aspectos: pesquisar os agentes infecciosos; tratar imediatamente e de forma adequada todos os casos clínicos; fazer uma escala (linha) de ordenha com base na ocorrência de mastite clínica e subclínica; realizar corretamente a manutenção e utilizar de forma correta o equipamento de ordenha; realizar limpeza individual dos tetos antes da ordenha; fazer imersão dos tetos de todas as vacas ordenhadas em solução antisséptica pré e pós-ordenha; secar os tetos com papel toalha antes da ordenha; rejeitar os primeiros jatos de leite (verificar cor e textura em um recipiente de fundo preto); realizar frequentemente o CMT; fechar o registro de vácuo antes de retirar as teteiras e fazer desinfecção das mesmas entre cada animal; alimentar os animais após a ordenha e utilizar antibióticos na interrupção da lactação (terapia da vaca seca) (PHILPOT; NICKERSON, 1991, FONSECA; SANTOS, 2000).

2.2 Exame Ultrassonográfico

A ultrassonografia é um método de diagnóstico por imagem, que fornece informações em tempo real sobre a arquitetura e características de órgãos, sendo capaz de identificar suas condições fisiológicas e patológicas (PEIXOTO et al., 2010).

O exame ultrassonográfico apresenta muitos benefícios, no entanto devido a uma análise subjetiva e individual há divergências na interpretação de seus resultados (VESCOVI et al., 2009), o que justifica os estudos visando estabelecer com maior precisão a relação entre os achados ultrassonográficos e as lesões correspondentes.

A técnica se baseia na emissão de ondas sonoras que quando encontram uma barreira (tecidos), são refletidas (ecos) e capturadas pelo aparelho que transforma os ecos em imagem (RODRIGUES; RODRIGUES, 2009). A ultrassonografia, portanto, é o

resultado da leitura dos ecos gerados pelas reflexões do ultrassom nos diversos meios ao longo de seu caminho (MASSELLI; KUAN HU; PINHEIRO, 2013).

O exame ultrassonográfico das glândulas mamárias deve ser realizado com utilização de gel, que ao eliminar o ar entre o transdutor e a estrutura avaliada, gera continuidade do meio, facilitando a propagação das ondas e melhor visualização das estruturas (BRAGA et al., 2015). Para avaliação dos tetos recomenda-se a imersão em um recipiente de água ou gel, visando a facilitar a propagação de onda e a visualização do órgão examinado (PORCIONATO et al., 2009). Para isso o teto é colocado em um recipiente contendo água ou gel e desta forma utiliza-se o transdutor nessa imersão, obtendo assim uma melhor visualização.

Os tecidos apresentam diferentes impedâncias acústicas (resistência ao movimento das partículas causado pelo ultrassom), e essa diferença confere à imagem uma característica de maior ou menor ecogenicidade (hiperecoica, hipoecoica ou anecoica, respectivamente) (BRAGA et al., 2015).

Os tecidos que criam ecos mais brilhantes como os ossos, gordura e parede vesicular são denominados hiperecoicos. Os que formam imagens menos brilhantes como linfonodos e músculos são denominados hipoecoicos. A estrutura anecoica será vista como uma imagem preta, livre de ecos. São exemplos os vasos sanguíneos, a urina e a bile (PEIXOTO et al., 2010).

De acordo com Stocker et al. (1989) para o exame do úbere de fêmeas bovinas deve-se utilizar um transdutor linear e a melhor frequência está entre 5 e 7,5 MHz.

Além da utilização da imagem para avaliar as condições de saúde do úbere e identificar alterações de dimensão, ecogenicidade e ecotextura relacionadas à mastite (PORCIONATO et al., 2009; BRAGA et al., 2015).

A ultrassonografia da glândula mamária já foi utilizado para identificação de lesões como edema, hematoma, abscesso, atrofia e fibrose no parênquima mamário (SANTOS et al., 2014), para medição da cisterna mamária, diâmetro e comprimento do canal do teto e espessura de sua parede, a fim de relacionar esse parâmetros com produção de leite e mastite (PORCIONATO et al., 2009).

A imagem ultrassonográfica pode ser relacionada com a CCS do leite, uma vez que vacas que apresentam tetos com comprimento do canal do teto menor, apresentaram maior escore no CMT, sugerindo maior predisposição a mastite (SEKER et al., 2009), que é a ferramenta diagnóstica amplamente utilizada para diagnóstico das mastites, especialmente subclínica.

A imagem da glândula mamária normal ao exame ultrassonográfico, tem uma ecogenicidade homogênea, com regiões anecoicas que correspondem a vasos sanguíneos e ductos lácteos. A cisterna é visualizada como uma estrutura anecoica com possível ocorrência de partículas ecoicas no leite (FLÖCK; WINTER, 2006).

Segundo Trostle e O'Brien (1998) há um aumento de partículas ecoicas dos ductos lácteos inflamados e com aumento de conteúdo celular.

As alterações de imagem na ultrassonografia são dependentes do grau de comprometimento da glândula mamária. Nas mastites agudas há formação de uma imagem heterogênea hipoecoica, enquanto nas mastites crônicas com fibrose há um aumento na ecogenicidade (TROSTLE; O'BRIEN, 1998).

Outros padrões ultrassonográficos relacionados à glândula mamária e mastite foram descritos por Flöck e Winter (2006). Hematomas corresponderam a uma grande região anecoica ou hipoecoica com septos de livre flutuação; formação de gás foi relacionada com bactérias Gram-negativas apresentando-se como uma imagem de manchas hiperecoicas com presença de sombras acústicas; casos graves relacionados a *Arcanobacterium*

pyogenes foram visualizados como pontos redondos hipoeoicos (1 cm) e pequeno centro hiperecoico. Padrões hiperecoicos heterogêneos e alguns pontos hipoeoicos foram encontrados e relacionados com infecções leves por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp.* A infecção por Leveduras e ECN mostraram poucos resultados significativos em ultrassonografia.

Em animais hípidos, o limite entre a cisterna da glândula e a cisterna do teto é marcado pela presença de estruturas anecoicas grandes, já a cisterna da glândula é anecoica (FRANZ et al., 2009).

A ultrassonografia não substitui critérios bacteriológicos ou a CCS, mas fornece informações adicionais sobre o estado do úbere e, conseqüentemente, ajuda na determinação de um prognóstico. É mais objetivo do que a palpação da glândula. Além disso, paralelos podem ser encontrados entre a imagem ecográfica do parênquima do úbere afetado e certas espécies de bactérias, particularmente gram-negativas (FLÖCK; WINTER, 2006).

2.3 Morfologia e Histopatologia da Glândula Mamária

A glândula mamária é uma evolução de glândulas sudoríparas, que manteve as características epiteliais secretoras e mioepiteliais. As células secretoras produzem e secretam leite, enquanto as mioepiteliais se contraem para promover o fluxo de leite. Histologicamente a glândula mamária é uma estrutura do tipo túbulo alveolar, apresentando diferentes configurações histológicas de acordo com cada estrutura (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Ao final de cada lactação, as células secretoras sofrem uma involução e durante o período seco permanecem em um estado de descanso (BRITO et al., 2007).

Em bovinos, o conjunto de quatro glândulas funcionais e quatro tetas é conhecido como úbere caracterizado por uma pele coberta por pelagem fina e o teto completamente sem pelos (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2010).

Cada teta drena uma glândula, referida como quarto mamário, separada por tecido conjuntivo, sendo que cada quarto possui drenagem independente, sem que haja fluxo de leite entre os quartos. Em cada quarto há uma cisterna central de armazenamento do leite, que é drenado pela teta na hora da ordenha (PARK; JACOBSON, 1993).

Os alvéolos são agrupados em unidades conhecidas como lóbulos ou lobos, envolvidos individualmente por um septo de tecido conjuntivo denso e tecido adiposo, com seu próprio ducto excretor. Os lobos onde ocorre a síntese e o armazenamento de grande volume de leite são compostos por milhões de alvéolos glandulares (BIRGEL, 2008). Os alvéolos são recobertos por células contráteis de natureza mioepitelial e que respondem ao reflexo de ejeção do leite.

O conjunto de lobos é denominado genericamente de glândula mamária, mas cada lobo é de fato uma glândula mamária, composta de parte secretora e ducto excretor próprio (JUNQUEIRA; CARNEIRO; 2013). Essa organização é típica de uma glândula de armazenagem láctea (BRAGULLA; KÖNIG; 2004).

O parênquima consiste de camada única de células epiteliais secretoras formando os alvéolos mamários que drenam para ductos pequenos que vão progressivamente se unindo a ductos maiores até emergir em uma cisterna, o seio lactífero (BRAGULLA; KÖNIG, 2004; PARK; LINDBERG, 2007). A cisterna do teto se comunica com o exterior por meio do ducto papilar, normalmente chamado canal do teto, que é revestido internamente por um epitélio mucoso estratificado e queratinizado. O canal do teto se abre

como óstio papilar, mantendo-se fechado entre as ordenhas por grupos de fibras musculares que formam o esfíncter (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2010).

Na vaca, os grandes ductos drenam em uma cisterna no interior da glândula (cisterna da glândula) que por sua vez drena para uma cisterna no interior da teta (cisterna da teta) (Figura 1) e daí para um canal único que se abre na porção final da teta (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013).

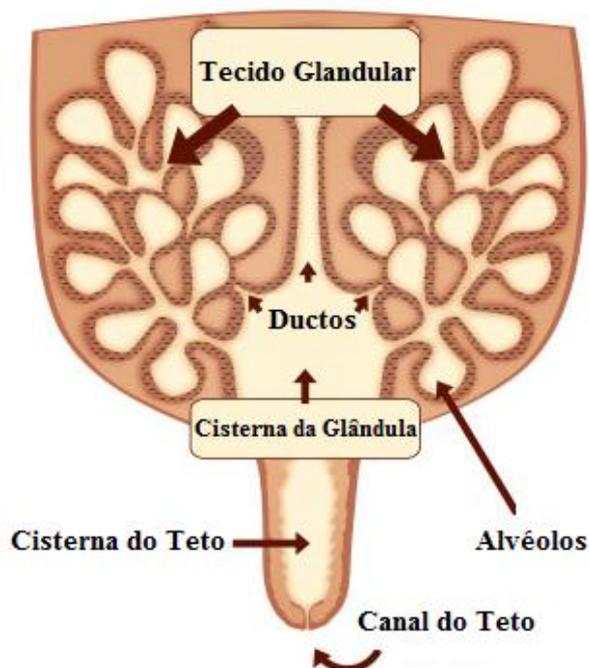


Figura 1 - Estruturas internas da glândula mamária bovina esquematizada. Fonte: Jairo Serrano (2014). Adaptado.

Externamente a teta é revestida por epitélio estratificado pavimentoso, queratinizado. Seu epitélio repousa sobre tecido conjuntivo, com fibras musculares lisas. As fibras musculares estão dispostas circularmente ao redor dos ductos lactíferos e paralelamente aos mesmos, quando estes atravessam a papila para abrir-se no seu ápice (JUNQUEIRA; CARNEIRO; 2013).

A proporção de parênquima secretor e tecido conjuntivo é controlada por mecanismo hormonal. Durante a lactação encontra-se maior proporção de parênquima do que de estroma, e fora da lactação (período seco), predomina o estroma (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2010).

No espaço basal do seio glandular, abrem-se vários ductos lactíferos revestidos internamente por um epitélio estratificado pavimentoso. À medida que o ducto se aprofunda na mama, seu epitélio se torna cada vez mais fino, com menor número de camadas até apresentar apenas duas camadas de células cilíndricas. Mais próximo às unidades secretoras, o epitélio do ducto se torna cúbico simples. Na parede dos ductos existem células musculares lisas (JUNQUEIRA; CARNEIRO; 2013).

O tecido conjuntivo entre os alvéolos é frouxo na glândula em condições normais. Quando há inflamação, ocorre proliferação celular e formação de tecido cicatricial fibroso, podendo levar à atrofia e endurecimento da glândula mamária (BIRGEL, 2008). Em

glândulas infectadas, o exame histopatológico mostra diminuição de áreas epiteliais e alveolares e aumento de estroma e leucocitose, o que ilustra grande inflamação de tecidos (NICKERSON et al., 1995).

Nickerson; Kautz e Nace (2013) compararam tecidos mamários de quartos não infectados com quartos mamários infectados por *Staphylococcus aureus*. Os quartos sadios apresentaram alvéolos pequenos, com uma única camada de revestimento de células cubóides, com ductos possuindo grande lúmen contendo secreções, e tecido conjuntivo interalveolar (estroma). Os tecidos infectados exibiram maiores quantidades de estroma interalveolar, redução do epitélio alveolar e das áreas luminiais, o que sugere uma atividade secretora reduzida. Além disso, os quartos infectados apresentaram maior infiltração de leucócitos (Figura 2).

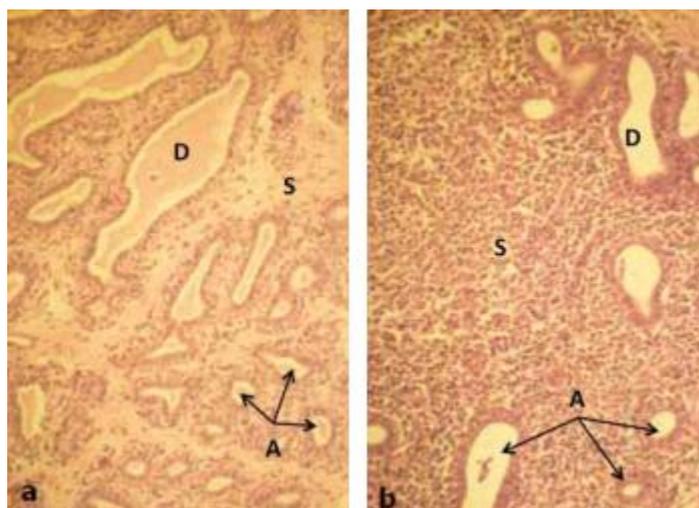


Figura 2 - Corte histológico de glândula mamária não infectada e infectada. a) Quarto mamário não infectado: D: ductos com grande lúmen contendo secreções; S: estroma; A: alvéolos; b) Quarto mamário infectado por *S. aureus*. Observa-se maior quantidade de estroma (S). Aumento 180x. Fonte: Nickerson; Kautz e Nace (2013).

Em estudos histológicos de glândulas mamárias bovinas experimentalmente infectadas por *Prototheca zopfii* (ITO, 2010) as lesões consistiam em infiltrados intersticiais de macrófagos, células plasmáticas, linfócitos e fibroblastos com neutrófilos no lúmen alveolar e microrganismos presentes nos macrófagos, e ausentes no lúmen alveolar e interstício, revelando características típicas granulomatosas. Porém Helmboldt, Jungherr e Plastringe (1953) já destacaram que a diferenciação do agente etiológico a partir do exame histopatológico nem sempre é possível, uma vez que graus semelhantes de mastite tendem a se assemelhar na característica histopatológica, independente do agente causador.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Animais

Foram estudadas 50 úberes (200 glândulas mamárias) de 50 vacas, de diferentes idades e fases de lactação, da raça holandesa ou mestiças, abatidas no Frigorífico Uirapuru, localizado à Rua Aristides Ferreira, Vila Ursulino em Barra Mansa - RJ, segundo normas do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. As coletas foram autorizadas pela Defesa Agropecuária e Coordenadoria de Controle de Qualidade de Produtos Agropecuários Industrializados do Rio de Janeiro, e realizadas pelo Médico Veterinário responsável pelo Frigorífico.

Foram coletados todos os úberes de vacas abatidas nos dias de coleta, sem exame prévio. As peças foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo até o Laboratório de Pesquisas Clínicas (LPC), no Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) onde foram avaliadas.

O transporte do material até o laboratório ocorreu em uma média em torno de 50 minutos, sendo as peças avaliadas imediatamente.

3.2 Exame Ultrassonográfico

A ultrassonografia foi realizada no Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário da UFRRJ, sempre pelo mesmo operador, utilizando-se o aparelho de ultrassonografia Sonoacer 3, da marca Samsung Medson e transdutor retal de 7,5 MHz.

Escaneou-se a imagem (Figura 4) do parênquima, da cisterna da teta e da glândula e dos tetos de todos os quartos mamários de 26 glândulas, segundo a disponibilidade do setor de ultrassonografia, sendo anotadas e fotografadas as alterações evidenciadas. Para quartos mamários sem alteração foi atribuída a sigla NDN (nada digno de nota).



Figura 3 - Posição da glândula mamária e do examinador durante a ultrassonografia. Avaliação do quarto posterior esquerdo.

3.3 Exame Macroscópico das Glândulas Mamárias

No LPC/IV/UFRRJ as glândulas foram lavadas em água corrente, secas com papel toalha descartável, e posicionadas em uma bandeja de metal, identificadas por números sequenciais (01 a 50). A presença de linfonodos retromamários e o posicionamento das tetas foram utilizados para a caracterização dos quartos posteriores e anteriores (Figura 3).



Figura 4 - Glândula mamária bovina. Posicionamento em relação ao avaliador. Quartos maiores e mais separadas correspondem às glândulas anteriores, direita e esquerda.

3.4 Exame histopatológico

Após a ultrassonografia, cada quarto mamário foi aberto com auxílio de bisturi e fragmentos de tecidos com alterações evidenciadas macroscopicamente foram coletados com auxílio de bisturi e tesoura, acondicionados em potes contendo formol a 10% tamponado (pH 7,4) e processados rotineiramente até a inclusão em parafina. Cortes de 5 μ m foram feitos em micrótomo, posteriormente corados por hematoxilina e eosina e analisados com microscopia de luz.

As amostras foram processadas e analisadas no setor de Patologia Animal da UFRRJ, por docentes da área de patologia.

