

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS

GABRIELA VINCENSI DA COSTA

**AVALIAÇÃO DO LEITE DE ÉGUAS DA
RAÇA CRIOLA: COMPOSIÇÃO E
QUALIDADE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Veterinária da UFRGS como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Reprodução Animal, sob a orientação da Prof^ª. Dra. Sandra Fiala Rechsteiner

Porto Alegre, fevereiro de 2013

GABRIELA VINCENSI DA COSTA

AVALIAÇÃO DO LEITE DE ÉGUAS DA RAÇA CRIOULA:

COMPONENTES E QUALIDADE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Veterinária da UFRGS como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Reprodução Animal, sob a orientação da Prof^ª. Dra. Sandra Fiala Rechsteiner.

APROVADO POR:

Prof^ª. Dra. Sandra Fiala Rechsteiner
Orientadora

Prof^º. Dr. Rodrigo Costa Mattos
Membro da Comissão

Prof. Dr. Ivan Bustamante Filho
Membro da Comissão

Prof. Dra. Adriana Pires Neves
Membro da Comissão

CIP - Catalogação na Publicação

Vincensi da Costa, Gabriela

Avaliação do leite de éguas da raça Crioula:
composição e qualidade / Gabriela Vincensi da Costa. -
- 2013.
42 f.

Orientadora: Sandra Fiala Rechsteiner.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos,
Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. égua. 2. lactação. 3. leite . 4. mastite. I.
Fiala Rechsteiner, Sandra, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por abrir caminhos e me proteger em todas as etapas da vida,

A minha orientadora Sandra Fiala Rechsteiner por todo auxílio, paciência, dedicação e compreensão.

Aos professores e amigos Leonardo Porto Alves e Carlos Bondan, por sempre estarem dispostos a me ajudar tirando dúvidas e dando ideias.

Ao meu pai por todo auxílio e paciência durante a execução do estudo, nunca medindo esforços para me ajudar.

A minha mãe por sempre me apoiar e incentivar, sem me deixar desistir de nada.

Ao Diego pelo incentivo e compreensão.

E por final agradeço a toda minha família e amigas.

RESUMO

O leite da égua é o principal alimento do potro nos primeiros meses de vida. Além disso, em países europeus o leite equino é muito utilizado na nutrição e medicina humana para tratamento de diversas doenças, e também como substituto do leite da mulher para crianças, devido a sua semelhança ao leite humano. A raça Crioula é muito importante no sul do Brasil América, sendo que não existe nenhum trabalho avaliando a qualidade do leite das éguas Crioulas. O objetivo deste estudo foi avaliar os principais componentes do leite das éguas da raça Crioula: gordura, proteína, lactose e sólidos totais; bem como a qualidade sanitária do leite e saúde da glândula mamária através da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total, respectivamente, além de cultura bacteriana. Foram utilizadas 12 éguas da raça Crioula, as quais foram ordenhadas quinzenalmente até 180 dias de lactação. Foi verificado que o leite das éguas Crioulas é pobre em gordura (0,57%), rico em lactose (6,71%) e possui uma baixa concentração de proteína (1,95%). A maioria das amostras de leite não apresentou crescimento bacteriano. Também foi observada a média de $6,80 \times 10^3$ céls/ml para CCS não havendo diferença quando se comparou as éguas que se apresentaram positivas e negativas ao crescimento bacteriano e média de CBT $29,66 \times 10^3$ UFC/ml, sendo que éguas que apresentaram crescimento bacteriano apresentaram também maior número na CBT.

Palavras-chave: Égua, Lactação, Leite, Mastite.

ABSTRACT

The mare's milk is the main food in the first months of the foal's life. Also, in European countries equine milk is widely used in human medicine for nutrition and treatment of various diseases, as well as women's milk substitute for young children, because of its similarity to human milk. The Criollo breed is very important in South America and Brazil, where there is no study evaluating the quality of this milk. The aim of this study was to evaluate the main compounds of Criollo mare's milk: fat, protein, lactose and total solids, the sanitary quality of milk and mammary gland health through somatic cell count and total bacterial count, respectively and bacterial culture. A total of 12 Criollo mares which were milked every two weeks up to 180 days of lactation were used. It was observed that the Criollo mare's milk is low in fat (0,57%), high in lactose (6,71%) and has a low protein concentration (1,95%). It was also observed an average of $6,80 \times 10^3$ cells/ml for SCC (with no difference regarding positive and negative bacterial growth) and an average of $29,66 \text{ TBC} \times 10^3 \text{ CFU/ml}$. Mares that showed bacterial growth also showed the greatest TBC number.

Keywords: Mare, Lactation, Milk, Mastitis.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCCC – Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos

CBT – Contagem Bacteriana Total

CCS – Contagem de Células Somáticas

céls – células

Kg – quilos

mL – mililitros

PSI – Puro Sangue Inglês

R\$ - reais

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

µl – microlitros

°C – graus Celsius

% - porcentagem

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
1 REVISÃO DE LITERATURA	4
1.1 RAÇA CRIOLA	4
1.2 LACTAÇÃO DAS ÉGUAS x DESENVOLVIMENTO DOS POTROS	4
1.3 PRODUÇÃO DE LEITE.....	6
1.4 FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSIÇÃO DO LEITE EQUINO ..	8
1.4.1 Estágio de Lactação	8
1.4.2 Raça.....	8
1.4.3 Variação individual	9
1.5 PRINCIPAIS COMPONENTES DO LEITE EQUINO.....	9
1.5.1 Proteína.....	9
1.5.2 Gordura	11
1.5.3 Lactose	13
1.5.4 Sólidos Totais	14
1.6 HIGIENE DO LEITE EQUINO E SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA	14
1.6.1 Contagem de Células Somáticas.....	15
1.6.2 Contagem Bacteriana Total	16
1.6.3 Bactérias no leite equino	17
2 ARTIGOS	19
2.1 Artigo 1.....	19
2.1 Artigo 2	31
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

INTRODUÇÃO

O cavalo Crioulo é oriundo da população equina da península ibérica. Em 1493, os espanhóis introduziram no que hoje é São Domingos, no Haiti, o que vem a ser o antepassado de todos os cavalos crioulos americanos. A partir da introdução de cavalos espanhóis e da sua disseminação no Panamá, Colômbia, e Peru, a introdução sequencial em Nova Granada, Flórida, Rio da Prata e no Paraguai, sendo esses últimos por Pedro de Mendonza (1535) e Alvar Núñez Cabeza de Vaca (1541). Antigamente, foi de fundamental importância para o desbravamento de territórios e batalhas. A partir do século XVII, os cavalos foram largados ao acaso, formando manadas selvagens pelas cordilheiras e pampas, ficando concentrados no sul da América e se reproduzindo através de uma seleção natural, tornando-se resistente as intempéries. Após este período evolutivo, em meados do século XIX, fazendeiros começaram a tomar consciência da importância e qualidade dos cavalos que vagavam por suas terras. Estes animais, com suas características próprias, originaram a raça Crioula passaram a ser utilizados nas lidas de campo. A partir do século XX, começaram a ganhar notoriedade, e posteriormente tornando-se símbolo do Rio Grande do Sul. Nos últimos anos, além de ferramenta de trabalho, o cavalo Crioulo conquistou local de destaque no cenário mundial dos esportes equestres (Teixeira, 2011; Pons, 1996).

O leite é um dos alimentos mais completos, uma vez que contém todos os nutrientes necessários para sustentar a vida do recém-nascido (Medhammar et al., 2012; Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Pikul & Wójtowski, 2008; Malacarne et al., 2002). O leite de vaca, cabra e ovelha representa grande parte da produção mundial de leite. No entanto, outras espécies são nutricionalmente e economicamente importantes em diversos países (Medhammar et al., 2012).

Estima-se que aproximadamente 30 milhões de pessoas em todo o mundo bebam leite de égua. Rebanhos de éguas leiteiras são encontrados na Rússia, Cazaquistão,

Quirguistão, Tadjiquistão, Uzbequistão, Mongólia e Europa Oriental e Central. Estudos sobre o leite equino têm demonstrado semelhança com o leite humano principalmente devido ao perfil de proteína total, lactose, minerais e ácidos graxos (Medhammar et al., 2012; Nikkhah, 2012; Reis et al., 2007; Malacarne et al., 2002). Nos últimos anos, houve crescente interesse pela utilização do leite equino na nutrição e medicina humana nos países europeus, principalmente Alemanha, França, Itália e também a Escandinávia (Pieszka et al., 2011; Salamon et al., 2009; Pikul & Wójtowski, 2008; Reis et al., 2007; Malacarne et al., 2002).

Na reprodução equina, o produto mais importante é o potro. Existe uma grande preocupação com a saúde e crescimento do cavalo recém-nascido, portanto, para um melhor entendimento das necessidades nutricionais das éguas e suas crias, é essencial o conhecimento da produção e composição do leite das éguas (Malacarne et al., 2002; Oftedal et al., 1983). A indústria enfrenta uma crescente necessidade de pesquisar e preparar suplementos para serem utilizados na alimentação dos potros, desta forma, estudos da composição química do leite das éguas se tornam cada vez mais importantes (Pietrzak-Fiećko et al., 2009). Além disso, o conhecimento dos nutrientes do leite equino permite sua utilização para fins terapêuticos e estéticos, e também como alternativa ao leite de vaca (Medhammar et al., 2012).

A composição e produção do leite variam entre espécies, raças e até mesmo entre indivíduos da mesma raça, estágio de lactação, número de partos, variações estacionais, idade, peso, saúde do animal e principalmente da glândula mamária, fatores alimentares e de manejo (Medhammar et al., 2012; Reis et al., 2007).

As propriedades terapêuticas do leite de égua são: utilização como substituto do leite da mulher para recém-nascidos e prematuros (Medhammar et al., 2012; Nikkhah, 2012; Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Caroprese et al., 2007; Reis et al., 2007), tratamento de doenças metabólicas e alérgicas (Salamon et al., 2009, Csapó et al., 1995), tratamento da tuberculose, úlcera gástrica crônica, aftas (Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Reis et al., 2007; Doreau & Martuzzi, 2006a), em idosos com imunodeficiência, na prevenção de doenças cardíacas (Medhammar et al., 2012; Nikkhah, 2012; Salimei & Fantuz, 2012; Pikul & Wójtowski, 2008; Doreau & Martuzzi, 2006a; Orlandi et al., 2003), na prevenção de doenças degenerativas associadas ao envelhecimento (Medhammar et al., 2012; Nikkhah, 2012), em hepatopatias (Reis et al., 2007), na

síntese de prostaglandinas, por suas propriedades antiinflamatórias (Doreau & Martuzzi, 2006a) e como cicatrizante de feridas cirúrgicas (Danków et al., 2006). Além disso, o leite de égua tem sido utilizado com sucesso em crianças com alergia alimentar múltipla (Nikkhah, 2012; Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Caroprese et al., 2007; Chiofalo et al., 2006; Orlandi et al., 2003; Malacarne et al., 2002; Businco et al., 2000).

Na Ásia Central e Europa Oriental, é produzida uma bebida tradicional a base de leite de égua fermentado, com benefícios de saúde alegados empiricamente, chamada *Koumiss*, que é produzida em escala industrial (Salimei & Fantuz, 2012; Pikul & Wójtowski, 2008; Chiofalo et al., 2006; Doreau & Martuzzi, 2006a; Malacarne et al., 2002). O leite equino também é utilizado na cosmetologia, pois as proteínas do leite de égua são descritas como naturalmente ativas na hidratação e prevenção do envelhecimento da pele (Salimei & Fantuz, 2012; Caroprese et al., 2007). Na Alemanha, o leite de égua está disponível no mercado como líquido fresco, congelado (-18°C), liofilizado e fermentado (Danków et al., 2006).

O objetivo deste estudo foi avaliar os componentes do leite de éguas da raça Crioula, a qualidade deste leite e sanidade da glândula mamárias das éguas, visto que não há nenhuma publicação sobre este tema, em éguas crioulas.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 RAÇA CRIOULA

Os cavalos da raça Crioula têm papel importante na cultura do Rio Grande do Sul, por se entender que esses animais são genuinamente originados na região do Pampa. Os cavalos Crioulos são conhecidos por apresentarem rusticidade e resistência. Possuem grande poder de conversão alimentar em campos de baixa oferta de alimento, enfrentam adversidades climáticas, são fortes e têm rápida recuperação após o trabalho (Gianluppi et al., 2009).

