

CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS, PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA E MICROORGANISMOS ISOLADOS DE MASTITES EM BÚFALOS: UMA BREVE REVISÃO*

SOMATIC CELL COUNT, PROFILE OF ANTIMICROBIAL SENSITIVITY AND MICROORGANISMS ISOLATED FROM BUFFALO MASTITIS: A BREF REVIEW

Natália Vieira Sollecito¹, Luciano Bastos Lopes² e Rômulo Cerqueira Leite³

ABSTRACT. Sollecito N.V., Lopes L.B. & Leite R.C. [**Somatic cell count, profile of antimicrobial sensitivity and microorganisms isolated from buffalo mastitis: a brief review**]. Contagem de células somáticas, perfil de sensibilidade antimicrobiana e microorganismos isolados de mastites em búfalos: uma breve revisão de literatura. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(1):18-22, 2011. Saúde animal e Epidemiologia/Embrapa -Agrossilvipastoril, Av. Itaúbas, 3257, Setor Comercial, Sinop, MT 78550-194, Brasil. E-mail: luciano.lopes@embrapa.br

Despite there are some myths about the buffalo, these animals have health problems similar to those of cattle, among them the occurrence of mastitis. Although some peculiarities related to anatomical features of the udder and immunology of the mammary gland provide greater resistance to infection, buffaloes with high somatic cell count (SCC) present lower productivity and changes in milk constituent's levels. This review aimed to gather information about pattern of SCC usually found for specie, most frequently isolated microorganisms and microbial resistance against antibiotic therapy.

KEY WORDS. Mastitis, buffaloes, somatic cell count, microorganisms.

RESUMO. Apesar de haver alguns mitos sobre a espécie bubalina, esses animais apresentam problemas sanitários semelhantes aos dos bovinos, dentre eles a ocorrência de casos de mastite. Embora algumas particularidades relacionadas a características anatômicas do úbere e imunologia da glândula mamária proporcionem maior resistência contra a infecção, búfalas com elevada contagem de células somáticas (CCS) apresentam redução da produção de leite e alterações dos teores de seus constituintes. Esta revisão teve como objetivo levantar informações sobre o padrão de CCS normalmente encontrado para a espécie, os microorganismos

mais frequentemente isolados e a resistência microbiana frente à antibióticoterapia.

PALAVRAS-CHAVE. Mastite, búfalo, contagem de células somáticas, microorganismos.

INTRODUÇÃO

No extremo oriente, o búfalo domestico ainda é o animal de trabalho em muitos países. A maioria dos animais pertence a pequenos fazendeiros, sendo que muitas vezes, o búfalo é o seu maior capital ativo e o leite extraído a principal fonte de proteína de origem animal consumida por suas famílias. Os búfalos tiveram sua

*Recebido em 9 de agosto de 2010.

Aceito para publicação em 3 de dezembro de 2010.

¹ Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brasil. E-mail: natylush@yahoo.com.br

² Médico-veterinário, *Dr.Ci.Ani.*, Saúde animal e Epidemiologia/Embrapa-Agrossilvipastoril, Av. Itaúbas, 3257, Setor Comercial, Sinop, MT 78550-194, Brasil. E-mail: luciano.lopes@embrapa.br

³ Médico-veterinário, *PhD*, LD, DMVP, EV, UFMG, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970. E-mail: romulocleite@ufmg.br

origem na Índia e no Paquistão, tendo sido domesticados por volta do ano 3.000 A.C. e, até nos dias atuais, a maior exploração leiteira de bubalinos encontra-se nestes dois países.

Os búfalos são divididos em duas espécies, *Bubalus amee* e *B. bubalus*, sendo este último a espécie doméstica. As raças mais conhecidas no Brasil, com padrão definido e registro genealógico, são: Murra, Jafarabadi, Mediterrâneo e Carabao.

É um animal que tem demonstrado cada vez mais características marcantes e economicamente interessantes para a exploração leiteira. Diversos sistemas de criação e alimentação têm sido empregados com igual sucesso em diferentes países. A composição do leite é bastante característica e distinta da observada no leite bovino, apresentando maior pH, maior teor de gordura, menor teor de colesterol e é rico em proteínas que consequentemente favorecem um maior rendimento industrial.

