



ARTIGO ORIGINAL

Camila Schumacher Mira^{1*}
Alice Maria Melville Paiva Della Libera²
Fernando Nogueira Souza³
Suzana Maria Lima²
Maiara Garcia Blagitz¹

¹Universidade Federal do Paraná – UFPR,
Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas,
85950-000, Palotina, PR, Brasil

²Universidade de São Paulo – USP,
Rua Professor Dr. Orlando Marques de Paiva,
87, 05508-270, São Paulo, SP, Brasil

³Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG,
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627,
30123-970, Belo Horizonte, MG, Brasil

Autor Correspondente:

*E-mail: camilaufprvet@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE

California Mastitis test
Wiscosin Mastitis test
Inflamação
Leite
Mastite

KEYWORDS

California Mastitis test
Wisconsin Mastitis test
Inflammation
Milk
Mastitis

Celularidade do leite no diagnóstico de infecções intramamárias em bovinos

Milk cellularity in the diagnosis of intramammary infection in cattle

RESUMO: Objetivou-se com o presente estudo avaliar a contagem de células somáticas por diferentes métodos, para o diagnóstico da mastite bovina. Foram utilizadas 112 amostras de leite de uma única propriedade, provenientes de 28 vacas da raça Holandesa em lactação, nas quais foram realizados exames bacteriológicos, contagens de células somáticas (CCS), o *California Mastitis test* (CMT) e o *Wiscosin Mastitis test* (WMT). Os resultados mostraram que 30,36% das amostras de leite foram positivas no exame bacteriológico, sendo o *Corynebacterium bovis* (58,82%) o patógeno mais frequentemente isolado, seguido por *Streptococcus dysgalactiae* (38,24%) e *Staphylococcus chromogenes* (2,94%). Os valores logarítmicos da CCS das amostras de leite negativas no exame bacteriológico ($4,59 \pm 0,88$) foram inferiores às amostras de leite positivas ($5,68 \pm 0,70$), positivas para *C. bovis* ($5,38 \pm 0,66$) e positivas para *S. dysgalactiae* ($6,14 \pm 0,48$), no exame bacteriológico ($p < 0,0001$). Foram observadas correlações médias entre a CCS e o CMT ($r = 0,50$; $p < 0,0001$) e o WMT ($r = 0,44$; $p < 0,0001$). A correlação entre o CMT e o WMT foi baixa ($r = 0,23$; $p = 0,0157$). Conclui-se então que o CMT demonstrou ser um teste de aplicação fácil e rápida, que pode ser rotineiramente utilizado no diagnóstico da mastite, assim como a CCS.

ABSTRACT: *The present study aimed to evaluate the milk cellularity indicators in the diagnosis of bovine mastitis. To this end, 112 milk samples from 28 Holstein dairy cows were used. Bacteriological examination, automatic somatic cell count (SCC), California Mastitis test (CMT); and Wisconsin Mastitis test (WMT) were performed. The results showed that 30.36% of the milk samples were positive for bacteriological analysis, with Corynebacterium bovis being the most frequently isolated pathogen (58.82%), followed by Streptococcus dysgalactiae (38.24%), and Staphylococcus chromogenes (2.94%). The logarithmic values of SCC from the bacteriologically negative milk samples (4.59 ± 0.88) were lower than the bacteriologically positive milk samples (5.68 ± 0.70), as well as for those infected with Corynebacterium bovis (5.38 ± 0.66) and Streptococcus dysgalactiae (6.14 ± 0.48) ($p < 0.0001$). Significant correlation between SCC and CMT ($r = 0.50$; $p < 0.0001$) and WMT ($r = 0.44$; $p < 0.0001$) were found. The correlation between CMT and WMT was $r = 0.23$ ($p = 0.0157$). Thus, CMT and automatic SCC can be used to diagnose mastitis, once they are of easy and fast performance.*

1 Introdução

A mastite é uma das principais enfermidades das vacas leiteiras, comprometendo a viabilidade de toda a cadeia produtiva do leite, afetando desde o produtor, passando pela indústria, até o consumidor final. Os custos relacionados à mastite incluem a redução da produção de leite, o descarte precoce de animais, os tratamentos, a mão de obra, a redução da qualidade do leite e, conseqüentemente, a redução no pagamento por qualidade do leite (HUIJPS et al., 2008).