A criação de cavalos Crioulos no Brasil apresentou crescimento explosivo principalmente após o ano 2000. Para ter uma ideia da expansão, as vendas passaram de R\$ 10 milhões em 2000 para R\$ 90 milhões em 2010. Na Expointer de 2010, houve a participação de 900 animais, e em 2011 a raça movimentou 7,2 milhões, equivalentes a 61,5% do total de negócios com animais realizados no evento, demonstrando a consolidação da raça como um dos principais movimentos culturais e de mercado do agronegócio brasileiro (ABCCC, 2011; 2010).

O “Freio de Ouro”, principal prova do cavalo Crioulo, é uma ferramenta de seleção, avaliando a morfologia e a funcionalidade, verificando o desempenho nos serviços de campo, e é promovida há mais de 30 anos pela Associação Brasileira Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC) revelando o aprimoramento técnico e genético dos animais (ABCCC, 2011; 2010). No ano de 2011 a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos contava com cerca de 348.475 animais no registrados, mobilizando aproximadamente 30 mil criadores, atualmente estes números provavelmente são maiores (ABCCC, 2011).

1.2 LACTAÇÃO DAS ÉGUAS x DESENVOLVIMENTO DOS POTROS

O leite materno é a principal fonte de energia para os potros nos primeiros meses de vida, e a ingestão deste determina o seu crescimento (Doreau & Martuzzi, 2006b), uma vez que além do importante papel na imunidade, o leite fornece nutrientes, células, enzimas, vitaminas, minerais, hormônios e fatores tróficos responsáveis pelo rápido crescimento do potro (Nikkhah, 2012; Salimei & Fantuz, 2012). A disponibilidade dos

nutrientes do leite varia durante o ciclo de lactação (Mariani et al.,2001). Os potros mamam aproximadamente 70 vezes/dia nos primeiros dias após o nascimento, 30 vezes/dia no primeiro mês de idade e 25 vezes/dia aos 4 meses (Doreau & Martuzzi, 2006b).

Linton (1931), ressaltou a importância de conhecer a composição e lactação das éguas para o desenvolvimento de sucedâneos adequados para potros órfãos, e também providências que poderiam ser tomadas para éguas que sabidamente não criavam bem a sua prole. A fase de lactação é uma das mais importantes na vida do animal, pois a taxa de crescimento é acelerada e as exigências nutricionais são maiores (Santos et al., 2005). De acordo com Smolders et al. (1990), os potros necessitam de 10,6 litros de leite para aumentar 1kg nas primeiras 4 semanas após o nascimento, e no período de 4 a 8 semanas de idade requerem aproximadamente 13,7 litros de leite. Segundo o mesmo autor, os potros tiveram um ganho diário de aproximadamente 1532 e 1115 gramas no período de 0 a 4 e 4 a 8 semanas, respectivamente. O crescimento de potros durante o primeiro ano é rápido, sendo que aos 12 meses de idade já são alcançados 65% do peso definitivo e 90% da altura dos animais adultos (Santos et al., 2005). Potros da raça Mangalarga Marchador, apresentam ao nascimento, o peso equivalente a 8% do peso do cavalo adulto, e aos 6 meses de idade aproximadamente 38% do peso vivo do adulto. Desta forma, conhecer a composição e produção de leite é essencial para estabelecer melhor as exigências nutricionais de potros e éguas durante o período de lactação (Santos et al., 2005; Oftedal et al., 1983).

A correlação entre o consumo de leite e crescimento diminui com a idade do potro e a ingestão de outros alimentos. Durante o período de amamentação, além da quantidade do leite ingerido, fatores como peso da égua, peso do potro ao nascer, atividade do potro e ingestão de outros alimentos além do leite, afetam o crescimento do potro, mais do que a composição do leite da égua (Smolders et al., 1990). Em aproximadamente 60 dias de idade o potro dobra o peso que apresentou ao nascimento. Durante este período o potro depende muito do leite da mãe, pois todos os nutrientes necessários para o seu crescimento estão obviamente no leite da égua (Holmes et al., 1947). O desmame ocorre em torno dos 5 a 8 meses de idade, dependendo do manejo do rebanho (Salimei & Fantuz, 2012; Santos et al., 2005).

1.3 PRODUÇÃO DE LEITE

O início da lactação depende de fatores hormonais, principalmente da secreção de progesterona. O desenvolvimento da glândula mamária requer a ação coordenada de alguns hormônios incluindo a prolactina, estrógeno, progesterona, esteroides adrenais, insulina e hormônios da tireoide. A ação desses hormônios pode ser direta sobre a produção e secreção de leite, como no caso da prolactina, estrógeno e progesterona, ou pode-se dar por meio de estímulo ao desenvolvimento do sistema mamário, caso dos hormônios da tireoide, esteroides adrenais e insulina. A prolactina é essencial para todos os estágios de desenvolvimento da glândula mamária, além de regular a produção e secreção de leite, incluindo a síntese de proteínas, caseína e lactalbumina. É produzida por células lactotróficas localizadas na glândula pituitária anterior, que por sua vez são reguladas pelo principal fator inibidor da prolactina produzido no hipotálamo, a dopamina. Os receptores da prolactina aumentam em número com o avanço da lactação. O estrógeno e progesterona influenciam a produção de leite, embora não ajam na ausência da prolactina; além disso, até mesmo na presença da prolactina, não tem efeito sobre a glândula mamária, a menos que estrógeno esteja atuando concomitantemente. A insulina, o hormônio do crescimento, os esteroides adrenais e os hormônios tireoidianos não são essenciais para a lactação, embora influenciem o desenvolvimento da glândula mamária. Durante a gestação, o úbere materno é exposto a altas quantidades de progesterona; no fim da gestação, aumenta a secreção de prolactina e declina a concentração de progesterona. Próximo ao parto, uma pequena quantidade de uma secreção aquosa e cinzenta é liberada do úbere, tornando-se, posteriormente uma secreção branca e espessa, rica em imunoglobulinas, o colostro (Santos & Zanine, 2006; Starbuck, 2006; Hafez & Hafez, 2004).

O processo pelo qual ocorre a transferência do leite dos ductos finos e alvéolos para os ductos maiores ou cisterna é conhecido como ejeção do leite ou, em termos mais comuns, descida do leite. A ejeção do leite é efetuada pela ação do reflexo de sucção pelo potro; a estimulação do teto aciona os receptores na pele e os impulsos nervosos chegam à medula espinhal para atingir o hipotálamo, onde provocam a liberação do hormônio ocitocina, do lóbulo posterior da hipófise para a circulação sanguínea. A ocitocina é transportada pelo sangue até à glândula mamária, onde promove a contração das células mioepiteliais, expelindo assim o leite dos alvéolos,

forçando-o ao longo do sistema de ductos em direção à glândula e à cisterna da teta. Isto provoca aumento da pressão interna nas cisternas e, conseqüentemente, a ejeção do leite (Santos & Zanine, 2006; Starbuck, 2006; Hafez & Hafez, 2004).

As éguas produzem aproximadamente 2 a 3% do peso corporal (Reis et al., 2007; Oftedal et al., 1983). A produção de leite das éguas pode variar de 10 litros em raças leves a aproximadamente 26 litros de leite por dia em raças pesadas, mas a média é normalmente 15 a 16 litros diários (Santos et al., 2005; Smolders et al., 1990; Oftedal et al., 1983). Estima-se que as éguas produzem cerca de 2 a 3,5 litros diários de leite para cada 100kg de peso vivo (Salimei & Fantuz, 2012; Doreau et al., 1990; Smolders et al., 1990; Doreau & Boulot, 1989). O pico de produção/lactação é atingido aos 2 ou 3 meses após o parto (Salimei & Fantuz, 2012; Santos et al., 2005; Doreau et al., 1990; Smolders et al., 1990). O período de lactação varia entre 5 e 8 meses (Salimei & Fantuz, 2012; Salamon et al., 2009; Csapó et al., 1995; Gibbs et al., 1982). Após o pico de lactação o rendimento e a concentração dos componentes do leite tendem a diminuir (Salimei & Fantuz, 2012; Gibbs et al., 1982). O período de secreção de colostro nas éguas mostrou ser mais curto que o das vacas, e apresentou diferença a partir do leite normal, já no primeiro dia pós-parto (Salimei & Fantuz, 2012; Salamon et al., 2009; Pikul & Wójtowski, 2008; Csapó et al., 1995).

Quando se utilizam ordenhadeiras mecanizadas em éguas, a remoção de leite do úbere é melhor que a ordenha manual, pois esta última resulta no esvaziamento incompleto de leite dos alvéolos e ductos galactóforos. É também sabido que o úbere da égua possui baixa capacidade de armazenamento, apenas 2 litros em média, portanto é necessário separar a mãe e o potro aproximadamente 2 a 3 horas antes de ordenhar. A ordenha completa do úbere requer uma boa liberação de ocitocina que pode ser obtida através da presença do potro no momento da ordenha e/ou escolha dos parâmetros adequados da máquina. A ejeção do leite pode ser prejudicada pela inibição da liberação de ocitocina devido ao estresse no momento da ordenha, que pode ocorrer até pela própria presença do homem (Salimei & Fantuz, 2012; Caroprese et al., 2007; Doreau & Martuzzi, 2006b; Csapó et al., 1995; Doreau & Boulot, 1989). Doreau & Boulot (1989), comentaram que 20% das éguas de um estudo fizeram retenção do leite devido à ausência do potro durante a ordenha.

Salimei & Fantuz (2012), relataram que se pode ordenhar aproximadamente 466ml de leite (variação de ± 260 ml). Doreau & Boulot (1989) citaram que quando um teto foi inteiramente ordenhado, obteve-se 35% menos leite no segundo teto, pois devido a demora da ordenha em relação à mamada do potro, há uma diminuição da concentração de ocitocina circulante.

1.4 FATORES QUE INFLUENCIAM NA COMPOSIÇÃO DO LEITE EQUINO

1.4.1 Estágio de Lactação

O estágio de lactação é o fator mais importante na influência da variação dos componentes do leite. Muitos componentes são conhecidos por serem mais concentrados início da lactação (Medhammar et al., 2012; Salamon et al., 2009; Pikul & Wójtowski, 2008; Gibbs et al., 1982). A produção de leite é crescente até atingir o pico de lactação, após ocorre um declínio constante até o desmame. Há uma redução gradativa dos componentes do leite ao longo da lactação, com exceção da lactose (Santos & Zanine, 2006; Spers et al., 2006). De acordo com Doreau et al. (1990), o estágio de lactação é o fator mais importante na influência da produção de leite e variação dos componentes do leite equino.

Oftedal et al. (1983), avaliando a produção de leite em éguas PSI, observaram que o pico de produção ocorreu por volta do 40º dia de lactação, com uma produção diária de 17,6 kg de leite. No entanto, Gibbs et al. (1982), avaliando a curva de lactação de éguas Quarto de Milha, observaram que o pico de produção ocorreu no início do segundo mês de lactação, com produção diária de 11,8 kg/dia de leite ou 2,3% do peso vivo, e que os componentes do leite reduziram seu teor gradativamente ao longo de 150 dias de lactação. Smolders et al. (1990), observaram que, a partir da terceira semana de lactação o teor de gordura do leite foi inferior a 1,0%.

1.4.2 Raça

De acordo com Pieszka et al. (2011), a raça e a genética afetam a composição do leite, especialmente a concentração de proteína, gordura e lactose. Raças de sangue frio são caracterizadas por produzir leite com menor concentração de gordura. Este fato deve ocorrer para compensar a sua maior produção de leite. Smolders et al. (1990), cita

que em raças de sangue quente o teor de proteína é inicialmente menor e além disso, decresce mais rapidamente.

Existe relação entre o peso vivo das éguas e a quantidade diária de leite produzida. Raças mais pesadas produzem mais leite que éguas de raças mais leves, isto pode estar associado ao fato de que os animais de raças mais pesadas ingerem mais matéria seca que os de raças mais leves. Independente do peso das éguas, o percentual da produção de leite/dia no pico lactacional varia entre 2 e 3% do peso vivo de éguas em diferentes raças (Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Reis et al., 2007; Santos & Zanine, 2006; Doreau et al., 1991).

1.4.3 Variação individual

A variação individual influencia tanto na produção de leite que em alguns lugares onde essa característica é explorada zootecnicamente são adotadas medidas de seleção e manejo adequados, levando a uma melhora na produção de leite (Medhammar et al., 2012). No entanto sugere-se que manejo de ordenha em equinos exige mais investigação (Salimei & Fantuz, 2012). Oftedal et al. (1983), estudando a composição do leite de 10 éguas PSI, encontrou diferenças entre as mesmas em todos os componentes estudados, demonstrando que a variação individual é um importante fator na influência dos componentes do leite equino. Entretanto, Doreau et al. (1990) acreditam que não há variação individual entre éguas do mesmo tamanho e peso.