Segundo estimativas da Federação Internacional de Laticínios (IDF 2002), a produção mundial de leite de búfalos aumentou 48,52% , no período entre 1992 e 2002, sendo essa taxa bem superior ao aumento verificado na produção de leite oriundo de vacas, cerca de 8, 83% no mesmo período. Estima-se que a produção mundial anual de leite de búfalos seja de 70,7 milhões de toneladas, comparados aos 501,5 milhões de toneladas de leite de vaca produzidos.

Apesar de haver alguns mitos sobre a espécie bubalina, esses animais apresentam problemas sanitários semelhantes aos dos bovinos, dentre eles a ocorrência de casos de mastite. Para a indústria de lácteos, as alterações na composição do leite são um problema, pois prejudicam o rendimento industrial e a queda na qualidade e estabilidade dos derivados.

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E SISIOLÓGICAS

Algumas particularidades relacionadas a características anatômicas do úbere e tetos, imunologia da glândula mamária e composição do leite de búfalos podem conferir maior resistência contra a mastite. Essas incluem maior concentração de pigmentos de melanina, canal do teto com epitélio estratificado queratinoso mais espesso que o observado na vaca (Uppal et al. 1994), camada muscular do esfíncter ao redor do canal do teto mais espessa e organizada, com maior tônus, mais rica em vasos sanguíneos e fibras nervosas. As diferenças incluem ainda um diâmetro menor do lúmen do canal do teto (Uppal et al. 1994), tipo de células e grau de atividade celular intramamária (Della Libera et al. 2004), maior atividade da enzima lactoperoxidase e maior con-

centração de lactoferrina no leite (Kapronezai 2004). A maior atividade da lactoperoxidase potencialmente eleva a vida útil de prateleira dos derivados lácteos produzidos com leite de búfalas, quando comparados aos derivados produzidos com leite de vacas. O padrão de contagem de células somáticas para bubalinos é diferente do normalmente encontrado em bovinos. Os baixos valores de CCS não indicaram necessariamente a ausência de infecção intramamária.

CÉLULAS SOMÁTICAS

Conceitualmente, a mastite é a inflamação da glândula mamária cujas principais causas são bactérias, fungos, leveduras e algas. O processo inflamatório inicia-se a partir da invasão da glândula mamária por esses microorganismos, atravessando o canal do teto e multiplicando-se no interior do parênquima glandular. Após a invasão ocorre intensa migração de leucócitos para o quarto mamário afetado com objetivo de controlar e eliminar a infecção. Consequentemente, uma das alterações encontradas no leite de animais com mastite é o aumento do número de células somáticas (CCS), representadas pelos leucócitos (glóbulos brancos do sangue) e células epiteliais provenientes da esfoliação dos ácinos galactóforos do úbere, cisterna mamária e cisterna do teto e são eliminadas no leite durante o curso normal da lactação (Galiero & Morena 2000).

Dhaka et al. (1992), relataram a predominância de células epiteliais (48,42%), seguidas pelos linfócitos (29,28%), neutrófilos (20,98%) e monócitos (1,62%). Em contrapartida, Silva et al. (1994) verificaram valores distintos: neutrófilos (56%), linfócitos (28%), macrófagos (8%), células epiteliais (5%) e eosinófilos (1%). Já no leite originado de búfalas com mastite, Dhakal et al. (1992) relataram a maior ocorrência de neutrófilos (67,33%), seguidos por linfócitos (20,40%), células epiteliais (10,80%), e monócitos (2,10%).

A CCS, sendo uma expressão direta da severidade do processo inflamatório, é um parâmetro usual para avaliação da saúde do úbere com relação à qualidade do leite e monitoramento de programas de controle de mastites (Harmon 1994). Em vacas, considera-se normal o leite proveniente de quartos mamários não infectados e inflamados e apresentando quase sempre contagem inferior a 100.000 células/ml. A CCS entre 100.000 e 199.999 células/mL representa uma média de contagem difícil de se atribuir a uma inflamação e/ou infecção intramamária, e acima de 200.000 células/mL, é um claro indicativo de mastite subclínica (Smith 2002).

