

ESTUDOS SOBRE A CHAMADA "PROVA DA ANTIFORMINA DE NEGRETTI" NO DIAGNÓSTICO DA MASTITE BOVINA §

Rolando CURY*
Elizabeth Oliveira da COSTA**
Adolpho Martins PENHA***

RFMV-A. 15

CURY, R.; COSTA, E. O. da; PENHA, A. M. *Estudos sobre a chamada "Prova da Antiformina de Negretti" no diagnóstico da mastite bovina.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 13(1):231-40, 1976.

RESUMO: *NEGRETTI, em 1958 e 1959, prepara e estuda a ação de um reativo que ele denomina: reativo da antiformina, considerando-o melhor que o de Whiteside no diagnóstico da mastite bovina. Entretanto, enganouse ao escolher os ingredientes para o preparo da antiformina, obtendo diferente mistura final. Todavia, mesmo assim, os resultados favoráveis obtidos por NEGRETTI são comprovados por vários autores. No presente trabalho, faz-se um estudo comparado do reativo citado e de seus resultados práticos.*

São submetidos a provas, no campo e no laboratório, 10 reativos: CMT, Whiteside, reativo obtido por Negretti e várias modificações destes indicados. Além disso inclui-se também a prova de Hotis, perfazendo um total de 21 provas por amostra de leite. Os resultados do exame de leite de 16 $\frac{1}{2}$ tetos, de 4 $\frac{1}{3}$ vacas, analisados estatisticamente em seus vários aspectos, indicam que a maior sensibilidade do reativo de Negretti está relacionada principalmente à sua concentração em hidróxido de sódio (7,5%).

UNITERMOS: *Mastite bovina, diagnóstico*; Antiformina*; Negretti, prova da antiformina*.*

INTRODUÇÃO E LITERATURA

NEGRETTI¹⁷, em 1958, realizou vários estudos sobre a possibilidade de modificar a técnica de execução da prova de Whiteside (reativo: sol. NaOH a 4%) ou então trocar o reativo usado, procurando assim

maior fidelidade no diagnóstico da mastite. Escolhe a antiformina preparada de acordo com a Farmacopéia inglesa¹. Concluiu que a sua prova denominada por ele de prova da antiformina, permitiu uma me-

§ O resumo deste trabalho foi apresentado no XIV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, São Paulo, outubro, 1974.

* Professor Livre Docente.

** Professor Assistente Doutor.

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

*** Diretor (aposentado).

Divisão de Patologia Animal Especial do Instituto Biológico de São Paulo.

hora de 13,2% na fidelidade dos resultados obtidos. Em 1959^{18, 19}, estuda com mais amplitude a sua prova. Informa com detalhes a obtenção da antiformina, indicando que foi preparada segundo a fórmula descrita por CALMETTE e col.³ em 1933.

A "Prova da Antiformina de Negretti" foi estudada por vários pesquisadores:

LEALI & VALLIS¹², em 1959, na Itália, compararam-na com o CMT, admitindo que mostrou maior sensibilidade.

EWBANK⁷, em 1962, na Inglaterra, compara o CMT com a prova de Negretti no campo, em casos de mastite subclínica. Anota que a solução de antiformina obtida no comércio não dá a reação. Concluiu, que a prova de Negretti (Negretti Field Test — NFT) parece ser ligeiramente melhor que o CMT.

PARISIS²⁰, em 1963, na Alemanha, informa que a prova da antiformina é método valioso para o diagnóstico da mastite bovina.

ECTORS & DERIVAUX⁵, em 1965, na Bélgica, verificaram que as provas de Negretti e o CMT forneceram resultados sensivelmente idênticos e se mostraram superiores à prova de Whiteside.

ESPINERA & PINOCHET⁶, em 1967, no Chile concluem que as provas de Califórnia, Whiteside, Negretti e Hotis são capazes de diferenciar amostras negativas à contagem leucocitária e ao exame bacteriológico, de amostras positivas aos mesmos, com valores muito significativos.

