

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL - PPGCA**

BEATRIZ DANIELI

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ELEVADA CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS EM REBANHOS LEITEIROS E SUA RELAÇÃO COM QUALIDADE
DO LEITE**

LAGES

2024

BEATRIZ DANIELI

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ELEVADA CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS EM REBANHOS LEITEIROS E SUA RELAÇÃO COM QUALIDADE
DO LEITE**

Tese de doutorado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias - PPGCA, da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC.

Orientador: Prof. Dr. André Thaler Neto

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Luiza Bachmann Shogor

LAGES

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Danieli, Beatriz

Fatores de risco associados à elevada contagem de células somáticas em rebanhos leiteiros e sua relação com qualidade do leite

/ Beatriz Danieli. -- 2024.

162 p.

Orientador: André Thaler Neto
Coorientadora: Ana Luiza Bachmann
Shogor

Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2024.

BEATRIZ DANIELI

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ELEVADA CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS EM REBANHOS LEITEIROS E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE
DO LEITE**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

Orientador:

Dr. André Thaler Neto
CAV – UDESC, Lages, SC.

 Documento assinado digitalmente
VIVIAN FISCHER
Data: 29/01/2024 09:53:48-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Membro:

Dra. Vivian Fischer
UFRGS - Porto Alegre, RS.

Documento assinado digitalmente
 VAGNER MIRANDA PORTES
Data: 31/01/2024 14:05:38-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Membro:

Dr. Wagner Miranda Portes
EPAGRI, Chapecó, SC.

Membro:

Dra. Sandra Maria Ferraz
CAV – UDESC, Lages, SC.

Membro:

Dr. Leonardo Leite Cardozo
ORDEMILK, Treze Tílias, SC.

LAGES, SC

26 de Janeiro 2024

Dedico esta tese à minha família, a qual foi alicerce durante o percurso, prestaram apoio, incentivo e educação durante todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar a minha profunda gratidão a Deus por ter me concedido saúde e força para recomeçar em momentos difíceis, superar obstáculos e avançar, sem nunca considerar desistir. Sou imensamente grata à minha família, em especial à minha irmã Bruna, Brenda, o meu pai Amauri, a minha mãe Janete, meu tio Luiz e meu namorado Volnei. Este estudo foi conduzido com o apoio de vocês, estavam ao meu lado nos momentos mais desafiadores me encorajando e motivando de forma expressiva.

As 106 famílias envolvidas (Bresolin, Baccin, Barp, Bavaresco, Belle, Bevilaqua, Biazi, Biazzi, Biazzi, Boeri, Boettcher, Bonafe, Borin, Borsoi, Bortolanza, Campagnaro, Capeleto, Cassol, Cavazotto, Conte, Conterrato, Cortareli, Cremonini, Crestani, Da Cruz Avilla, Dalariva, Dalcortivo, Danieli, Danieli, De Costa, Demarini, Dos Santos, Dos Santos, Eisle, Favareto, Ferrari, Ficagna, Forti, Forti, Foscheira, Franchini, Frozi, Fumagali, Galiazi, Gallo, Giachini, Giacomin, Gollo, Gregorio, Griss, Griss, Hanauer, Hanauer, Hoffman, Kerbes, Kerkoff, Lanner, Lunedo, Maier, Maraschin, Marcante, Marostica, Melo, Menin, Mocelin, Nicheli, Ogliari, Panis, Panis, Pegoraro, Pellentz, Rampaneli, Rampi, Rebelato, Ribeiro, Salvatico, SantaCatarina, Santin, Santore, Sareto, Sbruzzi, Scarati, Schaff, Schubert, Schutz, Senhm, Silveira, Smanioto, Smiderle, Sonaglio, Stefens, Steffens, Tansini, Tasca, Terribele, Testa, Tomazeli, Vanazzi, Variani, Vedana, Vedana, Wieczynski, Zich e Zordan) não foram apenas propriedades rurais, todas me acolheram em múltiplas visitas, sem cobrar nada me permitiram acesso, respeito, apoio, dedicação e utilização dos espaços e animais para a minha pesquisa. Sem a vossa colaboração, os nossos objetivos não teriam sido alcançados.

Gostaria de expressar a minha gratidão à equipe de profissionais da Cooperativa Agroindustrial Alfa, especialmente aos médicos veterinários e técnicos em bovinocultura de leite. À empresa Ordemilk, em especial ao Dr. Leonardo Leite Cardozo e Charles Freitas, pelo apoio e orientação na avaliação das máquinas de ordenha envolvidas no estudo. Espero que juntos, possamos contribuir para o crescimento da cadeia leiteira, identificando e superando os desafios existentes.