Búfalas com elevada CCS apresentam redução da produção de leite, (Ceron-Muñoz et al. 2002b), altera-

ções dos teores de seus constituintes (Petrova & Tzankova 1999; Tripaldi et al. 2003) e alterações no tempo de coagulação do leite no processo de fabricação de queijos, comprometendo a qualidade, processamento e rendimento industrial (Singh & Singh 1981). Não existem evidências que a CCS no leite por si só tenha algum efeito sob a saúde humana, entretanto, a presença de elevadas contagens de células no leite pressupõe risco do leite cru estar contaminado por patógenos e resíduos de antibióticos, que podem indiretamente representar um risco a saúde humana (Smith 2002).

Na Itália, onde o leite de búfalas é extremamente importante para a produção de mussarela, o limite de CCS aceitável é de 200 mil células/ml, sendo esse padrão importante para garantir o processo de fabricação pela indústria (Terramocchia 2001). Em estudos conduzidos em 20 rebanhos bubalinos na Itália, observaram-se valores médios de 221.000 células/mL (Tripaldi et al. 2003).

Os valores médios das contagens de células somáticas no leite normal de búfalas apresentam resultados variáveis, situando-se entre 50.000 e 375.000 células/mL, com média de 140.000 células/mL (Silva & Silva 1994), entre 50.000 e 100.000 células/mL (Galiero & Morena 2000) e valores médios de 100.000 células/mL para amostras negativas ao CMT, segundo Singh & Ludri (2001). Della Libera (2002) encontrou valores medianos de 13.000 células/mL para CCS de amostras de leite de búfalas negativas ao CMT e ao exame bacteriológico. Prasad et al. (1996) observaram que amostras individuais de leite de búfalas, no inverno e verão, apresentam, respectivamente, cerca de 87% a 93% CCS de, no máximo 250.000 células/mL; de 4% a 5% da CCS entre 250.000 e 500.000 células/mL; e apenas 2% das amostras no inverno mostraram contagem maior que um milhão de células/mL. Já Singh & Ludri (2001) verificaram que a estação do ano teve um efeito significativo sobre as médias de CCS, sendo menor no inverno e na estação quente e seca, e mais alta na estação quente e úmida, apresentando respectivamente os seguintes valores: 76.000, 108.000, e 135.000 células/mL.

No Brasil, Ceron-Muñoz et al. (2002a), ao analisarem 5.931 dados referentes à CCS do leite de 773 búfalas em lactação provenientes de nove rebanhos no Estado de São Paulo, verificaram que 89% das amostras analisadas apresentaram a CCS inferior a 140.000 células/mL, e destas, 38% apresentaram CCS de até 17.000 células/mL, com resultado médio geral de 79.000 células/mL. Em outro estudo, Ceron-Muñoz et al. (2002b), analisando 2.693 amostras de leite de búfalas pertencente a um único rebanho, verificaram que 80% apresentaram CCS abaixo de 70.000 células/mL e ape-

nas 3,2% das amostras excederam 282.000 células/mL, apresentando valores médios de 63.000 células/mL. Na Região do Alto São Francisco, Minas Gerais, Amaral et al. (2004b) ao estudar a CCS em 1.293 amostras individuais de leite de 283 búfalas e, 164 amostras de leite total de búfalas de 19 rebanhos bubalinos, encontraram valores médios de CCS de 24.000 células/mL e 22.000 células/mL respectivamente.

MICROORGANISMOS MAIS PREVALENTES

Amostras obtidas de leite com médias de CCS variando de 12.840/ml a 149.680/ml apresentaram infecção por diversos patógenos da mastite. Os maiores valores de CCS foram encontrados na presença de infecções mistas e na presença de patógenos classificados como ambientais (Carvalho et al. 2007). Kapronezai (2004) relatou valores de mediana para CCS de 8.500/ml, 10.350/ml, 9.600/ml quando foram isolados *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp., respectivamente. Pelo Califórnia Mastite Teste (CMT) esse autor observou que a frequência de quartos negativos e com isolamento microbiológico foi maior do que a frequência de quartos positivos e com isolamento de microrganismos, indicando que há elevada frequência de portadores ou que o teste de CMT não é um bom teste de triagem para mastite em bubalinos. Segundo Moroni et al. (2006), as infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* spp. em búfalas podem não ter a mesma importância como nas demais espécies de ruminantes, quando a contagem de células somáticas no leite dos animais mostrou-se tímido, comparado aos números verificados em amostras de vacas infectadas por *Staphylococcus* spp.