Animados pelos resultados obtidos pelo autor e pelas citações da literatura, resolvemos preparar o "reativo da antiformina de Negretti" e passar a utilizá-lo em nossas pesquisas sobre a mastite bovina.

O autor diz num de seus trabalhos¹⁷ que o reativo foi preparado de acordo com as prescrições da Farmacopéia Inglesa e no outro¹⁸, que foi obtido segundo a fórmula descrita por CALMETTE e col.

Resolvemos consultar as duas obras por ele indicadas a fim de verificar se ambas mencionavam técnicas idênticas ou então se o autor tinha resolvido introduzir modificação no seu reativo, ao publicar outro trabalho.

O livro de CALMETTE e col., em duas de suas edições^{3, 4} diz que a antiformina é preparada a partir do cloreto de cal (chlorure de chaux). A Farmacopéia inglesa¹, também informa que a antiformina é obtida a partir do cloreto de cal (chlorinated lime).

Cloreto de cal (em português), chlorure de chaux (em francês) e chlorinated lime (em inglês), são os nomes dados nestes três idiomas para o hipoclorito de cálcio impuro do comércio. Todavia, Negretti em seus trabalhos informa ter usado para o preparo da antiformina o cloreto de cálcio (CaCl_2).

Acreditamos que tenha cometido um engano ao traduzir os nomes do francês e do inglês para o italiano. Porquanto, para obter a antiformina deveria ter usado o cloreto de cal (chloruro de calce, em italiano) e não o cloreto de cálcio (chloruro di calcio, em italiano).

Assim sendo, Negretti, embora desse ao seu reativo e à técnica de execução o nome de "prova da antiformina", na realidade ele não obteve a antiformina e sim, a seguinte mistura final denominada por ele de "reativo da antiformina":

cloreto de sódio (NaCl)
42,16 g ou 5,27%
carbonato de sódio (Na_2CO_3)
21,80 g ou 2,725%
hidróxido de sódio (NaOH)
60 g ou 7,5%
água destilada
800 ml

Preparada segundo as indicações da Farmacopéia inglesa¹ e acrescida, em partes iguais, de uma solução a 15% de hidróxido de sódio, a mistura final (sem considerar as impurezas) seria a seguinte:

hipoclorito de sódio (NaClO)
6,71 g ou 0,84%
carbonato de sódio (Na_2CO_3)
4,59 g ou 0,57%
hidróxido de sódio
60 g ou 7,5%

borato de sódio (Na_3BO_3)

2,83 g ou 0,35%

água destilada

800 ml

As diferenças entre essas misturas explicam o fato citado por EW BANK⁷, embora o autor não tenha investigado a razão, que a antiformina comercial não deu a reação e que só a obteve com o reativo preparado segundo Negretti.

O B J E T I V O S

O propósito inicial consistia no uso de um novo reativo, em nossas pesquisas sobre mastite bovina. Todavia, a análise dos trabalhos de Negretti alterou os objetivos.

Acreditamos que o autor não tendo usado a antiformina, a prova não deve ser denominada: "prova da antiformina" nem "prova da antiformina de Negretti", mas apenas "prova de Negretti".

Pareceu-nos interessante dadas as referências favoráveis da literatura, investigar as razões da maior sensibilidade dessa prova.

Várias hipóteses poderiam ser formuladas:

- A) estaria essa maior sensibilidade relacionada à maior concentração do hidróxido de sódio no reativo de Negretti, em relação ao de Whiteside?
- B) a presença do cloreto de sódio seria a causa do aumento da sensibilidade da solução de hidróxido de sódio?
- C) Negretti teria obtido resultados semelhantes se tivesse feito o reativo rigorosamente de acordo com o citado na Farmacopéia inglesa ou com o indicado no livro de CALMETTE e col.?
- D) o reativo preparado conforme indica Negretti fornece na realidade resultados melhores que a prova de Whiteside no laboratório e a prova do CMT no campo, conforme citam alguns autores?