3.5 Análise Estatística

Os dados foram apresentados de forma descritiva (%) e comparados com dados disponíveis na literatura.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Exame Macroscópico

Dos 50 úberes avaliados, 36 apresentaram alterações visíveis macroscopicamente. Em 12 foi observada a presença de leite durante o exame físico e nos demais não se evidenciou a presença de secreção láctea. Desta forma, pela observação de glândulas com menor volume, redução da área luminal dos alvéolos e ausência de secreção láctea supõe-se que 12 vacas estavam em lactação e 38 no período seco.

A maior parte das alterações macroscópicas encontradas estava localizada no parênquima mamário e poucas alterações foram observadas na pele e tetas. Na pele notou-se a presença de carrapatos (44/50 - 90%) e berne em uma glândula (1/50 - 2%). Também foi evidenciado um abscesso localizado lateralmente ao teto da glândula posterior direita.

As alterações referentes ao parênquima mamário estão relacionadas na Tabela 1 onde é possível notar que fibrose (Figura 5) e hiperemia (Figura 6) foram as alterações mais comuns, e estavam presentes em 14 e 11 úberes, respectivamente.

Tabela 1 - Alterações macroscópicas úberes de vacas de descarte abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

ALTERAÇÃO	NÚMERO
Parênquima/glândula	
Hematoma	1
Edema	2
Friável	2
Abscesso	4
Aumento de volume	5
Hiperemia	11
Fibrose	14
Tetos	
Nódulos	2
Parede espessada	1

Outras alterações observadas foram aumento de volume de um ou mais quartos em relação aos demais do mesmo úbere (Figura 7), presença de abscessos (Figura 8) e edema. Observou-se a presença de hematoma em uma glândula (Figura 9) e duas com aumento de volume, coloração esbranquiçada, consistência mole e aparência gordurosa que se despedaçavam facilmente ao serem manuseadas, sendo caracterizadas como friáveis (Figura 10).

A presença de nódulos hemolinfáticos (Figura 11) foi constatada em 14 glândulas como achado único (duas glândulas), ou em conjunto com outras alterações (12 glândulas) como fibrose, hiperemia, abscesso, edema, secreção purulenta, hiperplasia e linfonodos retromamários aumentados.



Figura 5 - Parênquima mamário heterogêneo com áreas de coloração amarelada infiltradas sugerindo substituição do parênquima por tecido conjuntivo.

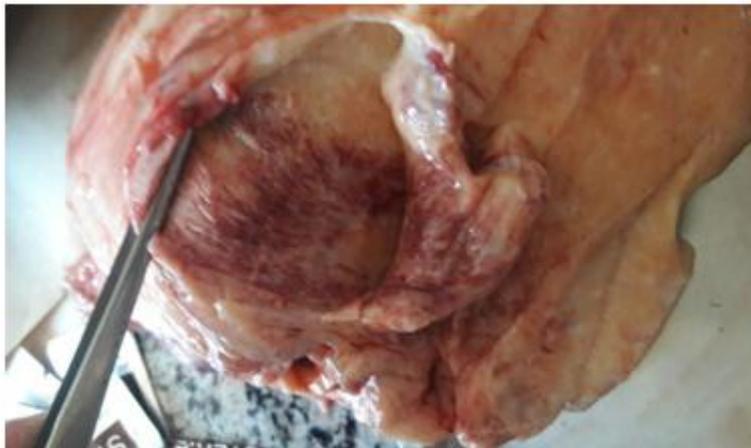


Figura 6 - Parênquima de glândula mamária com aspecto irregular, áreas pálidas e avermelhadas indicando congestão ou hiperemia.



Figura 7 - Glândula mamária bovina apresentando os quartos caudal e cranial direitos aumentados de volume (esquerda). Ao toque notava-se a consistência firme e ao corte (direita) parênquima heterogêneo.

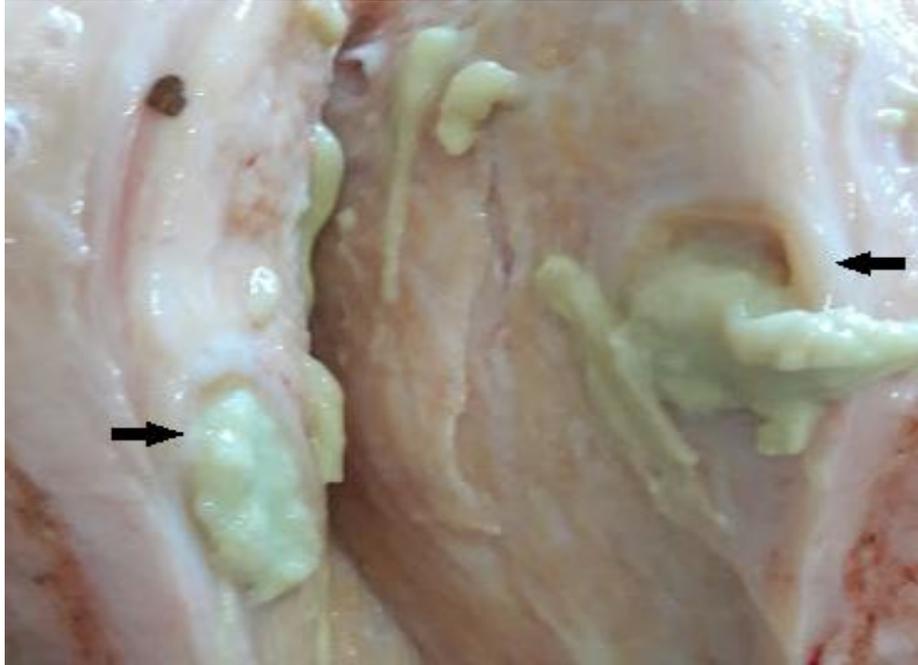


Figura 8 - Parênquima mamário evidenciando conteúdo denso, branco, com grumos em área delimitada por cápsula fibrosa. Abscesso.



Figura 9 - Presença de sangue no tecido subcutâneo de glândula mamária bovina - hematoma.



Figura 10 - Parênquima de glândula mamária com aspecto irregular, coloração esbranquiçada, aspecto gorduroso. Friável.



Figura 11 - À esquerda: múltiplos nódulos hemolinfáticos em glândula mamária bovina. A direita: nódulo hemolinfático seccionado longitudinalmente

Abscessos são coleções de pus e tecido necrosado envoltos por uma cápsula de tecido fibroso (ZACHARY; Mc GAVIN, 2009). Na mama, o abscesso localizado externamente pode ter origem traumática, mas sua presença no parênquima sugere que a mesma foi acometida por um processo infeccioso (mastite), uma vez que alguns microrganismos causadores de mastite principalmente *Arcanobacterium pyogenes*, (MOTTA et al., 2011) e *Staphylococcus aureus* (GUNTHER et al., 2011; BENEDETTE et al., 2008), são capazes de provocar a formação de abscessos em diferentes localizações.

Como descrito por Dirksen et al. (1993) alterações como edema, hiperemia, hiperplasia e fibrose são sugestivas de infecção na glândula mamária, sendo que o edema e a hiperemia ocorrem na fase inicial do processo inflamatório ou infeccioso e a fibrose é

comum no processo crônico, e ocorre segundo Brito e Sales (2007) como resultado da infecção e inflamação tecidual, levando a morte celular e substituição por tecido conjuntivo.

Os hematomas resultam de um extravasamento de sangue que difusamente infiltra o parênquima mamário e tende a formar uma coleção de sangue local. Em humanos os hematomas são raramente encontrados sem histórico de trauma recente, podendo ocorrer após contusões, cirurgias, punções, doenças hematológicas ou outras condições que levem a uma trombocitopenia (KANEGUSUKU et al., 2001). Na literatura consultada não foram encontrados relatos da presença de hematomas relacionados à mastite. Assim, o hematoma encontrado na glândula mamária de uma vaca, sugere a ocorrência de traumas e contusões com o animal vivo, o que pode ter ocorrido durante o transporte, ou manejo precedente.

Os nódulos hemolinfáticos, também chamados de nódulos hemáticos ou hemolinfonodos, são órgãos linfóides encontrados em vários mamíferos e em algumas aves. São estruturas independentes e que desempenham papel contra infecções, promovendo a filtração do sangue (ZIDAN, PABST, 2010). Esses gânglios contêm numerosos eritrócitos em seus seios linfáticos, o que os difere dos folículos linfóides. São estruturas com características funcionais semelhantes e possuem capacidade imunológica próxima a de linfonodos e baço (SAKITA et al., 1997). Além da função imunológica, os nódulos hemolinfáticos segundo Ezeasor e Singh (1988), fazem eritrofagocitose, filtram o sangue e removem eritrócitos senescentes.

Em bovinos, a distribuição destes nódulos é tipicamente ao longo dos grandes vasos, regiões mediastínicas e mesentéricas, gordura perineal e tecido subcutâneo. São de formato ovóide, vermelho escuro. Segundo Bassan et al. (1999) há grande variabilidade individual e racial em relação ao número e tamanho desses nódulos. Não é relacionada sua localização nas glândulas mamárias e na literatura consultada não há relação entre esses nódulos e a presença de mastite e outras afecções em glândulas mamárias de bovinos, sugerindo que no presente trabalho, podem ser um achado sem significado diagnóstico. No entanto, sugere-se que essa relação deve ser mais estudada em futuros trabalhos.

Externamente nos tetos, foram encontradas poucas alterações, sendo duas glândulas com projeções epiteliais em forma de papilas ou verrugas e uma com o teto espessado (Figura 12) e duro ao toque.



Figura 12 - Teto com aspecto normal (esquerda) e com parede espessada (direita), de uma mesma glândula mamária.

Segundo Sieber e Farnsworth (1981) as lesões de tetos podem ser de etiologia traumática, infecciosa, ambiental ou química. Vários agentes causam lesões infecciosas

nos tetos, sendo mais comuns as infecções por bactérias e vírus. As lesões se tornam importantes na medida em que o teto passa a atuar como porta de entrada para infecções, aumentando assim o risco de mastites (KILDER, 2014).

Os nódulos presentes nos tetos apresentavam aparência verrucosa, sugestiva de papilomatose, uma enfermidade infectocontagiosa, de origem viral, crônica, de caráter tumoral benigno e natureza fibroepitelial, caracterizando-se por tumores localizados na pele e mucosas comuns em bovinos. Embora mais frequente em animais de até 2 anos de idade, em bovinos leiteiros adultos e novilhas parece apresentar certa predileção por úbere e tetas. Os nódulos encontrados nos dois tetos deste trabalho tinham aparência semelhante à descrição de Tessele e Barros (2016), sugerindo tratar-se de um processo inicial de papilomatose. Porém, conforme Monteiro et al. (2008) o diagnóstico definitivo pode ser feito apenas com exame microbiológico ou histopatológico.

Na glândula em que se observou o espessamento difuso e uniforme da parede de um do teto foram também evidenciadas outras alterações, como fibrose, hiperemia e edema, sendo estas lesões sugestivas de um processo inflamatório crônico, porém ativo. Ao corte evidenciou-se que o espessamento da parede levou a uma estenose do canal e da cisterna do teto, que durante a lactação pode provocar a oclusão e impedimento na ejeção do leite, sendo este um fator predisponente à ocorrência de mastites.

Uma alteração comumente observada em tetos de vacas em lactação é a hiperqueratose, caracterizada pela presença de um anel espesso no orifício do teto, por vezes acompanhado de rugosidade (NEIJENHUIS et al., 2000), em decorrência da produção excessiva de queratina em resposta a fatores diversos, especialmente máquinas de ordenha desreguladas e com vácuo excessivo, podendo favorecer o aparecimento de mastites (SOUSA, 2008; AIRES, 2010).

Foi observada a presença de leite em 12 dos 50 úberes estudados, sendo que em sete o leite apresentava coloração branco-amarelada, consistência fluida e homogênea, sem odor, caracterizando um aspecto de leite normal. Em um o leite de coloração esbranquiçada apresentava um aspecto aguado (transparente) e em quatro foi observado leite amarelado, mais espesso e com presença de grumos (Tabela 2) os quais estão relacionados com mastite clínica, sendo comum também a presença de fibrina, sangue e pus (DIRKSEN et al., 1993; PHILPOT; NICKERSON, 2002; PYÖRALÄ, 2003).

Tabela 2 - Secreções observadas na avaliação macroscópica de glândulas mamárias de vacas de descarte abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

SECREÇÃO	NÚMERO
Leite	*
Aspecto normal	7
Aguado	1
Amarelado com grumos	4
Secreção	
Líquida espessa, amarelo-esverdeada, opaca – Purulenta.	4
Líquida gelatinosa, translúcida.	1
Gelatinosa, espessa, amarelo-amarronzada, translúcida, aspecto homogêneo.	5
Líquido viscoso amarelado, translúcido, aspecto homogêneo.	4
Líquido leitoso, espesso, com grumos amarelados.	1

*Correponde ao número de úberes

Foram observadas secreções, com diferentes aspectos, no parênquima e/ou cisterna da mama ou tetas de 15 peças, das quais quatro foram caracterizadas como líquido espesso, amarelo-esverdeado, opaco caracterizando a secreção como purulenta (Figura 13); uma como líquido gelatinoso, translúcido (figura 14), uma como gelatinoso amarelo-amarronzado, translúcido e homogêneo (Figura 15); quatro como viscoso amarelado, translúcido, homogêneo, e uma comoleitoso espesso com grumos amarelados (Figura 16).

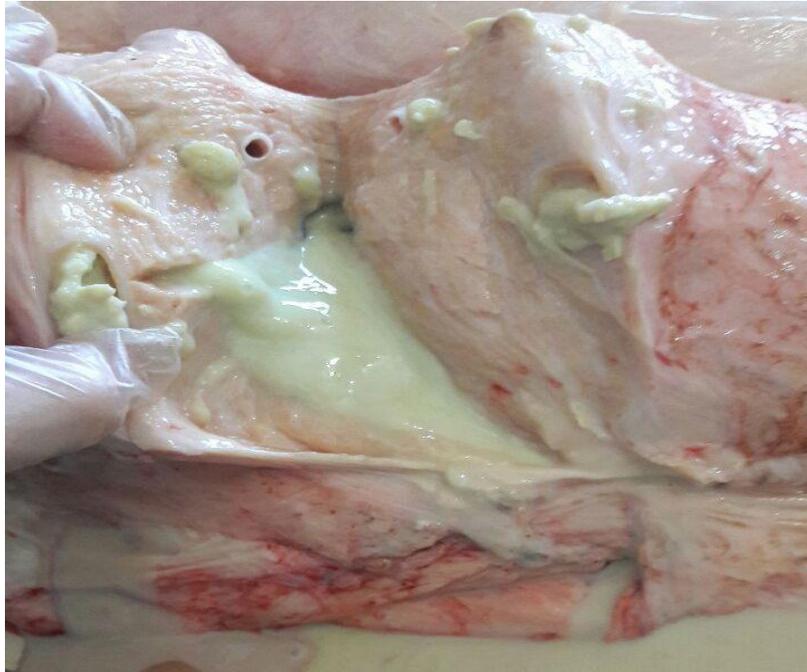


Figura 13 - Glândula mamária de vaca evidenciando ao corte a presença de abundante secreção branco-esverdeada, espessa com grumos.



Figura 14 - Teta de vaca evidenciando ao corte a presença de secreção gelatinosa, translúcida, homogênea e área de congestão e pequenas hemorragias na parede da teta.



Figura 15 - Parênquima de glândula mamária com a presença de secreção gelatinosa, aspecto homogêneo e coloração amarela amarronzada.



Figura 16 - Glândula mamária bovina evidenciando ao corte a presença de secreção espessa, branco-avermelhada, com grumos amarelados.

A presença de secreção purulenta, viscosa, de coloração esverdeada e odor pútrido, como observado em quatro glândulas mamárias, foi relacionada por Motta et al. (2011) com a mastite clínica ocasionada por *Arcanobacterium pyogenes*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterobacter* e *Escherichia coli*.

Alterações inflamatórias na glândula mamária levam a um aumento na permeabilidade vascular, o que está relacionado a presença de líquidos e maior celularidade na glândula mamária (MÜLLER, 2002). A secreção torna-se purulenta na medida em que o processo infeccioso evolui, tendo no seu início uma característica de secreção serosa, que se torna seropurulenta e pode evoluir para pus como observado na glândula demonstrada na figura 17.



Figura 17 - glândulas mamárias bovinas evidenciando secreções de diferentes aspectos. À esquerda secreção serosa amarelada. No centro secreção seropurulenta. À direita secreção purulenta.

Durante a fase de involução, a glândula contém um volume reduzido de fluidos, contendo elevada concentração de imunoglobulinas e lactoferrinas. Com o intuito de proteção há produção de um muco-gorduroso, que obstrui o canal do teto, diminuindo o risco de novas infecções neste período (SIMÕES, 2009).

As secreções gelatinosas encontradas neste trabalho apresentaram aparência que sugere tratar-se desse tampão mucoso presente na glândula nos intervalos da lactação. No entanto, o volume observado parece inconsistente com o muco destinado à proteção da mama. A secreção gelatinosa translúcida observada em uma mama apresentava uma textura mais fluida se comparada a secreção gelatinosa amarelo- amarronzada, o que pode indicar que sua formação é recente e incompleta, sendo possível que a reabsorção dos fluidos tornaria esta secreção mais densa, na medida em que os líquidos fossem reabsorvidos e com o tempo sua coloração se tornaria mais escura (amarelada ou amarronzada). Não foram localizados estudos descrevendo o volume, a coloração, o aspecto e a consistência do conteúdo muco-gorduroso da glândula mamária, e especialmente o volume das secreções encontradas torna essa origem questionável.