De acordo com Costa et al. (1996), o C.M.T. é um método auxiliar de boa correlação com o exame microbiológico, porém o processo inflamatório pode não ser de origem infecciosa. Por outro lado, segundo esses autores, animais portadores de mastite infecciosa, dependendo do estágio, podem não apresentar reações positivas nos testes que detectam a presença de processo inflamatório e que são positivos ao exame microbiológico, revelando uma importante fonte de infecção, principalmente em relação à mastite contagiosa.

Dos 128 animais estudados por Cunha et al. (2006), sete (5,47%) apresentaram mastite clínica, com 14 (2,73%) quartos acometidos. Ao C.M.T. foram detectados 53 (41,41%) animais com mastite subclínica, totalizando 103 (20,12%) quartos afetados com graus variados. Kapur et al. (1992) observaram índices mais elevados de mastite subclínica, com 36,67% dos quar-

tos afetados. Segundo Mendonça et al. (1999) fatores relacionados à nutrição, manejo, higiene e condições ambientais, aliados às características genéticas, influenciam os índices de mastite no rebanho. Ainda segundo Cunha et al. (2006), a bactéria mais prevalente nos casos de mastite clínica e subclínica das búfalas no rebanho estudado foi o *Staphylococcus* spp., onde 20% das amostras foram coagulase positiva. A frequência de *Streptococcus* spp., neste estudo, foi de 25,00% nos casos clínicos e de 13,58% nos casos subclínicos.

Paranjape & Das (1986) verificaram que os microrganismos mais frequentemente isolados na mastite bubalina são *Streptococcus* spp. (29,7%), *Staphylococcus* spp. (10,39%), *Bacillus* spp. (5,94%), *Escherichia coli* (4,45%), além das infecções bacterianas mistas (25,24%). Chander & Baxi (1975) relataram a presença do *Staphylococcus* spp. em 46,2% dos casos, seguido pelo *Streptococcus* spp. (32,41%), *Escherichia coli* (7,41%) e *Corynebacterium* spp. (0,93%). Em outro estudo, Muhammad et al. (1997) classificaram 53,9% dos isolados como sendo *Staphylococcus* spp. D'apice et al. (1996) trabalharam com rebanhos bubalinos da região de Campânia, Itália, padronizando um método citofluorimétrico para identificação de anticorpos específicos para *Staphylococcus aureus* no leite. Foram isolados *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli* nas amostras de leite.

Em um estudo conduzido por Khodery et al. (2008), foi realizado o exame bacteriológico das amostras provenientes de animais com mastite ambiental. Das 80 amostras analisadas, bactérias do grupo dos coliformes foram as mais comumente encontradas (45 casos), seguidas por *S. aureus* (7 casos), *S. uberis* (3 casos) e *S. agalactiae* (1 caso).

Chhabra et al. (1998) detectaram mastite micótica em 23,14% de 350 amostras de leite de búfalas examinadas. Destas, 51 (63%) foram leveduras e 30 (37%) fungos filamentosos. As leveduras mais comumente isoladas foram *Candida albicans* (33,3%), *C. krusei* (25,5%), *C. tropicalis* (15,7%), *C. parapsilosis* (13,7%), *C. guilliermondii* (5,9%), *Trichosporon* spp. (3,9%) e *Rhodotorula* spp. (2%). Dos fungos filamentosos isolados predominaram *Aspergillus niger* (33,3%), *A. fumigatus* (23,3%), *Mucor* spp. (13,3%), *A. flavus* (6,7%) e *Penicillium* spp. (3,3%).

Em estudo envolvendo 548 quartos mamários de búfalas, foram realizados exames clínicos, testes de CMT e coletas de amostras para isolamento bacteriano. Houve crescimento em duas amostras do *Corynebacterium aquaticum*, caracterizadas bioquimicamente. Embora esta bactéria provavelmente seja colonizadora

oportunista da glândula mamária bubalina, não se descarta, entretanto, o seu poder patogênico, pois o mesmo agente, em humanos, ocasiona quadros de bacteremias (Oliveira et al. 2005).

