

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA, TESTE DE TAMIS E CALIFORNIA MASTITIS TEST REALIZADOS EM AMOSTRAS DE LEITE DE FÊMEAS BUBALINAS PERTENCENTES A REBANHOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

**J. Kapronezai, P. Melville, N.R. Benites**

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: josanak@usp.br

### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a análise dos testes de tamis, CMT e do exame microbiológico de amostras de leite de fêmeas bubalinas. Os quartos mamários foram submetidos ao teste de tamis e CMT, sendo colhidas 262 amostras de leite de fêmeas bubalinas primíparas e pluríparas para análise microbiológica. No teste do tamis, 99,6% das amostras apresentaram resultado negativo. No CMT, observamos resultado negativo em 88,2% das amostras; traços (8%), positivo 1+ (1,5%); positivo 2+ (1,15%); positivo 3+ (1,15%). A análise microbiológica apresentou amostras sem crescimento de microrganismos (75,6%); com isolamento de *Staphylococcus* spp. (11,8%), *Corynebacterium* spp. (7,3%), *Streptococcus* spp. (3,1%) e com crescimento de microrganismos em associações (1,2%). Concluiu-se que nos rebanhos bubalinos estudados, os índices de mastite clínica e subclínica são muito baixos. A análise dos resultados obtidos no CMT e no exame microbiológico nos leva a inferir que a frequência de animais portadores nos rebanhos estudados é elevada ou que o teste de CMT não pode ser considerado um bom teste de triagem para mastite em bubalinos, o que evidencia a importância da adoção de medidas preventivas a fim de assegurar a qualidade e inocuidade do produto e de seus derivados.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bubalus bubalis*, leite, mastite, CMT, análise microbiológica, tamis.

### ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS, STRIP CUP TEST, AND CALIFORNIA MASTITIS TEST ON MILK SAMPLES FROM BUFFALO FEMALES (*BUBALUS BUBALIS*) IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL. The aim of the present work was the study of microbiological analysis, strip cup test, and California Mastitis Test of milk samples from buffalo cows. The mammary quarters were submitted to strip cup test and CMT and 262 milk samples were collected from buffalo cows for microbiological analysis. In the strip cup test, 99.6% of the samples had negative results. In the CMT, the negative results were observed in 88.2% of the samples; traces (8%), 1+ positive (1.5%), 2+ positive (1.15%) and 3+ positive (1.15%). The microbiological analysis resulted in samples with no microorganism growth (75.6%); *Staphylococcus* spp. (11.8%); *Corynebacterium* spp. (7.3%) and *Streptococcus* spp. (3.1%) and associated microorganism growth (1.15%). It follows that the buffalo herds studied showed a low rate of clinical and subclinical mastitis. The CMT and microbiological analysis demonstrated that there may be a high frequency of carriers animals in these herds or that the CMT is not a good test for mastitis screening in buffaloes, which underscores the importance of adopting preventive procedures to guarantee the quality and innocuousness of the product and its derivatives.

**KEY WORDS:** *Bubalus bubalis*, milk, mastitis, CMT, microbiological analysis, tamis.

### INTRODUÇÃO

Segundo dados relativos ao ano de 2003, o Brasil possui 1.148.808 bubalinos, sendo o Estado de São Paulo, com 69,1 mil cabeças, o responsável pelo quinto maior rebanho bubalino do país.

A microbiota do leite de búfalas é muito rica em algumas cepas de lactobacillus, presentes em concen-

trações maiores do que as encontradas no leite bovino. Essas cepas são importantes, pois além de fornecerem sabor e aroma particulares ao queijo, provavelmente representam papel importante na acidificação do coágulo durante o processamento do leite (DEFRANCISCIS & DI PALO, 1994)

As búfalas são consideradas menos susceptíveis à mastite do que as vacas (LAU, 1994; S HUKLA & SUPEKAR,

1987), embora os microrganismos envolvidos na infecção sejam semelhantes (NAG, 1995).