4.2 Exame ultrassonográfico

4.2.1 Técnica

A imagem ultrassonográfica da teta em vacas foi descrita por diversos autores (JENNINGER, 1989, KLEIN et al., 2005; FRANZ et al., 2001; NEIJENHUIS et al., 2001; WEIS et al., 2004; STÁDNÍK et al., 2010). Franz et al. (2001) reportaram que na ecografia do canal teta, um transdutor linear com 8,5 MHz produziu imagens de melhor qualidade, porém superficiais, enquanto Couture e Mulon (2005) indicaram que as frequências de 5 MHz, 7,5 MHz e 10 MHz podem ser utilizadas satisfatoriamente para este fim.

No presente estudo, a técnica transcutânea com aplicação de gel mostrou-se adequada para avaliação das tetas e do parênquima mamário. Porém, concordando com observações de Fasulkov et al. (2012), os melhores resultados foram obtidos na avaliação de estruturas do parênquima, não sendo obtidos resultados satisfatórios no exame da papila mamária, da roseta de Furstenberg e de outras estruturas das tetas.

A metodologia utilizada no presente estudo diferiu quanto à frequência previamente estabelecida por outros autores. Contudo, os resultados obtidos foram igualmente satisfatórios para a maioria das estruturas do úbere.

4.2.2 Tetas

A influência das estruturas do canal do teto na saúde da glândula mamária de vacas tem sido avaliada por diferentes métodos. Por ultrassonografia, têm sido mais estudadas as medidas de comprimento do canal da teta e/ou o seu diâmetro, visando definir padrões de conformação ou predisposição a enfermidades mamárias. Neste estudo, as tetas foram avaliadas, mas sem enfatizar as mensurações, o que não seria adequado considerando a diversidade de raças e a origem dos animais em estudo.

Foram capturadas 104 imagens de tetos de 52 glândulas mamárias, a maioria representando a área da cisterna e quando possível, também a cisterna da glândula que se apresenta em continuidade à cisterna da teta.

Em conformidade com o descrito por Cartee; Ibrahim e McLeary (1986) o orifício papilar ou esfíncter da teta, uma estrutura muscular pregueada, cuja função é impedir o vazamento de leite entre as ordenhas foi visualizado como uma formação anecoica localizada na extremidade da teta em continuidade com o canal da teta caracterizado por uma linha hiperecoica, circundada em ambos os lados por duas zonas paralelas hipoeicoicas. Contudo, esta estrutura não foi evidenciada em todas as peças.

A visualização dessas estruturas pode ter sido limitada por estarem sendo avaliadas peças anatômicas, dispostas em posição diferente daquela que se apresenta com o animal em posição quadrupedal e, sobretudo pelo fato de a maioria das glândulas não conterem secreção láctea, visto que os fluidos funcionam como uma janela acústica.

Para melhor visualização das estruturas da teta, recomenda-se a imersão das tetas em um recipiente contendo água ou gel (STOCKER et al., 1989; WILL et al., 1990; FASULKOV, 2012), o que não foi utilizado neste estudo pelo fato de estarem sendo avaliadas peças anatômicas.

Outras recomendações para melhorar a qualidade da imagem das estruturas da teta referem-se ao enchimento por leite, mediante injeção de ocitocina ou preenchimento com solução salina ou leite, mediante inoculação (FRANZ; FLOEK; HOFMANN-PARISOT, 2009) sendo, estas de uso restrito, uma vez que a aplicação de ocitocina é limitada a animais em lactação e a injeção de salina ou leite possui risco de contaminação interna da glândula. E ainda, estas técnicas apresentam como limitação a possibilidade de traumatismos na região do óstio e do ducto papilar, da mesma forma que o tratamento das infecções mamárias conforme destacado por Nickerson (1987). Embora não havendo riscos de contaminação ou traumatismos nas peças anatômicas avaliadas, não se utilizou esses métodos por serem de aplicação restrita.

Em alguns tetos não foi possível visualizar o ducto que aparece como uma linha ecoica central contornada em ambos os lados por duas bandas hipoeogênicas paralelas (FRANZ et al., 2001).

O aumento da ecogenicidade (Tabela 3) da parede dos tetos que confere uma coloração mais clara (hiperecoica) foi observado em 39 tetos e pode estar relacionado a

processos inflamatórios ou fibrose, sendo estas alterações comuns em vacas de leite, especialmente submetidas a ordenhas mecânicas. Os traumatismos das tetas também são frequentes por arranhadura, pisoteio ou manipulação (STARKE et al., 2011).

Tabela 3 - Ecogenicidade e ecotextura da parede dos tetos de glândulas mamárias de vacas abatidas para consumo. Rio de Janeiro, outubro e novembro de 2016.

Parede (ecotextura)		Mucosa (aspecto)	
Característica	Nº	Característica	Nº
Mista	2	Regular	35
Normoecoica	50		
Hipoecoica	0	Irregular	56
Hiperecoica	39		

Apesar da crescente tecnificação e especialização da pecuária leiteira, e da importância dos tetos para a saúde da glândula mamária, as lesões traumáticas dos tetos de vacas de leite foram superficialmente abordadas em artigos técnicos e trabalhos científicos. Já há muito tempo (GÖTZE, 1942) foi destacado que o uso de cercas de arame farpado é a principal causa de lesão traumática dos tetos de vacas em propriedades leiteiras e, no entanto, este ainda é o principal componente das cercas nas propriedades rurais.

O espessamento da parede da teta foi bem evidenciado em uma teta cujo volume aumentado era visível externamente (Figura 18). Nesta glândula não foi possível diferenciar as estruturas internas (canal e cisterna), sendo visualizado conteúdo ecogênico em área não bem delimitada e o canal como uma fina linha hiperecóica central. Na avaliação macroscópica observou-se o espessamento da parede, a mucosa irregular, o estreitamento do canal, e a presença de conteúdo purulento denso na cisterna da teta e da glândula. Estes achados corroboram as observações de Seeh et al. (1996) e Geishauer et al. (2005) sobre a indicação do exame ultrassonográfico para diagnóstico dos distúrbios do fluxo do leite os quais podem ser provocados por estenose parcial ou total da teta decorrentes de lesões sobretudo traumáticas e infecções que resultam em inflamação, edema e sensibilidade dolorosa levando à estase do leite, que favorece a instalação de agentes microbianos e o desenvolvimento de mastite.



Figura 18 - À esquerda dois tetos de um mesmo úbere evidenciando a diferença de tamanho (hipertrofia). À direita imagem ultrassonográfica do canal do teto evidenciado como uma fina linha hiperecoica central e parede espessada.

Conforme Franz; Floek e Hofmann-Parisot (2009) o diâmetro aumentado da teta sugere mastite uma vez que a membrana mucosa do canal e da cisterna da teta encontram-se espessados e os vasos dilatados quando há processos inflamatórios da glândula mamária.

O comprimento e o diâmetro da teta e do canal não foram aferidos em todos os quartos mamários uma vez que estes são variáveis segundo as raças e o número de lactações (MCDONALD, 1968b; BINDE; BAKKE, 1984; MICHEL; RAUSCH, 1988; HAMANN, 1989; HAMANN; BURVENICH, 1994; KLEIN et al., 2005). Segundo Klein et al. (2005), além do comprimento, o diâmetro do canal da teta e a localização da roseta de Furstenberg apresentam diferenças entre raças puras, mas não entre os mestiços das mesmas raças. A cisterna da teta foi evidenciada como uma estrutura hipocóica ou anecoica (Figura 19) com conteúdo de celularidade variável (Tabela 4), circundada por uma linha de ecogenicidade aumentada (mucosa) na maioria das mamas.



Figura 19 - Observa-se a cisterna do teto como uma estrutura hipocóica com conteúdo de alta celularidade evidenciada por ecogenicidade variável.

Tabela 4 - presença, quantidade e celularidade do conteúdo observado no interior da cisterna da teta de vacas abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

Conteúdo	Nº	Celularidade	Nº
Sem conteúdo (não evidente)	38	Nenhuma	42
Pouco conteúdo	40	Pouco aumentada	17
Muito conteúdo	14	Muito aumentada	33*

* Três (3) com conteúdo extremamente aumentado

Em conformidade com a descrição de Franz et al. (2001) sobre a cisterna da teta não ser bem visível se não estiver preenchida com leite, em 38 tetos em que não havia conteúdo em seu interior, sua visualização foi dificultada..

A transição entre o canal da teta e a cisterna da teta, designada como roseta de Furstenberg visualizada por ultrassonografia como duas linhas paralelas hiperecoicas e

homogêneas logo acima do canal da teta (FRANZ; FLOEK; HOFMANN-PARISOT, 2009) nesse estudo não foi visualizada. A não visualização dessa estrutura pode ser decorrente do fato de serem avaliadas peças anatômicas ou à ausência de secreção láctea na maioria das peças ou em função do transdutor e frequência utilizada. Da mesma forma, e possivelmente pelos mesmos motivos, as veias do anel venoso de Furstenberg que são caracterizadas segundo Franz, Floek e Hofmann-Parisot (2009) como estruturas redondas e anecoicas grandes que demarcam o limite entre a cisterna da glândula e a cisterna do teto não foram evidenciadas.

No exame ultrassonográfico das tetas foram evidenciadas alterações da ecogenicidade da cisterna (Figura 20), além da presença de gás (Figura 21) no interior e adjacente a esta estrutura.



Figura 20 - A esquerda cisterna do teto com discreto acúmulo de conteúdo anecóico . A direita cisterna do teto com muito conteúdo mais hiperecótico em relação ao anterior.



Figura 21 - Cisterna do teto com presença de pontos hiperecóticos sugestivos de gás (seta amarela).

De acordo com Franz, Floek e Hofmann-Parisot (2009), as anormalidades observadas ao exame ultrassonográfico na cisterna da glândula são inflamação, lesões na mucosa, presenças de massas proliferativas, corpos estranhos, grumos de leite e distúrbios congênitos como membranas intraluminais e agenesia. A presença de conteúdo com

celularidade aumentada ou muito aumentada sugere inflamação que resulta em aumento das células somáticas (Figura 22).

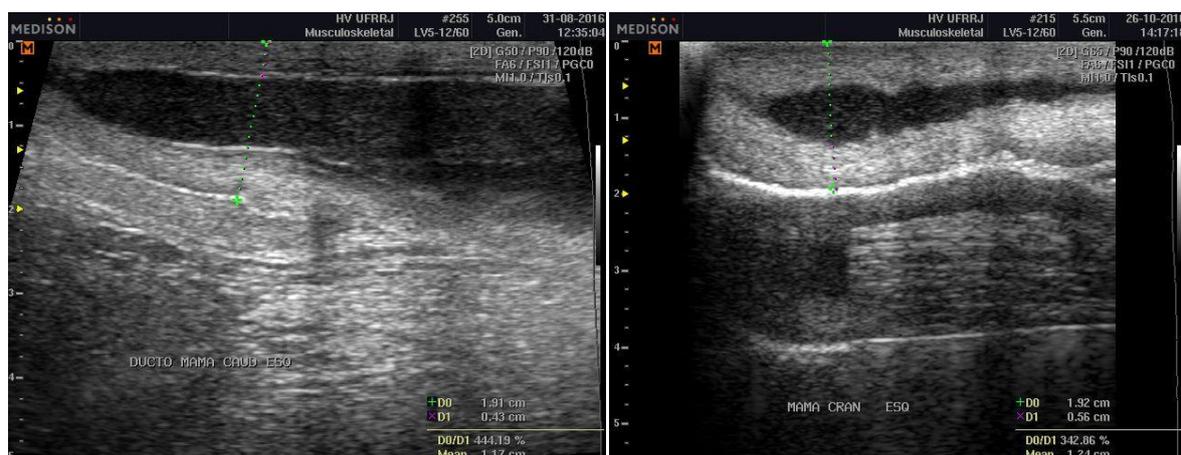


Figura 22 - Parede do teto de mamas craniais esquerdas de diferentes glândulas com espessura similar (1,91 e 1,92 cm), ecogenicidade normal (esquerda) e aumentada (direita) da parede. Conteúdo da cisterna com ecogenicidade aumentada indicando aumento de celularidade do conteúdo.

4.2.3 Parênquima

Foram capturas 100 imagens de parênquima mamário. Apesar de poucas alterações macroscópicas na maioria das glândulas observou-se o parênquima como uma imagem heterogênea (60/100), com áreas de maior ecogenicidade distribuídas irregularmente caracterizando ecogenicidade mista (57/100) e, portanto diferindo do padrão uniformemente ecogênico com ecotextura granular (Figura 23) descrita por Franz; Floek e Hofmann-Parisot (2009) como característico de uma glândula mamária saudável. Esta imagem característica é resultante da distribuição uniforme de tecido conjuntivo com maior ecogenicidade e o próprio parênquima que consiste de ecos fracos distribuídos homogeneamente por toda a extensão visível do órgão. Também diferiu da imagem homogênea e hiperecogênica atribuída ao parênquima glandular do úbere de vacas por Ayadi et al. (2003) e Rambabu et al. (2008). Desta forma, pode-se inferir que o parênquima da maioria das glândulas avaliadas apresentava alterações, possivelmente relacionadas à mastite. Apenas um parênquima apresentou hipocogenicidade (Tabela 5).

Tabela 5 - Ecogenicidade e ecotextura do parênquima de glândulas mamárias de vacas abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

Ecogenicidade	Nº	Ecotextura	Nº
Diminuída (Hipoecoico)	1	Heterogêneo	60
Normal (Normoecoico)	12	Homogêneo	40
Aumentado (Hiperecoico)	30		
Mista	57		

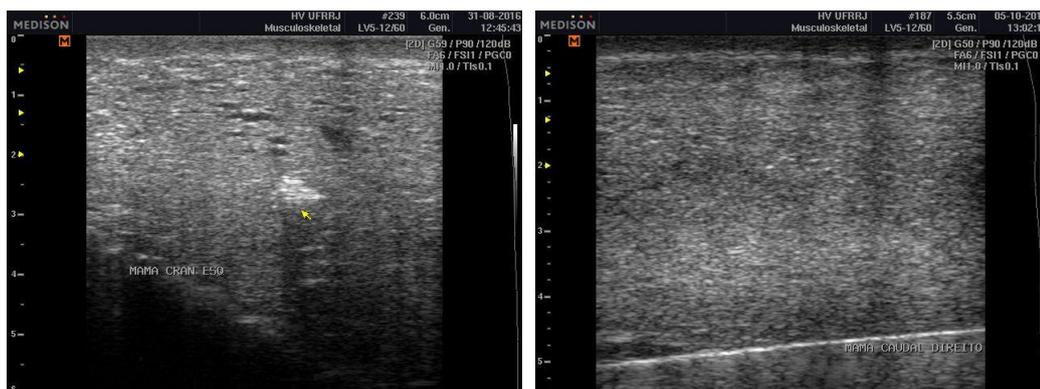


Figura 23 - Parênquima mamário com áreas hiperecogênicas (seta amarela) formadoras de combra acústica, de distribuição heterogênia em comparação ao padrão uniformemente ecogênico do parênquima descrito como normal.

Rambabu et al. (2009) ao realizarem exames ultrassonográficos convencionais na glândula mamária e papilas mamárias de búfalas doentes e saudáveis identificaram como característica sonográfica da mastite uma imagem hiperecoica do parênquima em relação ao tecido adjacente da glândula, destacando que as alterações de imagem na ultrassonografia são dependentes do grau de comprometimento da glândula mamária. Nas mastites agudas há formação de uma imagem não homogênea hipoeicoica, enquanto nas mastites crônicas com fibrose do parênquima há um aumento da ecogenicidade (TROSTLE; O'BRIEN, 1998), condição observada na maioria das glândulas no presente estudo. Desta forma, as imagens ecográficas sugerem a presença de inflamação crônica em 30 quartos mamários.

Segundo Ayadi et al. (2003) a imagem da cisterna da teta nem sempre é completa principalmente nos quartos traseiros e nos intervalos de ordenha, ou seja, quando os quartos estão vazios ou não repletos de leite, o que corrobora com os achados do presente estudo em que a imagem das cisternas não foram completas e detalhadas, e apenas 12 glândulas apresentavam secreção láctea ao exame físico, estando a maioria das vacas provavelmente fora do período de lactação.

Cartee et al. (1986), Ayadi et al. (2003) e Rambabu et al. (2008) reportaram que a cisterna da glândula é visualizada como uma área anecóica homogênea contínua a cisterna da teta. A área da cisterna, anecoica ou hipoeicoica no parênquima (Figura 24) corresponde a ductos lactíferos e foram frequentemente observadas. No interior das cisternas observou-se conteúdo de ecogenicidade variável sugerindo aumento da celularidade do conteúdo (Figura 25) o que está provavelmente relacionado à mastite.

Na maioria das imagens do parênquima não foi possível observar os ductos lactíferos (69/100), o que condiz com o que foi avaliado na inspeção, pois a maioria das glândulas não apresentava secreção láctea consistente com observações de Franz; Floek e Hofmann-Parisot (2009) sobre a imagem anecoica da cisterna da glândula ser produzida pela secreção láctea e seios não serem visualizados quando vazios.

Das glândulas onde foi possível observar os ductos lactíferos (31/100), 20 apresentaram conteúdo abundante e em 11 foi possível observar apenas discreto acúmulo de conteúdo. De acordo com a ecogenicidade do conteúdo observado, a secreção foi classificada como sem celularidade (anecóicas), com pouca celularidade (hipoeicoicas) e com muita celularidade (hiperecoicas). Foi possível observar que a maioria das secreções apresentava alta celularidade (23/31), sendo que três dessas apresentaram uma celularidade ainda mais acentuada, cinco apresentaram pouca celularidade e em duas observou-se conteúdo sem celularidade - anecoico (Tabela 6).