A mastite pode ser classificada em clínica e subclínica. A mastite clínica é de fácil diagnóstico por permitir observar manifestações clínicas visíveis, como edema de úbere, sensibilidade da glândula mamária e presença de sangue e de grumos ou de pus no leite. Por outro lado, a mastite subclínica apresenta certo grau de dificuldade na identificação, pois não há alterações clínicas evidentes na glândula mamária que possam ser observadas macroscopicamente. Uma das formas utilizadas para o diagnóstico da mastite subclínica é pela detecção de alteração nos componentes do leite, principalmente pelo aumento da celularidade (SOUZA et al., 2009; DELLA LIBERA et al., 2011). Na medida em que este tipo de mastite é mais frequente do que a mastite clínica, o emprego de testes auxiliares no diagnóstico desta enfermidade é necessário. Os testes para avaliação da celularidade do leite incluem a contagem de células somáticas (CCS), o *California Mastitis test* (CMT) e o *Wiscosin Mastitis test* (WMT). O emprego dos testes de diagnóstico indiretos acarreta em redução nos casos de mastite, oferecendo, conseqüentemente, um produto lácteo de melhor qualidade (OLIVEIRA et al., 2011).

Ademais, o exame bacteriológico apresenta limitações, como custo e tempo para a cultura bacteriológica; além disso, deve-se lembrar que nem sempre a mastite vem acompanhada da presença de bactérias (DELLA LIBERA et al., 2011). Pyörälä (2003), Nunes et al. (2008) e Della Libera et al. (2011) relataram algumas limitações do exame bacteriológico, ocasionando resultados falso-negativos pelos seguintes motivos: presença de enzimas e proteínas no leite – como a lisozima e a lactoferrina – que podem mascarar e dificultar o isolamento bacteriano; o agente etiológico pode ser eliminado em baixa concentração ou não ser eliminado intermitentemente; a infecção ser suportada por endotoxinas bacterianas e compostos bio-ativos liberados pelas células inflamatórias, que podem prejudicar a sobrevivência bacteriana, ou ainda a infecção ser causada por patógenos que não são detectados pelos exames bacteriológicos usualmente utilizados na rotina laboratorial.

Diante de todas estas observações, o presente estudo objetivou a avaliação dos testes de celularidade do leite no diagnóstico da mastite em bovinos.

2 Material e Métodos

No presente estudo, foram utilizadas 112 amostras de leite produzido por 28 vacas da raça Holandesa de diferentes fases da lactação, provenientes de um único rebanho criado no Estado de São Paulo.

As amostras de leite foram colhidas em três alíquotas. A primeira alíquota foi destinada para a CCS automática; a

segunda alíquota para o CMT e o WMT, e a terceira alíquota para o exame bacteriológico.

As amostras destinadas à avaliação da celularidade pela CCS automática foram colhidas em frascos específicos contendo o conservante bronopol e analisadas por citometria de fluxo¹.

As amostras destinadas à avaliação pelos testes CMT e WMT foram colhidas em frascos de polipropileno com capacidade para 15 mL. Para o teste CMT, foi utilizado detergente comercial específico² (2 mL do reagente em 2 mL de leite), observando-se a intensidade da reação (aumento da viscosidade da mistura leite – reagente) e variações do pH (SCHALM; NOORLANDER, 1957). O resultado obtido foi interpretado da seguinte forma: i) negativo, quando não houve a precipitação da solução; ii) traços, quando a solução apresentou uma precipitação, mas o leite escorreu na placa com facilidade e não formou líquido gelatinoso; iii) fracamente positivo (+), quando a solução apresentou-se coagulada e o líquido ligeiramente viscoso, positivo; iv) (++), quando a solução apresentou algumas partículas coaguladas e o líquido apresentou-se bem viscoso, e v) fortemente positivo (+++), quando a solução apresentou-se completamente coagulada e gelatinosa.