Gostaria de agradecer aos meus professores e orientadores, André Thaler Neto e Ana Luiza Bachmann Schogor, pela dedicação em colaborar com a minha formação acadêmica, sugestões, críticas construtivas e horas de estudo dedicadas a produção da tese. Além de serem exemplos para mim, eles me forneceram o embasamento e o encorajamento necessários para a elaboração do experimento. À professora e coordenadora do Laboratório de Bacteriologia,

Sandra Maria Ferraz, à técnica de laboratório Rosane Legnaghi e a toda a equipe de trabalho que me auxiliou durante as análises microbiológicas.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal PPGCA da UDESC por proporcionar um ensino gratuito, de qualidade e ter fornecido muitos dos recursos necessários para condução do experimento. Agradeço a UDESC, não somente por estes últimos quatro anos, mas por todos os meus onze anos de formação entre os centros CEO e CAV. À Secretaria de Estado da Educação de Santa Catarina - SED, pela concessão da bolsa através do Programa de Bolsas Universitárias de Santa Catarina - UNIEDU (Chamada pública Nº 1423/SED/2019) durante parte do período de desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Casa Familiar Santo Agostinho representada pela minha equipe de trabalho e pelos estudantes. Alegraram os meus dias, valorizaram a minha experiência de doutorado e me forneceram apoio durante todo o processo.

Agradeço aos professores membros do comitê avaliador desta tese pelo aceite e estarem prontamente disponíveis para avaliar e contribuir positivamente para este trabalho.

RESUMO

DANIELI, BEATRIZ. **Fatores de risco associados à elevada contagem de células somáticas em rebanhos leiteiros e sua relação com qualidade do leite.** 2024. 162p. Tese (Doutorado em Ciência Animal – Área: Produção Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2024.

A ambiência e a adoção de estratégias para o controle da contagem de células somáticas (CCS) do rebanho, determinam a qualidade do leite bovino. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar se as características do rebanho, do equipamento de ordenha e as práticas de manejo promovem aumento da CCS de vacas a pasto manejadas em estação climática quente e se elas interferem na qualidade do leite de propriedades comerciais. Dois experimentos foram conduzidos durante as estações climáticas quente (EQ) e fria (EF). No primeiro foram visitadas 121 propriedades, sendo 62 na EQ de 2021 e 59 na EF de 2022. Foram identificadas as relações entre manejo, características das vacas lactantes (sujidade de perna, de úbere, condição da extremidade do teto, profundidade de úbere, *udder clearance* e *California Mastitis Test*), equipamento de ordenha (sistema de pulsação, sistema de vácuo e condição das teteiras) e qualidade do leite de tanque (composição, características físico-químicas, CPP e CCS). Além disso, a presença de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli* foi identificada nas amostras de leite de tanque. Em cada estação buscamos propriedades de CCS alta (> 700.000 céls/mL) e baixa (≤ 300.000 céls/mL). Os dados do equipamento de ordenha foram submetidos a análise multivariada (fatorial, agrupamento, fatores de risco e discriminante) e os demais à análise de variância (efeito da CCS alta ou baixa, estação e interação) e análise fatorial. Para os microrganismos avaliados a análise foi descritiva. O segundo experimento envolveu 1192 vacas de 54 propriedades visitadas em 2022 (573 da EQ e 619 da EF). As vacas foram avaliadas para sujidade de perna e úbere, condição da extremidade do teto, profundidade de úbere e *udder clearance*. Em cada vaca mensuramos o volume diário de leite, a composição, as propriedades físico-químicas e a CCS de leite. As vacas foram divididas em baixa (≤ 200.000 céls/mL), média (> 200.000 céls/mL e ≤ 615.000 céls/mL) e alta (> 615.000 céls/mL) CCS. Os dados foram submetidos a análise de variância (efeito da baixa, média e alta CCS, estação e interação) e análise fatorial. As propriedades comerciais com CCS elevada tinham rebanhos de vacas mais velhas, com úberes mais profundos e com maior tempo de lactação, independente da estação climática. Em propriedades de alta CCS identificamos menor volume de leite produzido por vaca, menor teor de lactose e maior teor de cloretos no leite. Além destas constatações para tanque, as vacas tiveram menor teor de sólidos não gordurosos do leite, sendo que o efeito da CCS sobre a produção e qualidade do leite independeu da estação climática. Na EQ a acidez titulável foi mais baixa, mas dentro do recomendado. O estudo sugeriu que o maior teor de cloretos identificado nas propriedades comerciais aumenta o risco de não conformidade ao teste qualitativo. Identificamos problemas no sistema de pulsação e de vácuo das propriedades. As teteiras desgastadas prejudicaram a CCS e a CPP, enquanto a maior pulsação foi associada ao aumento da hiperqueratose de teto e CCS do leite. O *Streptococcus agalactiae* não foi identificado nas amostras avaliadas. O *Staphylococcus aureus* foi mais frequente na EF e a *Escherichia coli* foi identificada apenas em amostras de propriedades com a baixa CCS.

Palavras-chave: Estação climática; CCS elevada; Cloretos; Equipamento de ordenha; Propriedades físico-químicas.