Tabela 6 - Conteúdo dos Ductos Lactíferos e sua celularidade de 100 quartos mamários de vacas abatidas para consumo. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

Conteúdo ductos lactíferos	Nº	Celularidade	Nº
Sem conteúdo (não evidente)	69	Nenhuma	3
Pouco conteúdo	20	Pouco aumentada	5
Muito conteúdo	11	Muito aumentada	23*

*Três (3) com conteúdo extremamente aumentado

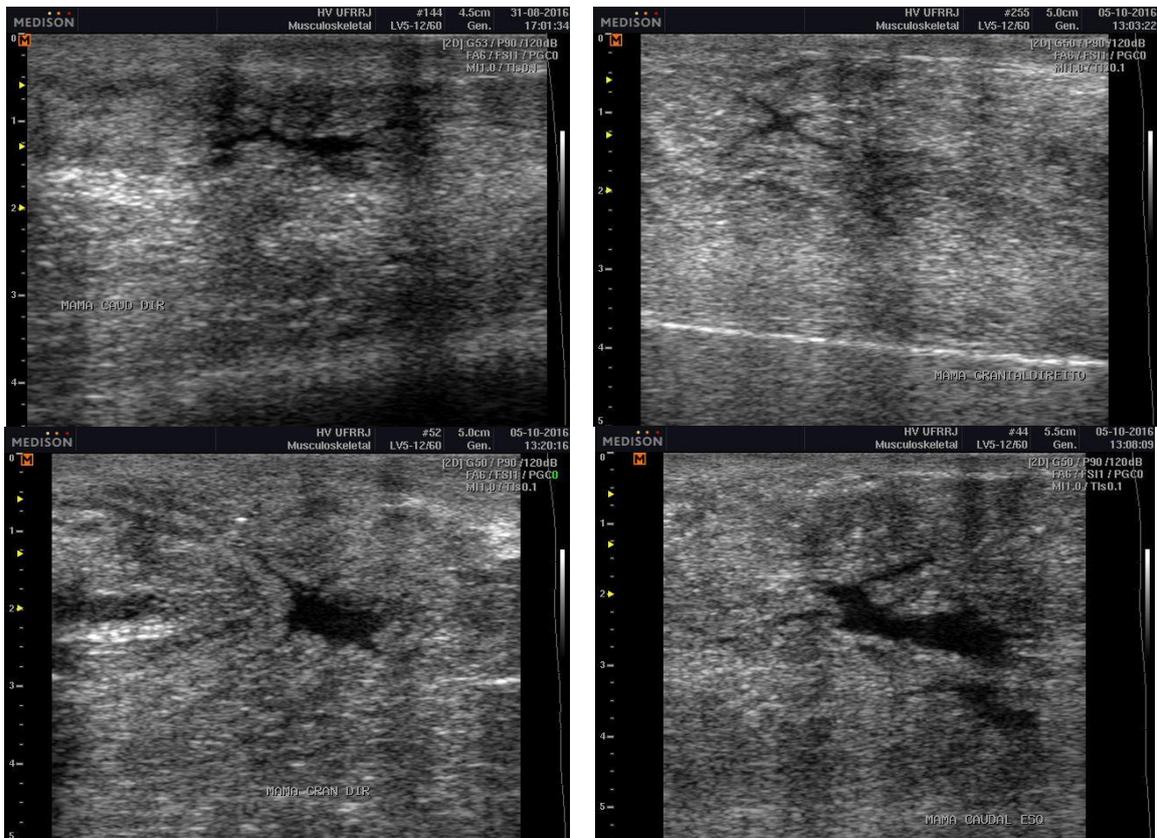


Figura 24 - imagem ultrassonográfica de glândulas mamárias de vacas. Evidencia-se no parênquima áreas irregulares hipocogênicas correspondentes aos ductos lactíferos.



Figura 25 - Cisterna de diferentes glândulas com conteúdo hipocóico (esquerda) e com ecogenicidade aumentada e heterogêneo, sugerindo aumento de celularidade na secreção (direita).

Além de alterações em ecogenicidade, ecotextura e conteúdo dos ductos lactíferos, foram observadas formações nodulares em oito parênquimas (8/100). A presença de pequenas áreas hiperecoicas formadoras de sombra em 20 (20/100) glândulas é sugestiva da presença de gás (Figura 26).

Ao redor dos ductos lactíferos, em cinco parênquimas, foi possível observar a presença de pontos hiperecoicos (Figura 27) que podem ser atribuídos a presença de infiltrados inflamatórios periductais, como foi observado em algumas das amostras enviadas para o exame histopatológico. Das formações nodulares, três apresentaram características de abscessos (Figura 28), com contornos definidos e conteúdo com alta celularidade, e cinco apresentaram características de linfonodos (Figura 29), identificados como nódulos hemolinfáticos durante a inspeção.



Figura 26 - Parênquima de glândula mamária bovina com áreas hiperecoicas sugestivas de gás (seta amarela).



Figura 27 - Cisterna da glândula mamária com conteúdo de ecogenicidade mista evidenciando-se pontos hiperecoicos no tecido adjacente.

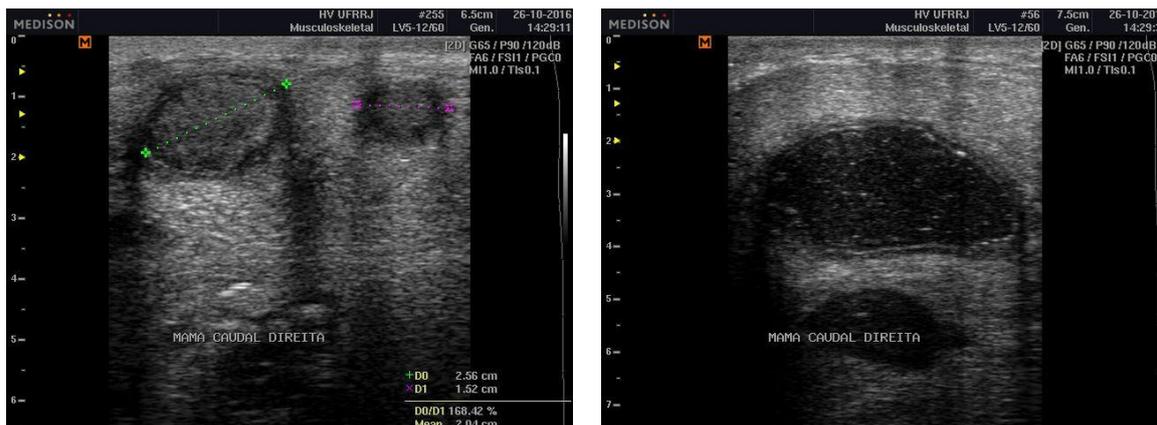


Figura 28 - Formações nodulares delimitadas por áreas hipoeicoicas, formadoras de sombra acústica lateral, características de abscessos encapsulados e conteúdo com alta celularidade. À esquerda abscessos com conteúdo hiperecoico e alta celularidade.

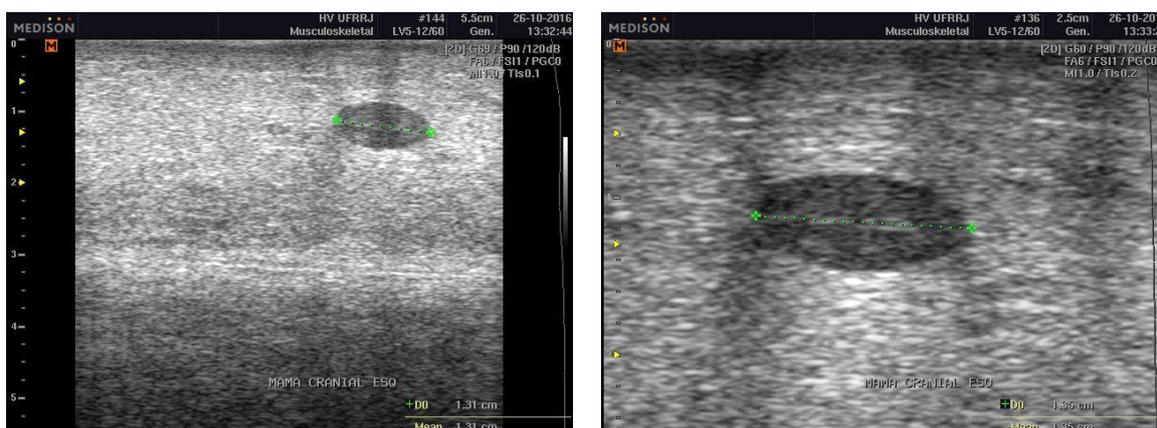


Figura 29 - Parênquima de glândula mamária contendo em seu interior formação nodular delimitada, caracterizada como nódulo hemolinfático. À direita a imagem em maior aumento.

Trostle; O'Brien¹ (1998) e Flöck e Winter (2006) indicaram a presença de manchas redondas hipoeicoicas de aproximadamente 1 cm com um pequeno centro hiperecoico como um achado comum nas infecções intramamárias, não se referindo especificamente aos nódulos hemolinfáticos, visto que avaliaram animais vivos e não houve inspeção macroscópica dos tecidos.

Segundo Flöck e Winter (2006), a formação de gás está relacionada com a presença de bactérias Gram-negativas e apresenta-se como imagens de manchas hiperecoicas com presença de sombra, estando em acordo com o observado nesse estudo, sem contudo serem confirmadas as presenças de bactérias.

4.2.4 Mastite

A mastite causa alterações na composição do leite (COONEY et al., 2000; ZHAO e LACASSE, 2008; HURLEY, 2015) e alterações estruturais nos tecidos mamários. Flöck e Winter (2006) destacaram que a imagem ultrassonográfica da glândula com mastite depende do grau de alterações dos tecidos. O parênquima torna-se heterogêneo com

ecogenicidade diminuída ou aumentada, podendo também ser normal (TROSTLE; O'BRIEN, 1998; FLÖCK; WINTER, 2006).

Dessa forma, o leite contido nas cisternas da teta e do úbere apresentam-se ao exame ultrassonográfico como uma imagem heterogênea de ecogenicidade aumentada pelo aumento dos leucócitos e células de descamação (células somáticas) no leite (FLÖCK; WINTER, 2006). Rambabu et al. (2009) ao realizarem exames ultrassonográficos convencionais na glândula mamária e papilas mamárias de búfalas identificaram como característica sonográfica da mastite uma imagem hiperecoica do parênquima em relação ao tecido adjacente da glândula, imagem semelhante à observada no presente estudo.

Takeda (1989) detectou por meio da ultrassonografia, abscessos não identificáveis durante exame clínico, constatando aumento da ecogenicidade da cisterna de glândulas mamárias em vacas com mastite difusa crônica. Esse autor relatou ainda alterações similares em casos de mastite subclínica. Adicionalmente, Seker et al., (2009), em experimento realizado com vacas leiteiras de diferentes raças, sugeriram que mensurações ultrassonográficas do diâmetro da cisterna, diâmetro total da papila mamária e altura da roseta de "Furstenberg" podem ser relacionadas com a ocorrência de mastite.

Em cabra com mastite gangrenosa foi possível observar aumento da dificuldade em se diferenciar as estruturas do úbere, devido ao aumento da ecogenicidade do leite nos alvéolos e perda da integridade dos bordos dos mesmos, fato comumente observado no presente estudo. Conforme Santos et al. (2013) a cisterna da glândula teve seu diâmetro reduzido durante a evolução do quadro de mastite, o que também foi comum neste estudo.

Neste estudo foi possível verificar diferenças marcantes na ecogenicidade do tecido mamário saudável em comparação ao tecido com alterações macroscópicas sugestivas de mastite, sendo observada hiperecogenicidade com componente sólido na cisterna da glândula semelhantes às descrições de Rambabu et al. (2009) em búfalas com mastite.

Em relação à ecotextura do tecido mamário, observou-se o parênquima homogêneo sugerindo glândulas saudáveis e heterogêneo em glândulas com sinais de mastite clínica, consistente com os achados de Melo et al. (2012) e Rambabu et al. (2009).

4.2.5 Linfonodos

O aumento de um ou mais linfonodos (linfadenomegalia) é um achado comum na prática clínica. Na maior parte das vezes, representa uma resposta adaptativa a um estímulo imunológico. No entanto, também pode significar uma doença inflamatória ou neoplásica. Neste estudo, foram visualizados poucos linfonodos retromamários ao exame físico, visto que na maioria das peças anatômicas estes não foram retirados junto com as mamas. No entanto, três linfonodos retromamários de dimensões aumentadas (8 a 12 cm) e nove aparentemente normais (menor 8 cm) foram avaliados pela ultrassonografia. Todos apresentaram estrutura oval ou riniforme, constituindo uma área delimitada hipocogênica em relação ao parênquima e/ou tecido subcutâneo com região central hiperecogênica compreendendo ao córtex (região periférica) e medula (região central), as quais foram bem diferenciadas nas imagens capturadas (Figura 30).

Visto que a ecotextura normal dos linfonodos é homogênea, alterações evidenciadas nos linfonodos avaliados foram: áreas hiperecoicas adjacentes à cortical (Figura 31), áreas hiperecoicas na região medular (Figura 32) e pontos ecogênicos formadores de sombra acústica sugerindo a presença de gás ou fibrose (Figura 33).

Além dos linfonodos retromamários foram evidenciados nódulos hemolinfáticos no tecido subcutâneo (Figura 34) e no interior do parênquima mamário (Figura 35).



Figura 30 - Área hipoeoica em formato riniforme ou de elipse (córteX) e área central com aumento da ecogenicidade (medular) como uma linha irregular, e pontos de hiperecogenicidade difusas, externamente ao córtex na área inferior. Ecotextura homogenia formando i magem espelhada de linfonodo retromamário de vaca.



Figura 31 - Linfonodo retromamário de vaca. Nota-se a presença de pontos hiperecoicos na área central e adjacentes à cortical (lado direito).



Figura 32 - Linfonodo retromamário de vaca. Nota-se a presença de áreas hiperecogênicas no centro, indicado pela seta vermelha (cortical) e áreas de ecogenicidade aumentada (reforço acústico) adjacentes à cortical, indicada pela seta amarela (inferior).



Figura 33 - Linfonodo retromamário de vaca. Observam-se áreas de ecogenicidade aumentada, formato irregular, sugerindo a presença de gás ou fibrose entre uma área hipocogênica, delimitada e uma linha hiperecogênica central.

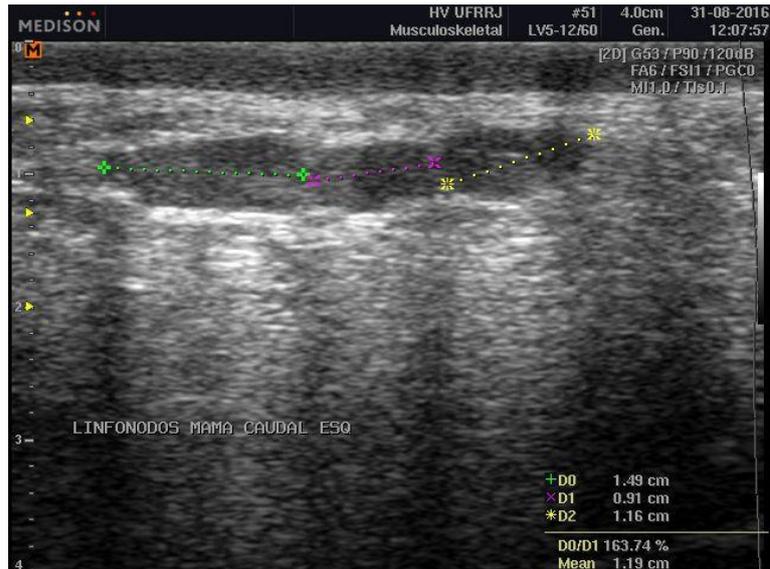


Figura 34 - Três áreas circulares, hipoecoicas, de ecotextura homogênea, tamanhos variados, contornos definidos, tecidos adjacentes com áreas hiperecoicas formando sombra acústica. Nódulos hemolinfáticos no tecido subcutâneo.



Figura 35 - Área elíptica hipoecoica no interior do parênquima mamário hiperecoico e homogêneo. Nódulo hemolinfático.

4.3 Exame Histopatológico

4.3.1 Pele

Em um fragmento de pele foi observado, na derme, infiltrado inflamatório composto por macrófagos e linfócitos em múltiplos focos. Ao redor dos vasos observou-se infiltrado leve de neutrófilos e áreas multifocais de hemorragia. O aumento na espessura do

estrato córneo em decorrência do maior número de corneócitos que não possuem núcleo é denominado hiperqueratose ortoqueratótica e tem como sinonímia a ortoqueratose (SOUZA; FIGHERA, 2015) e foi observada neste fragmento de pele. Aumento da espessura do estrato espinhoso em decorrência do maior número de queratinócitos, a forma mais comum de hiperplasia epidérmica é denominada acantose. A associação dessas alterações que indica processo inflamatório crônico foi observada na epiderme, sendo a hiperqueratose localmente extensiva e as áreas focais de acantose estiveram associadas à hiperqueratose.

Foi avaliado outro fragmento de pele contendo um nódulo subcutâneo com aspecto de abscesso que ao exame físico parecia um teto supranumerário localizado lateralmente na glândula posterior direita. Ao corte percebeu-se que se tratava de uma formação nodular preenchida com conteúdo espesso. Histologicamente, observou-se, na derme, cisto contornado por um fino epitélio escamoso, com células granulares proeminentes contendo em sua cavidade queratina escamosa, consistente com a descrição de Gross et al. (1992) e Souza (2005) para cistos infundibulares, uma lesão dérmica não neoplásica benigna descrita em equinos (HILLYER et al., 2003, GINEL et al., 2007), alpacas (NEWKIRK; FRANK, 2010), bovinos (OZ et al., 1985b), cães (PARKER, 1995) e ovinos (PIEREZAN et al., 2014).

Mesmo com poucas descrições de casos nessas espécies os cistos infundibulares são considerados comuns (CHAPMAN et al., 1960, LLOYD, 1964, OZ et al., 1985b). No presente estudo, circundando o cisto e pequenos vasos sanguíneos da derme foram observados linfócitos, macrófagos e plasmócitos, caracterizando a lesão como uma dermatite granulomatosa crônica multifocal moderada com cisto infundibular.