Para o teste WMT, foram utilizados detergente e kit comercial específico³. Após a diluição do reagente com água destilada na mesma proporção e a adição de leite, a solução foi homogeneizada e desprezada. A solução restante nos tubos foi quantificada e interpretada conforme estipulado pelo fabricante. Amostras que apresentaram reação 3 a 7 mm correspondem a CCS de 140.000 a 260.000 mL⁻¹; de 8 a 14 mm, correspondem a CCS de 300.000 a 565.000 células mL⁻¹; de 15 a 28 mm, correspondem a CCS de 620.000 a 1.525.000 células mL⁻¹, e as reações de 29 a 35 mm correspondem a CCS de 1.610.000 a 2.280.000 células mL⁻¹.

Para o exame bacteriológico, as amostras de leite foram colhidas – realizando-se previamente a antisepsia do teto –, acondicionadas em frascos estéreis e mantidas congeladas (a -20 °C por 2 meses). Após este período, as amostras foram estriadas em placas de *Petri* contendo meio de ágar-sangue de carneiro (ágar base⁴ acrescido de 7% de sangue de carneiro) e ágar *Sabourand-dextrose*⁵, sendo então incubadas a 37 °C por 24 e 72 h. Para as amostras com crescimento bacteriano, foi feita a identificação das bactérias por meio de provas bioquímicas (OLIVER et al., 2004).

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prisma 5.0 (GraphPad software, Inc., San Diego, EUA). A normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados da CCS foram transformados em escala logarítmica, pois não apresentaram distribuição normal; posteriormente, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação entre médias de Tukey-Kramer. As correlações foram verificadas pela correlação de Spearman. As correlações entre o exame bacteriológico e a avaliação da celularidade (CCS, CMT e WMT) foram realizadas de duas formas, a saber:

¹ Somacount 300, Bentley Instruments®, Chaska, EUA.

² Reativo específico, marca Fatec®.

³ Reativo específico, marca: TecLab®.

⁴ Blood Agar base - Oxoid Hampshire - U.K.

⁵ Sabourand dextrose Agar - Oxoid Hampshire - U.K.

amostra negativa no exame bacteriológico (0) e amostra positiva no exame bacteriológico (1); ou ainda foram divididas em amostras negativas no exame bacteriológico (0), amostras positivas no exame bacteriológico em que foram isolados patógenos classificados como secundários (por exemplo, *Corynebacterium bovis* e estafilococos coagulase-negativo) (1), que levam à menor celularidade do leite, e amostras positivas no exame bacteriológico em que foram isolados patógenos classificados como principais (por exemplo, *Streptococcus dysgalactiae*) (2), que ocasionam maior celularidade no leite (DJABRI et al., 2002; SCHUKKEN et al., 2003; SOUZA et al., 2009).

Os dados qualitativos CMT e WMT foram submetidos ao teste não paramétrico de Mann-Whitney. A predição dos testes diagnósticos e a concordância entre o exame bacteriológico e os valores de corte para CCS e CMT foram analisadas pelo programa estatístico *Dag Stat* (Diagnostic and Agreement Statistics) (MacKINNON, 2000). Foram utilizados os valores logarítmicos de 5,0 e 5,3 (PYÖRÄLÄ, 2003; DELLA LIBERA et al., 2011) para a CCS e o escore zero (0) do CMT (DELLA LIBERA et al., 2011) e o escore cinco do WMT (valor correspondente a 195.000 células mL⁻¹) como valores de corte para estas variáveis. Os resultados foram apresentados como média + desvio padrão. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado como significativo.

3 Resultados

No presente estudo, foram encontradas 34 (30,36%) amostras de leite positivas no exame bacteriológico. Destas 34 amostras, em 20 (58,82%), foram isolados *Corynebacterium bovis*, em 13 (38,24%) *Streptococcus dysgalactiae* e, em apenas uma (2,94%), foi isolado *Staphylococcus chromogenes*.

Os valores logarítmicos da CCS das amostras de leite negativas no exame bacteriológico ($4,59 \pm 0,88$) foram inferiores às amostras de leite positivas ($5,68 \pm 0,70$), positivas para *C. bovis* ($5,38 \pm 0,66$) e positivas para *S. dysgalactiae* ($6,14 \pm 0,48$), no exame bacteriológico ($p < 0,0001$).