1.5 PRINCIPAIS COMPONENTES DO LEITE EQUINO

1.5.1 Proteína

O leite contém todos os aminoácidos essenciais, proporcionando uma importante fonte de proteína de alto valor biológico (Medhammar et al., 2012; Malacarne; 2002). A proteína do leite é sintetizada na glândula mamária a partir de compostos presentes no sangue, principalmente aminoácidos. As proteínas são constituintes essenciais e têm grande importância no leite e produtos lácteos (Reis et al., 2007).

O teor de proteína é maior no início da lactação e decresce gradualmente (20 a 25%) entre 28 aos 150 dias de lactação (Medhammar et al., 2012; Salimei & Fantuz, 2012; Csapó et al., 2009; Pikul & Wójtowski, 2008; Mariani et al., 2001; Csapó et al.,

1995; Doreau et al., 1990; Smolders et al., 1990; Oftedal et al., 1983; Gibbs et al., 1982). O nível deste componente no leite equino (2,0%) é baixo quando comparado com o leite de vaca (3,35%), cabra (3,7%), ovelha (6,15%), búfalo (5,4%), e porca (5,9%). As proteínas do leite da égua são muito semelhantes ao leite humano (0,96 a 2,29%) (Nikkhah, 2012; Salimei & Fantuz, 2012; Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Salamon et al., 2009; Businco et al., 2000; Holmes et al., 1947). Quando houver a necessidade de substituir o leite da mulher por outro, Malacarne et al. (2002) ressalta que o leite equino deve ser o escolhido por possuir perfil de aminoácidos muito próximo ao leite humano. O perfil proteico de leite equino é favorável ao consumo humano devido à estrutura das micelas que formam um precipitado mais fino e macio, que o torna fisiologicamente mais digerível que o leite bovino. Além disso, a baixa concentração de proteína no leite equino evita sobrecarga renal de solutos (Reis et al., 2007; Businco et al., 2000).

De acordo com Pieszka et al. (2011), a raça é um fator que causa variação no nível de proteína do leite das éguas, sendo que em seus estudos, raças de sangue quente apresentaram menor teor de proteína que raças de sangue frio, concordando com os estudos de Smolders et al. (1990) que ainda mencionam que em éguas de sangue quente o nível de proteína reduz mais rapidamente. Csapó et al. (2009), estudando o nível de proteína de quatro raças diferentes (*Hungarian Draught*, *Haflinger*, Bretão e Bolonhês) não encontraram diferença no teor de proteínas. Smolders et al. (1990), acreditam que a alimentação não influencia a concentração de proteína, contradizendo Pagan e Hintz (1986), que observaram que há influência da dieta, pois o aumento da ingestão de energia diminuiu o nível de proteína no leite de éguas pôneis. Características individuais, paridade, ambiente e principalmente o estágio de lactação são fatores importantes na variação deste componente (Csapó et al., 2009; Salamon et al., 2009; Csapó et al., 1995; Gibbs et al., 1982). Quando é administrada ocitocina antes da ordenha há uma diminuição no teor de proteína, ao contrário do que ocorre com a gordura (Smolders et al., 1990).

Sabe-se que os potros nascem agamaglobulêmicos ou hipogamaglobulemicos, e o colostro das éguas contém mais de 10% de proteína, sendo 80% delas imunoglobulinas, para que este adquira a imunidade passiva (Salimei & Fantuz, 2012; Csapó et al., 1995; Smolders et al., 1990). Após o período de colostro, a concentração de proteína no leite equino encontrada por Csapó et al. (2009) foi de 1,7 a 3,0%;

Holmes et al. (1947) encontraram uma média de 2,3% no teor de proteína do leite de éguas em diferentes estágios de lactação; Oftedal et al. (1983), estudando a composição do leite de éguas no período de 10 a 54 dias de lactação observaram média de 1,93%; Malacarne et al. (2002), citam uma média de 2,14%; Mariani et al. (2001) observaram a variação de 1,63 a 3,29% dos 4 aos 180 dias de lactação; Reis et al. (2007) observaram uma média de 2,0% de proteína no leite de éguas Mangalarga Marchador.

1.5.2 Gordura

O teor de gordura do leite equino é baixo quando comparado ao leite bovino e humano (Nikkhah, 2012; Pietrzak-Fiećko et al., 2009; Pikul & Wójtowski, 2008; Malacarne et al; 2001; Csapó et al., 1995). Este componente é o que sofre maior variação durante uma única ordenha, podendo ser 10 a 20 vezes mais concentrado no final do que no início da ordenha (Salamon et al., 2009; Csapó et al., 1995; Doreau & Boulot, 1989). Devido a isso, Medhammar et al. (2012), citam que a concentração de gordura é difícil de ser interpretada. A cinética da ejeção do leite mostra dois picos: a primeira corresponde ao leite que está na cisterna e segunda, emissão do leite alveolar, como resposta natural a liberação de ocitocina durante a ordenha, significando que muitas vezes ocorre a ordenha incompleta. Portanto, para obter um resultado definitivo da porcentagem de gordura do leite, é necessário realizar uma ordenha completa dos dois tetos e homogeneizar (Salimei & Fantuz, 2012; Csapó et al., 1995; Doreau & Boulot, 1989). A concentração de gordura pode ser maior do teto que se obteve mais leite e menor do outro lado (Doreau & Boulot, 1989).

Medhammar et al. (2012), em uma revisão de literatura, observaram variação de 0,5 a 4,2% e uma média de 1,6% de gordura no leite de éguas, sendo a raça Lusitana a que apresentou menor concentração de gordura e raças de cavalos de sela apresentaram 2,6 vezes mais gordura que a média encontrada, concordando com os autores Pieszka et al. (2011), Salamon et al. (2009) e Smolders et al. (1990) que também evidenciaram a raça como um fator que influencia o nível de gordura no leite. O estágio de lactação é o fator mais importante que altera a concentração deste componente, sendo que não há efeito das características individuais (Doreau et al., 1990). Salamon et al. (2009) encontraram resultados de 2,91% de gordura no primeiro dia após o parto, salientando que neste período ainda ocorre produção de colostro, na transição do 2º ao 5º dia pós-

parto a porcentagem de gordura no leite diminuiu para 2,13% e dos dias 8 a 45 de lactação a média de concentração de gordura no leite das éguas de diferentes raças foi de 1,25%. Para Pikul & Wójtowski (2008), nas primeiras 6 horas após o parto, éguas apresentaram 2,49% de gordura no leite, 12 horas após o parto 3,03% e 96 horas após o parto houve um decréscimo de gordura para 1,89%. A concentração desta variável no leite das éguas decresce significativamente do início ao final da lactação (Medhammar et al., 2012; Salimei & Fantuz, 2012; Pikul & Wójtowski, 2008; Mariani et al., 2001; Smolders et al., 1990; Gibbs et al., 1982). Doreau et al. (1990), verificaram que há uma queda brusca no teor de gordura da primeira até a oitava semana de lactação. A variação do teor de gordura no leite equino encontrada na literatura foi de 0,4 a 3,3% em éguas de diferentes estágios de lactação (Salimei & Fantuz, 2012; Reis et al., 2007; Mariani et al., 2001; Oftedal et al., 1983; Gibbs et al., 1982). Estudos de Caroprese et al. (2007) verificaram que quando se utiliza equipamento de ordenha mecanizada o leite apresenta maior teor de gordura. De acordo com Smolders et al. (1990) e Doreau & Boulot (1989), a concentração de gordura dos primeiros 50 ml ordenhados, não é representativa, e quando é administrada ocitocina antes da ordenha manual há aumento do teor de gordura no leite. Pagan & Hintz (1986) citam a disponibilidade de alimento como um fator que influencia a concentração de gordura. Gibbs et al (1982), não observaram influência da dieta e nem da paridade no teor de gordura. No leite de égua a gordura é organizada em glóbulos de 2-3 μm de diâmetro, um tamanho menor que o das micelas da vaca e da mulher (3-3,5 μm). A estrutura de membrana do glóbulo de gordura do leite equino, composta por três camadas, e a sua composição são muito parecidas com o leite humano e bem diferente do leite de ruminantes (Doreau & Martuzzi, 2006a).

O leite equino apresenta características vantajosas para a alimentação humana, devido à baixa concentração de gordura e sua excelente qualidade, alto nível de ácidos graxos poli-insaturados (ácidos linoleico e linolênico) e baixa concentração de colesterol (Reis et al., 2007; Doreau & Martuzzi, 2006a). Portanto, por haver predominância de ácidos graxos insaturados no leite de égua, acredita-se que a gordura do leite equino seja mais desejável para a dieta humana que o leite de vaca (Csapó et al., 1995).

1.5.3 Lactose

Este componente é o principal açúcar do leite, estando outros sacarídeos como a glicose e galactose presentes em menores quantidades (Reis et al., 2007). A lactose é o componente menos variável, sendo osmoticamente ativo, funciona como um regulador do teor de água no leite. É um fator controlador da pressão osmótica dentro do úbere, o que favorece o enchimento do mesmo (Medhammar et al., 2012; Salimei & Fantuz, 2012; Pikul & Wójtowski, 2008; Reis et al., 2007; Santos et al., 2005).

Todos os componentes do leite decrescem durante a lactação, exceto a lactose (Mariani et al., 2001; Doreau et al., 1990). Salimei & Santuz (2012) e Doreau et al. (1990), citam que há um aumento da lactose durante a lactação. Em algumas raças como Lusitano e Haflinger o percentual de lactose apresentou um ligeiro aumento durante a lactação (Medhammar et al., 2012). Smolders et al. (1990) e Pieszka et al. (2011) também citam que a raça é um fator que tem influência no teor de lactose. Além disso, foi encontrada diferença na quantidade de lactose entre éguas, demonstrando que características individuais também influenciam este componente (Csapó et al., 1995; Smolders et al., 1990). Smolders et al. (1990) e Pagan e Hintz (1986) não encontraram nenhuma influência da quantidade de energia na dieta das éguas alterando o nível de lactose do leite.

O teor de lactose do leite equino (6,37%) é maior que o leite de vaca (4,88%), e é semelhante ao leite humano (6,44%) (Salimei & Fantuz, 2012; Malacarne et al., 2002). Oftedal et al. (1983), encontraram uma variação de 6,70 a 7,20% no leite de 10 éguas durante o período de 10 a 54 dias de lactação. A quantidade alta deste componente é responsável pela boa palatabilidade do leite equino (Salimei & Fantuz, 2012; Reis et al., 2007; Businco et al., 2000). Sabe-se que a lactose estimula a absorção intestinal de cálcio, o que tem um efeito positivo na mineralização óssea nos primeiros meses de vida (Pieszka et al., 2011; Reis et al., 2007). A lactose contém o fator bifidus, um carboidrato que é essencial para o crescimento de variedades da bactéria *Lactobacillus bifidus*, que melhoram a qualidade da flora intestinal e provocam a morte de microrganismos patogênicos no intestino (Reis et al., 2007; Machado, 2002; Malacarne et al., 2002).

1.5.4 Sólidos Totais

Também conhecido como extrato seco total, representa todos os componentes sólidos do leite e traduz a concentração real dos componentes, sem a influência do teor de água (Reis et al., 2007). Salimei & Fantuz (2012), citam que a concentração de sólidos totais no leite equino (11,0%) também é muito semelhante ao leite humano (12,5%). O colostro de égua possui maior teor de sólidos totais, sendo 24,2 a 26,2% no primeiro dia de lactação, 12% a partir de 2 a 5 dias pós-parto e 10% nos dias 8 a 45 após o parto (Nikkhah, 2012). A variação da concentração de sólidos totais no leite equino durante toda a lactação (exceto período de colostro), encontrada na literatura foi de 9,2 a 12,5% (Reis et al., 2007; Oftedal et al., 1983; Gibbs et al., 1982). Devido à diminuição dos outros componentes durante a lactação, conseqüentemente a concentração dos sólidos totais também decresce (Pikul & Wójtowski, 2008; Csapó et al., 1995; Gibbs et al., 1982). Gibbs et al. (1982), avaliando a lactação de éguas até os 150 dias de lactação, não observaram influência do número de partos e da dieta neste componente. Porém, segundo Pagan e Hintz (1986), o aumento da energia na dieta ocasionou decréscimo na concentração dos sólidos totais do leite. Csapó et al. (1995) não observaram efeito significativo da raça nesta variável.