- E) considerando-se as provas já clássicas do CMT no campo, Whiteside no laboratório e a prova de Negretti, no campo e no laboratório, qual ou quais delas dariam resultados mais concordantes com as da prova cultural de Hotis?

A procura das respostas a essas indagações constitui os objetivos do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Os reativos e as provas utilizadas neste trabalho foram os seguintes:

- 1) Prova do "California Mastitis Test" (CMT). Preparamos os reativos de acordo com FERNANDES, S. & LOUZADA⁸ e FERNANDES & LOUZADA⁹, porquanto esses autores utilizaram um detergente facilmente encontrado no comércio em nosso meio*. Eles deram à sua modificação o nome de — prova de Viamão.
- 2) Prova de Negretti (seg. Negretti) — o reativo para essa prova, foi preparado obedecendo rigorosamente as indicações de NEGRETTI^{17, 18, 19}.
- 3) Prova de Negretti (seg. Calmette e col.) — a antiformina para esse reativo foi preparada de acordo com as citações de CALMETTE e col.^{3, 4}. Acrescentou-se depois, em partes iguais, uma solução de hidróxido de sódio a 15%.
- 4) Prova de Negretti (seg. Farmacopéia Inglesa) — a antiformina deste reativo foi obtida de acordo com as especificações da Farmacopéia inglesa¹. A seguir acrescentou-se, em partes iguais, uma solução de hidróxido de sódio a 15%.
- 5) Prova da sol. de soda a 7,5% — o reativo consistiu apenas numa solução de hidróxido de sódio a 7,5% em água destilada, isenta de CO_2 (por fervura durante 20 minutos).

* Detergente ODD, Orniex Ind. Bras.

- 6) Prova da sol. de soda a 7,5% + água fisiol. — o reativo é uma solução de hidróxido de sódio a 7,5% em água fisiológica (água destilada com 0,8% de cloreto de sódio).
- 7) prova da sol. de soda a 7,5% + salina a 5,27% — o reativo consistiu numa solução de hidróxido de sódio a 7,5% em água destilada, onde se dissolveu 5,27% de cloreto de sódio.
- 8) prova de Whiteside — o reativo para esta prova é o clássico indicado por Whiteside²⁶; solução de hidróxido de sódio a 4% (sol. 1 N) em água destilada, isenta de CO₂.
- 9) prova da soda a 4% — água fisiológica — o reativo para esta prova é o de Whiteside, só que a solução ao invés de ser em água destilada, o foi em água fisiológica.
- 10) prova da soda a 4% — salina a 5,27% — o reativo é o de Whiteside sendo a solução feita em água destilada onde se dissolve 5,27% de cloreto de sódio.

Essas provas, numeradas de 1 a 10, foram utilizadas nos exames de estábulo e de laboratório de acordo com as seguintes técnicas de execução, leitura e interpretação.

A) *Provas feitas no estábulo (provas de campo)*

Prova n.º 1: efetuada de acordo com a técnica indicada por SHALM & NOORLANDER²², em 1957.

Provas n.ºs 2 a 7: executadas de acordo com NEGRETTI^{17, 18, 19}. NEGRETTI dá indicações para as proporções entre as quantidades de reativo e de leite na execução de sua prova no campo, todavia, nada diz sobre a leitura e interpretação nessas circunstâncias. Razão pela qual no presente trabalho os aspectos relacionados à leitura e interpretação obedeceram às indicações de SHALM & NOORLANDER²².

Além disso a técnica de execução foi efetuada no campo também com o equipo de SHALM & NOORLANDER, que nos pa-

receu mais prático para uso no estábulo do que o indicado por NEGRETTI.

Provas n.ºs 8 a 10: para essas provas foram utilizadas as indicações de WHITESIDE²⁶, em 1939.