Embora seja comum a ocorrência de casos de clostridioses em ruminantes, pouco se sabe sobre os casos de mastites causadas por *Clostridium perfringens* (Tipos A - E). Em estudo realizado por Osman et al. (2009), foram detectados 213/623 (34,12%) e 8/83 (9,64%) amostras coletadas de casos de mastite clínicas em vacas e búfalas respectivamente. A incidência foi de 4,48% nas amostras bovinas e 4,0% nas amostras de búfalas. A infecção em um quarto foi a mais comum em ambas as espécies. A infecção por *Clostridium perfringens* também foi correlacionada com a estação do ano, sendo a maior proporção de isolados durante a primavera (10,71%) e inverno (7,07%).

RESISTÊNCIA FRENTE AOS ANTIMICROBIANOS

Na avaliação do perfil da sensibilidade *in vitro* para diferentes antibióticos, a gentamicina foi o antibiótico que demonstrou o maior percentual de eficácia (97,98%), seguida pelo florfenicol (93,94%) e à enrofloxacina (90,90%), fazendo destes uma opção de tratamento sistêmico associado ao uso intramamário da gentamicina (Cunha et al. 2006). Ainda segundo estes autores, a penicilina (65,66%) e a tetraciclina (58,58%) foram às drogas que apresentaram a menor eficácia *in vitro* a partir das amostras isoladas no estudo. Paranjape & Das (1986) também relataram efetiva ação da gentamicina frente aos agentes causadores de mastite em bubalinos. Outro estudo envolvendo o isolamento de *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN) e sua resistência frente a drogas antibacterianas, mostrou-se maior padrão de resistência frente aos beta-lactâmicos, penicilina, amoxicilina, ampicilina (média 51,77%) e o menor, frente a cefalotina, vancomicina, cefoxitima e a gentamicina com 0% de resistência (Bonna et al. 2007).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral F.R., Carvalho L.B., Silva N., Brito J.R.F. & Souza G.N. Composição e contagem de células somáticas em leite bubalino na região do Alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, 59:37-41, 2004.
- Bonna I.C.F., Santos A.P.V., Teixeira G.N. & Motta O.V. *Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes a drogas isolados de leite de búfalas (*Bubalus Bubalis*). *Rev. Bras. Ci. Vet.*, 14:117-121, 2007.
- Carvalho L.B., Amaral F.R., Brito M.A.V.P., Lange C.C., Brito J.R.F. & Leite R.C. Contagem de células somáticas e isolamento de agentes causadores de mastite em búfalas