1.6 HIGIENE DO LEITE EQUINO E SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A presença de doenças na glândula mamária, tais como a mastite, constitui um importante fator na alteração da qualidade do leite (Reis et al., 2007). A mastite é amplamente estudada nas espécies convencionalmente produtoras de leite, especialmente a bovina, devido a grande repercussão na produção leiteira, prejuízos econômicos pela diminuição da produção e alteração nas características do leite (Medhammar et al., 2012; Langoni et al., 1998). Devido à importância do leite como alimento para os potros e as mudanças provocadas pelo processo inflamatório e infeccioso, as quais levam a alterações na glândula mamária, ocasionando lesões progressivas do epitélio secretor, com redução ou interrupção da secreção láctea, a mastite deve ser bem estudada também na espécie equina (Langoni et al., 1998). A maioria dos estudos sobre a glândula mamária equina se resume aos sinais clínicos da mastite. Sabe-se que essa afecção é de caráter sazonal, ocorrendo principalmente no período de involução da glândula mamária e afeta aproximadamente 5 a 10% do

rebanho de éguas reprodutoras, podendo causar prejuízo ao desenvolvimento dos potros em lactação (Reis et al., 2009; Langoni et al., 1998). A baixa incidência de mastite na égua se deve ao tamanho e posição anatômica do úbere, tornando-o protegido de lesões, e ainda, devido ao pequeno volume de armazenamento de leite e as frequentes mamadas dos potros (até 60 vezes por dia), que promovem o esvaziamento contínuo do úbere (Danków et al., 2006; Langoni et al., 1998).

A presença de microrganismos e a qualidade do leite são aferidas através da contagem de células somáticas (CCS) e da contagem bacteriana total (CBT), que mostram a existência de inflamação na glândula mamária e higiene da ordenha realizada, respectivamente (Reis et al., 2009). O diagnóstico da mastite é um fator limitante principalmente nos casos subclínicos, já que o diagnóstico, nesses casos, só pode ser realizado através de CCS e CTB (Reis et al., 2009; Prestes et al., 1999).

1.6.1 Contagem de Células Somáticas

Toda secreção mamária contém um número reduzido de células somáticas e na presença de inflamação há um aumento nos valores da CCS (Reis et al., 2009).

Amplamente utilizado em vacas leiteiras, é um dos principais parâmetros usados para determinar o estado sanitário da glândula mamária e qualidade do leite. As células somáticas do leite são essencialmente constituídas por glóbulos brancos: linfócitos, macrófagos e polimorfonucleares, cujo número aumenta consideravelmente em caso de infecção na glândula mamária. Este parâmetro também pode ser utilizado para a espécie equina, pois as alterações citológicas e qualitativas provocadas pela mastite no leite equino são semelhantes às que ocorrem no leite bovino (Reis et al., 2009).

Em alguns estudos, percebe-se uma amplitude de resultados no que se refere à CCS, provavelmente devido à inclusão de éguas com mastite subclínica na pesquisa (Reis et al., 2009). Além disso, o colostro e o leite obtido até o 15º dia de lactação apresentam CCS mais alta. Portanto, para que este parâmetro seja utilizado para verificar sanidade da glândula mamária e qualidade do leite equino, é preciso conhecer os valores normais de CCS para a espécie, tendo especial atenção para evitar a presença de éguas com mastite subclínica no estudo e ainda, padronizar os dados de acordo com o estágio de lactação (Reis et al., 2009; Danków et al., 2006; Prestes et al., 1999). No

primeiro dia após o parto, Danków et al. (2006) encontraram uma média de 194×10^3 céls/ml, que diminuiu para 92×10^3 céls/ml do segundo ao quinto dia pós parto, e no período dos 15 aos 150 dias de lactação o número de células somáticas foi de 46×10^3 céls/ml.

A ação de microrganismos no interior da glândula mamária libera substâncias que estimulam a migração de leucócitos, aumentando, dessa maneira, a CCS. Em bovinos, existem algumas alterações importantes na contagem celular somática que não estão ligadas ao estado sanitário da glândula mamária. O estágio da lactação e a idade das vacas levam a uma variação particular da CCS mesmo em animais livres de mastite. As situações de estresse também podem provocar o seu aumento. Entretanto, não foi encontrada na literatura nenhuma informação semelhante para a espécie equina. (Prestes et al., 1999).

Em vacas, para que a CCS seja considerada normal, os valores precisam ser inferiores a 200×10^3 céls/ml e a elevação deste valor é considerada indicativa de inflamação do úbere. No bovino, o aumento da CCS vinculado à presença de mastite está acompanhado de alterações na composição do leite (Reis et al., 2009). Reis et al. (2009), mencionam que a de CCS do leite, oriundo de glândulas mamárias de éguas saudáveis pode variar entre 1,0 a 65×10^3 céls/ml, mas sugere-se um limite de 100×10^3 céls/ml. Em seu estudo com éguas da raça Mangalarga Marchador, os autores, obtiveram uma média de $16,5 \times 10^3$ céls/ml. Danków et al. (2006) analisando a CCS de éguas até os 150 dias de lactação concluiu que o leite de égua é caracterizado por um número consideravelmente menor destas células, do que o leite obtido de vacas e cabras com glândulas mamárias saudáveis (média de 100×10^3 céls/ml), e também ovelhas (300×10^3 céls/ml).

1.6.2 Contagem Bacteriana Total

É um parâmetro que mensura a contaminação microbiana do leite sendo um indicativo da saúde da glândula mamária e principalmente da qualidade do leite (Reis et al., 2009). Existem poucos estudos sobre os parâmetros microbiológicos do leite equino. O crescente interesse no uso do leite equino na nutrição e medicina humana implica em normas rígidas de segurança alimentar. Recentes estudos citam que a contagem bacteriana total no leite de éguas é de aproximadamente 40×10^3 UFC/ml, sendo

inferior ao convencional para outras espécies (Salimei & Fantuz, 2012). Reis et al. (2009) encontram uma média de $12,3 \times 10^3$ UFC/ml no leite de éguas Mangalarga Marchador.

Os baixos valores de CBT para o leite equino ocorrem, provavelmente, devido à presença de alta concentração de lisozima, uma enzima com propriedades antibacterianas presente no leite equino e humano, que é escassa no leite de vaca (Reis et al., 2009; Danków et al., 2006; Malacarne et al., 2002). Esta enzima é produzida pelos macrófagos e atua diretamente sobre a bactéria, mais especificamente destruindo o esqueleto glicosídico do peptidoglicano, ou seja, destrói a parede celular da bactéria (Barros et al., 1982).

A temperatura e umidade do ambiente afetam o crescimento microbiano e, portanto, podem influenciar a contaminação do leite. A temperatura exerce grande influência na contagem bacteriana, portanto o leite deve ser estocado com temperatura inferior a $4,5^{\circ}\text{C}$ (Bueno et al., 2008). Devido à baixa estabilidade do leite de égua a temperaturas muito altas (40°C), é necessário resfriá-lo imediatamente após a ordenha e consumi-lo na forma líquida até 9 horas após a ordenha (Danków et al., 2006). Devido a isso em muitos lugares o leite equino é congelado ou liofilizado (Doreau & Martuzzi, 2006a).

1.6.3 Bactérias no leite equino

O leite possui condições físico-químicas ideais para o crescimento bacteriano, diversas espécies bacterianas patogênicas e/ou deteriorantes podem ser encontradas. A população microbiana total do leite cru varia de acordo com a contaminação inicial, proveniente do interior da glândula, exterior do úbere e tetos, superfícies de equipamentos e com as condições de armazenamento (Bueno et al., 2008). Algumas bactérias que podem ser encontradas no leite equino são: *Streptococcus equi*, *Streptococcus equisimilis*, *Staphylococcus* spp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. A presença destes microrganismos no leite equino deve ser atribuída a sanitização ineficaz no momento da ordenha e/ou dos equipamentos (Salimei & Fantuz, 2012), por isso alguns autores encontraram cultura bacteriana positiva em éguas clinicamente saudáveis (Reis et al., 2009). Bactérias do ácido lático são a microbiota mais amplamente representada no leite equino (Salimei & Fantuz, 2012).

Langoni et al. (1998), coletou amostras de leite de 61 éguas com mastite aguda, afim de identificar a flora microbiana causadora da mastite em equinos. Dos agentes isolados no total de amostras, 23 (41,1%) eram *Streptococcus zooepidemicus*, 11 (19,6%) *Staphylococcus aureus*, 8 (14,3%) *Klebsiella pneumoniae*, 6 (10,7%) *Streptococcus equisimilis*, 3 (5,3%) *Escherichia coli*, 3 (5,3%) *Nocardia asteroides* e 2 (3,6%) *Bacillus* spp.

2 ARTIGOS

2.1 Artigo 1

Programa de pós-graduação em Medicina Animal:equinos UFRGS

Evaluation of milk components and health of the mammary gland of Criollo mares

Porto Alegre, Brazil

COSTA, G.V.^{1,2}; BONDAN, C.³; ALVES, L.P.³; FIALA RECHSTEINER, S.^{1,2*}

¹Post-Graduate Program in Animal Medicine: equines – UFRGS – Porto Alegre, RS Brasil

²HISTOREP – Department of Morphology – IB/UFPel, Pelotas, RS Brasil

³Faculty of Veterinary Science – UPF – Passo Fundo, RS, Brasil

*Corresponding author: Sandra Fiala Rechsteiner e-mail: sandrafiala@yahoo.com.br Address: Andrade Neves 4000/402 CEP: 96020-080 Centro – Pelotas, RS Brazil 55 53 30262067/ 55 53 81369282

CONTENTS

The aim of this study was to evaluate the components of milk and mammary gland health of Criollo mares. A total of 12 mares coming from a farm in Cruz Alta (RS) were used. Samples of milk were taken from each mare every two weeks up to 180 days of lactation. The characteristics analyzed were fat, protein, lactose, total solids, somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC). In relation to the health of the udder and the milk of the mares, the SCC was 24.1 x 1000 cells / ml and TBC was 44 x 1000 CFU / ml, while the average of milk components was 0.57% fat, 1.95% protein, 6.71% lactose and 9.24% total solids. Stage of lactation and individual characteristics may influence the level of milk components. The milk of animals in this study showed good quality represented by low SCC and TBC in relation to other species.

Key words: milk, mare, lactation, somatic cells

1.INTRODUCTION

Most studies on equine health of the mammary gland are related to mastitis, and much of this research are based solely on clinical signs (Reis et al. 2009; Prestes et al. 1999), which can induce to error, there are subclinical cases. Cytological and qualitative abnormalities of equine milk caused by mastitis are similar to those occurring in bovine milk (Reis et al. 2009), but the incidence of mastitis in mares is low, when

compared to cows. The somatic cell count (SCC) is the main parameter indicator of the sanity of the milk and of the bovine mammary gland. This parameter also can be used in the equine species having the same function (Prestes et al. 1999). The total bacterial count (TBC) is used to measure bacterial contamination of milk and also can be used as an indicator of the health of the mammary gland and milk quality (Reis et al. 2009).

In Brazil, there are few studies on quality and composition of equine milk, and it is unprecedented in Criollo breed. It is essential to know the equine milk components to facilitate the establishment of a nutritional program for lactating mares and their foals in growth (Santos and Zanine 2006). There is a similarity in the type of breastfeeding among horses and humans, which is continuous with short intervals, due to higher digestibility of milk (Prestes et al. 1999). This fact suggests that the marketing of equine milk in a sanitary manner could be used to increase the profitability of farms, as in other countries equine milk is widely used as treatment of various diseases in human medicine (Reis et al. 2007; Malacarne et al. 2002).

Criollo horse is in high growth in Brazil, especially after the year 2000. For an idea of the expansion, sales went from US\$ 5 million in 1999 to US\$ 50 million in 2009. At Expointer (the most important fair in Brazil) in 2010, there was the participation of 900 animals, consolidating the breed as a major cultural movements and Brazilian agribusiness market. *Freio de Ouro* is the main proof of Criollo breed and reveals the technical and genetic improvement of animals. Currently the Brazilian Association of Criollo Horse Breeders has about 348.475 registered animals (ABCCC, 2011).

Taking into account the importance of meeting the nutritional needs of foals during the first weeks of life for its proper development, the positive factors of the use of equine milk in human medicine, the importance of mastitis in mares, as well as the lack of publication on the theme in the Criollo breed, we developed this work to study the health of the mammary gland, quality and the main constituents of the milk of Criollo mares in the state of Rio Grande do Sul, Brazil.

2.MATERIAL AND METHODS

All the procedures performed in this study were approved and carried out according to the ethics committee from Universidade Federal de Pelotas (CEEA-UFPeL).