No Brasil, VIANNI *et al.* (1990) afirmaram que a prevalência de mastites em búfalas era de 8,81%. Segundo SILVA & SILVA (1994) as búfalas são mais resistentes às infecções mamárias do que os bovinos, e apresentam diferenças quantitativas e qualitativas na celularidade do leite.

Os bubalinos apresentam os tetos relativamente mais pendulosos e longos, portanto mais sujeitos às injúrias do que os dos bovinos; contudo, nos bubalinos o ductus papilaris é mais musculoso, com maior quantidade de fibras e vasos sanguíneos, funcionando como uma barreira mais eficiente contra as infecções (LAU, 1994).

A detecção precoce da mastite nos búfalos, assim como nos bovinos, é muito importante, pois reduz as perdas na produção de leite e aumenta as chances de recuperação do animal. Com esse propósito, muitos testes indiretos têm sido estudados e utilizados para detectar alterações no leite relacionadas à permeabilidade capilar, dano tissular, número de células somáticas, pH, viscosidade, teor de cloretos e de catalase (KUMAR & THAKUR, 2001).

A presença de microrganismos no leite e nos derivados, muitos dos quais agentes de zoonoses, podem ser vias potenciais de transmissão de doenças (BADINI, 1995; COSTA *et al.*, 1995).

Em um estudo realizado no Estado de São Paulo, em 29,6% das amostras de leite bubalino foram isolados microrganismos, sendo que em 77% delas foi isolado *Staphylococcus* spp. (GUIDO *et al.*, 1994).

Considerando que em nosso país, segundo estimativas do Ministério da Agricultura, 40% do leite é consumido "in natura" o controle da qualidade do leite assume papel essencial nos procedimentos que visam garantir a segurança alimentar da população.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado utilizando-se as instalações do Laboratório de Doenças Infeciosas, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, campus de São Paulo e do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira (NAPGAMA), campus de Pirassununga.

Foram avaliadas fêmeas bubalinas primíparas e pluríparas, de diferentes raças e graus de sangue, em diferentes estágios de lactação, não submetidas a tratamento medicamentoso nos 30 dias anteriores à coleta de material. Os animais pertenciam a plantéis homogêneos criados em sistema extensivo em propriedades de exploração leiteira localizadas no Estado de São Paulo; a ordenha mecânica era realizada uma vez ao dia, com o apajo dos bezerros.

Após o exame físico da glândula mamária, a secreção láctea de cada teto foi submetida à prova do Tamis ou Strip Cup (BLOOD & RADOSTOSIS, 1991) e ao CMT (Califórnia Mastitis Test) (SCHALM & NOORLANDER, 1957), sendo colhidas amostras de cada quarto mamário após a higienização e antissepsia do úbere. As amostras foram submetidas à análise microbiológica, sendo cultivadas em ágar sangue de carneiro (5%) com incubação em aerobiose a 37° C, com leituras de 24h.

Os microrganismos isolados foram identificados de acordo com LENNETE (1985) e classificados segundo KRIEG & HOLT (1994) e MURRAY *et al.* (1999).

Nas análises estatísticas foi utilizado o teste de Fischer do software Graphpad InStat 1990-1993.

## RESULTADOS

No teste do tamis, uma (0,4%) amostra apresentou resultado positivo e 261 (99,6%) negativo. No CMT, 231 (88,2%) amostras apresentaram reação negativa; 21 (8,0%) traços; 4 (1,5%) reação 1+; 3 (1,15%) reação 2+ e 3 (1,15%) amostras reação 3+. Com base nos resultados do CMT, somente 10 (3,8%) dos quartos mamários avaliados apresentaram processo inflamatório.

Baseados nos resultados do teste do tamis e do CMT, 0,4% dos quartos mamários apresentaram mastite clínica; 3,4% mastite subclínica e 96,2% foram negativos.