- (*Bubalus bubalis*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 59:242-245, 2007.
- Cerón-Muñoz M., Tonhati H. & Duarte J.M.C. Contagem de células somáticas e produção de leite em bubalinos. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, 57:8-10, 2002a.
- Cerón-Muñoz M., Tonhati H., Duarte J., Muñoz-Berrocal M. & Jurado-Gámez H. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J. Dairy Sci.*, 85:2885-2889, 2002b.
- Chander S. & Baxi K.K. A note on diagnosis and treatment of subclinical mastitis in buffaloes. *Indian Vet. J.*, 52:847-849, 1975.
- Chhabra D., Moghe M.N., Tanwani S.K. & Sharda R. Mycotic mastitis in buffaloes. *Indian J. Comp. Microbiol. Immunol. Infect. Dis.*, 19:108-109, 1998.
- Cunha A.P., Silva L.B.G., Pinheiro Júnior J.W., Silva D.R., Oliveira A.A.F., Silva K.P.C. & Mota R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastites clínica e subclínica de búfalas. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*, 73:17-21, 2006.
- Dhakal I.P., Kapur M.P. & Sharma A. Significance of differential somatic cell counts in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in buffaloes using foremilk and strippings milk. *Indian J. Anim. Health*, 31:39-42, 1992.
- Della Libera A.M.M.P. *Avaliação dos fagócitos no leite de búfalas (Bubalus bubalis) híidas criadas no Estado de São Paulo*. Tese de Doutorado em Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002. 125f. (Capturado em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-04012005-150331/>>)
- Della Libera A.M.M.P., Araújo W.P., Kitamura S.S., Rosenfeld A.M.F. & Birgel E.H. Citologia do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) híidas criadas no Estado de São Paulo, Brasil. *Cien. Rur.*, 34:1087-1092, 2004.
- D'Apice L., Fenizia D., Capparelli R., Scala F. & Lannelli D. Detection of antibodies to *Staphylococcus aureus* in water buffalo milk by flow cytometry. *Res. Vet. Sci.*, 60:179-181, 1996.
- Galiero G. & Morena C. The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. *Bubalus bubalis*, 4:26-27, 2000.
- Harmon R.J. Symposium: mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. *J. Dairy Sci.*, 77:2103-2112, 1994.
- Kapur M.P., Anshushamra R. & Bhardwal, R.M. Bacteriology of clinical mastitis in buffaloes. *Buffalo Bull.*, 11:42-47, 1992.
- Kapronezai J. Estudo de provas microbiológicas e celulares em amostras de leite provenientes de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, 2004. 82f.
- (Capturado em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-05052004-114642/>>)
- El-Khodery S.A. & Osman S.A. Acute coliform mastitis in buffaloes (*Bubalus bubalis*): clinical findings and treatment outcomes. *Trop. Anim. Health Prod.*, 40:93-99, 2008.
- Mendonça C.L., Fioravanti M.C.S. & Silva J.A.B.A. Etiologia da mastite bovina. *Vet. Not.*, 5:107-118, 1999.
- Moroni P., Sgoifo Rossi C., Pisoni G., Bronzo V., Castiglioni B. & Boettcher P.J. Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes. *J. Dairy Sci.*, 89:998-1003, 2006.
- Muhammad G., Lodhi L.A., Athar M. & Rehman F. Evaluation of cefhalixin in the treatment of clinical mastitis in buffalo. *Indian J. Dairy Sci.*, 3:205-208, 1997.
- Oliveira A.A.F., Rocha N.S., Lopes C.A.M. & Sa M.E.P. Isolamento de *Corynebacterium aquaticum* em leite bubalino. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 42:259-261, 2005.
- Osman K.M., El-Enbaawy M.I., Ezzeldeen N.A. & Hussein H.M. Mastitis in dairy buffalo and cattle in Egypt due to *Clostridium perfringens*: prevalence, incidence, risk factors and costs. *Rev. Sci. Tech.*, 28:975-86, 2009.
- Paranjape V.L. & Das A.M. Mastitis among buffalo population of Bombay: a bacteriological report. *Indian Vet. J.*, 6:438-441, 1986.
- Petrova N. & Tzankova M. SCC on milk from three breeds of buffaloes in Shoumen Region. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 5:895-900, 1999.
- Prasad R.V., Rathanam K. & Shah D.G. Investigation on prevalence of subclinical mastitis in Kaira District, India. *Indian J. Dairy Sci.*, 49:441-447, 1996.
- Silva I.D. & Silva K.F.S.T. Total and differential cell counts in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk. *Buffalo J.*, 10:133-137, 1994.
- Singh M. & Ludri R.S. Somatic cell counts in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during different stages of lactation, parity, and season. *Asian-Austral J. Anim. Sci.*, 14:189-192, 2001.
- Singh S.P. & Singh R.S. Influence of somatic cell count on the physico-chemical properties of buffalo milk. *Indian J. Dairy Sci.*, 34:96-97, 1981.
- Smith K.L. A discussion of normal and abnormal milk based on somatic cell count and clinical mastitis. *Bull. Int. Dairy Fed.*, 372:43-45, 2002.
- Tripaldi C., Terramoccia S., Bartocci S., Angelucci M. & Danesi V. The effects of the somatic cell count on yield, composition and coagulating properties of Mediterranean buffalo milk. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 16:738-742, 2003.
- Uppal S.K., Singh K.B., Roy K.S., Nauriyal D.C. & Bansal B.K. Natural defense mechanism against mastitis: a comparative histomorphology of buffalo and cow teat canal. *Buffalo J.*, 10: 125-131, 1994.