A total of 12 Criollo mares were used, located in the town of Cruz Alta, (northwest of RS). The average

age of the animals was 8.1 years (five to 15 years) and average weight was 441kg (413 to 470kg). The animals were kept in a native pasture paddock with grass fork (*Paspalum notatum*) and had access to paddocks of season forage (ryegrass - *Lolium multiflorum*; oats - *Avena strigosa*).

The study was conducted during the season from September 2009 to July 2010. Milk samples were collected fortnightly from each mare, for six months, i.e., during the lactation period (180 days), the first gathering held within 15 days after delivery. The foals were separated from the mares two hours before the collections. Before each sampling hand hygiene of the milker with water and soap and dry with paper towels was performed. The teats of the mares were cleaned with 70% alcohol and paper towel. The foremilk was discarded and the remainder collected in an aluminum container with capacity of one liter in which the homogenization was carried out. Samples were composed, i.e., obtained from two teats, and milking of each teat was complete, since the amount of fat is greater at the end of milking. After homogenizing, the samples were transferred to a plastic bottle with a capacity of 45ml containing 8mg of bronopol as preservative for the analysis of TBC and the other sterilized vial of the same size containing 0.1 ml of azidiol to 30ml milk to the milk composition analysis and SCC (Reis et al. 2009). All samples properly identified were stored in cool boxes, containing ice and sent the same day of collection for Milk Analysis Laboratory (SARLE) at University of Passo Fundo (UPF) in Passo Fundo, RS. For analysis of the composition of milk (fat, protein, lactose, and total solids), the infrared device Bentley 2000 was used (Bentley Instruments, Inc.), and for SCC, a cell counter flow cytometric Somacount 300 (Bentley Instruments, Inc.). The variables were analyzed by frequency distribution, descriptive statistics and ANOVA. The test used for comparison of means was LSD.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Evaluation of milk composition of Criollo mares

Lactation is the phase in which growth of foals is faster and the nutritional requirements are very high, being one of the most important periods of life of mammals (Santos and Zanine 2006; Malacarne et al. 2002; Anderson 1992). Therefore, it is very important to know the composition of equine milk, because the existing literature on this subject is scarce, making it difficult to establish a nutritional program for lactating mares and their foals in growth. Today, the farms seek nutritional programs for the mares to be

in good body condition until delivery and during lactation, aiming a good milk supply with components suitable for growth of offspring (Prestes et al. 1999; Oftedal 1983).

This study evaluated the major components of milk: water, fat, protein, lactose and total solids (Table 1). It is noteworthy that the composition and milk production may be influenced by factors such as age, breed, parity, weight of the mare, stage of lactation, environmental conditions, diet and diseases of the mammary gland (González and Noro 2011; Reis et al. 2007; Santos and Zanine 2006, Santos et al. 2005). Furthermore, the milk production varies depending on the physical type, since lighter mares tend to produce less milk than heavier mares. According to the results, equine milk is low in fat, protein and gross energy, but rich in lactose, which is a differential in relation to other domestic species (Santos and Zanine 2006; Santos et al. 2005). Milk production of mares is crescent to about two months of lactation, i.e., when it reaches the peak lactation, and decreases until about 180 days, when it is generally considered the end of the lactation period (Santos and Zanine 2006; Santos et al. 2005; Morel 2003). The mare produces about 2 to 3% of their body weight of milk per day, depending on the stage of lactation (Salamon et al. 2009; Reis et al. 2007; Santos and Zanine 2006).

Table 1. Average of fat, protein, lactose and total solids found in milk of 12 Criollo mares in northwestern RS from September 2009 to July 2010.

Variants	Average (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
Fat	0,57	0,00	1,57
Lactose	6,71	5,52	10,71
Protein	1,95	0,16	3,45
Total Solid	9,24	7,85	11,53

3.1.2 Fat:

The milking of each teat was complete, because the fat is the most affected component changing, and 10 to 20 times greater at the end than at the beginning of milking (Salamon et al. 2009; Csapó et al. 1995). The fat in the milk of mares is low compared to bovine milk (González and Noro 2011; Pietrazk-Fiecko et al. 2009; Salamon et al. 2009; Pikul and Wójtowski, 2008; Csapó et al 1995). It is known that there may be variation from 0 to 7.9% equine milk fat (Csapó et al. 1995; Reis et al. 2007; Gibbs et al 1982; Oftedal et al. 1983; Santos et al. 2005; Schryver et al. 1986). The variation in fat content is related to factors such as food, environment and stage of lactation (Csapó et al. 1995; Reis et al. 2007; Oftedal et al. 1983;

Santos et al. 2005; Schryver et al. 1986). In this study, there was a range of results regarding fat, being 0% the milk that had the lowest content and 1.57% the highest concentration of fat obtained. This fact is explained due to the different stages of lactation, in which mares were by the time the collection had been conducted, since there was an increase in fat during the lactation period ($P = 0.000$). Also, one must consider individual characteristics, because it was found that some mares showed higher fat content ($P = 0.000$) than other mares during lactation (Csapó et al. 1995).

Furthermore, there may be variation in fat even during the actual milking, the cow's milk fat can be used as an example, which has a lower concentration at the start of milking and increases gradually until the end of milking, due to this it is necessary to perform a complete milking of two teats (González et al. 2001). Due to the manipulation of hand milking during the collection, some mares presented milk retention and so a complete milking could not be performed, suggesting lower fat concentration of the sample.

The low concentration of equine milk fat, compared to the high concentration in bovine milk, is a positive point for consumers who seek foods low in fat. Therefore, according to the values obtained in the study, the milk of Criollo mares fits the profile of these consumers. Furthermore, the quality of equine milk fat is related to high content of polyunsaturated fatty acids and low cholesterol concentration, making it desirable for human consumption (Reis et al. 2007; Orlandi et al. 2003).

3.1.2 Protein:

The average protein level in this study was 1.95% (Table 1) and it was similar to the average of 1.96% obtained by Schryver et al. (1986) and less than 2.3% in the study of Holmes et al. (1947) and Csapó et al. (2009) from the 8th to the 45th day of lactation of 29 mares. But the variation of 0.16 to 3.45% showed a slight difference in values reported by others, being 1.83 to 2.84% the values obtained by Oftedal et al. (1983); Santos et al. (2005) from 1.48 to 2.40% and Gibbs et al. (1982) from 1.6 to 3.3% in the breed Quarterhorse. In Criollo mares, a difference in the amount of protein ($P = 0.000$) among the mares in the study was observed and, furthermore, it was found that the stage of lactation influences ($P = 0.03$) the protein content, agreeing with the literature (Reis et al. 2007; Santos and Zanine, 2006; Santos et al. 2005). According to Csapó et al. (2009), stage of lactation is the factor that most influences the protein content of milk.

The low protein content in human nutrition, particularly children, avoids the overload renal solute (Reis et al. 2007). In studies by Morais et al. (1999), there was no statistical difference in protein levels between equine and human milk, therefore the milk of Criollo mares can be used for human consumption in cases of need of a diet with low protein content (Holmes et al. 1947).

3.1.3 Lactose:

Lactose presented an average of 6,71%, confirming the high rate of sugar in the horse milk, for it is its main energy substrate (Spers et al. 2006). The average lactose content in Criollo mares was slightly higher than the average obtained by Reis et al. (2007). In this study, lactose showed variation from 5.52 to 10.71%, differing from the results found by Santos et al. (2005) that observed that variation from 5.8 to 7 in Mangalarga Marchador mares, and Oftedal et al. (1983) found 6.70 to 7.12% of lactose in the milk of equines of various breeds. In addition, the equine milk is closest to the mean of 7.3% lactose in human milk (Cury 2004; Morais et al. 1999). The high rate of lactose increases the palatability of the milk and stimulates intestinal calcium absorption, with important role in the formation of bone structure of foals as well as children. Also, lactose contains a factor that improves the quality of the intestinal flora, since it causes the death of pathogenic microorganisms in the intestine (Reis et al. 2007; Santos and Zanine, 2006).

It was found that all components of milk are influenced by lactation stage, except lactose ($P = 0.2880$). Also, according to the literature, it shows no variation according to the diet except that the animal receives a very poor glucose feeding (Santos and Zanine 2006), but an individual difference was observed ($P = 0.000$). Lactose is an important factor in controlling the osmotic pressure of the milk, which also contributes to filling of the udder (Doreau et al. 1991).

3.1.4 Total solids

In this study of Criollo mares, total solids had an average of 9.24% (Table 1), being 10.4% lower than the average found by Reis et al. (2007) in Mangalarga Marchador mares. Oftedal et al. (1983) 10.4 to 11.1% and Gibbs et al. (1982) observed an average of 10.5% total solids in Quarterhorse mares. It was observed that the total solids also vary depending on the lactation stage ($P = 0.0113$) and 7.85% the minimum value and maximum value found was 10.53%. There were also differences in the values of total solids between mares, showing that this variable is also influenced by individual characteristics.

The total solids represent the sum of all solid components present in milk and translate their true concentration thereof, eliminating the influence of water content.

3.2 Evaluation of the health of the mammary gland and milk of Criollo mares

Mastitis affects 5-10% of the herd of breeding mares, usually in the period of involution of the mammary gland, and it may cause impairment in weight gain of suckling foals, especially after a clinical mastitis (Reis et al. 2009; Albrecht 2007; Prestes et al. 1999).

Table 2. Average of indicators of health of the mammary gland and milk quality (SCC and TBC) found in the milk of 12 Criollo mares in northwestern RS from September 2009 to July 2010.

Variants	Average	Minimum	Maximum
SCC (x 1000 céls/mL)	23,53	0	675
TBC (x 1000 UFC/mL)	37,64	1	775

3.2.1 Somatic Cell Count (SCC)

To use the SCC in the equine species is necessary to know the normal values. The few existing studies on SCC in equines have different results, and the possible cause of these implications is the presence of mares with subclinical mastitis, and the different stages of lactation in which the animals were (Reis et al. 2009). According to González and Noro (2011), the SCC in milk is an indicator of subclinical mastitis accepted internationally as a measure to determine the microbiological quality.

The SCC average (Table 2) found in the study was higher than 16.1 x 1000 cells / mL, also found by Reis et al. (2009) in Mangalarga Marchador mares. It is believed that the SCC is increased due to the fact it was observed that some mares may be referring to a table of subclinical mastitis, or to different stages of lactation in that the mares were found. However, the results found in Criollo are below the normal range for horse milk, when compared with the values obtained by Danków, (2006) 34 - 125 x 1000 cells / mL. In Crioulo mares, there was a difference in values between mares (P=0.000), but no difference was observed related to lactation stage (P = 0.6447).

The factor that most influence SCC is the degree of infection / inflammation of the mammary gland, but there may be increased SCC in cows with advanced stages of lactation, in cases of heat stress heat with advancing age (González and Noro 2011).

In Rio Grande do Sul, Brazil, the SCC means in bovine milk is 390×10^3 cells / mL (González and Noro 2011). The equine milk SCC is lower than that of bovine, goat or sheep milk (Reis et al. 2009; Danków et al. 2006). This characteristic occurs due to the positioning of the equine mammary gland and the foal feeding frequency, about 60 times a day, providing constant emptying of the udder. The difference of SCC values found in this study compared with results of other authors may be due to a characteristic of the breed, because until then there had not been studies of the milk of Criollo mares (Reis et al. 2009; Albrecht 2007; Danków et al. 2006). In dairy cows, the manual milking stress causes a significant increase in SCC in milk (Coulon et al. 1996). Reis et al. (2009) found that there was an increase of SCC by the stress of the milking, caused through the individual characteristic of the animals, environmental and handling. In Criollo mares, the relationship between SCC and the stress of the animals was not analyzed, but emphasizes the fact that all animals in the study had docile behavior.

3.2.2 Total Bacterial Count (TBC)

The TBC is the counting the number of colonies of bacteria in the milk sample. Therefore, it is measured in colony forming unit (CFU). Total microbial population varies according to the initial contamination, which can be obtained from the inside of the mammary gland, outside the udder and teats, milking and the contact surfaces. The storage temperature exerts influence on the bacterial count, so the milk must be stored at temperatures below 4.5°C (Bueno et al. 2008; Pales et al. 2005). The fresh milk examined directly from individual cows contains small amounts of bacteria (González et al. 2001). Samples of milk from Criollo mares came to the laboratory for analysis at temperatures between 3 and 4°C . TBC is used to determine microbial contamination of milk in the mammary gland itself, or health of the herd in terms of mastitis, and also to check the milking hygiene (Pales et al. 2005).