B) *Provas feitas no laboratório*

Provas n.ºs 1 a 10: essas provas foram feitas no laboratório de acordo com a técnica de execução, leitura e interpretação proposta por MURPHY & HANSON¹⁵, em 1941 e MURPHY¹⁶ em 1942, para a prova de Whiteside.

Prova de Hotis: a fim de se estabelecer conexão e comparar os resultados obtidos no campo e no laboratório utilizou-se a prova de Hotis. Esta prova vem indicada em separado das demais por ter sido utilizada apenas como comparação geral, em substituição ao exame bacteriológico.

Foi executada de acordo com a técnica de HOTIS & MILLER¹¹ em 1936, MILLER¹³ em 1943, sendo a leitura e interpretação efetuadas conforme as indicações do livro editado por SIEGMUND e col.²³ em 1967.

Vacas leiteiras: os exames de estábulo foram efetuados em todos os tetos, de 43 vacas, num total de 164 (havia 8 tetos secos).

Esses bovinos, todos mestiços da raça Holandesa, fazem parte de um plantel pertencente a uma Fazenda produtora de leite tipo C, situada no município de Pirassununga, Estado de São Paulo.

A ordenha é manual e os únicos cuidados de higiene usados nessa propriedade são os da lavagem dos baldes de leite com água corrente e o da lavagem do estábulo, apenas com água, após a ordenha. Não se lava o úbere e os tetos antes da ordenha e há cerca de um ano nenhum tratamento vem sendo feito para os casos de mastite.

Leite: após os exames de estábulo, foram coletadas amostras de leite, em separado, de todos os tetos das 43 vacas cita-

das, a fim de serem feitos os exames de laboratório.

As 164 amostras foram obtidas nas melhores condições possíveis de assepsia (em frascos estéreis e após desinfecção dos tetos) transportados ao laboratório, onde foram mantidas em refrigerador durante os exames.

RESULTADOS

Os resultados e a interpretação de 10 provas para diagnóstico usadas no estábulo e dessas mesmas 10 provas usadas com as mesmas finalidades no laboratório, no leite de 164 tetos de 43 vacas examinadas (havia 8 tetos secos), foram reunidas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1

Número de tetos com resultados negativos, suspeitos e positivos para a mastite bovina, obtidos do exame de leite de 164 tetos no estábulo mediante 10 provas, usadas para o diagnóstico no campo.

Provas n.ºs										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Resultados										
negativos	87	30	13	29	43	97	79	79	58	87
suspeitos	31	77	9	17	13	14	11	56	49	32
positivos	46	127	142	118	108	53	74	29	57	45

TABELA 2

Número de amostras de leite com resultados negativos, suspeitos e positivos para a mastite bovina colhidos em separados de 164 tetos de 43 vacas e submetidas a 10 provas para diagnóstico no laboratório.

Provas n.ºs										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Resultados										
negativos	129	6	1	6	5		8	38	19	21
suspeitos	32	86	46	86	87	85	86	104	104	109
positivos	3	72	117	72	72	74	70	22	41	34

A prova de Hotis foi utilizada para comparação entre os resultados obtidos no estábulo e os obtidos no laboratório. O exame das 164 amostras de leite, mediante essa prova figuram na Tabela 3.

A prova cultural de Hotis oferece elevado índice de concordância com o exame bacteriológico^{2, 11, 13, 14, 21}.

O que se procura nas comparações é verificar qual (ou quais) dentre as 10 provas

usadas no campo e no laboratório forneceria resultados mais próximos da de Hotis.

O simples exame das tabelas não permite uma visão clara do valor dessas provas no diagnóstico da mastite, nem do que ocorreu com os resultados da prova de Negretti e suas modificações, razão pela qual resolvemos analisá-las e avaliá-las estatisticamente.

Procurou-se na análise dos resultados responder às hipóteses formuladas nos objetivos deste trabalho.

TABELA 3

Resultados obtidos e sua interpretação no exame de 164 amostras de leite bovino pela prova cultural de Hotis. Considerou-se como tempo padrão a incubação durante 40 horas em banho-maria a 37°C.