Os valores dos escores do CMT nas amostras de leite negativas ao exame bacteriológico ($0,32 \pm 0,71$) foram menores do que nas amostras positivas ($0,73 \pm 1,01$) ($p = 0,025$); porém, apenas uma tendência a maiores escores no CMT entre as amostras de leite proveniente de quartos mamários considerados infectados por *C. bovis* ($0,65 \pm 0,88$) ($p = 0,063$) e *S. dysgalactiae* ($0,85 \pm 1,21$) ($p = 0,097$) foi observada, quando esses escores foram comparados aos das amostras de leite negativas no exame bacteriológico.

Todavia, os escores do WMT nas amostras de leite positivas para *S. dysgalactiae* ($19,75 \pm 7,26$) foram maiores do que os

escores das amostras negativas de leite no exame bacteriológico ($11,22 \pm 4,43$) ($p = 0,0003$) e das amostras de leite positivas para *C. bovis* ($11,95 \pm 7,36$) ($p = 0,0037$). As amostras de leite negativas no exame bacteriológico não diferiram das amostras de leite positivas no exame bacteriológico ($14,88 \pm 8,16$) ($p = 0,13$) e das amostras de leite positivas para *C. bovis* ($p = 0,53$) no WMT.

Correlações médias entre a CCS e o CMT ($r = 0,50$; $p < 0,0001$), e o WMT ($r = 0,44$; $p < 0,0001$) e o exame bacteriológico ($r = 0,52$; $p < 0,0001$) foram observadas. Baixas correlações foram verificadas entre o CMT e o WMT ($r = 0,23$; $p = 0,0157$), entre o exame bacteriológico e o CMT ($r = 0,21$; $p = 0,024$), e entre o exame bacteriológico e o WMT ($r = 0,14$; $p = 0,15$). Ademais, a correlação entre o exame bacteriológico classificado em escores (negativo, positivo para patógenos classificados como secundários, e positivos para patógenos considerados como principais) e a CCS, CMT e WMT foi de 0,54 ($p < 0,0001$), 0,21 ($p = 0,025$) e 0,19 ($p = 0,052$), respectivamente. A concordância entre o exame bacteriológico e os valores logarítmicos de corte para a CCS (5,0 e 5,3) e o CMT (0) foram de 0,66 ($p = 0,045$), 0,75 ($p = 0,042$) e 0,67 ($p = 0,045$), respectivamente.

Os valores preditivos da CCS e do CMT, utilizando-se os valores de corte previamente estabelecidos, estão apresentados na Tabela 1.

4 Discussão

No presente trabalho, foi observado que o *C. bovis* foi o agente mais frequentemente isolado. Do mesmo modo, as bactérias deste gênero foi também as mais frequentemente isoladas por Souza et al. (2009). A alta frequência de isolamento de *C. bovis* pode estar relacionada com a ausência da prática da desinfecção dos tetos após a ordenha (BRITO et al., 1999).

O aumento da celularidade do leite nas amostras positivas no exame bacteriológico ocorre devido ao aumento do número de leucócitos de origem sanguínea para dentro do lúmen alveolar, que está relacionado à patogenicidade do agente etiológico envolvido (SOUZA et al., 2009). Neste contexto, corroborando com o presente estudo, Laranja e Santos (2000) descreveram que *C. bovis* causa leve aumento na CCS. Isto se deve ao fato de o agente ter virulência limitada, caracterizando-o como patógeno secundário nas mastites. No entanto, Elias et al. (2005) relataram que *S. dysgalactiae* contribui consideravelmente para o aumento da CCS. Este fato salienta a importância da identificação do agente etiológico da mastite, pois a identificação permite a correta terapia para a doença. Ademais, a extensão da perda leiteira ocasionada pela infecção e a resposta ao tratamento estão intimamente

Tabela 1. Valores preditivos da contagem de células somáticas (CCS) e do *California Mastitis test* (CMT) para a detecção da mastite.

	log CCS (5,0)	log CCS (5,3)	CMT (0)	WMT (5)
Sensibilidade	0,78*	0,67*	0,39*	0,94**
Especificidade	0,62*	0,78**	0,79**	0,08**
Valor preditivo positivo	0,46*	0,56*	0,45*	0,31**
Valor preditivo negativo	0,87**	0,85**	0,75**	0,75
Razão de probabilidades	14,93***	19,74***	3,95**	0,12

* P entre 0,05 e 0,10; ** $P \leq 0,05$ e ***valor altamente significativo ($P \leq 0,0001$).

relacionados com o patógeno isolado (NUNES et al., 2008; CUNHA et al., 2008).