Considerando a análise microbiológica, em 198 amostras (75,6%) não houve crescimento de bactérias aeróbicas, algas e/ou fungos. Nas amostras que apresentaram crescimento de microrganismos, foi isolado *Staphylococcus* spp. em 31 amostras, correspondendo a 11,8% do total de amostras analisadas; *Corynebacterium* spp. em 19 amostras (7,25%); *Streptococcus* spp. em 8 amostras (3,0%); *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. associados em uma amostra (0,4%); *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. associados em uma amostra (0,4%); *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. em 3 amostras (1,15%) e *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. em uma amostra (0,4%).

Das amostras positivas ao exame microbiológico, em 58 foi isolado um único agente e em seis amostras, foram isolados microrganismos associados.

O número de amostras negativas ao exame microbiológico é estatisticamente maior do que o de amostras que apresentaram isolamento de microrganismos ( $P < 0,0001$ ). Considerando as amostras positivas ao exame microbiológico, a frequência de isolamento de *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. foi estatisticamente maior ( $P < 0,0001$ ) do que a dos outros agentes encontrados.

Considerando os resultados do exame microbiológico e do CMT das amostras de leite de fêmeas bubalinas avaliadas, encontrou-se nas 231 amostras que apresentaram resultado negativo ao CMT, isolamento de microrganismos em 50 delas. Nas 31 amostras que apresentaram resultados positivos ao CMT, 14 apresentaram crescimento de microrganismos e 17 foram negativas ao exame microbiológico. A frequência de quartos negativos no CMT e com isolamento microbiológico foi maior estatisticamente ( $P < 0,05$ ) do que a frequência de quartos positivos no CMT e com isolamento de microrganismos. A frequência de quartos negativos no CMT e sem isolamento de microrganismos foi estatisticamente maior ( $P < 0,05$ ) do que a frequência de quartos positivos no CMT e sem isolamento.

Nas amostras de leite em que houve crescimento de microrganismos, foram identificadas as seguintes espécies: *S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. schleiferi*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. dysgalactiae*, *S. agalactiae*, *C. bovis* e *C. xerosis*.

## DISCUSSÃO

VIANNI *et al.* (1990), com o objetivo de avaliar a eficiência do CMT na estimativa do número de células somáticas do leite bubalino, examinaram 159 quartos de glândulas mamárias de 40 búfalas das raças Murrah, Jafarabadi e Mediterrânea, obtendo 8,8% de quartos positivos e 91,2% de quartos negativos ao CMT.

RAMACHANDRAIAH *et al.* (1998) avaliaram o leite dos quartos mamários de 85 búfalas da raça Murrah pelo CMT e análise microbiológica, encontrando 53% dos animais positivos e 47% negativos ao CMT. Nos animais positivos ao CMT, 48% dos quartos estavam afetados.

Em um estudo realizado em propriedades situadas no Vale do Ribeira e na região de Sorocaba, GUIDO *et al.* (1994) avaliaram 250 amostras de leite de 92 fêmeas bubalinas através do CMT e exame microbiológico, encontrando 30,4% dos animais positivos e 69,6% dos animais negativos ao CMT.

O presente trabalho avaliou amostras de leite de 262 quartos mamários de fêmeas bubalinas; no teste do tamis, uma (0,4%) amostra apresentou resultado 3+ e 261 (99,6%) amostras apresentaram resultado negativo, o que demonstra uma frequência de mastite clínica muito baixa. Considerando-se o CMT, 252 (96,2%) amostras apresentaram reação negativa e 10 (3,8%) reação positiva ao teste. Com base no teste de tamis e no CMT, 0,4% das amostras apresentaram mastite clínica; 3,4% subclínica e 96,2% ausência de mastite. Verifica-se, portanto, que os resultados são semelhantes aos obtidos pelos autores citados anteri-

ormente e que a porcentagem de mastite subclínica apresenta baixa frequência nos rebanhos estudados.