N.º de amostras	Tempo de incubação 40 horas
Agentes	
negativos	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	121
<i>Streptococcus agalactiae</i>	13
<i>Staph. sp.</i> ou <i>Strept. sp.</i>	25
Interpretação:	
negativos = 5	
suspeitos = 25	
positivos = 134	

Utilizou-se o método do "Qui Quadrado", com 2 g.l.

As respostas às hipóteses foram mantidas após se fazer as comparações necessárias, escolhendo-se entre os resultados das provas aqueles considerados adequados ao esclarecimento.

As provas foram numeradas conforme indicado em "Material e Métodos", as de campo figuram com o índice *C* e as de laboratório com o índice *L*.

A prova de Hotis foi assinalada pelo número de horas de incubação, usadas para a leitura dos resultados, tendo como índice a letra *H*.

As letras maiúsculas indicam a hipótese formulada. Seguem-se os resultados das análises das provas consideradas adequadas à resposta.

Resumo:

Resultado: significativa 2 g.l e $P = 0,05$; altamente significativa 2 g.l. e $P = 0,01$.

A

$$8C \times 5C - X^2 = 82,974 \text{ alta significância}$$

A

$$8L \times 5L - X^2 = 53,434 \text{ alta significância}$$

B

$$8C \times 9C - X^2 = 12,801 \text{ alta significância}$$

$$8C \times 10C - X^2 = 10,390 \text{ significativa}$$

$$5C \times 6C - X^2 = 39,654 \text{ alta significância}$$

$$5C \times 7C - X^2 = 17,141 \text{ alta significância}$$

$$8L \times 9L - X^2 = 12,063 \text{ alta significância}$$

$$8L \times 10L - X^2 = 7,587 \text{ significativa}$$

$$5L \times 6L - X^2 = 0,054 \text{ não significativa}$$

$$5L \times 7L - X^2 = 0,726 \text{ não significativa}$$

C

$$2C \times 3C - X^2 = 7,807 \text{ significativa}$$

$$2C \times 4C - X^2 = 4,514 \text{ não significativa}$$

$$2L \times 3L - X^2 = 26,407 \text{ alta significância}$$

$$2L \times 4L - X^2 = 0,0 \text{ não significativa}$$

D

$$2C \times 1C - X^2 = 41,665 \text{ alta significância}$$

$$2L \times 8L - X^2 = 51,573 \text{ alta significância}$$

E

$$1C \times 40H - X^2 = 116,752 \text{ alta significância}$$

$$2C \times 40H - X^2 = 28,170 \text{ alta significância}$$

$$8L \times 40H - X^2 = 154,115 \text{ alta significância}$$

$$2L \times 40H - X^2 = 52,273 \text{ alta significância}$$

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Procuraremos, para responder às hipóteses formuladas ao definirmos os "objetivos" interpretar os resultados obtidos, nas várias provas executadas:

Hipótese A: não seria aconselhável, para a resposta desta hipótese, comparar diretamente os resultados da prova de Negretti com as da prova de Whiteside, porquanto se a segunda é apenas uma solução de hidróxido de sódio a 4% a primeira, além do hidróxido de sódio, contém outros ingredientes e neste caso a comparação ficaria prejudicada.

Resolvemos, então comparar os resultados das provas 8 e no campo e no laboratório. São ambas soluções de hidróxido de sódio, a primeira a 4% e a segunda a

7,5% (igual à concentração final do hidróxido no reativo de Negretti).

A análise indica diferença altamente significativa. Considerando que a prova 5 deu maior número de resultados positivos podemos deduzir que o aumento da concentração de hidróxido de sódio aumenta a sensibilidade do reativo.

Concluindo, pode-se portanto, considerar que pelo menos um dos fatores de maior sensibilidade do reativo de Negretti, em relação ao de Whiteside, seria o fato de conter maior concentração de hidróxido de sódio.