Do mesmo modo, a positividade ao CMT foi associada ao isolamento bacteriano. As maiores vantagens do CMT é sua fácil e rápida execução, ser de baixo custo e útil para fazer triagem em rebanhos, sendo considerado um bom instrumento para o diagnóstico da mastite (DELLA LIBERA et al., 2011).

A correlação entre a CCS e o CMT foi considerada moderada. Resultados semelhantes, porém um pouco inferiores, foram observados na correlação entre a CCS automática e o WMT. Barbosa et al. (2002) observaram uma correlação de $r = 0,70$ ($p = 0,0000$) entre a CCS e o CMT.

Diante de todos estes resultados, pode-se dizer que, neste estudo, a CCS e o CMT podem ser utilizados como indicadores da presença de infecção intramamária, já que a concordância entre o exame bacteriológico e os valores logarítmicos de corte para a CCS (5,0 e 5,3) e o CMT (0) foram de moderados a altos. Este fato é reforçado pelos resultados da razão de probabilidades em amostras com celularidade maior que 100.000 células mL^{-1} e em amostras com 200.000 células mL^{-1} (Tabela 1), ou com reatividade no CMT, demonstrando que amostras de leite com celularidade maior que 100.000 células mL^{-1} apresentaram 14,93 vezes mais chance de serem positivas no exame bacteriológico quando comparadas com as amostras com menor celularidade. Do mesmo modo, amostras com celularidade maior que 200.000 células mL^{-1} apresentaram 19,74 vezes mais chance de ser positiva no exame bacteriológico quando comparadas àquelas amostras com menor celularidade, e a positividade ao CMT apresenta 3,95 vezes mais chance de se isolar o agente bacteriano do que aquelas que não são reativas ao CMT.

Ao considerar os valores preditivos encontrados, pode-se sugerir o valor de corte de 200.000 células mL^{-1} , correspondente ao valor logarítmico de 5,3, para o diagnóstico da mastite bovina, mesmo considerando a alta porcentagem de isolamento de *C. bovis*, já que, na mastite, aspectos como os custos com tratamento devem ser considerados; na medida em que o objetivo concentra-se na redução da prevalência da infecção – sem probabilidade de eliminação da infecção no rebanho –, a especificidade apresenta prioridade em relação à sensibilidade. Assim, o objetivo de selecionar valores de corte para esta enfermidade é de maximizar a especificidade, mantendo a sensibilidade em valores razoáveis, desde que a maioria dos casos seja identificada (NUNES et al., 2008).

No entanto, salienta-se que em rebanhos nos quais os patógenos considerados secundários apresentam maior prevalência, o valor de corte de 100.000 células mL^{-1} deve ser empregado, ou pelo menos considerado, para o envio de amostras para a cultura bacteriológica (SCHUKKEN et al., 2003).

Diversamente, na comparação do WMT com o exame bacteriológico, não houve diferenças em relação ao isolamento bacteriano, sendo observada diferença significativa apenas quando as amostras de leite negativas no exame bacteriológico foram confrontadas com as positivas para *Streptococcus dysgalactiae*. Apesar de a sua utilização ser considerada limitada, pode-se dizer que o WMT é uma prova semelhante ao CMT, mas com menor confiabilidade, e deve, preferencialmente, se restringir apenas à amostra de tanque.