RAMACHANDRAIAH *et al.* (1998) realizaram CMT das amostras de leite de cada quarto da glândula mamária de 85 fêmeas bubalinas da raça Murrah. As amostras positivas ao CMT foram colhidas, centrifugadas e foi realizada a análise microbiológica do sedimento obtido. Cinquenta e três por cento dos animais foram positivos ao CMT; nesses, 82 (48%) quartos mamários estavam afetados. Nas 82 amostras positivas ao exame microbiológico, isolaram-se *Streptococcus* spp. (46,34%), *Staphylococcus* spp. (34,15%), *Corynebacterium* spp. (8,55%), *Pseudomonas* spp. (3,66%), *Diplococcus* spp. (2,43%), fungos (2,43%), *Streptococcus* spp. associado a *Diplococcus* spp. (1,22%) e *Staphylococcus* spp. associado a *Diplococcus* spp. Os autores atribuíram a diferença nos microrganismos à variação de agentes etiológicos entre os rebanhos, devido às condições geográficas e de manejo diferentes. Detectaram também um número muito pequeno (2,44%) de infecções mistas e 97,66% de amostras positivas ao exame microbiológico com isolamento de um único agente etiológico.

TIJARE *et al.* (1999) avaliaram 467 amostras de leite de 119 fêmeas bubalinas na Índia. Foram realizados vários testes indiretos a fim de comparar a eficiência na detecção de mastite subclínica, como teste de eletrocondutibilidade, CMT modificado, Whiteside modificado, entre outros; tendo sido realizada também análise microbiológica das amostras. Os autores referiram índice de 26,77% de quartos mamários positivos no exame microbiológico, onde foram isolados *Staphylococcus* spp. (38,99%), *Bacillus* spp. (18,24%), *Escherichia coli* (18,24%), *Klebsiella* spp. (11,3%), *Corynebacterium* spp. (6,29%) e *Streptococcus* spp. (3,78%).

D'APICE *et al.* (1996) trabalharam com rebanhos bubalinos da região de Campânia na Itália, com a finalidade de padronizar um método citofluorimétrico para a identificação no leite de anticorpos específicos para *S. aureus*, agente causador de mastite de maior ocorrência naquela região, segundo FENIZIA *et al.* (1988 apud D'APICE *et al.*, 1996). Em seu trabalho, D'APICE *et al.* (1996) isolaram *S. aureus*, *S. agalactiae* e *E. coli* do leite das fêmeas bubalinas avaliadas.

No presente trabalho foram observadas 24,4% amostras positivas e 75,6% de amostras negativas ao exame microbiológico, índice semelhante ao obtido pelos autores TIJARE *et al.* (1999). Nas 24,4% amostras positivas deste estudo foram isolados *Staphylococcus* spp. (11,8%); *Corynebacterium* spp. (7,25%); *Streptococcus* spp. (3,0%); *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. associados (0,4%); *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. associados (0,4%); *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. associados (1,15%) e *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.

e *Corynebacterium* spp. associados (0,4%). O número de amostras negativas é estatisticamente maior do que o de amostras positivas ao exame microbiológico ( $P < 0,0001$ ). Nas amostras positivas ao exame microbiológico, o número de amostras nas quais foram isolados *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. foi estatisticamente maior ( $P < 0,0001$ ). Na análise microbiológica deste estudo, foram observadas 58 (97,7%) amostras nas quais foi isolado um único agente e seis amostras onde foi detectada uma associação de microrganismos, resultado muito semelhante ao referido por RAMACHANDRAIAH *et al.* (1998).

GUIDO *et al.* (1994) avaliaram 250 amostras de fêmeas bubalinas pertencentes a propriedades no Estado de São Paulo. Das amostras avaliadas, 29,6% foram positivas ao exame microbiológico; destas, em 77% foram isolados *Staphylococcus* spp., em 12,2% *Corynebacterium* spp.; 5,4% *E. coli*; 4% *Streptococcus* spp. e em 1,3% *Bacillus* spp. Em 69,7% dos animais não foi identificado processo inflamatório, mas 18,4% desses animais apresentaram crescimento de microrganismos. Segundo os autores, as condições de higiene estão intimamente relacionadas com a saúde dos bubalinos, uma vez que microrganismos patogênicos ambientais representam o principal agente causador de mastites nesta espécie; a presença de grande número de animais (18,4%) que apresentaram infecção na glândula mamária sem apresentarem processo inflamatório constitui um fator de importância nesta espécie, uma vez que a disseminação dos agentes e a contaminação do leite é facilitada.