Hipótese B: a possibilidade da presença do cloreto de sódio nos reativos como fator de aumento de sensibilidade foi também investigada.

O cloreto de sódio encontra-se no leite normal e sua concentração geralmente aumenta nos casos de mastite.

Usando-se um reativo com cloreto de sódio talvez esse acréscimo provoque um desequilíbrio eletrolítico contribuindo para evidenciação de um maior número de resultados positivos.

A resposta foi obtida comparando-se as seguintes provas no campo e no laboratório:

- a) prova 8 (reativo com 4% de hidróxido de sódio e sem cloreto de sódio) e prova 9 (o mesmo com 0,8% de cloreto de sódio);
- b) prova 8 (cit.) e prova 10 (o mesmo com 5,27% de cloreto de sódio);
- c) prova 5 (reativo com 7,5% de hidróxido de sódio e sem cloreto de sódio) e prova 6 (o mesmo com 0,8% de cloreto de sódio);
- d) prova 5 (cit.) e prova 7 (o mesmo com 5,27% de cloreto de sódio).

No caso *a*, tanto no campo como no laboratório, as diferenças foram altamente significante, favoráveis à prova 9 (maior número de positivos).

No caso *b*, tanto no campo como no laboratório, as diferenças foram altamente significante, favoráveis à prova 9 (maior número de positivos).

Comparando *a* e *b*, nota-se que, embora o acréscimo de cloreto de sódio torne o reativo mais eficiente, esse acréscimo deve ter um limite (novas investigações seriam necessárias para fixá-lo), além do qual as diferenças começam a diminuir.

Nos casos *c* e *d*, as diferenças foram altamente significantes nas provas efetuadas no campo (favoráveis à prova 5) e não significantes nessas mesmas provas feitas no laboratório.

Essa discrepância é dificilmente explicável, porquanto a proporção reativo-leite é a mesma:

no campo — 0,6 ml: 3 ml = 1:5

no laboratório — 1 gota: 5 gotas = 1:5

Todavia, o fato do resultado das comparações nas provas efetuadas no campo serem favoráveis à prova 5, indicou que o aumento da concentração do hidróxido de sódio tornou desfavorável o acréscimo do cloreto de sódio. Nas provas de laboratório esse acréscimo foi indiferente.

Concluindo-se, em relação à hipótese B: a experiência mostra que a presença do cloreto de sódio até determinado limite (a ser fixado) aumenta a sensibilidade, quando se usa como reativo a solução de 4% de hidróxido de sódio e torna-se desfavorável ou indiferente quando se usa como reativo uma solução a 7,5%.

Hipótese C: Negretti diz em um de seus trabalhos que preparou a antiformina de acordo com o indicado na Farmacopéia inglesa e noutro que a obteve segundo informa o livro de CALMETTE e col.

Todavia, conforme já foi citado e pelas razões já expostas, o seu reativo foi preparado de modo diferente.

Consideramos interessante verificar se o reativo obtido por Negretti difere em seus

resultados daqueles que seriam obtidos se fossem realmente seguidas as instruções da Farmacopcia inglesa ou do livro de CALMETTE e col.

Para isso comparamos a prova 2 (reativo segundo Negretti) com as provas 3 (reativo com a antiformina preparada segundo CALMETTE e col.) e 4 (reativo tendo a antiformina obtida de acordo com a Farmacopcia inglesa) no campo e no laboratório.

A comparação dos resultados mostrou: a) entre as provas 2 e 3 a diferença foi significativa no campo e altamente significativa no laboratório, favoráveis à prova 3 (maior número de resultados positivos). Isso vem indicar que o reativo obtido com a antiformina preparada segundo indicam CALMETTE e col. seria mais sensível, que o obtido pelo próprio Negretti; b) comparando as provas 2 e 4 verificou-se que a diferença dos resultados não foi significativa. Isso indica que o reativo de Negretti funciona de modo semelhante a aquele obtido preparando a antiformina segundo a Farmacopcia inglesa.