A inflamação crônica granulomatosa foi caracterizada por Runnells (1951) pelo acúmulo de macrófagos modificados, células gigantes que tem grande capacidade de fagocitose que se organizam em torno de um agente inflamatório levando a formação de granulomas. O estímulo é produzido por bactérias, leveduras, fungos ou protozoários (RUNNELLS, 1951; GREENE; GUNN-MOORE, 2006).

4.3.2 Tetos

De tetos foram avaliados fragmentos de cinco glândulas das quais dois não apresentaram alterações histológicas e em três tetos foram diagnosticados papiloma (1) e dermatite granulomatosa crônica leve (1) e moderada (1).

A papilomatose bovina é uma enfermidade infectocontagiosa na pele e nas mucosas, de caráter tumoral benigno, de natureza fibroepitelial, crônica, causada por cepas distintas de Papilomavirus (RICHTZENHAIN; RIBEIRO, 1982) e definida como hiperplasia do epitélio de revestimento (COTRAN et al., 2000). De acordo com Praetorius (1997) é um achado histológico comum em lesões do epitélio de revestimento e na pele de bovinos. Contudo, em estudo de Tessele e Barros (2016) com 544 amostras de bovinos de abatedouros a papilomatose representou apenas 3% de todos os tumores. Para o baixo número de casos os autores sugeriram que estes tumores não são usualmente diagnosticados no exame pós-morte.

No presente estudo, apenas uma lesão de glândula mamária apresentava aspecto de papiloma, sendo a suspeita confirmada pelo exame histopatológico onde se observou acantose na epiderme formando projeções na derme, estrato granuloso proeminente, contendo grosseiros grânulos cerato-hialinos e múltiplos coilócitos, além de moderada quantidade de macrófagos e linfócitos perivasculares na derme.

Na análise histopatológica de papilomas Monteiro et al. (2008) observam alterações hiperplásicas epiteliais e extenso crescimento vegetativo do epitélio, cristas epidérmicas extensas e profundas. Santin e Brito (2003) descreveram características distintas para papilomas pedunculados (hiperceratose intensa, hiperplasia da epiderme, hiperplasia de fibroblastos, fibras colágenas mais abundantes e densas) e papilomas planos (hiperceratose leve, fibroplasia dérmica mínima ou ausente). Adicionalmente ao papiloma notou-se a presença de células inflamatórias, sendo comum nos casos de papilomatose a infecção bacteriana em papilomas de maior tamanho e pedunculados, mas não em lesões únicas e discretas como nesse estudo.

4.3.3 Linfonodos

De seis glândulas foram avaliados fragmentos de linfonodos retromamários e dois nódulos hemolinfáticos, todos de tamanhos aumentados procedentes de cinco glândulas com alterações de ecogenicidade do parênquima no exame ultrassonográfico (2), além de edema (1), hiperemia (1) e abscessos multifocais (1), e uma sem alteração macroscópica e na ultrassonografia.

Dos quatro fragmentos de linfonodos retromamários não foram evidenciadas alterações microscópicas, apesar de serem caracterizados como aumentados no exame físico. Contudo, o tamanho dos linfonodos retromamários de fêmeas bovinas é amplamente variável (2 a 15 x 1 a 6 x 0,25 a 2,0 cm, respectivamente no comprimento, altura e profundidade) (HELMBOLDT; JUNGHERR; PLASTRIDGE, 1953), apresentando em média 7,0 cm de diâmetro (FEITOSA, 2008).

Os linfonodos são formados por tecido linfoide, encontrados em diferentes áreas do corpo, sempre no trajeto dos vasos linfáticos e constituem barreiras de defesa contra microrganismos patogênicos (EL-MAHDY et al., 2002). De acordo com Feitosa (2008), o aumento dos linfonodos deve ser interpretado como resposta a processos inflamatórios, infecciosos ou neoplásicos, localizados ou disseminados.

Staack (1933) destacou que os gânglios linfáticos refletem a condição do úbere, e dividiu as alterações dos linfonodos de acordo com as formas clínicas da mastite e alterações na mama e linfonodos. Na mastite aguda e subaguda com exsudato inflamatório, os nódulos estariam aumentados, o tecido linfático com hiperplasia, e os seios marcadamente dilatados e preenchidos com proliferação de células endoteliais e leucócitos. As formas subaguda e crônica foram caracterizadas por exsudação acentuada no parênquima e proliferação reticuloendotelial das células nas trabéculas, e nas mastites crônicas produtivas os folículos se apresentariam atrofiados, com fibrose e endurecimento intenso na medular e córtex. Essas alterações não foram observadas neste estudo, embora ao exame macroscópico tenham-se evidenciado alterações sugestivas de mastite e na ultrassonografia alterações de ecogenicidade, ecotextura e celularidade tenham sido comuns.

Linfonodos retromamários aumentados foram observados em ovinos e caprinos com mastite aguda e crônica em lactação e no período seco (CORREIA, 2013). No presente estudo, não houve relação entre a suspeita clínica de hipertrofia dos linfonodos retromamários de vacas de abate com lesões macroscópicas evidentes nas mamas e os achados histopatológicos em linfonodos.

De dois nódulos hemolinfáticos avaliados apenas um, de maior diâmetro (2,35 cm), consistência firme, coloração vermelho escura e secreção purulenta apresentou alteração microscópica caracterizada por infiltrado inflamatório multifocal composto por neutrófilos, caracterizando uma linfadenite purulenta aguda multifocal moderada (Figura 36). Este

nódulo hemolinfático teve origem em uma glândula com secreção purulenta na cisterna da teta e no parênquima, sendo observados 18 nódulos hemolinfáticos de tamanhos diversos, a maioria no tecido subcutâneo, mas também, no parênquima da glândula.

A linfadenite aguda caracteriza-se por uma mistura de linfócitos acompanhados por neutrófilos e eosinófilos. De acordo com Jubb (2007) a distribuição dos tipos celulares presentes e a forma do núcleo dos neutrófilos são indicativas da linfadenite. Macroscopicamente, os gânglios linfáticos estão, na maioria aumentados de tamanho, consistência mole ou firme, superfície cinzento-rosada e ao corte apresentam protrusão do parênquima com presença de pus, sangue ou linfa (GIL, 2000; MACGIVEN, 2007), descrição que se assemelha ao que foi observado neste estudo.

No presente estudo destaca-se que a linfadenite purulenta aguda foi identificada em um nódulo hemolinfático, que apesar de apresentar atividade imunológica semelhante à de linfonodos, difere destes por apresentam numerosos eritrócitos em seus seios linfáticos (SAKITA et al., 1997), não sendo identificada na literatura referência à linfadenite purulenta aguda desses nódulos.

4.3.4 Mama

Foram avaliados fragmentos de 43 glândulas mamárias. Destas 20 (46,5%) não apresentaram alterações microscópicas. De 23 glândulas (54,5%) observou-se em seis a presença de quantidades variáveis de *corpora amylacea*, sendo todas com alterações macroscópicas que incluíram parênquima com hiperemia (3), secreção gelatinosa amarelada (1) ou marrom (1) e aparência fibrótica (1).

Em 17 glândulas mamárias com alterações macroscópicas diversas a alteração histológica mais frequente e significativa foi a presença de infiltrado inflamatório constituído de diferentes tipos celulares (Tabela 7). Apesar de diversos estudos sobre os *Corpora amylacea* ou corpos amiláceos na glândula mamária, desde o início (MCFADYEAN, 1901; OTTOLENGLI, 1901) e ainda hoje (NAIK et al., 2015) destaca-se a falta de consenso em relação à sua estrutura e composição, e, acima de tudo, sobre a causa de sua formação.

Tabela 7 - Tipo de células presentes no infiltrado inflamatório de glândulas mamárias de vacas de descarte abatidas para consumo. Exame histopatológico. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

Tipo celular	Número de amostras
Linfócitos e macrófagos	4
Linfócitos, macrófagos e neutrófilos	3
Linfócitos, macrófagos e plasmócitos	3
Linfócitos, macrófagos, plasmócitos e neutrófilos	3
Neutrófilos e células epiteliais	4
Neutrófilos, macrófagos e células epiteliais	1

De acordo com Coelho (2002) a *corpora amylacea* é caracterizada como uma degeneração hialina epitelial estudada como parte dos distúrbios das proteínas. Cavanagh (1999) sugeriu que são formas pelas quais neurônios, astrócitos, miócitos cardíacos e grandes células metabolicamente ativas eliminam os produtos de eventos metabólicos

estressantes e do processo contínuo de envelhecimento e degradação de proteínas celulares de longa duração. Naik et al. (2015) demonstraram a presença de proteínas e mucina na constituição de *corpora amylacea* de vacas.

Sobre a localização, foram descritos no lúmen alveolar, no epitélio alveolar e no interstício (ZIMMERMANN, 1909; JOEST; STECK, 1924). Segundo Coelho (2002) sua localização é principalmente nas células epiteliais pulmonares e da glândula mamária de bovinos, próstata de cães e encéfalo de animais velhos.

Zimmermann (1909) e Nieberle et al (1931) não observaram relação com o tempo de lactação ou a idade, enquanto Morrill (1938), Arnold e Weber (1977) e Sordillo e Nickerson (1986) descreveram *corpora amylacea* mais abundante no fim da lactação. Por outro lado, Chaurasia et al. (2013) observaram maior quantidade e número de corpos amiloides em glândulas mamárias de búfalas não lactentes.

Arnold e Weber (1977) observaram que *corpora amylacea* estava presente nos alvéolos ao longo da lactação sem qualquer evidência de reação inflamatória e durante o período seco houve diminuição no número com a maioria no tecido intersticial. Em búfalas não lactentes o número foi maior no estroma (CHAURASIA et al., 2013), o que pode ser atribuído à involução dos alvéolos e substituição por tecido conjuntivo.

Brooker (1978) descreveu que o estágio inicial de sua formação envolveu a agregação, fusão e compactação de micelas de caseína no leite alveolar. A estrutura resultante atuou como um núcleo para crescimento adicional que ocorreu pela adição de material de origem micelar à superfície. O contato com o epitélio alveolar causou frequentemente aplanamento ou danos irreversíveis às células secretoras. A reabsorção do material amilóide por macrófagos e células gigantes durante o processo de involução mamária pode ser instrumental na prevenção do acúmulo de *corpora amylacea* no tecido secretor que pode interferir com mecanismos de síntese e secreção de leite.

No presente estudo a *corpora amylacea* foi observada no interior dos túbulos (5/6), nos ductos e túbulos (1/6), sendo na maioria (5/6) a única alteração encontrada. Em apenas uma glândula, observou-se além dos corpos amiloides, a presença de neutrófilos e células epiteliais no interior de túbulos.

Pela avaliação dos dados disponíveis na literatura especializada, a exemplo do que foi destacado por McFadyean (1901), a presença de *corpora amylacea* na glândula mamária de bovinos continua sem estar completamente esclarecida quanto aos seus aspectos patológicos, e especialmente quanto à sua relevância. É provável que seja um achado sem significado clínico. Contudo, faltam informações para a interpretação clínica desse achado na glândula mamária.

Questiona-se se a *corpora amylacea* teria relação com a secreção gelatinosa transparente ou amarelo-amarronzada observada em algumas glândulas. Um aspecto importante nestes casos é a ausência de secreção láctea, sugerindo estarem as vacas no período seco. Após um período de lactação, a glândula mamária passa por um processo de involução. O alvéolo regride por apoptose e as estruturas ductais são mantidas (KNUDSEN; WHEELOCK, 2005; BERTAGNOLI, 2006). A extensão do parênquima é reduzida especialmente às unidades secretoras. Como resultado de um período anterior de lactação pode haver corpos de coloração escura nos ductos e no tecido intersticial que representam condensações de caseína (SAMUELSON, 2007). A *corpora amylacea* foi observada em glândulas mamárias em fase de involução e em alvéolos com células secretoras ativas, não sendo possível concluir sobre esta relação.

No parênquima foi observada necrose multifocal em duas amostras, sendo uma com a presença de colônias bacterianas e uma sem bactérias evidentes. Em outra glândula

evidenciou-se a presença de abscessos multifocais entre os lóbulos mamários e áreas multifocais de hemorragias foram evidenciadas em duas glândulas.

A presença de abscessos e áreas de necrose no parênquima mamário em geral é atribuída à ação de toxinas e outros antígenos secretados por agente patogênicos. Além da lise de eritrócitos, as toxinas lisam plaquetas e leucócitos, causando liberação de histamina, agregação plaquetária ao longo da parede dos vasos e vênulas com posterior formação de trombos (FLORES-DIAZ; ALAPE-GIRON, 2003).

A aderência de qualquer microrganismo nos tecidos do interior da glândula favorece a instalação da infecção, dificultando sua remoção mecânica pelo fluxo do leite durante a ordenha. Quando os mecanismos de defesa falham os microrganismos inicialmente se instalam nos ductos e nas cisternas e posteriormente progridem para pequenos ductos e alvéolos onde se multiplicam, provocando edema e necrose das células secretoras (RAINARD; RIOLLET, 2006). A evolução para este quadro depende do tipo de agente envolvido, sendo comum a referência a casos de mastite com necrose e abscessos purulentos no tecido mamário, e eventualmente no tecido subcutâneo e linfonodos causadas por *S. aureus*, *Arcanobacterium pyogenes*, *C. perfringens* (QUINN et al., 2005; RADOSTITS et al., 2007; SANTOS; FONSECA, 2007).

O achado mais frequente na histopatologia dos tecidos mamários foi a presença de infiltrado inflamatório (Figuras 36 a 39), observado em 18 amostras. Os infiltrados mais comuns foram mistos, consistindo de linfócitos e macrófagos (4/18), linfócitos, plasmócitos e macrófagos (3/18), linfócitos, macrófagos, plasmócitos e neutrófilos (3/18) e linfócitos, macrófagos e neutrófilos (3/18). Infiltrado de neutrófilos e macrófagos foi observado em proximidade com células epiteliais em apenas uma amostra (Tabela 8). As células inflamatórias estavam com maior frequência no interior dos túbulos (6) e circundando os ácinos e ductos galactóforos (3).

Tabela 8 - Localização do infiltrado inflamatório de glândulas mamárias de vacas de descarte abatidas para consumo. Exame histopatológico. Barra Mansa, Rio de Janeiro, setembro a novembro de 2016.

Localização	Nº de amostras
Áreas intersticiais e interior dos túbulos e ductos	1
Circundando ácinos e ductos galactóforos	3
Circundando os ductos galactóforos	2
Entremeado tecido conjuntivo, espaço perivascular e periductal	1
Entremeados as fibras colágenas	2
Interior dos lóbulos e tecido colagenoso perimamário	1
Interior dos túbulos	6

As células epiteliais estiveram sempre presentes no interior dos túbulos, associadas a neutrófilos. As células epiteliais são derivadas do processo de descamação e predominam em secreções de glândulas mamárias não infectadas. Segundo Rainard e Riollet (2006) atuam como sentinelas, sinalizando a invasão de patógenos e contribuem para a atração de células efetoras, como os neutrófilos, importantes na eliminação de bactérias invasoras (PFAFFL et al., 2003; WELLNITZ; KERR, 2004; RAINARD; RIOLLET, 2006; WELLNITZ et al., 2006).

A presença de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) nos tecidos mamários é um indício de processo inflamatório (MAXIMOW; BLOOM, 1938). Os PMN são predominantes nos tecidos e nas secreções mamárias no início da inflamação (até 90% do

total de leucócitos), permanecendo numerosos também nos processos crônicos (PAAPE et al., 2002; SORDILLO et al., 1997).

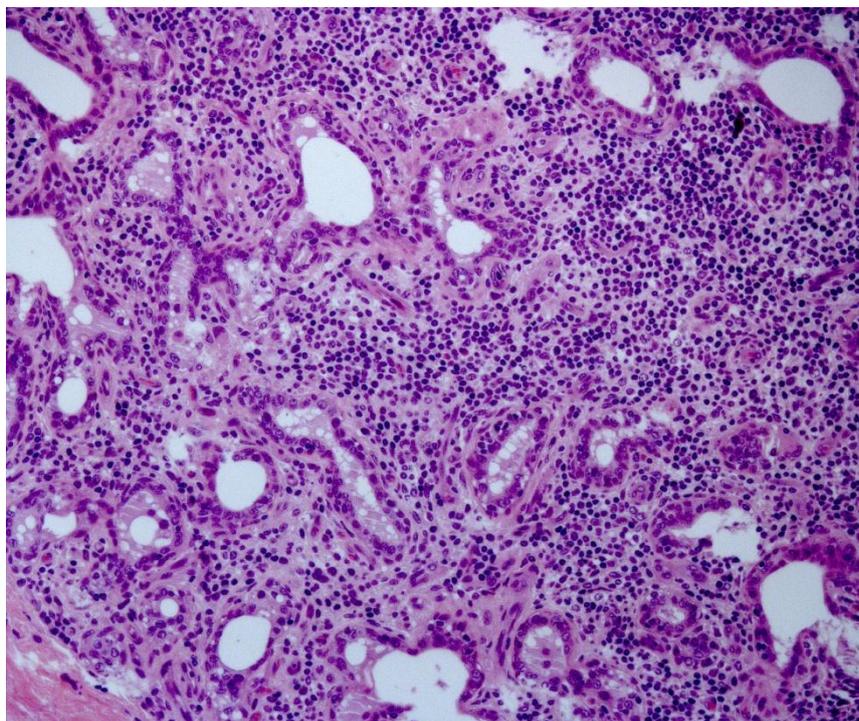


Figura 36 - Infiltrado inflamatório linfocítico periacinar. HE, 20x.