There is limited literature on the subject on the equine species. The mean value of TBC was found 37.64×1000 CFU / ml (Table 2) being higher than 33.3×1000 CFU / ml, the result obtained by Reis et al. [1] in Mangalarga Marchador mares . However, the value was within the range $35-54 \times 1000$ CFU / mL, found by Danków et al. (2006) in mares at different stages of lactation. In Criollo, the influence of individual characteristics ($P = 0.0368$) and stage of lactation ($P = 0.0174$) were observed. The equine milk has the highest concentration of lysozyme, an enzyme with antibacterial properties, so this factor may be responsible for fewer TBC in mares than in cows (Danków et al. 2006). The low number of

microorganisms allows drinking the equine milk without pasteurization, Danków et al (2006) maintains that the total bacterial count in milk of mares corresponds to bovine milk pasteurized.

During the study, a mare produced a table of clinical mastitis in the 5th month of lactation and was removed from the trial that month. Two days before presentation of symptoms, milk samples were collected, which revealed that 5051 X 1000 cells / mL SCC and 3112 x 1000 CFU / mL TBC. It is important to note that this collection was removed from all analyzes. The animal was treated with antibiotics, nonsteroidal anti-inflammatory and local hydrotherapy. On the second day of treatment, the animal demonstrated an improvement of clinical signs.

4. Conclusions

The average of the mean components of Criollo mares milk were described and found that these components can vary depending on the animal and the stage of lactation. This finding may help farmers in developing diets for growth of foals. The milk of Criollo mares has lower values in the characteristics related to quality of milk (SCC and TBC) compared to bovine milk, which can be used as a marketing strategy for the use of this milk for human consumption.

5. Acknowledgements

The authors would like to thank the Project Alpha for English review

6. Conflict of interest

None

7. References

- ABCCC, 2011. Anuário Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos. Ano 51, nº 48.
- ALBRECHT BA Mastitis, In: SAMPER JC, PYCOCK JE, MCKINNON AO, Current therapy in equine reproduction. Missouri, 2007 p. 441 – 445.
- ANDERSON RR,. Comparison of trace elements in milk of four species. J Dairy Sci 1992; 75:3050-3055.
- BUENO VFF. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. R. bras. Ci. Vet. 2008; 15: 40-44.

CSAPÓ J, STEFLER J, MARTIN TG, MAKRAY S, CSAPÓ-KISS Z. Composition of Mares' Colostrum and Milk. Fat Content, Fatty Acid Composition and Vitamin Content. *International Dairy Journal*. 1995; 5: 393 – 402.

CSAPÓ J, SALAMON S, LÓKI K, CSAPÓ-KISS Z. Composition of Mare's Colostrum and Milk II. Protein content, amino acid composition and contents of macro- and micro-elements. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria*. 2009; 2(1), 133 – 148.

COULON JB, DAUVER F, GAREL JP. Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait chez des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. *INRA Prod. Anim*. 1996; 9:133 – 139.

CURY MTF Aleitamento Materno In: ACCIOLY E, SAUNDERS C, LACERDA, EMA Nutrição em Obstetrícia e Pediatria. Rio de Janeiro, 2004 p 287 – 313.

DANKÓW R, WÓJTOWSKI J, PIKUL J, NIZNIKOWSKI R, CAIS-SOKOLINSKA D. Effect of lactation on the hygiene quality and some milk physicochemical traits of the Wielkopolska mares. *Arch Tierz., Dummerstorf*. 2006; 49: 201 – 206.

DOREAU M, BOULOT S, BAUCHART D, BARLET JP, MARTIN-ROSSET W, Voluntary Intake, Milk Production and Plasma Metabolites in Nursing Mares Fed Two Different Diets. *Journal of Nutrition*. 1991; 122:992 – 999.

GIBBS PG, POTTER GD, BLAKE RW, MCMULLAN WC. Milk production of quarter horse mares during 150 days of lactation. *Journal of Animal Science*. 1982; 54(3): 496 – 499.

GONZÁLES FHD. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLES FHD, DÜRR JW, FONTANELI RS. Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. 2001 Porto Alegre, Brasil p. 5 - 22.

GONZÁLES, FHD, NORO D. Variações na composição do leite no subtropico brasileiro. In: Gonzáles, F.H.D. et al., Qualidade do leite bovino, variações no trópico e subtropico. Passo Fundo, 2011 pp. 11 – 27.

HOLMES AD, SPELMAN AF, SMITH CT, KUZMESKI JW. Composition of mares' milk as compared with other species. *Journal of Dairy Science*. 1947; 30(6): 385 – 395.

MALACARNE M, MARTUZZI F, SUMMER A, MARIANI P. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *International Dairy Journal*. 2002; 12:869 – 877.

Nutr. 1986; 116: 2142 – 2147.

- MORAIS MT, SIMONE EM, ROMANO LM. Estudo da composição do leite de égua e comparação com o leite de mulher. *Hig. aliment.* 1999; 13(64):62 – 71.
- MOREL, DMC, 2003. The anatomy and physiology of lactation. In: *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*, 2ed. Aberystwyth, UK. p. 88 - 101
- OFTEDAL, OT, HINTZ HF, SCHRYVER, HF. Lactation in the Horse: Milk Composition and Intake by Foals. *Journal of Nutrition.* 1983; 13(10): 2096 – 2106.
- ORLANDI M, GORACCI J, CURADI MC. Fat composition of mare's milk with reference to human nutrition. *Annali della Facoltà di Medicina veterinaria.* 2003; 20:97-106.
- PALES AP. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. *Revista eletrônica Faculdade Montes Belos.* 2005; 1(2):163 – 173.
- PIETRZAK-FIEĆKO R, TOMCZYNSKI R, BOREJSZO Z, KOKOSZKO E, SMO CZYNSKA K. Effect of mare's breed on the fatty acid composition of milk fat. *Czech J. Anim. Sci.* 2009; 54(9): 403 – 407.
- PIKUL J, WÓJTOWSKI J. Fat and cholesterol content and fatty acid composition of mares' colostrums and milk during five lactation months. *Livestock Science.* 2008; 113: 285 – 290.
- PRESTES NC, LANGONI H, CORDEIRO LAV,. Estudo do leite de éguas sadias ou portadoras de mastite subclínica, pelo teste de Whiteside, análise microbiológica e contagem de células somáticas. *Braz. J. Anim. Sci. (online)* 1999, 36(3), 0 – 0.
- REIS AP, MESQUITA AJ, MOREIRA CHG, CURADO EAF, SILVA EB, NICOLAU ES. Composição do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2007, 66(2):130 – 135.
- REIS AP, MESQUITA AJ, SANTOS KRP, OLIVEIRA FH, BLADUINO R, MACIEL IB, SILVA EB, NICOLAU ES Avaliação da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador. *Vet e Zootec.* 2009, 16(1):204 – 212.
- SALAMÓN RV, SALAMÓN S, CSAPÓ-KISS Z, CSAPÓ J. Composition of mare's colostrum and milk I. Fat content, fatty acid composition and vitamin contents. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria.* 2009; 2(1): 119 – 131.
- SANTOS EM, ZANINE AM. Lactação em éguas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 2006, 101(557-558): 17 – 23.
- SANTOS EM, ALMEIDA FQ, VIEIRA AA, PINTO LFB, CORASSA A, PIMENTEL RRM, SILVA VP, GALZERANO L. Lactação em éguas da raça Mangalarga Marchador: produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. *R. Bras. Zootec.* 2005; 34(2): 627 – 634.

SCHRYVER HF, OFTEDAL OT, WILLIAMS J, SODERHOLM LV, HINTZ HF. Lactation in the horse: the mineral composition of the mare milk. *The Journal of Nutrition*. 1986; 116(11):2142-2147

SPERS RC, SPERS A, FERNANDES WR, VISINTIN JA, GARCIA CA. Efeito da suplementação da dieta com óleo de babaçu sobre a composição do sangue e leite de éguas em lactação. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2006; 43:109 – 119.

2.1 Artigo 2

Qualidade sanitária do leite de éguas Crioulas

COSTA, G. V.¹; ALVES, L. P.³; BONDAN, C.³; FIALA RECHSTEINER, S.²

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos – UFRGS

² HISTOREP – Departamento de Morfologia – IB/UFPEL

³ Professor do Curso de Medicina Veterinária – UPF

RESUMO

A mastite em éguas é um problema incomum sendo que a incidência normalmente é de 5% em criatórios normais e 10% em criatórios problema. O diagnóstico da mastite é um fator limitante principalmente nos casos subclínicos. A qualidade do leite e a presença de microrganismos são aferidas através da contagem de células somáticas (CCS) e da contagem bacteriana total (CBT), que mostram a existência de inflamação na glândula mamária e higiene da ordenha realizada, respectivamente. O objetivo deste estudo foi verificar a presença de microrganismos, a CCS e a CBT em amostras do leite de éguas da raça Crioula. Foram coletadas 30 amostras de leite de 7 éguas, durante toda a lactação, nas quais foi realizado exame de cultura bacteriológica e análise de CCS e CBT. Em 40% (12/30) das amostras coletadas houve crescimento bacteriano. A média de CCS das amostras estudadas foi de $6,80 \times 10^3$ céls/ml e não houve diferença significativa quando se comparou as éguas que se apresentaram positivas e negativas ao crescimento bacteriano. A média de CBT foi de $29,66 \times 10^3$ UFC/ml, éguas que apresentaram crescimento bacteriano apresentaram também maior CBT, mas não houve diferença entre cultura pura ou mista.

Palavras-chave: leite, égua, raça Crioula, lactação

ABSTRACT

Mastitis in mares is an uncommon problem and their incidence is typically 5% in normal farms and 10% problem farms. The diagnosis of mastitis is a limiting factor especially in subclinical cases, the quality of milk and the presence of microorganisms are measured by somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC), which show the existence of inflammation in the mammary gland and milking hygiene performed, respectively. The aim of this study was to verify the presence of microorganisms, SCC and TBC in samples of milk from Criollo mares. Thirty milk samples were collected from 7 mares throughout lactation, in which bacteriological analysis and SCC and TBC were performed. Bacterial growth was observed in 40% (12/30) of collected samples. The SCC was 6.80×10^3 cells/ml and no significant difference was observed comparing mares that had positive or negative bacterial growth. The average TBC was 29.66×10^3 CFU/ml. Mares that showed bacterial growth also showed greater TBC, but there was no difference between pure or mixed culture.

INTRODUÇÃO

Em equinos, doenças da glândula mamária são raras quando comparados com bovinos e outros ruminantes. Galactorreia, mastite, neoplasia e infecções crônicas

ocorrem ocasionalmente. A mastite em éguas é um problema incomum (Smiet et al.; 2012; Motta et al.; 2011; Kocabiyik et al., 2008; Walker et al., 1993), sendo que incidência normalmente é de 5% em criatórios normais e 10% em criatórios problema (Smiet et al., 2012; Motta et al., 2011). A baixa incidência de mastite na espécie equina se deve ao pequeno tamanho e posição anatômica do úbere, tornando-o protegido de lesões, e ainda, devido ao pequeno volume de armazenamento de leite e as frequentes mamadas dos potros, promovendo o esvaziamento contínuo do úbere (Danków et al., 2006; Langoni et al., 1998).

A presença de microrganismos e a qualidade do leite são aferidas através da contagem de células somáticas (CCS) e da contagem bacteriana total (CBT), que mostram a existência de inflamação na glândula mamária e higiene da ordenha realizada, respectivamente. Estes dois parâmetros são amplamente utilizados em rebanhos de vacas leiteiras (Reis et al., 2009). O diagnóstico da mastite é um fator limitante principalmente nos casos subclínicos, sendo possível diagnosticar esta normalidade somente com a realização de CCS e CTB (Reis et al., 2009; Prestes et al., 1999).

O objetivo deste estudo foi verificar presença de microrganismos, a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) em amostras do leite de éguas da raça Crioula.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 30 amostras de leite de 7 éguas da raça Crioula em diferentes estágios de lactação, clinicamente sadias, localizadas em um criatório da região noroeste do RS. A idade média dos animais foi de 8,8 anos e a média do peso foi de 446 kg. As coletas foram realizadas de setembro de 2011 a março de 2012, período que corresponde à temporada reprodutiva. Os animais foram mantidos em um potreiro com pasto nativo de grama forquilha (*Paspalum notatum*) e tiveram acesso a piquetes de forrageiras da estação (azevém – *Lolium multiflorum*; aveia preta – *Avena strigosa*; milho – *Pennisetum glaucum*).