Concluindo, o reativo obtido por Negretti mostra resultados inferiores ao que seria obtido com um reativo cuja antiformina fosse preparada conforme indicam CALMETTE e col.

Hipótese D: A resposta foi dada comparando os resultados das provas 2 e 1 no campo e 2 e 8 no laboratório.

A análise indicou diferenças altamente significantes, favoráveis à prova 2 em ambos os casos.

Isso vem confirmar a opinião de vários autores de que a prova de Negretti fornece resultados melhores que o CMT (no campo) e a prova de Whiteside (no laboratório).

Hipótese E: A fim de responder a esta hipótese resolvemos considerar "tempo padrão" para a prova de Hotis a incubação de 40 horas, em banho maria a 37°C.

Isso devido ao fato de que, segundo indicação de vários autores, a última leitura da prova de Hotis é feita após o citado tempo de incubação.

Comparamos então os resultados das provas 1 e 2 no campo e os resultados das provas 2 e 8 no laboratório, com os obtidos na prova de Hotis.

As diferenças foram altamente significantes e favoráveis, em todos os casos, à prova de Hotis.

Esse resultado é óbvio. A prova de Hotis indica mastite/infecção abrangendo doentes e portadores, enquanto que as demais indicam mastite/inflamação abrangendo apenas os doentes.

Finalmente frizamos, e isso é importante para que se pudesse avaliar, discutir e concluir foi necessário admitir "a priori" que todas as provas forneceram resultados exatos, dentro de suas possibilidades, ou seja, todos os positivos, suspeitos e negativos assim o seriam realmente, não havendo resultados que tivessem sido falso-positivos, falso-suspeitos ou falso-negativos. Poder-se-ia também admitir que alguns falsos resultados que houvessem aparecido ocorreriam em porcentagem aproximadamente semelhante para todas as provas.

Negando-se essas premissas, o problema da interpretação tornar-se-á muito mais complexo.

Todavia cremos que os dados aqui obtidos, se deles não exigirmos excessiva precisão, são válidos, para as finalidades práticas e experimentais, dentro dos propósitos deste trabalho.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao acadêmico Antônio Eduardo Alencar de Freitas Guimarães e ao estudante Marcelo Dermargos Cury, pelo auxílio prestado na execução das provas utilizadas neste trabalho.

CURY, R.; COSTA, E. O. da; PENHA, A. M. *Studies on the role of "Negretti's Antiformin Test" in the diagnosis of bovine mastitis.* **Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, 13(1):231-40, 1976.

SUMMARY: *In 1958 and 1959 Negretti prepared a reagent which he denominated: antiformin reagent. He found it to be superior to Whiteside's in diagnosing bovine mastitis. He made, however, a wrong choice of ingredients to obtain the antiformin, with a different final result.*

Nevertheless the favourable results obtained by Negretti are attested by several authors. The present paper makes a comparative study of this reagent and its practical results. Field and laboratory tests were conducted with 10 reagents: CMT, Whiteside's, Negretti's and several variations of them. In addition Hotis test was included totalizing 21 tests per sample of milk. The results of 164 samples of milk, obtained from 43 cows, statistically analyzed indicate that the higher degree of sensitivity of Negretti's reagent is in direct relation to its higher concentration of sodium hydroxide (7.5%).