Os resultados deste estudo diferem dos obtidos por GUIDO *et al.* (1994), uma vez que os microrganismos isolados do leite das fêmeas bubalinas estudadas são, em sua totalidade, agentes considerados contagiosos, não tendo sido isolados microrganismos classificados como ambientais. Diante do apresentado, nas propriedades que serviram de base para a realização deste trabalho, outros fatores além dos enumerados por GUIDO *et al.* (1994) devem ser ressaltados. Fatores que propiciem a disseminação de agentes patogênicos a partir de animais portadores e entre os animais do rebanho, bem como os fatores que permitam a transmissão cruzada entre homens e animais, ressaltando a importância desses patógenos como fontes de transmissão de zoonoses. Neste trabalho, nas 231 amostras que apresentaram resultado negativo ao CMT, foram isolados microrganismos em 50 amostras (21,6%). Esse dado reforça o fato de que existem animais que, mesmo sendo submetidos à métodos de diagnóstico utilizados rotineiramente como meios de triagem nas propriedades de produção leiteira, podem albergar agentes potencialmente causadores de mastite e de zoonoses.

Os cuidados no transporte e no armazenamento do leite e seus derivados devem ser devidamente ressaltados, pois constituem etapas muito importantes na manutenção da qualidade e na diminuição do risco que esse produtos possam representar à saúde da população, que atua como participante da cadeia de produção ou como consumidor final dos mesmos.

SILVA *et al.* (1999) referem que a maioria dos quartos mamários de búfalas afetados subclínicamente não produzem crescimento bacteriano na cultura microbiológica.

Segundo SCHALM & NOORLANDER (1957), o CMT é um indicador do estado de inflamação do úbere, e não fornece informações a respeito da sua causa. Pode ocorrer que no exame microbiológico não sejam isolados patógenos no leite que é positivo no CMT (SCHALM *et al.*, 1971).

Considerando os resultados do exame microbiológico e do CMT das amostras de leite de fêmeas bubalinas avaliadas no presente trabalho, encontramos nas 231 amostras que apresentaram resultado negativo ao CMT, isolamento de microrganismos em 50 delas. Nas 31 amostras que apresentaram resultados positivos ao CMT, 14 apresentaram crescimento de microrganismos e 17 foram negativas ao exame microbiológico, o que confirma o referido pelos autores acima citados. Contudo, a frequência de quartos negativos no CMT e com isolamento microbiológico foi maior estatisticamente ( $P < 0,05$ ) do que a frequência de quartos positivos no CMT e com isolamento de microrganismos. Nos quartos negativos no CMT e sem isolamento de microrganismos, a frequência foi estatisticamente maior ( $P < 0,05$ ) do que a frequência de quartos positivos no CMT e sem isolamento.

## CONCLUSÃO

A frequência de mastite clínica e subclínica nos rebanhos estudados foi muito baixa.

A análise dos resultados obtidos no CMT e no exame microbiológico nos leva a inferir que, a frequência de animais portadores nos rebanhos estudados é elevada ou que o teste de CMT não pode ser considerado um bom teste de triagem para mastite em bubalinos.