As amostras foram coletadas partir do 15º dia de lactação. O úbere das éguas era higienizado com álcool 70% e uma compressa, as mãos do ordenhador eram lavadas com água e sabão neutro, secas com papel toalha e higienizadas com álcool 70%. Os primeiros jatos de leite eram desprezados e então se ordenhava completamente os dois tetos colocando o leite em um frasco de alumínio com capacidade de 1 litro. Após a ordenha o leite era transferido para um flaconete de plástico estéril com capacidade para 10 ml para realização de cultura bacteriana, para um frasco de plástico com capacidade para 45ml contendo 8mg de bronopol como conservante para a análise de CBT e para um frasco de mesmo porte esterilizado contendo 0,1ml de azidiol para 30ml de leite para CCS.

Os frascos eram identificados e colocados em uma caixa isotérmica de isopor contendo gelo e as amostras eram encaminhadas para realização de cultura microbiológica no Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo e para análise da CCS e CBT no SARLE – Laboratório de Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros da Universidade de Passo Fundo, através de citometria de fluxo (Bentley Instruments, Inc.).

A análise estatística foi realizada através de estatística descritiva e análise de variância não paramétrica (Kruskall-Wallis), onde se verificou os efeitos do crescimento bacteriano na CCS e CBT com nível de significância $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de leite foram coletadas partir do 15º dia de lactação, pois Bostedt et al. (1988) argumenta que o exame de amostras de leite de éguas saudáveis durante os primeiros 7 dias após o parto mostrou que mais de 40% das éguas e mais de 20% das amostras de leite foram contaminadas.

Das 30 amostras analisadas, 12 amostras (40%) apresentaram crescimento de diferentes microrganismos sendo que somente em duas amostras houve crescimento puro do mesmo agente: *Staphylococcus epidermidis*. Nenhuma égua apresentou sinais clínicos de mastite durante o estudo. Na tabela 1 podem-se observar os diferentes microrganismos isolados e os resultados de CCS e CBT de cada amostra.

As bactérias isoladas foram *Staphylococcus epidermidis* em 4 amostras, *Streptococcus* γ hemolítico em 3 amostras, *Bacillus circulans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp e *Corynebacterium* sp isolados em 2 amostras. Apenas uma égua não apresentou crescimento bacteriano no leite durante todo o estudo. Neste estudo foi realizada somente cultura bacteriana, uma vez que a mastite nesta espécie é na grande maioria dos casos, de etiologia bacteriana (Walker et al., 1993). Os casos de mastite por fungos (Walker et al. 1993) e nematódeos (Kocabiyik et al., 2008) são extremamente raros. Na maioria dos casos, a mastite em éguas é causada por bactérias do gênero *Streptococcus* spp (Smiet et al. 2012), que neste estudo apareceu em 3 das amostras em que houve crescimento (25%), mas apenas em uma égua como cultura pura.

Tabela 1. Microorganismos isolados e resultado de CCS e CBT das amostras

Amostra	Microorganismos isolados	CCS x 10 ³	CBT x 10 ³	Mês da Lactação
Égua 1	<i>Staphylococcus epidermidis/Pasteurella multocida</i>	20	57	1º
Égua 1	<i>Bacillus circulans/Corynebacterium</i> SP	0	25	5º
Égua 2	<i>Bacillus circulans</i>	20	87	1º
Égua 3	<i>Pseudomonas</i> SP	7	32	1º
Égua 3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	27	5º
Égua 3	<i>Staphylococcus epidermidis/Streptococcus</i> γ hemolítico	0	108	6º
Égua 4	<i>Staphylococcus aureus/Pseudomonas</i> SP	16	80	1º
Égua 4	<i>Streptococcus</i> γ hemolítico	12	40	2º
Égua 4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22	23	5º
Égua 4	<i>Streptococcus</i> γ hemolítico/ <i>Bacillus circulans</i>	0	41	6º
Égua 5	<i>Staphylococcus aureus/Klebsiella</i> SP	8	34	2º
Égua 6	<i>Corynebacterium</i> SP	0	24	2º

Algumas bactérias que podem ser encontradas no leite equino são: *Streptococcus equi*, *Streptococcus equisimilis*, *Staphylococcus* spp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.. A presença destes microrganismos no leite equino deve ser atribuída a sanitização ineficaz no momento da ordenha e/ou dos equipamentos (Salimei & Fantuz, 2012), por isso alguns autores encontraram cultura bacteriana positiva em éguas clinicamente saudáveis (Reis et al., 2009), o que parece ter acontecido neste estudo, uma vez que as éguas não apresentavam sinais clínicos de mastite. Em estudos de Bostedt et al. (1988), 51% dos casos foram associados com *Streptococcus* spp. com 70% destes casos sendo *Streptococcus* spp beta-hemolítico. De acordo com Van der Burg et al. (2011), nos Países Baixos os organismos mais comuns encontrados na mastite equina são *Streptococcus* e *Staphylococcus* spp. Outros agentes encontrados são *Corynebacterium* spp. e bactérias gram-negativas como *Escherichia coli*,

Pseudomonas spp, e *Klebsiella* spp. Infecções da glândula mamária com agentes anaeróbicos são incomuns (Smiet et al.; 2012). Em um estudo de Motta et al. (2011), com éguas sem a presença de mastite clínica, os principais agentes isolados foram *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus equi*, respectivamente. Em éguas com mastite clínica, foram isolados *Staphylococcus aureus* e *Arcanobacterium pyogenes* nas amostras de leite.

Em um estudo realizado com 33 éguas com mastite, 27,3% dos casos ocorreram antes do parto, 24,2% imediatamente após o parto, 12,1% no meio e final da lactação, 9,1% logo após o desmame e 27,3% dos casos ocorreram em éguas vazias, fora do período de lactação (Smiet et al., 2012). Segundo Walker et al. (1993) e Kocabiyik et al. 2008, a mastite pode ocorrer a qualquer momento.

Tabela 2. Média e desvio padrão de CCS e CBT nas éguas com e sem crescimento bacteriano.

Cultura	n	%	CCS x 10 ³	CBT x 10 ³
Positiva	12	40	8,91 ± 8,77 ^a	48,17 ± 28,54 ^a
Negativa	18	60	5,39 ± 10,14 ^a	13,33 ± 10,59 ^b
Total	30	100	6,80 ± 9,62	26,66 ± 24,71

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P<0,05)

A CCS é um parâmetro que determina o estado sanitário da glândula mamária e qualidade do leite. Toda secreção mamária contém um número reduzido de células somáticas e na presença de inflamação há um aumento nos valores da CCS. As células somáticas do leite são essencialmente constituídas por glóbulos brancos: linfócitos, macrófagos e polimorfonucleares. Largamente utilizado na espécie bovina, este parâmetro também pode ser utilizado para a espécie equina, pois as alterações citológicas e qualitativas provocadas pela mastite no leite equino são semelhantes às que ocorrem no leite bovino (Reis et al., 2009). A média de CCS das amostras estudadas foi de 6,80 x 10³ céls/ml, porém não houve diferença (P=0,2297) quando se comparou as éguas positivas e negativas ao crescimento bacteriano (Tabela 2). Da mesma forma não houve diferença entre éguas com cultura pura ou mista em relação à CCS (P=0,2364). Uma vez que nessas éguas em que houve crescimento bacteriano, este não foi acompanhado por sinais clínicos, pode-se dizer que este crescimento é de bactérias que não estavam causando a doença, ou decorrente de contaminação no momento da ordenha. Danków et al. (2006) encontrou uma média de 46 x 10³ céls/ml em um estudo com éguas dos 15 aos 150 dias de lactação. Reis et al. (2009), mencionam que a média de CCS do leite oriundo de glândulas mamárias de éguas saudáveis é 7,5 x 10³ céls/ml, podendo variar entre 1,0 a 65 x 10³ céls/ml, mas sugere-se um limite de 100 x 10³ céls/ml. Em seu estudo com éguas da raça Mangalarga Marchador, os mesmos autores obtiveram uma média de 16,5 x 10³ céls/ml. O leite de égua é caracterizado por um número consideravelmente menor de CCS que o leite de vacas e cabras com glândulas mamárias saudáveis (média de 100 x 10³ céls/ml), e também ovelhas (300 x 10³ céls/ml) (Danków et al., 2006).

A Contagem bacteriana total é a contagem do número de colônias de bactérias presentes na amostra de leite, portanto é medida em unidade formadora de colônias (UFC). Este parâmetro indica a contaminação microbiana do leite dentro da própria glândula mamária e a higiene de ordenha. A temperatura de armazenamento exerce influência na contagem bacteriana, portanto o leite deve ser armazenado em temperaturas inferiores a 4,5°C (Bueno et al., 2008; Pales et al., 2005). A média de CBT de amostras de leite de éguas sadias foi de 29,66 x 10³ UFC/ml. Neste estudo as éguas

que apresentaram crescimento bacteriano apresentaram também maior CBT ($P=0,001$), mas não houve diferença entre cultura pura ou mista ($P=0,1275$). A contagem bacteriana total no leite de éguas é de aproximadamente 40×10^3 UFC/ml, sendo inferior ao convencional para outras espécies. Na literatura é encontrada uma variação de $0,25 \times 10^3$ a 740×10^3 UFC/ml (Salimei & Fantuz, 2012). O leite equino possui uma alta concentração de lisozima, uma enzima com propriedades antibacterianas, também presente no leite humano e escassa no leite bovino, acredita-se que os baixos valores de CBT no leite de égua sejam devidos a esse fator (Reis et al., 2009; Danków et al., 2006; Malacarne et al., 2002).

CONCLUSÃO

A maioria das amostras não apresentou crescimento bacteriano. Em relação à CCS, não houve diferença significativa quando se comparou as éguas sadias que se apresentaram positivas e negativas ao crescimento bacteriano. Éguas que apresentaram crescimento bacteriano apresentaram também maior número na CBT, mas não houve diferença entre cultura pura ou mista.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOSTEDT H, LEHMANN B, PEIP D. 1988. The problems of mastitis in mares. *Tierärztliche Praxis*. 16(4):367-371.
- BUENO, V.F.F., 2008. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. *R. bras. Ci. Vet.* 15(1), 40 – 44.
- DANKÓW, R.; WÓJTOWSKI, J.; PIKUL, J.; NIZNIKOWSKI, R.; CAIS-SOKOLINSKA, D. 2006. Effect of lactation on the hygiene quality and some milk physicochemical traits of the Wielkopolska mares. *Arch Tierz, Dummerstorf*. 49: 201-106.
- KOCABIYIK AL, BUYUKCANGAZ E, AKKOC A, OZAKIN C, CANGUL T. 2008. Disseminated *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* infection in a foal and associated mastitis in a mare. 32(6):487-490.
- LANGONI, H.; PRESTES, N. C.; SILVA, A. V.; CORDEIRO, L. A.; MACHADO, G. J. 1998. Etiologia e perfil de sensibilidade microbiana na mastite equina. *Ciência Agrícola*. 19: 17-20.
- MOTTA RG, RIBEIRO MG, LANGONI H, MOTA DG, FRANCO MMJ, ALMEIDA ACS, PEROTTI IBM, LISTONI FJP, MENOZZI BD. 2011. Estudo dos métodos de rotina diagnóstica de mastite no leite de éguas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 63(4):1028-1032.
- PALES, A.P., 2005. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. *Revista eletrônica Faculdade Montes Belos*. 1(2), 163 – 173.
- PRESTES, N. C.; LANGONI, H.; CORDEIRO, L. A. V., 1999. Estudo do leite de éguas sadias ou portadoras de mastite subclínica, pelo teste de Whiteside, análise microbiológica e contagem de células somáticas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 36(3).
- REIS, A. P.; MOREIRA, A. J.; SANTOS, K. R. P.; OLIVEIRA, F. H.; BALDUINO, R.; MACIEL, I. B.; SILVA, E. B.; NICOLAU, E. S. 2009. Avaliação da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de éguas da Raça Mangalarga Marchador. *Veterinária e Zootecnia*. 16(1): 204-212.

SALIMEI, S.; FANTUZ, F. 2012. Equid milk for human consumption. *International Dairy Journal*. 24: 130-142.

SMIET E, GRINWIS, GCM, VAN DEN TOP JGB, SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN MM. 2012. Equine mammary gland disease with a focus on botryomycosis: A review and case study. *Equine Veterinary Education*. 24(7): 357-366.

VAN DER BURG L, MULLER I, SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN MM. 2011. Horse milking industry in The Netherlands and Flanders. *Tijdschr Diergeneeskd*. 136:257-261.