UNITERMS: *Bovine mastitis, diagnosis*; Negretti's antiformin test*; Antiformin reagent*.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 -- BRITISH PHARMACOPEIA Lon, Pharmaceutical Press, 1953. p. 140-141.
- 2 -- BRYAN, C.S. & DEVEREUX, E.D. A comparison of the microscopic test, Hotis test and blood agar plate in detecting streptococci of mastitis in milk. *Cornell Vet.*, 27:68-74, 1937.
- 3 -- CALMETTE, A.; BOQUET, A.; NEGRE, L. *Manual technique de microbiologie et sérologie.* 3. ed. Paris, Masson, 1933. p 170.
- 4 -- CALMETTE, A.; BOQUET, A.; NEGRE, L.; BRETEY, J. *Manual technique de microbiologie et de sérologie.* 4. ed. Paris, Masson, 1948. p. 673.
- 5 -- ECTORS, F. & DERIVAUX, J. Revue et comparaison de quelques tests d'emploi clinique dans le diagnostic des mammites. *Ann. Méd. vét.*, 109 (8):549-65, 1965, *Veterinária, Madr.*, 31(7-8):465-67, 1966.
- 6 -- ESPINERA, H.E.E. & PINOCHET, V.L. Pruebas de diagnóstico precoz de mastites y su relación con recuento leucocitário y examen bacteriológico. *Zoología*, 8(1-4):38-45, 1967.
- 7 -- EWBANK, R. An evaluation of the California mastitis test and the Negretti field test as indicators of sub-clinical bovine mastitis. *Vet. Rec.*, 74(38):1017-20, 1962.
- 8 -- FERNANDES, J.C.T.; SILVA, M.; LOUZADA, C.A. Nota prévia sobre o Viamão Mastite Teste. In: CONFERÊNCIAS ANUAIS DA SOCIEDADE DE VETERINARIA DO RIO GRANDE DO SUL. 5.-6., 1966-1967. *Anais.*
- 9 -- FERNANDES, J.C.T. & LOUZADA, C.A. Viamão Bastite Teste. Comunicação científica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINARIA, 10., Goiânia, 1967.
- 10 -- HOTIS, R.P. & MILLER, W.T. A simple method for detecting mastitis streptococci in milk. *Dep. Circ. U.S. Dep. Agric.* (400), 1936.
- 11 -- LEALI, L. & VALLIS, P. Valutazione comparativa fra la prova di Negretti e quella di California nella diagnosi rapida di mastite. *Arch. vet. ital.*, 10(5):413-20, 1959.
- 12 -- MILLER, W.T. The Hotis test for the detection of mastitis bacteria in milk. *Dep. Circ. U.S. Dep. Agric.* (672), 1943.
- 13 -- MURPHY, J.M. The value of the Hotis test in detecting mastitis Strep-

- cocci in milk. *Cornell Vet.*, **29**: 279-86, 1939.
- 14 — MURPHY, J.M. & HANSON, J.J. A modified Whiteside test for the detection of chronic bovine mastitis. *Cornell Vet.*, **31**(1):47-55, 1941.
- 15 — MURPHY, J.M. Further observations on the modified Whiteside test for the detection of chronic bovine mastitis. *Cornell Vet.*, **32**:439-44, 1942.
- 16 — NEGRETTI, F. La prova all'antiformina nella diagnosi della mastite bovina. *Atti Soc. ita. Sci. vet.*, **12**:654-57, 1958.
- 17 — NEGRETTI, F. Una nuova reazione per la diagnosi rapida di mastite bovina. *Arch. vet. ital.*, **10**(5):399-411, 1959.
- 18 — NEGRETTI, F. A new method for the diagnosis of mastitis: the antiformin test. In: CONGRESSO MUNDIAL DE VETERINARIA, 16., Madrid, 1959. v. 2. p. 193-194.
- 19 — PARISIS, E. Über Erfahrungen mit dem Antiformin-Test. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, **76**(1):1-3, 1963.
- 20 — SCHALM, O.W. Merits and deficiencies of mastitis diagnostic methods. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **105**:398-405, 1944.
- 21 — SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **130**(5):199-204, 1957.
- 22 — SIEGMUND, O.H., dire. *El manual Merck de veterinaria*. Merck Rahway, 1970. p. 686-87.
- 23 — WHITESIDE, W.H. Observations on a new test for the presence of mastitis in milk. *Canad. publ. Health. J.*, **30**:44-51, 1939.

Recebido para publicação em 15-3-76
Aprovado para publicação em 25-3-76