A existência de animais que apresentam resultados positivos ao exame microbiológico do leite, sem contudo apresentarem sinais de processo inflamatório evidencia a importância dos cuidados preventivos relacionados à transmissão de agentes potencialmente patogênicos no leite de bubalinos visando assegurar a qualidade e inocuidade do produto e de seus derivados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BADINI, K.B. *Estudo das características físico-químicas, microbiológicas e dos hábitos de consumo do leite cru comercializado clandestinamente nos municípios de Botucatu/SP e São Manuel/SP, 1993*. Jaboticabal: 1995. 124f. [Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Univ. Estadual Paulista.]
- BLOOD, D.C. & RADOSTOSIS, O.M. *Veterinary medicine*. 7.ed. London: Baillière Tindall, 1991. p.501-559.
- COSTA, E.O.; BENITES, N.R.; MELVILLE, P.A.; PARDO, R.B.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.17, n.4, p.156-158, 1995.
- D'APICE, L.; FENIZIA, D.; CAPPARELLI, R.; SCALA, F.; IANELLI, D. Detection of antibodies to *Staphylococcus aureus* in water buffalo milk by flow cytometry. *Res. Vet. Sci.*, v.60, p.179-181, 1996.
- DE FRANCISCI, G. & DI PALO, R. Buffalo milk production. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. *Proceedings*. São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1994. v.1, p.137.
- GUIDO, M.C.; CARVALHO, N.A.T.; BARUSELLI, P.S.; COSTA, E.O. Female bubaline mastitis etiology in brazilian state of São Paulo. In: CONGRESSO NAZIONALE SULL'ALLEVAMENTO DEL BÚFALO, 1., 1994. *Trabalhos apresentados*. S.l.: s.n., 1994. 1 CD-ROM.
- IBGE. Banco de dados agregados – Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 12 mai. 2005.
- KRIEG, N.R. & HOLT, J.C. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. 2298p.
- KUMAR, P. & THAKUR, D.K. Comparative efficacy of indirect tests for the detection of mastitis in buffaloes. *Indian Vet. J.*, v.78, p.801-803, 2001.
- LAU, H.D. Important economic diseases in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., São Paulo, 1994, *Anais*. São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1994. p.209-220.
- LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HANSLER JUNIOR, W.J.; SHADOMY, H.J. *Manual of clinical microbiology*. 4.ed. Washington: American Society for Microbiology Press, 1985. 1149p.
- MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. *Manual of clinical microbiology*. 7.ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 1773 p.
- NAG, N.C. Staphylococcal mastitis in cows, buffaloes and goats and their antibiotic sensitivity. *Indian J. Anim. Health*, v.14, p.169-173, 1995.
- RAMACHANDRAIAH, K.; KUMAR, K.M.S.; SREEMANNARAYANA, O. Sub-clinical mastitis in a organized buffalo farm. *Buffalo Bull.*, v.17, n.4, p.85-87, 1998.
- SCHALM, O.M.; CARROLL, E.J.; JAIN, N.C. *Bovine mastitis*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360 p.
- SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.130, n.5, p.199-207, 1957.
- SHUKLA, P.C. & SUPEKAR, P.G. Cell count in milk samples of normal ans mastitis animals. *Livestock Adviser*, v.12, n.12, p.44-48, 1987.
- SILVA, I.D.; SILVA, K.F.S.T.; AMBAGALA, A.P.N.; COORAY, R. Markers of inflammation in buffalo milk. In: REGIONAL SYMPOSIUM, 1999, Peradeniya, Sri Lanka. *Proceedings*. Peradenya: s.n., 1999.
- SILVA, I.D. & SILVA, K.F.S.T. Total and differential cell counts in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk. *Buffalo J.*, v.10, n.2, p.133-137, 1994.
- THARE, D.B.; SINGH, A.K.; CHATURVEDI, V.K.; DHANESAR, N.S. Sensitivity of indirect tests in detection of subclinical mastitis in buffaloes. *Indian Vet. J.*, v.76, p.912-915, 1999.
- VIANNI, M.C.E.; NADER FILHO, A.; ROSSETI, D.J.G.; LONGHI, J.L.; SICHER, M. Eficiência do Califórnia Mastitis Test (CMT) na estimativa do número de células somáticas do leite bubalino. *Ciênc. Vet.*, v.4, n.2, p.3-4, 1990.

Recebido em 24/5/05

Aceito em 24/6/05