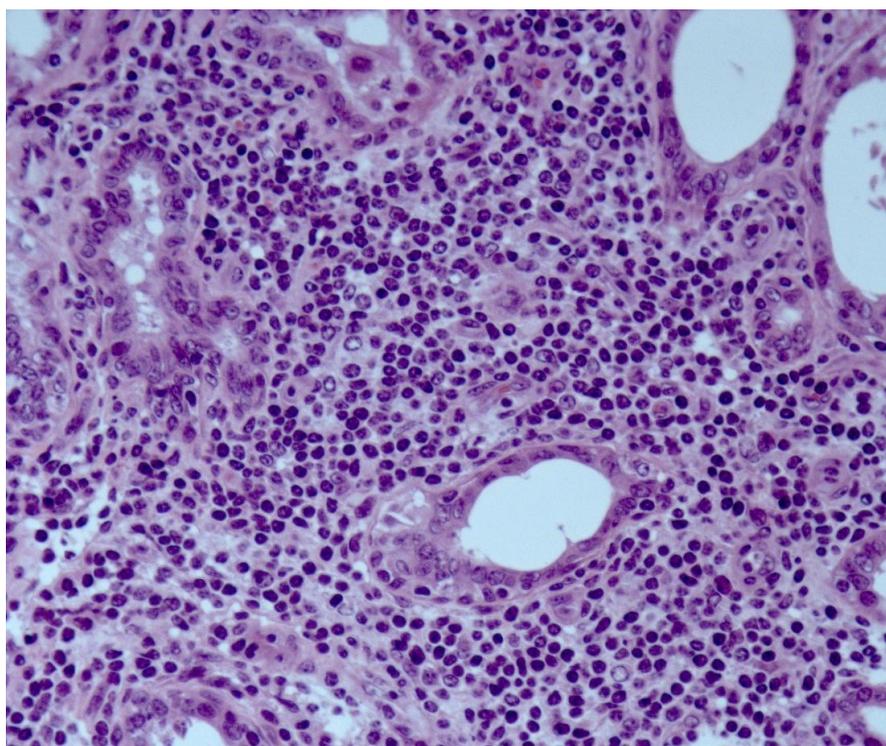


Figura 37 - Infiltrado inflamatório linfocítico periacinar com leve quantidade de macrófagos. HE, 40x.

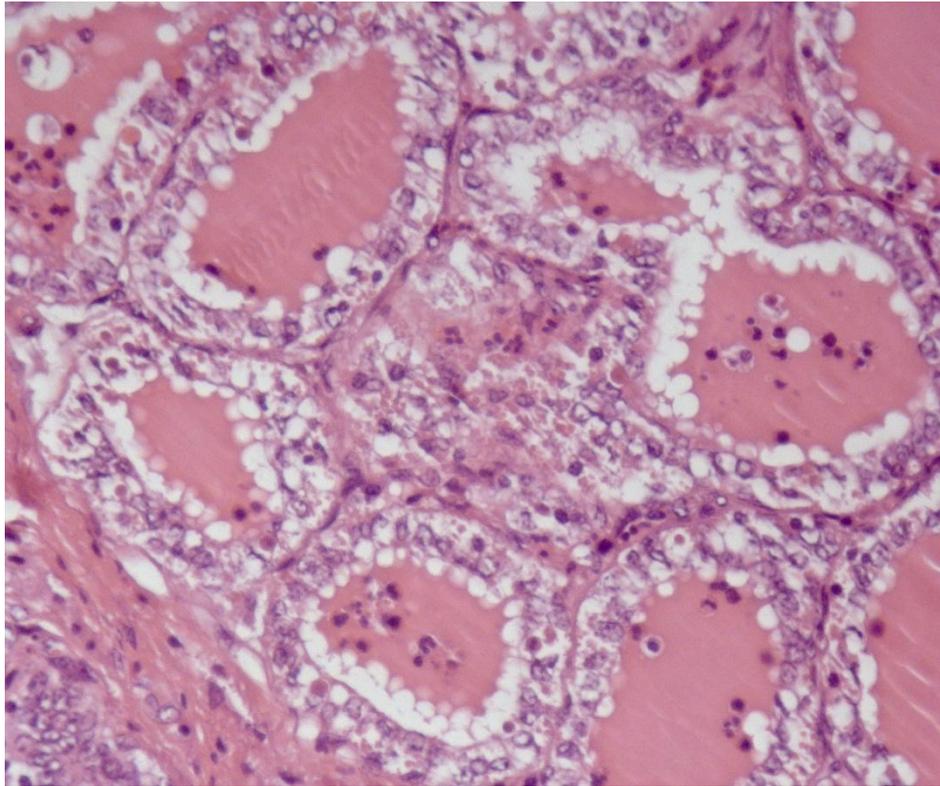


Figura 38 - Neutrófilos no interior de ácinos de um lóbulo mamário. HE, 40x.

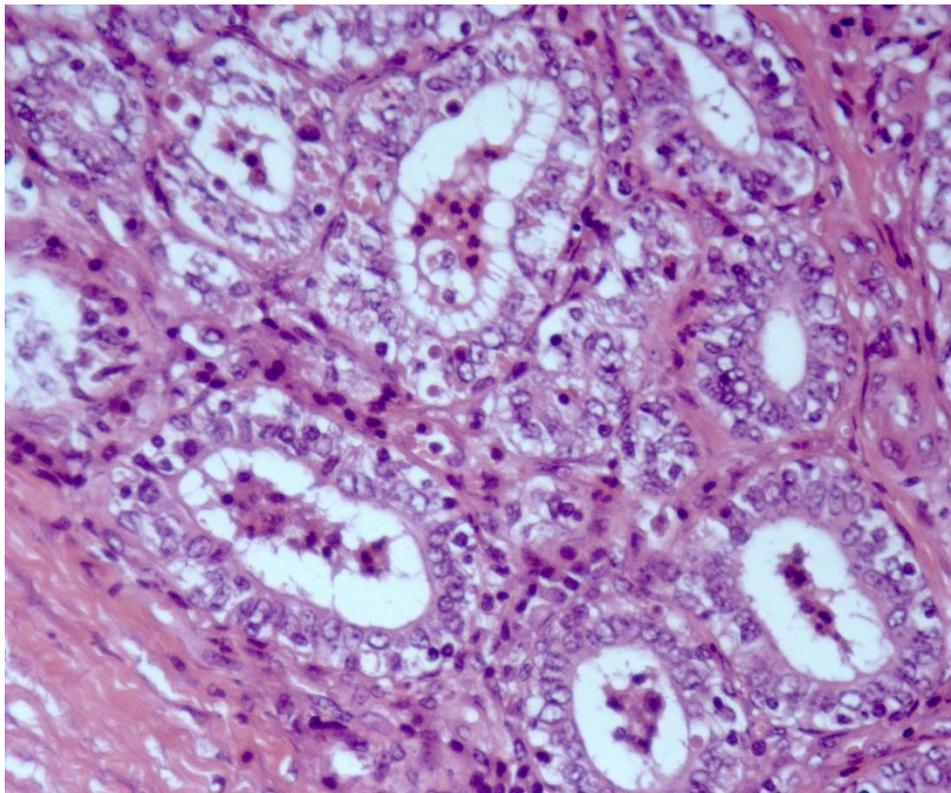


Figura 39 - Neutrófilos no interior de ácinos de um lóbulo mamário. HE, 40x.

O infiltrado de neutrófilos na presença de células epiteliais no interior dos túbulos (4/18) como observado em quatro amostras sugere processo inflamatório/infeccioso agudo ou subagudo. Na maioria, contudo predominaram macrófagos (14/18) sugerindo a cronicidade do processo infeccioso.

Linfócitos e macrófagos estiveram presentes no infiltrado inflamatório de 14 glândulas mamárias, sendo basicamente as únicas células presentes em quatro amostras, e em dez, estiveram associadas a neutrófilos e/ou plasmócitos, caracterizando o processo de mastite crônica, visto que macrófagos são numerosos nas formas crônicas e intersticiais da mastite (RUNNELLS, 1951).

Leucócitos são comumente encontrados no epitélio alveolar e no tecido interalveolar de animais em lactação, bem como na secreção láctea. Os leucócitos encontrados no leite da glândula mamária sadia são (aproximadamente): macrófagos (60%), neutrófilos (15%) e linfócitos (25%). A variação da quantidade de leucócitos e células epiteliais no leite (células somáticas) indica o grau de infecção mamária (NICKERSON, 1989). Os tipos de infiltrados celulares mais observados no presente estudo sugerem uma reação inflamatória crônica na maioria dos casos (13/18), dez dos quais foram classificados como mastite granulomatosa crônica.

A presença de linfócitos, macrófagos e neutrófilos equivale à constituição celular encontrada em glândulas normais. No entanto, em três amostras com a presença dessas células observaram-se áreas multifocais de hemorragia ao redor dos vasos sanguíneos e piogranuloma multifocal, reforçando a importância da quantificação e avaliação percentual das células inflamatórias presentes no leite e na glândula mamária.

A inflamação da glândula mamária envolve as células secretoras, o tecido conjuntivo ou ambos e geralmente causa alterações patológicas do tecido glandular (REFAI, 1988). Como descrito por Alberton et al. (2001), em um estudo de infecções mamárias por *S. aureus*, a bactéria progride através dos ductos mamários e suas toxinas levam a injúria no epitélio ductal, levando a liberação de substâncias quimiotáticas que atraem leucócitos, e liberação de lisossomos leucocitários, que aumentam a injúria tecidual. A persistência da bactéria provoca destruição do ducto e propagação da reação inflamatória para estruturas mais profundas. Posteriormente o estroma mamário é infiltrado por linfócitos e células plasmáticas, caracterizando um processo crônico.

O primeiro local colonizado e danificado pelas bactérias são os ductos maiores, seguindo-se dos ductos menores e áreas alveolares. Como as células secretoras são danificadas há liberação de substâncias que levam ao aumento da permeabilidade vascular, permitindo o afluxo de leucócitos adicionais para o local da infecção, e estes se infiltram entre as células. Quando os microrganismos são eliminados rapidamente a composição normal da glândula retorna em poucos dias. Mas, na medida em que a infecção persiste, as células secretoras reverterem para um estado de descanso, havendo destruição das estruturas alveolares, que são substituídas por tecido conjuntivo, levando a uma redução permanente na produção do leite (WATTIAUX, 2011). A presença de células inflamatórias em diferentes estruturas da glândula mamária confirma o caráter progressivo das lesões associadas à mastite.

Numerosos processos patogênicos responsáveis pela inflamação granulomatosa da mama podem ser incluídos no termo genérico de mastite granulomatosa. Porém, este termo tem sido associado a uma condição clínico-patológica distinta. Gregory et al. (2001) em estudo de revisão sobre o histórico e as formas da mastite bovina, descreveram a classificação da mastite de acordo com a forma clínica e conceitos histopatológicos proposta por Wendt et al. (1994) onde foram identificadas cinco formas inespecíficas e cinco formas granulomatosas de mastite. As formas, nas quais não foi possível estabelecer

uma relação direta entre a ação do agente etiológico e os principais sintomas, o autor denominou de inespecíficas e recomendou que sua classificação segundo critérios clínicos. Nesse grupo, figuraram a mastite catarral aguda, catarral crônica, necrótico-hemorrágica, apostematosa e intersticial não purulenta. As formas denominadas granulomatosas foram aquelas que apresentavam relação direta e evidente entre a atuação do patógeno e as lesões (etiologia e manifestação clínica).

Stefanon, Gonçalves e Rossi (2005) referiram-se a achados patológicos da mastite granulomatosa em mulheres jovens que não tinham relação com qualquer infecção específica, trauma ou corpo estranho, sendo esta forma descrita como mastite granulomatosa idiopática. A literatura sobre esta forma de mastite em humanos é vasta, contudo, em animais, especificamente bovinos, há apenas relatos referentes à mastite por diferentes agentes etiológicos bacterianos, virais e fúngicos que cursam com a formação de granulomas em processos crônicos.

A mastite piogranulomatosa caracteriza-se pela formação de tecido de granulação, se tratando de uma reação inflamatória crônica, sendo os granulomas constituídos por macrófagos circundados por tecido conjuntivo, células gigantes e linfócitos (CORREIA, 2013). A mastite piogranulomatosa, como descrita na literatura é causada por bactérias do gênero *Nocardia* (BALSAN et al., 2013), além de *Prototheca spp.* (PIANTA, OLIVEIRA, FALLAVENA, 2004) e *Arcanobacterium pyogenes*, conhecidas por mastites de difícil tratamento, devido ao tipo de lesão (MOTTA, et.al., 2011).

No presente estudo a caracterização histopatológica de mastite piogranulomatosa foi descrita em glândula mamária apresentando macroscopicamente um parênquima heterogêneo com grânulos amarelados e secreção purulenta. Esses grânulos representam colônias bacterianas e agregados proteináceos eosinofílicos de imunoglobulinas, comum nos casos de mastite estafilocócica, e também em infecções por *Nocardia*, actinobacilose e actinomicose (TESSELE et al., 2014).

Neste estudo não foram confirmados os agentes etiológicos associados às lesões observadas, contudo destaca-se a presença de infiltrados inflamatórios indicativos de processos crônicos os quais são relacionados a agentes etiológicos específicos, geralmente referidos como de difícil tratamento pelas características das lesões associadas. Neste contexto, o descarte é recomendado como medida de controle da doença nos rebanhos. Embora não se tenha o histórico de doenças nestes animais, é possível que a mastite tenha contribuído para o descarte dos animais, ainda que involuntário, visto que a inflamação crônica resulta em perda da capacidade produtiva da glândula, sendo este um fator importante na produtividade dos rebanhos leiteiros.

O grande número de achados característicos de mastite é um fato relevante, uma vez que um dos principais objetivos na pecuária leiteira é diminuir o descarte involuntário e realizar o descarte quando necessário, com a finalidade de manter um rebanho com bom potencial genético e produtivo.

Demeu et al. (2011) ao analisarem e quantificarem a influência do descarte involuntário de matrizes no impacto econômico da mastite em rebanhos leiteiros evidenciaram que o aumento da taxa de descarte influenciou diretamente no impacto econômico da mastite. Vários pesquisadores têm atribuído diferentes fatores ao descarte de vacas leiteiras, dentre os quais a conformação de úbere e tetos e ocorrência de mastite (SILVA et al., 2004, 2008). Nos Estados Unidos, estima-se que 26,9% dos descartes sejam por problemas de úbere e mastite (UNITED STATES OF AMERICA, 2002). Segundo Silva et al. (2004), em fêmeas bovinas leiteiras adultas os descartes devido a alterações na glândula mamária representaram 18,63%, sendo a mastite a maior causa representando 56,82%. Em vacas da raça holandesa confinadas, as enfermidades na glândula mamária

representam 17,2% das causas de descarte (SILVA et al., 2008). O elevado impacto econômico da mastite evidencia a necessidade de monitoramento da doença, para reduzir os prejuízos causados pela mesma.

5 CONCLUSÕES

A maior parte das alterações encontradas nos exames macroscópico, ultrassonográfico e histopatológico foram referentes a lesões causadas por mastite.

A ultrassonografia é uma técnica eficiente na avaliação da saúde do úbere de vacas, sendo possível a observação de alterações patológicas em suas estruturas. No entanto é uma importante ferramenta de auxílio diagnóstico e prognóstico, não sendo um método conclusivo.

O exame histopatológico é efetivo na caracterização de lesões da glândula mamária e possibilita diferenciá-las quanto ao tipo, extensão e evolução. No entanto é um exame de difícil aplicabilidade na clínica, devido à dificuldade de coleta de material e tempo de resultado, sendo um método mais apropriado para pesquisas. Nesse estudo se destacaram lesões por mastite crônica, explicado pelo fato de serem peças provenientes de vacas de descarte.

Os métodos de avaliação macroscópica, ultrassonográfica e histopatológica somados ao exame físico podem promover um diagnóstico mais completo e eficiente para as enfermidades de glândulas mamárias desta espécie.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, T.A.C.P. **Mastites em Bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho.** 2010. 87f. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. Disponível em: <http://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/2373/1/Mastites%20em%20Bovinos.pdf>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2017.
- ALBERTON, R.L.; WERNER, P.R.; DA CUNHA, L.; WARTH, J.F.; FARACO, A.P.P.A.; RIBAS, N.P.; Vacinação com Bacterina de *Staphylococcus aureus* no controle da mastite de vacas em lactação. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zootecnia**, v.4, n.1, p.31-40, 2001.
- ARNOLD, J.P.; WEBER, A.F. Occurrence and fate of corpora amylacea in the bovine udder. **American Journal of Veterinary Research**, v.38, n.6, p.879-881, 1977.
- AYADI, M.; CAJA, G.; SUCH, X. Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. **Journal Dairy Research**, v.70, n.1, p.1-7, 2003.
- BALDASSI, L.; CALIL, E.M.B.; PORTUGAL, M.A.S.C.; MOULIN, A.A.P.; MOURÃO, M.A.F. Morte súbita de caprinos por enterotoxemia. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, v.32, p.109-113, 1995.
- BALZAN, C.; ZIECH, R.E.; KOWALSKI, A.P.; GRESSLER, L.T.; LIBARDONI, F.; VARGAS, A.C. Occurrence of *Nocardia spp.* in mastitic dairy cattle samples sent to laboratory bacteriology the period 2004 to 2012. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, n.2, p.224, 2013.
- BASSAN, N.; VASQUEZ, F.; VINUESA, M.; CERRUTI, P.; BERNARDI, S. Morphological alterations in hemal nodes in splenectomized cattle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n.5, p.445-448, 1999.
- BENEDETTE, M.F.; SILVA, F.; DA ROCHA, D.; SANTOS, F.P.C.; COSTA, D.A.N.; D'ALESSANDRO, E.A.; AVANZA, M.F.B. Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.3, p.145-160, 2008.
- BERTAGNOLI, A.C. **Expressão de p63 e p53 em tumores mamários mistos de cadelas.** 2006. 59f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. Disponível em: http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde_arquivos/8/TDE-2007-04-25T135321Z-527/Publico/ANGELICABERTAGNOLLI.pdf. Acesso em 01 de fevereiro de 2017.
- BINDE, M., BAKKE, H. Relationships between teat characteristics and udder health - A field survey. **Nord Veterinary Medicine**, v.36, p.111-116, 1984.
- BIRGEL, E.H. Semiologia da Glândula Mamária de Ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a Arte do Diagnóstico.** 2. Ed. São Paulo: Roca, 2008.792p.
- BLOND, L.; BUCZINSKI, S. Basis of imaging and the main artifacts in bovine medicine. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 25, p.553-565, 2009.
- BRAGA, R.A.; TIRON, S.M.T.; TAIRA, A.R.; OLIVEIRA, M.G.; BONATO, D.V.; VRISMAN, D.P.; SILVA, M.H.; TEIXEIRA, P.P.M. Morfofisiologia, afecções e diagnóstico ultrassonográfico da glândula mamária em bovinos: revisão de literatura. **Nucleus Animalium**, v.7, n.1, p.17-30, 2015.