A celularidade do leite pode ser influenciada por vários fatores, como estágio de lactação, número de partos e estação do ano; porém, a mastite ainda é a principal causa do aumento da contagem de células somáticas no leite, sendo este aumento dependente da patogenicidade do agente (DELLA LIBERA et al., 2011; GOMES et al., 2011). Deve-se salientar que o exame microbiológico sempre tem de ser utilizado em conjunto com os indicadores da celularidade do leite, pois altas CCS podem apresentar resultados negativos no exame bacteriológico. Por outro lado, amostras com baixa celularidade também podem apresentar resultados positivos no exame bacteriológico (DELLA LIBERA et al., 2011).

5 Conclusão

Conclui-se que a CCS e o exame bacteriológico são testes confiáveis para o diagnóstico da mastite infecciosa. O CMT tem demonstrado ser um teste de aplicação rápida, que pode ser rotineiramente utilizado na ordenha. Porém, o WMT, quando utilizado isoladamente, apresenta limitações.

Referências

- BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; RIBEIRO, S. C. A.; GUIMARÃES, E. C. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test” (CMT) no diagnóstico de mastite bovina. *Bioscience Journal*, v. 18, n. 1, p. 93-102, 2002.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação/Dairy herds pattern of intramammary infection: evaluation of all mammary quarters of lactating cows. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09351999000200001>
- CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; GENTILINI, M. B. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, n. 1, p. 19-24, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352008000100003>
- DELLA LIBERA, A. M. M. P.; SOUZA, F. N.; BLAGITZ, M. G.; BATISTA, C. F. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 78, n. 2, p. 297-300, 2011.
- DJABRI, B.; BAREILLE, N.; BEAUDEAU, F.; SEEGER, H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary Research*, v. 33, p. 334-357, 2002. PMID:12199362. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2002021>
- ELIAS, A. O.; VICTORIA, C.; DA SILVA, A. V.; LANGONI, H. Características físico-químicas e contagem de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus* spp. *Arquivo ciências veterinárias zoologia UNIPAR*, v. 8, n. 2, p. 165-170, 2005.
- GOMES, V.; MADUREIRA, K. M.; DELLA LIBERA, A. M. M. P.; BLAGITZ, M. G.; ALVES, M.; BAPTISTELLA, F.; BENESI, F. J. Dinâmica da celularidade do colostro de vacas da raça Holandesa no pós-parto imediato. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 5, p. 1047-1053, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000500001>

HUIJPS, K.; LAM, J. G. M.; HOGEVEEN, H. Costs of mastitis: facts and perception. *Journal of Dairy Research*, v. 75, p. 113-120, 2008. PMID:18226298. <http://dx.doi.org/10.1017/S0022029907002932>

LARANJA, L. F.; SANTOS, M. V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. PMID:10733731.

MacKINNON, A. A spreadsheet for the calculation of comprehensive statistics for the assessment of diagnostic tests and inter-rater agreement. *Computer in Biology and Medicine*, v. 30, p. 127-134, 2000. [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-4825\(00\)00006-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-4825(00)00006-8)

NUNES, G. R.; BLAGITS, M. G.; FREITAS, C. B.; SOUZA, F. N.; RICCIARDI, M.; STRICAGNOLO, C. R.; SANCHES, B. G. S.; AZEDO, M. R.; SUCUPIRA, M. C. A.; DELLA LIBERA, A. M. M. P. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite ovina. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 75, n. 3, p. 271-278, jul./set. 2008.

OLIVEIRA, C. M. C.; SOUSA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDONÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R. P.; ANDRADE, S. J. T.; BARBOSA, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 2, p. 104-110, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000200002>

OLIVER, S. P.; GONZÁLEZ, R. N.; HOGAN, J. S.; JAYARAO, B. M.; OWENS, W. E. *Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality*. Verona: National Mastitis Council, 2004.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Residency*, v. 34, p. 565-578, 2003. PMID:14556695. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003026>

SCHALM, O. M.; NOORLANDER, D. D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis test. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 80 n. 8, p. 1833-1840, 1993.

SCHUKKEN, Y. H.; WILSON, D. J.; WELCOME, F.; GARRISON-TIKOFSKY, L.; GONZÁLEZ, R. N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, v. 34, p. 579-596, 2003. PMID:14556696. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003028>

SOUZA, G. N.; MOREIRA, E. C.; BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; SILVA, M. V. G. B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352009000500001>