WALKER RL, JOHNSON BJ, JONES KL, PAPPAGIANIS D, CARLSON GP. 1993. *Coccidioides immitis* mastitis in mares. *J Vet Diagn Invest*. 5:446-448.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCCC – Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos, Anuário 2010.

ABCCC – Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos, Anuário 2011.

ALBRECHT, B. A. 2007. Mastitis, In: SAMPER JC, PYCOCK JE, MCKINNON AO, Current therapy in equine reproduction. Missouri, p. 441 – 445.

ANDERSON, R. R. 1992. Comparison of trace elements in milk of four species. Journal of Dairy Science. 75: 3050-3055.

BARROS, M. D.; KULESZA, T. M.; RAÑNA, W.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. S. 1982. Papel do leite materno na defesa do lactente contra infecções. Pediatría (São Paulo). 4: 88-102.

BOSTEDT, H.; LEHMANN, B.; PEIP, D. 1988. The problems of mastitis in mares. Tierärztliche Praxis. 16(4):367-371.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; OLIVEIRA, A. N.; NICOLAU, E. S.; NEVES, R. B. S. 2008. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e o período do ano no Estado de Goiás. Revista Brasileira de Ciência Veterinária. 15(1): 40-44.

BUSINCO, L.; GIAMPIETRO, P. G.; LUCENTI, P.; LUCARONI, F.; PINI, C.; FELICE, G.; LACOVACCI, P.; CURADI, C., ORLANDI, M. 2000. Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. J Allergy Clin Immunol. 105(5):1031-1034.

CAROPRESE, M.; ALBENZIO, M.; MARINO, R.; MUSCIO, A.; ZEZZA, T.; SEVI, A. 2007. Behavior, Milk Yield, and Milk Composition of Machine and Hand-Milked Murghese Mares. Journal of Dairy Science. 90(6):2773-2777.

CHIOFALO, B.; DROGOUL, C.; SALIMEI, E. 2006. Other utilization of mare's and ass's milk. Nutrition and feeding the broodmare. EAAP publication. 120: 133-147.

COULON, J. B.; DAUVER, F.; GAREL, J. P. 1996. Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait chez des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. *INRA Prod. Anim.* 9:133 – 139.

CURY, M. T. F. 2004. Aleitamento Materno In: ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C.; ACERDA, E. M. A. *Nutrição em Obstetrícia e Pediatria*. Rio de Janeiro. 287–313.

CSAPÓ, J.; SALAMON, S.; LÓKI, K.; CSAPÓ-KISS, Z. 2009. Composition of mare's colostrum and milk II. Protein content, amino acid composition and contents of macro- and micro-elements. *Acta Univ Sapientiae, Alimentaria*. 2(1): 133-148.

CSAPÓ, J.; STEFLER J.; MARTIN, T. G.; MAKRAY, S.; CSAPÓ-KISS Z. 1995. Composition of Mares' Colostrum and Milk. Fat Content, Fatty Acid Composition and Vitamin Content. *International Dairy Journal*. 5:393-402.

DANKÓW, R.; WÓJTOWSKI, J.; PIKUL, J.; NIZNIKOWSKI, R.; CAIS-SOKOLINSKA, D. 2006. Effect of lactation on the hygiene quality and some milk physicochemical traits of the Wielkopolska mares. *Arch Tierz, Dummerstorf*. 49: 201-106.

DOREAU M.; BOULOT S. 1989. Methods of measurement of milk yield and composition in nursing mares: a review. *Lait*. 89: 159-171.

DOREAU, M.; BOULOT, S.; BAUCHART, D.; BARLET, J.; MIRAND, P. P. 1990. Yield and composition of milk from lactating mares: effect of lactation stage and individual differences. *Journal of Dairy Research*. 57: 449-454.

DOREAU, M.; BOULOT, S.; BAUCHART, D.; BARLET, J.; MARTIN-ROSSET, W. 1991. Voluntary intake, milk production and plasma metabolites in nursing mares fed two different diets. *Journal of Nutrition*. 122: 992-999.

DOREAU, M.; MARTUZZI, F. 2006 (a). Fat content and composition of mare's milk. *Nutrition and feeding the broodmare*. EAAP publication. 120: 77-84.

DOREAU, M.; MARTUZZI, F. 2006 (b). Milk yield of nursing and dairy mares. *Nutrition and feeding the broodmare*. EAAP publication. 120: 57-64.

GIANLUPPI, L. D. F.; BORTOLI, E. C.; SCHVARZ, R.; FALCÃO, B. T. F.; SILVA, T. N. 2009. Agregação de valor em equinos da raça crioula: um estudo de caso. *Archivos de Zootecnia*. 58 (223): 471-474.

GIBBS, P. G.; POTTER, G. D.; BLAKE, R. W.; MCMULLANW, C. 1982. Milk production of Quarter Horse mares during 150 days of lactation. *Journal of Animal Science*. 54:496-499.

GONZÁLES, F. H. D. 2001. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLES FHD, DÜRR JW, FONTANELI RS. *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre, Brasil. 5-22.

GONZÁLES, F. H. D.; NORO, D. 2011. Variações na composição do leite no subtropical brasileiro. In: Gonzáles, F.H.D. et al., *Qualidade do leite bovino, variações no trópico e subtropical*. Passo Fundo. 11–27.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. 2004. *Reprodução Animal*. 7 ed. São Paulo: Manole.

HOLMES, A. D.; SPELMAN, A. F.; SMITH, C. T.; KUZMESKI, J. W. 1947. Composition of mare's milk as compared with that of other species. *Journal of Dairy Science*. 30(6): 385-395.

KOCABIYIK, A. L.; BUYUKCANGAZ, E.; AKKOC, A.; OZAKIN, C.; CANGUL, T. 2008. Disseminated *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* infection in a foal and associated mastitis in a mare. 32(6):487-490.

LANGONI, H.; PRESTES, N. C.; SILVA, A. V.; CORDEIRO, L. A.; MACHADO, G. J. 1998. Etiologia e perfil de sensibilidade microbiana na mastite equina. *Ciência Agrícola*. 19: 17-20.

LINTON, R. G. 1931. The composition of mare's milk. *The Journal of Agricultural Science*. 21(4): 669-688.

MACHADO, M. M. T. 2002. Fatores de proteção do leite humano. *Revista de Pediatria do Ceará*. 3(2): 59-63.

MALACARNE, M.; MARTUZZI, F.; SUMMER, A.; MARIANI, P. 2002. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *International Dairy Journal*. 12:869-877.

MARIANI, P.; SUMMER, A.; MARTUZZI, F.; FORMAGGIONI, P.; SABBIONI, A.; CATALANO, A. L. 2001. Physicochemical properties, gross composition, energy value and nitrogen fractions of Haflinger nursing mare milk throughout 6 lactation months. *Animal Research*. 50: 415-425.

MEDHAMMAR, E.; WIJESINHA-BETTONI, R.; STADLMAYR, B.; NILSSON, E.; CHARRONDIERE, U.R.; BURLINGAME, B. 2012. Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92:445-474.

MORAIS, M. T.; SIMONE, E. M.; ROMANO, L. M. 1999. Estudo da composição do leite de égua e comparação com o leite de mulher. *Hig. aliment*. 13(64):62-71.

MOREL, D. 2003. *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. ed. 2, p. 102-104.

MOTTA, R. G.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H.; MOTA, D. G.; FRANCO, M. M. J.; ALMEIDA, A. C. S.; PEROTTI, I. B. M.; LISTONI, F. J. P.; MENOZZI, B. D. 2011. Estudo dos métodos de rotina diagnóstica de mastite no leite de éguas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 63(4):1028-1032.

NIKKHAH, A. 2012. Equidae milk promises substitutes for cow and human breast milk. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 36(5): 470-475.

OFTEDAL, O. T.; HINTZ, H. F.; SCHRYVER, H. F. 1983. Lactation in the Horse: milk composition and intake by foals. *The Journal of Nutrition*. 113(10): 2096-2106.

ORLANDI, M.; GORACCI, J.; CURADI, M.C. 2003. Fat composition of mare's milk with reference to woman nutrition. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinária LVI*. 20: 97-106.

PAGAN, J. D.; HINTZ, H. F. 1986. Composition of milk from pony mares fed various levels of digestible energy. *Cornell Veterinary*. 76(2):139-48.

PALES, A. P. 2005. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. *Revista eletrônica Faculdade Montes Belos*. 1(2):163 – 173.

PIESZKA, M.; LUSZCZYŃSKI, J.; SZEPTALIN, A. 2011. Comparison of mare's milk composition of different breeds. *Nauka Przyroda Technologie*. 5:1-5.

PIETRZAK-FIEĆKO, R.; TOMCZYŃSKI, R.; ŚWISTOWSKA, A.; BOREJSZO, Z.; KOKOSZKO, E.; SMO CZYŃSKA, K. 2009. Effect of mare's breed on the fatty acid composition of milk fat. *Czech J. Anim. Sci.* 54(9), 403 – 407.

PIKUL, J.; WÓJTOWSKI, J. 2008. Fat and cholesterol content and fatty acid composition of mare's colostrums and milk during five lactation months. *Livestock Science*. 113: 285–290.

PONS, D. S. 1996. O cavalo crioulo. 1ª ed., Editora Saraiva.

PRESTES, N. C.; LANGONI, H.; CORDEIRO, L. A. V., 1999. Estudo do leite de éguas sadias ou portadoras de mastite subclínica, pelo teste de Whiteside, análise microbiológica e contagem de células somáticas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 36(3).

REIS, A. P.; MESQUITA, A. J.; MOREIRA, C. H. G.; CURADO, E. A. F.; SILVA, E. B.; NICOLAU, E. S. 2007. Composição do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. 66(2): 130-135.

REIS, A. P.; MOREIRA, A. J.; SANTOS, K. R. P.; OLIVEIRA, F. H.; BALDUINO, R.; MACIEL, I. B.; SILVA, E. B.; NICOLAU, E. S. 2009. Avaliação da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de éguas da Raça Mangalarga Marchador. *Veterinária e Zootecnia*. 16(1): 204-212.

SALAMON, R. V.; SALAMON, S.; CSAPÓ-KISS, Z.; CSAPÓ, J. 2009. Composition of mare's colostrum and milk I. Fat content, fatty acid composition and vitamins contents. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria*. 2(1): 119-131. (não entendi como q tem q ser esse professora)

SALIMEI, S.; FANTUZ, F. 2012. Equid milk for human consumption. *International Dairy Journal*. 24: 130-142. (não entendi como q tem q ser esse professora)

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q.; VIEIRA, A. S.; PINTO, L. F. B.; CORASSA, A.; PIMENTEL, R. R. M.; SILVA, V. P.; GALZERANO, L. 2005. Lactação em éguas da raça mangalarga marchador: produção e composição do leite e ganho de peso dos potros lactentes. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34 (2): 627-634.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M. 2006. Lactação em éguas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 101: 17-23.

SCHRYVER, H. F.; OFTEDAL, O. T.; WILLIAMS, J.; SODERHOLM, L. V.; HINTZ, H. F. 1986. Lactation in the horse: the mineral composition of the mare milk. *The Journal of Nutrition*. 116(11):2142-214.

SMIET, E.; GRINWIS, G. C. M.; VAN DEN TOP, J. G. B.; SLOET, V. A. N.; OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M. 2012. Equine mammary gland disease with a focus on botryomycosis: A review and case study. *Equine Veterinary Education*. 24(7): 357-366.

SMOLDERS, E. A. A.; VAN DER VEEN, N. G.; VAN POLANEN, A. 1990. Composition of horse milk during the suckling period. *Livestock Production Science*. 25:163-171.

SPERS, R.C.; SPERS, A.; FERNANDES, W. R.; VISINTIN, J. A.; GARCIA, C. A. 2006. Efeito da suplementação da dieta com óleo de babaçu sobre a composição do sangue e do leite de éguas em lactação. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 43: 109-119.

STARBUCK, G. R. 2006. Physiology of lactation in the mare. *Nutrition and feeding the broodmare*. EAAP publication. 120: 49-55.

TEIXEIRA, A. L. 2011. Cavalo Crioulo – O símbolo do Rio Grande do Sul. Ed Viver no Campo 2^a ed.

VAN DER BURG, L. J.; MULLER, I.; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M. M. 2011. Horse milking industry in The Netherlands and Flanders. *Tijdschr Diergeneeskd*. 136:257-261.

WALKER, R. L.; JOHNSON, B. J.; JONES, K. L.; PAPPAGIANIS, D.; CARLSON, G. P. 1993. *Coccidioides immitis* mastitis in mares. *J Vet Diagn Invest*. 5:446-448.