BRAGULLA, H.; KÖNIG, H.E. Glândula Mamária nos Animais Domésticos (Mamma). In: KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H. **Anatomia dos Animais Domésticos Volume 2 – Órgãos e Sistemas**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.400p.

BRITO, J.R.F.; SALES, R.O. Saúde do Úbere. Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.1, n.1, p.67-90, 2007.

BRITO, D.A.P.; OLIVEIRA, I.S.S.; BRITO, D.R.B.; COSTA, F.N. Prevalência e etiologia da mastite em bovinos leiteiros da Ilha de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.36, n.4, p.389-395, 2014.

BROOKER, B.E. The origin, structure and occurrence of corpora amylacea in the bovine mammary gland and in milk. **Cell and Tissue Research**, v.191, n.3, p.525-538, 1978.

CARNEIRO, A.V.; STOCK, L.A.; OLIVEIRA, V.M.; ZOCCAL, R.; CARVALHO, G.R.; MARTINS, P.C.; YAMAGUCHI, L.C.T. Mastite clínica: prevalência e custo de tratamento em rebanho leiteiro, **Archive Latinoamerican of Production Animal**, p.1-5, 2004. Disponível em: <http://www.bioline.org.br/pdf?la07076>. Acesso em: 05 de outubro de 2016.

CARTEE, R.E.; IBRAHIM, A.K.; McLEARY, D. B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. **American Veterinary Medical Association, Schaumburg**, v.188, p.1284-1287, 1986.

CASSOL, D.M.S.; SANDOVAL, G.A.F.; PERICOLE, J.J.; GIL, P.C.N.; MARSON, F.A. Introdução agentes da mastite diagnóstico e tratamento. **A Hora Veterinária**, v.29, n.175, 2010.

CAVANAGH, J.B. Corpora-amylacea and the family of polyglucosan diseases. **Cell and Tissue Research**, v.240, n.2, p.265-295, 1999.

CHAGAS, L.G.S.; MELO, P.C.; BARBOSA, N.G.; GUIMARÃES, E.C.; BRITO, D.V. Ocorrência de mastite bovina causada por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Candida* sp. em uma propriedade rural no município de Indianópolis – Minas Gerais, Brasil. **Bioscience Journal**, v.28, n.6, p.1007-1014, 2012.

CHAPMAN, R.E.; SHORT, B.F.; HYLAND P.G. Abnormal crimping in Merino and Polwarth wools. **Nature**, v.187, p.1960-1961, 1960.

CHAURASIA, D.; DALVI, R.S.; BANUBAKODE, S.B.; INGOLE, S.P.; SINHA, B. Histological and Histochemical study of corpora amylacea in Murrah Buffalo. **Indian Veterinary Journal**, v.12, p. 62-64, 2013.

CLAUDON, C.; FRANCIN, M.; MARCHAL, E.; STRACZECK, J.; LAURENT, F.; NABET, P. Proteic composition of corpora amylacea in the bovine mammary gland. **Tissue and Cell**, v.30, n.5, p.589-595, 1998.

COELHO, H.E. **Patologia veterinária**, 1ª ed. Manole: São Paulo, 2002.234p.

COONEY, S.; TIERNAN, D.; JOYCE, P.; KELLY, A.L. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type cheese. **Journal of Dairy Research**, v.67, p.301-307, 2000.

CORREIA, C.A.R. **Caracterização de mamites em pequenos ruminantes abatidos para consumo**. 2013. 90f. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Disponível em:

https://repositorio.utad.pt/bitstream/10348/3223/1/msc_carcorreia.pdf . Acesso em 03 fevereiro 2017.

COSTA, A.C. **Mastite subclínica: Patógenos isolados e respectiva sensibilidade antimicrobiana, variação da contagem de células somáticas e fatores de risco.** 2010. 104f. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, BRA. Disponível em: https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/Dissertacao2010_Anna_Carolina.pdf. Acesso em: 03 out. 2016.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Neoplasia. In: Patologia estrutural e funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1268p.

COUTURE, Y.; MULON, P.Y. Procedures and Surgeries of the Teat. **Veterinary Clinic Food Animal Practice**, v.21 , p.173-204, 2005.

CULLOR, J.S. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.88, p.571-579, 1993.

CULLOR, J.S.; TYLER, J.W.; SMITH, B.P. Distúrbios da glândula mamária. In: SMITH, B.P. **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais - volume 2.** 1.ed. São Paulo: Manole, 1994. 1738p.

DIAS, R.V.C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasília**, v.1, n.1, p.23-27, 2007.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. Rosenberger: **Exame clínico dos bovinos.** 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.420p.

DITCHFIELD, J.; BUTAS, C.R.; JULIAN, R.J. Mastitis due to *Nocardia brasiliensis*. **Canadian Journal Compendium Medical**, v.23, p.93-96, 1953.

EL-MAHDY, M.M.; FATMA, M.D.; OMNIA, F.H.B.; EID, R.A.A. Pathological, bacteriological and parasitological studies on lymph nodes affections in cattle. **Egyptain Journal of Comparative Pathology and Clinical Pathology**, v.15, n.2, p.47-67, 2002.

ERICSSON UNNERSTAD, H.; LINDBERG, A.; WALLER, K.P.; EKMAN, T.; ARTURSSON, K.; NILSSON-ÖST, M.; BENGTSSON, B. Microbial etiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. **Veterinary Microbiology**, v.28, n.137, p.90-97, 2009.

EZEASOR, D.N.; SINGH, A. Histology of the Caprine Hemal Node. **Acta Anatomica**, v.133, p.16-23, 1988.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, v.34, p.1315-1320, 2004.

FASULKOV, I.R. Ultrasonography of the mammary gland in ruminants: a review. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v.15, n.1, p.1-12, 2012.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico.** 2.ed. São Paulo: Editora Roca, 2008. 792p.

FERNANDES, D. **Diagnóstico laboratorial em mastites bovinas: Sua real importância e aplicação prática.** 2006. Atualização Técnica 33, Divisão Agropecuária. Disponível em: evistas.bvs-vet.org.br/cab/article/download/6862/7021. Acesso em: 03 out. 2016.

FERREIRA, J.L.; LINS, J.L.F.H.A.; CAVALCANT, T.V.; MACEDO, N.A.; BORJAS, A.R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.2, p.261-266, 2007.

FLÖCK, M. WINTER, P. Diagnostic ultrasonography in cattle with diseases of the mammary gland. **The Veterinary Journal**, v.171, n.2, p.314-321, 2006.

FLORES-DIAS, M.; ALAPE-GIRON, A. Role of *Clostridium perfringens* phospholipase C in the pathogenesis of gas gangrene. **Toxicon**, v.42, p.979-986, 2003.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.175p.

FRANDSON, R.D.; LEE WILKE, W.; FAILS, A.D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 472p.

FRANZ, S.; HOFMANN-PARISOT, M.; GUMPENBERGER, M. Sonographie der Zitze von Rind, Schaf und Ziege im Vergleich mit anderen bildgebenden Verfahren – eine Übersicht. **Berl Münch Tierärztl Wschr**, v.114, p.202-209, 2001.

FRANZ, S.; FLOEK, M.; HOFMANN-PARISOT, M. Ultrasonography of the Bovine Udder and Teat. **Veterinary Clinic Food Animal**, v.25,n.3, p.669-685, 2009.

FREITAS, M.F.L.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S.A., SILVA, D.R.; SILVEIRA FILHO, V.M.; SANTOS, F.G.B.; SENA, M.J.; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de Staphylococcus coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.171-177, 2005.

GEISHAUSER, T.; QUERENGÄSSER, K.; QUEENGÄSSER, J. Teat endoscopy (Theloscopy) for diagnosis and therapy of milk flor disorders in dairy cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.21, p.205-225, 2005.

GIL, J.I. **Manual de Inspeção Sanitária de Carne - volume 1**. 2.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000. 653p.

GINEL, P.J.; ZAFRA, R.; LUCENA, R.; BAUTISTA, M.J. Multiple generalized follicular cysts in a stallion. **Veterinary Dermatology**, v.18, p.456-459, 2007.

GÖTZE, R. Über Weidekrankheiten des Rindes. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.50, p.281-286, 1942

GREENE, C.E.; GUNN-MOORE, D.A. Mycobacterial infections. In: GREENE, C.E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3.ed. Philadelphia: Saunders, 2006. 1387p.

GREGORY, L.; BIRGEL, E.H.; HOEDEMAKER, M.; GRUNERT, E. Mastite dos bovinos: histórico de suas formas clínicas. **I Continuous Education Journal CRMV-SP**, v.4, n.3, p.31-38, 2001.

GROSS, T.L.; IHRKE, P.J.; WALDER, E.J. Veterinary Dermatopatology. A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease. **Mosby Year Book**, 1992. 544p.

GUNTHER, J.; ESCH, K.; POSCHADEL, N.; PETZL, W.; ZERBE, H.; MITTERHUEMER, S.; BLUM, H.; SEYFERT, H.M. Comparative kinetics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

specific activation of key immune pathways in mammary epithelial cells demonstrates that *S. aureus* elicits a delayed response dominated by interleukin-6 (Il-6) but not by Il-1a or Tumor Necrosis Factor α . **Infection and Immunity**, v.79, n.2, p.695-707, 2011.

HAMANN, J. Machine Milking and Mastitis. **Ferdinand Enke Verlag**, v.17, n.1, p.265-271, 1989.

HAMANN, J.; BURVENICH, C. Physiological status of bovine teat. **International Dairy Federation Bulletin**, v.297, n.3, p.272-281, 1994.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **The Journal of Dairy Science Research**, v.77, n.7, p. 2103-2112, 1994.

HELMBOLDT, C.F.; JUNGHER, E.L.; PLASTRIDGE, W.N. Histopathology of Bovine Mastitis. **Storrs Agricultural Experiment Station**, p.305-395, 1953. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=4CCD9FB487A98886617AB252E66A9AD4>. Acesso em: 03 out. 2016.

HILLYER, L.L.; JACKSON, A.P.; QUINN, G.C.; DAY, M.J. Epidermal (infundibular) and dermoid cyst in the dorsal midline of a three-year-old thoroughbred-cross gelding. **Veterinary Dermatology**, v. 14, p.205-209, 2003.

HOGAN, J.S.; GONZALES, R.N.; HARMON, R.J.; NICKERSON, S.C.; OLIVER, S.P.; PANKEY, J.W.; SMITH, K.L. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. **National Mastitis Council**, Madison, WI; 1999.

HUIJPS, K.; LAM, T.J.G.M.; HOGEEVEEN, H. Costs of mastitis: facts and perception. **Journal of Dairy Research**, v.75, n.1, p.113-120, 2008.

HURLEY, W.L. **Lactation biology website**. 2015. Disponível em: <http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/index.html>. Acesso em: 07 fev. 2017.

ITO, T.; KANO, R.; SOBUKAWA, H.; OGAWA, J.; HONDA, Y.; HOSOI, Y.; SHIBUYA, H.; SATO, T.; HASEGAWA, A.; KAMATA, H. Experimental Infection of Bovine Mammary Gland with *Prototheca zopfii* Genotype 1. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.73, n.1,p.117-119, 2011.

JENNINGER, S. Ultrasound examination of the bovine udder, Physiological and pathological findings. **Veterinary Medicine Faculty of the Ludwig-Maximilians**, p.131, 1989.

JOEST; S. Zeitschr. f. Infektionskrank. v.5, 1924. Original não visualizado. Citado por HELMBOLDT, C.F.; JUNGHER, E.L.; PLASTRIDGE, W.N (1953).

JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N.C. **Pathology of Domestic Animals - volume 2**. 5.ed. Edinbrough: Saunders Elsevier, 2007. 748p.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica - Texto e Atlas**. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556p.

KANEGUSUKU, M.S.; RODRIGUES, D.; URBAN, L.A.B.D.; ROMANUS, A.B.; PIMENTA, R.P.; DE ASSIS, M.G.; FERRARI, K.A. Recurrent spontaneous breast hematoma: report of a case and review of the literature. **Revista Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina**, v.56, n.6, p.179-182, 2001.

KILDER, A.A. **Classificação de úberes, tetos e lesões do ducto papilar em vacas com aptidão leiteira**. 2014. 50f. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, BRA. Disponível em: http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/SMOC-9JTQR7/disserta__o_mestrado_kilder_pronta_11042014__1__1_.pdf?sequence=1. Acesso em: 12 jan. 2017.

KLEIN, D.; FLÖCK, M.; KHOL, L.J.; FRANZ, S. Ultrasonographic measurement of the bovine teat: breed differences, and the significance of the measurements for udder health. **Journal of Dairy Research**, v.72, p.296-302, 2005.

KNUDSEN, K.A.; WHEELOCK, M.J. Cadherins and the mammary gland. **Journal of cellular Biochemistry**, v.95, p.488-496, 2005.

LAFFRANCH, I.A.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p.1027-1032, 2001.

LAKIEW, M.; TOLOSA, T.; TIGRE, W. Prevalence and major bacterial causes of bovine mastitis in Asella, South Eastern Ethiopia. **Tropical Animal Health and Production, Edinburgh**, v.41, p.1525-1530, 2009.

LANGONI, H.; GUIMARÃES, F.F.; DA COSTA, E.O.; JOAQUIM, S.F.; MENOZZI, B.D. Celularidade do leite e Unidades Formadoras de Colônias nas mastites causadas por *Staphylococcus coagulase positiva* e *coagulase negativa*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.6, p.518-524, 2015.

LLOYD, L.C. The aetiology of cysts in the skin of some families of Merino sheep in Australia. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v.88, p.219-227, 1964

LOPES JR, J.E.F.; LANGE, C.C.; BRITO, M.A.V.P. Relationship between total bacteria counts and somatic cell counts from mammary quarters infected by mastitis pathogens. **Ciência Rural**, v.42, n.4, p.691-696, 2012.

LOPES, M.A.; DEMEU, F.A.; DA ROCHA, C.M.B.M.; DA COSTA, G.M.; SANTOS, A.F.N.G. Avaliação do Impacto Econômico da Mastite em Rebanhos Bovinos Leiteiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.4, p.477-483, 2012.

MACGAVIN, D.M.; ZACHARY F.J. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4.ed. Philadelphia: Elsevier ,2007. 1488p.

MACHADO, T.R.O.; CORREA, M.G.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from mastitic cattle in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.278-282, 2008.

MARGATHO, L.F.F.; HIPOLITO, M.; KANETO, C.N. Métodos de prevenção, controle e tratamento da mastite bovina. **Boletim Técnico Instituto Biológico**. São Paulo: Instituto Biológico, p.5-351998.

MAXIMOW, A.A.; BLOOM. W.A. Text book of Histology. **W. B. Saunders Company**, 1938. 1928p.

MCDONALD, J.S. Radiographic method for anatomic study of the teat canal: changes with lactation age. **American Journal of Veterinary Research**, v.29, p.1207-1210, 1968b.

MCFADYEAN, J. The *corpora amylacea* of the mammary gland of the cow. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v.43, p.291-300, 1901.

MEDEIROS, M.I.M.; SOUZA, L.C. Associação de agentes patogênicos isolados em análise microbiológica da água, com a presença de mastite clínica ou subclínica, em vacas de propriedades leiteiras da Região de Cerqueira César-SP. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, p.580-585, 2009.

MELO, C.H.S.; SOUSA, F.C.; TELES FILHO, A.C.A.; MOURA, R.R.; ALBUQUERQUE, E.S.; PEREIRA, A.F.; MELO, L.M.; FREITAS, V.J.F.; TEIXEIRA, D.I.A. Mensurações ultrassonográficas da cisterna da glândula mamária de caprino transgênico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.491-494, 2012.

MENDONÇA, A.H.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.; PENNA, C.F.A.M.; SIQUEIRA, T.L.; CAMARGOS, C.R.M. Qualidade microbiológica de leite cru resfriado: comparação de diferentes procedimentos e locais de coleta. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, p.276-281, 2001.

MICHEL, G.; RAUSCH, B. Change in teat dimensions of cattle udder during several periods of lactation. **Monatshefte für Veterinärmedizin**, v.43, p.296-302, 1988.

MONTEIRO, V.L.C.; COELHO, M.C.O.C.; CARNEIRO, A.S.; SILVA, R.A.A, WANDERLEY, A.G.; WANDERLEY, E.K.; FRANCO, E.S. Descrição Clínica e Histopatológica de Papilomatose Cutânea Bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.4, p.1079-1088, 2008.

MORRILL, C.C. A histopathological study of the bovine udder. **Cornell Veterinary**, v.28, p.196-206, 1938.

MOTA, R.A.; MEDEIROS, E.S.; SANTOS, M.V.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOURA, A.P.B.; COUTINHO, L.C.A. Participação dos Staphylococcus na etiologia das mastites em bovinos leiteiros do Estado do Pernambuco (Brasil). **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p.124-130, 2012.

MOTTA, R.G.; RIBEIRO, M.G.; PEROTTI, I.B.M.; MOTTA, D.G.; DOMINGUES, P.F.; LUCAS, T.M.; ZAMPROGNA, T.O.; LISTONI, F.J.P. Surto de mastite causada por *Arcanobacterium pyogenes*. **Aquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.3, p.736-740, 2011.

MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. **Anais do II Sul-Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil**, Maringá, p.206-217, 2002.

NAIK, A.G.; PRASAD, R.V.; JAMUNA, K.V.; MURTHY, V.C.; ISLOOR, S.; RAMESHA, K.P.; KOTRESH, A.M.; RAMKRISHNA, V. Histological and Histochemical Studies on the Mammary Gland of Malnad Gidda Cows of Karnataka. **Indian Journal of Veterinary Anatomy**, v.27, n.2, p.52-55, 2015.

NEIJENHUIS, F.; KLUNGEL, G.H; HOGEVEEN, H. Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, p. 2795–2804, 2000.

NEIJENHUIS, F.; KLUNGEL, G.H.; HOGEVEEN, H. Recovery of cow teats after milking as determined by ultrasonographic scanning. **Journal of Dairy Science**, v.84, p. 2599-2606, 2001.

NEWKIRK, K.M.; FRANK, L.A. Multiple follicular cysts in four alpacas (*Vicugna pacos*). **Veterinary Dermatology**, v.22, p.275-278, 2010.

NICKERSON, S.C. Immunological aspects of mammary involution. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.1665-1678, 1989.

NICKERSON, S.; OWENS, W.; BODDIE, R. Mastitis in dairy heifers: initial studies on prevalence and control. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.7, p.1607-1618, 1995

NICKERSON, S.C. Resistance mechanisms of the bovine udder: New implications for mastitis control at the teat end. **Journal of American Veterinary Medical Association, Schaumburg**, v.191, n.11, p.1484-1488, 1987.

NICKERSON, S.C.; KAUTZ, F.M.; NACE, E.L. Managing Mastitis in Dairy Heifers to Improve Overall Herd Health. **UGA Cooperative Extension Bulletin 1416**, p.1-12, 2013.

NIEBERIE, K.; ANRI, C.P. Lehrbuchder speziellen oa thologischen. **Anatomic der Hall Gustave Fischer**, v.32, p.578-588, 1931.

OLIVEIRA, C.M.C.; SOUSA, M.G.S.; SILVA, N.S.; MENDONÇA, C.L.; SILVEIRA, J.A.S.; OAIGEN, R.P.; ANDRADE, S.J.T.; BARBOSA, J.D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.2, p.104-110, 2011.

OLIVIERA, E.F. **Análise espacial da contagem de células somáticas e prevalência de patógenos contagiosos da mastite em rebanhos leiteiros em Minas Gerais, Brasil**. 2013. 70f. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, BRA. Disponível em: <http://www.ufjf.br/mestradoleite/files/2013/05/Disserta%C3%A7%C3%A3o-final3.pdf>. Acesso em: 03 out. 2016.

OTTOLENGHI, D. Beitrag zur Histologie der functionirenden Milchdruse. **Archive Mikrosk Anatomie Entwicklungsmech**, v.58, p.581-581, 1901.

OZ, H.H.; WILLIAMS, M.D.; MEMOM, M.A. Epidermal cyst inclusion in a cow. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.187, p.504-505, 1985b.

PAAPE, M.J.; MEHRZAD, J.; XIN ZHAO, X.; DETILLEUX, J.; BURVENICH, C. Defense of bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.109-121, 2002.

PARK, C.S.; JACOBSON, N.L. Glândula Mamária e lactação. In: SWENSON M.J.; REECE W.O. , **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

PARK, C.S.; LINDBERG, G.L. Glândula Mamária e Lactação. In: DUKES, H.H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.954p.

PARKER, W.M. Multiple (more than two thousand) epidermal inclusion cyst in a dog. **Canadian Veterinary Journal**, v.36, p.386-387, 1995.

PEIXOTO, G.C.X.; LIRA, R.A.; ALVES, N.D.A.; SILVA, A.R. Bases Físicas da Formação da Imagem Ultrassonográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.1, p.15-24, 2010.

- PEREIRA, R.A.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; VIANNA, R.P.T.; OLIVEIRA, M.E.G. Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “Pacto Novo Cariri” no Estado da Paraíba. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n.2, p.205-211, 2005.
- PFAFFL, M.W.; WITTMANN, S.L.; MEYER, H.H.; BRUCKMAIER, R.M. Gene expression of immunologically important factors in blood cells, milk cells, and mammary tissue of cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.2, p.538-545, 2003.
- PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. Mastitis: Counter Attack. A strategy to combat mastitis. **Babson Bros**, 1991. 150p.
- PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. Qualidade do leite e controle de mastite: passado, presente e futuro. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite, 2. 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, p.23-38, 2002.
- PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a Luta Contra a Mastite**. 1.ed. Piracicaba: Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.
- PIANTA, C.; OLIVEIRA, S.J.; FALLAVENA, L.C.B. Mastite Bovina Causada por *Prototheca* spp. **Veterinária em Foco**, v.1 n.2, p.43-47, 2004.
- PIEPERS, S.; MEULEMEESTER, L.; KRUIF, A.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H.W.; VLIEGHER, S. Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. **Journal of Dairy Research**, v.74, n.4, p.478-483, 2007.
- PIEREZAN, F.; PANZIERA, W.; TESSELE, B.; GALIZA, G.J.N.; BARROS, C.S.L. Cistos epidermais em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.11, p.1056-1060, 2014.
- POL, M.; RUEGG, P.L. Relationship between antimicrobial usage and antimicrobial susceptibility of Gram-positive mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.1, p.262-+273, 2007.
- PORCIONATO, M.A.F.; SOARES, W.V.B.; REIS, C.B.M. Milk flow, teat morphology and subclinical mastitis prevalence in Gir cows. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.12, p.1507-15012, 2009.
- PRAETORIUS, F. HPV- associated diseases of oral mucosa. **Clinics in Dermatology**, v.15, p.399-413, 1997.
- PYÖRALÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v.34, p.565-578, 2003.
- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K.; CARTER, G.R. **Mastitis**. In: QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K.; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. 1.ed. London: Wolfe Publishing, 1994.720p.
- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**.: 1.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.512p.
- RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 10.ed. Philadelphia: Saunders, 2007. 2065p.
- RAINARD, P.; RIOLLET, C. Innate immunity of the bovine mammary gland. **Veterinary Research**, v.37, n.3, p.369-400, 2006.

RAMBABU, K.; SREENU, M.; SURESH KUMAR, R.V.; RAO, T.S.C. Ultrasonography of the udder and teat in buffaloes: A comparison of four methods. **Buffalo Bulletin**, v. 27, p.269-273, 2008.

RAMBABU, K.; SREENU, M.; SURESH KUMAR, R.V.; RAO, T.S.C. Ultrasonography of the Udder and Teat in Buffaloes. **Buffalo Bulletin**, v.28, n.1,p.5-10, 2009.

REFAI, M.K. Mastitis, aetiology, diagnosis and control. **Journal Egyptain Veterinary Medicine Association**, v.48, p.521-545, 1988.

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINE, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM R.C.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.3, p.287-290, 2003.

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINI, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF, JR. W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM, R.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre os agentes contagiosos e ambientais com mastite clínica e subclínica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, **Anais eletrônicos...** v.1, p.287-290, 2004.

RICHTZENHAIN, L.J.; CONRADO RIBEIRO, L.O. Papilomatose bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.5, n.3, p. 7-11,1982.

RODRIGUES, B.A.; RODRIGUES, J.L. Fatores associados com a acurácia da técnica ultrassonográfica no diagnóstico clínico em veterinária. **A Hora Veterinária**, v.29, p.39-42, 2009.

RUEGG, P.L. Investigation of mastitis problems on farms. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.19, n.1, p. 47-73, 2003.

RUNNELLS, R.A. Granulomatous Inflammation of Domestic Mammals. **Iowa State University Digital Repository**, v.13, n.1, p.14-17, 1951.

SAKITA, K.; FUJINO, M.; KOSHIKAWA, T.; OHMIYA, N.; ASAI, J.; Structure and function of the hemolymph node in rats. **Journal of Medical Science**, v.60, n.3, p.129-137, 1997.

SAMUELSON, D.A. **Tratado de Histologia Veterinária**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1-544, 2007.

SANTIN, A.P.I.; BRITO, L.A.B. Caracterização anatomopatológica da papilomatose cutânea em bovinos leiteiros **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.10, n.3, p. 161-165, 2003.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ª ed. Barueri: Ed. Manole, p. 1-314, 2007.

SANTOS, M.V. Controle da mastite ambiental. **Mundo do Leite**, 2012. Disponível em: <http://www.portaldbo.com.br/Mundo-do-Leite/Edicao-atual/Controle-da-mastite-ambiental/4582>. Acesso em: 03 out. 2016.

SANTOS, V.J.C.; TEIXEIRA, P.P.M.; COUTINHO, L.N.C.; OLIVEIRA, M.E.F.; SIMPLÍCIO, K.M.M.G.; SANCHEZ, D.C.C.; BARROS, F.F.P.C.; GONÇALVES, E.P.M.; FELICIANO, M.A.R.; VICENTE, W.R.R. Ultrassonografia Doppler de cabra leiteira com mastite gangrenosa – relato de caso. X CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. **Anais...** p.381-381, 2013.

SANTOS, V.J.C.; SIMPLÍCIO, K.M.M.G.; SANCHEZ, D.C.C.; ALMEIDA, V.T.; TEIXEIRA, P.P.M. Ultrassonografia convencional e doppler em cabra com mastite gangrenosa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.6, p.1931-1935, 2014.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; NADER FILHO, A.; DIMENSTEIN, A.R. Ocorrência de bactérias esporuladas do gênero *Bacillus* e *Clostridium* em amostras de leite longa vida. **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p. 25-27, 1996.

SEEH, C.; HOSPES, R.; BOSTEDT, H. The use of visual methods (sonography/endoscopy) for the diagnosis of a webbed teat in a cow. **Tierärztliche Praxis**, v. 24, p. 438-42, 1996.

SEKER, I.; RISVANLI, A.; YUKSEL, M.; SAAT, N.; OZMEN, O. Relationship between California Mastitis Test score and ultrasonographic teat measurements in dairy cows. **Australian Veterinary Journal**, v.87, n.12, p. 480-483, 2009.

SERRANO, J. **La ubre, una fábrica de leche**, 2014. Disponível em: <http://jairoserrano.com/2014/11/la-ubre-una-fabrica-de-leche/>. Acesso em: 31 out. 2016.

SIEBER, R.L.; FARNSWORTH, R.J. Prevalence of chronic teat-end lesions and their relationship to intramammary infection in 22 herds of dairy cattle. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.178, n.12, p. 1263-1267 1981.

SILVA, L.A.F.; SILVA, E.B.; ROMANI, A.F.; GARCIA, A.M. Causas de descarte de fêmeas bovinas leiteiras adultas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.5, p.9-17, 2004.

SILVA, L.A.F.; COELHO, K.O.; MACHADO, P.F.; SILVA, M.A.M.; MOURA, M.I.; BARBOSA, V.T.; GOULART, M.M.; GOULART, D.S. Causas de descarte de vacas da raça holandesa confinadas em uma população de 2.083 bovinos: 2000/2003. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.383-389, 2008.

SIMÕES, A.S.C. **A secagem no efectivo caprino leiteiro e seus efeitos na lactação subsequente**. p.1-80, 2009. 80f. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1407/1/A%20Secagem%20no%20Efectivo%20Caprino%20Leiteiro%20e%20seus%20Efeitos%20na%20Lacta%C3%A7%C3%A3o%20Subsequente.pdf>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2017.

SLÓSZARZ, P.; WÓJTOWSKI, J.; BIELINSKA, S.; FRACKOWIAK, A.; LUDWICZAK, A.; KRZYZEWSKI, J.; BAGNICKA, E.; STRZAŁKOWSKA, N. Machine induced changes of caprine teats diagnosed by ultrasonography. **African Journal of Biotechnology**, v.9, n.50, p.8698-8703, 2010.

SORDILLO, L.M.; NICKERSON, S.C. Growth patterns and histochemical characterization of bovine mammary corpora amylacea. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v.34, n.5, p.593-597, 1986.

SORDILLO, L.M. SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.

SOUSA, J.M.B. **A hiperqueratose do canal do teto nas explorações leiteiras portuguesas. Causas e efeitos microbiológicos**. p. 1-93, 2008. 100f. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública. Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa – Universidade Técnica de Lisboa. Disponível em:

<https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/512/3/Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2017.

SOUTO, L.I.; MINAGAWA, C.Y.; TELLES, E.O., GARBUGLIO, M.A.; AMAKU, M.; MELVILLE, P.A.; DIAS, R.A.; SAKATA, S.T.; BENITES, N.R. Correlation between mastitis occurrence and the count of microorganisms in bulk raw milk of bovine dairy herds in four selective culture media. **Journal of Dairy Research**, v.77, n.1, p.63-70, 2010.

SOUZA, T.M. **Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães**. p.555-560, 2005. 296f. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <http://coral.ufsm.br/lpv/posgrad/dissertacoes/souza2005.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2017.

SOUZA, T.M.; FIGHUERA, R. **Glossário de termos e expressões frequentemente utilizados em dermatopatologia veterinária**. Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Patologia, p.1-18, 2015. Disponível em: http://www.rafaelfighera.com.br/wp-content/uploads/2015/03/rafaelfighera_lesoes-histologicas-da-pele.pdf. Acesso em: 01 fev. 2017.

SPANAMBERG, A.; WÜNDER JR, E.A.; PEREIRA, D.I.B.; ARGENTA, J.; SANCHES, E.M.C.; VALENTE, P.; FERREIRO, L. Diversity of yeasts from bovine mastitis in Southern Brazil. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.25, n.3, p. 154-156, 2008.

STAACK, E. Ueber die Veränderungen an den supramammaren Lymphknoten beider chronischen Streptokokkenmastitis. **Inaugural Dissertation**, 1933

STÁDNÍK, L.; LOUDA, F.; DEZDÍČEK, J.; JEŽKOVÁ, A.; RÁKOS, M. Changes in teat parameters caused by milking and their recovery to their initial size. **Archiv Tierzucht**, v.53, n.6, p.650-662, 2010.

STARKE, A.; AHLERS, D.; OLLHOFF, R.D.; BARROS FILHO, I.R.; HOEDEMAKER, M. Estratégias de tratamento para lesões traumáticas de teto de vacas leiteiras. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambiental**, v. 9, n.3, p. 331-336, 2011.

STEFANON, C.C.; GONCALVES, A.F.; LIMA, R.; ROSSI, K. Idiopathic granulomatous mastitis: clinical, mammography and ultrasound findings. **Radiologia Brasileira**, v.38, n.3, p. 1-6, 2005.

STOCKER, H.; BÄTTIG, U.; DUSS, M.; ZÄHNER, M.; FLÜCKIGER, M.; EICHER, R.; RÜSCH, P. Evaluation of bovine teat stenoses by means of ultrasonography. **Journal Tierärztliche Praxis**, p. 251-256, 1989.

TAKEDA, T. Diagnostic ultrasonography of the bovine udder. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v.37, n.2, p.669-685, 1989.

TENHAGEN, B.A.; KÖSTER, G.; WALLMANN, J., HEUWIESER, W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v.89, n.7, p.2542-2551, 2006.

TESSELE, B.; MARTINS, T.B.; VIELMO, A.; BARROS, C.S.L. Lesões granulomatosas encontradas em bovinos abatidos para consumo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34 n.8, p.763-769, 2014.

TESSELE, B.; BARROS, C.S.L. Tumores em bovinos encontrados em abatedouros frigoríficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36 n.3, p.145-160, 2016.

TOZZETTI, D.S.; BATAIER, M.N.; ALMEIDA, L.R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.6, n.10, p.1-7, 2008.

TROSTLE, S.S.; O'BRIEN, T.R. Ultrasonography of the bovine mammary gland. **Food Animal**, v.25, p.S64-S71, 1998.

UNITED STATES OF AMERICA. **United States Department of Agriculture. Dairy 2002: Part I: Reference of dairy health and management in the United States**. Fort Collins, 2002.

VESCOVI L, A.; MONTEIRO, J.N.M.; SANTOS, W.G.; OLIVEIRA, D.C.; BORLIN, D.C.; MACHADO, F.M.; MARTINS FILHO, S.; COSTA, F.S. Ultrassonografia quantitativa do baço de gatos normais. **Veterinária em Foco**, v.7, n.1, p.1-10, 2009.

WATTIAUX, M.A. Mastite: a doença e sua transmissão. **Instituto Babcock para Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional University of Wisconsin-Madison**, p.89-92, 2011. Disponível em: http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/4383/material/23_mastite_a_doenca_e_sua_transmissao.pdf. Acesso em: 01 fev. 2017.

WEIS, D.; WEINFURTHER, M.; BRUCKMAIER, R.M. Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.87, p.3280-3289, 2004.

WELLNITZ, O.; KERR, D.E. Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.101, p.191-202, 2004.

WELLNITZ, O.O.; REITH, P.; HAAS, S.C.; MEYER, H.H.D. Immune relevant gene expression of mammary epithelial cells and their influence on leukocyte chemotaxis to different mastitis pathogens. **Veterinary Medicine**, v.51, p.125-132 2006.

WENDT, K.; BÜSTEDT, H.; MIELKE, H.; FUCHS, A. *W Euter - und Gesäugekrankheiten*. Stuttgart: Fischer, p.226-431, 1994.