ABSTRACT

DANIELI, BEATRIZ. **Risk factors associated with high somatic cell counts in dairy herds and their relationship with milk quality.** 2024. 162p. Thesis (Doctoral Thesis in Animal Science - Area: Animal Production) - State University of Santa Catarina. Postgraduate Study in Animal Science, Lages, 2024.

The environment and the adoption of strategies to control the somatic cell count (SCC) of the herd determine the quality of bovine milk. In this sense, the objective of this work was to identify whether the characteristics of the herd, milking equipment and management practices promote an increase in the SCC of pasture cows managed in a hot climate season and whether they interfere with the quality of milk on commercial properties. Two experiments were conducted during the warm (WS) and cold (CS) climatic seasons. In the first experiment, 121 properties were visited, with 62 in HS 2021 and 59 in CS 2022. Relationships between management, lactating cow characteristics (leg and udder dirtiness, teat end condition, udder depth, udder clearance, and California Mastitis Test), milking equipment (pulsation system, vacuum system, and teat cup condition), and bulk tank milk quality (composition, physicochemical characteristics, plate standard count (PSC), and SCC) were identified. Additionally, the presence of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, and *Escherichia coli* was identified in bulk tank milk samples. For each season, properties with high ($> 700,000$ cells/mL) and low ($\leq 300,000$ cells/mL) SCC were sought. Milking equipment data underwent multivariate analysis (factorial, clustering, risk factors, and discriminant), while the rest underwent analysis of variance (effect of high or low SCC, season, and interaction) and factorial analysis. Descriptive analysis was used for the evaluated microorganisms. The second experiment involved 1192 cows from 54 properties visited in 2022 (573 from WS and 619 from CS). Cows were evaluated for leg and udder dirtiness, teat end condition, udder depth and udder clearance. In each cow we measured the daily volume of milk, composition, physical-chemical properties and SCC of milk. Cows were categorized into low ($\leq 200,000$ cells/mL), medium ($> 200,000$ cells/mL and $\leq 615,000$ cells/mL), and high ($> 615,000$ cells/mL) SCC. Data underwent analysis of variance (effect of low, medium, and high SCC, season, and interaction) and factorial analysis. Commercial properties with high SCC had older herds with deeper udders and longer lactation period, regardless of the climatic season. In properties with high SCC, lower milk volume per cow, lower lactose content, and higher chloride content in milk were identified. In addition to these tank-related findings, cows had lower non-fat milk solids content, and the effect of SCC on milk production and quality was independent of the climatic season. In WS, titratable acidity was lower but within recommended levels. The study suggested that the higher chloride content identified in commercial properties increases the risk of non-compliance in the qualitative test. Problems were identified in the pulsation and vacuum systems of the properties. Worn teats affected SCC and PSC, while higher pulsation was associated with increased teat hyperkeratosis and milk SCC. *Streptococcus agalactiae* was not identified in the evaluated samples. *Staphylococcus aureus* was identified in CS, and *Escherichia coli* was identified only in samples from properties with low SCC.

Keywords: Climatic season; High SCC; Chlorides; Milking equipment; Physicochemical properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1 - Condição, descrição e ilustração da ponta do teto bovino conforme a classificação determinada por Mein *et al.* (2001) 23

CAPÍTULO II

Figura 1 - Identificação das partes de uma unidade de ordenha para acoplar em uma ordenhadeira mecânica (Esquema adaptado de Penry; Reineman (2022) 60

CAPÍTULO III

Figura 1 - Localização das 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil visitadas na estação quente (EQ) de 2021 e na estação fria (EF) de 2022..... 77

CAPÍTULO IV

Figura 1 - Distribuição do número de vacas leiteiras avaliadas na estação fria (EF) e estação quente (EQ) de 2022, conforme os municípios de Santa Catarina..... 105

CAPÍTULO V

Figura 1 - Localização das 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil visitadas na estação quente (EQ) de 2021 e estação fria (EF) de 2022..... 131

Figura 2 - Mensuração das fases do ciclo de pulsação e pulsações por minuto (A) e o nível de vácuo no sistema (B) com o dispositivo MilkoTest MT52, BEPRO®133

Figura 3 - Simulação do teste de queda conforme a ISO 6690 (2007) mensurado pelo dispositivo eletrônico MilkoTest MT52, BEPRO®134

Figura 4 - Vazão da bomba de vácuo verificada com caudalímetro..... 134

Figura 5 - Análise discriminante de agrupamento com as características estruturais, de equipamento de ordenha e de manejo de 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil..... 143

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Fatores de risco relacionados às características do animal que favorecem o aumento da Contagem de Células Somáticas no leite bovino..... 22

Tabela 2 - Fatores de risco relacionados ao processo de ordenha que favorecem o aumento da Contagem de Células Somáticas no leite bovino..... 24

Tabela 3 - Consequências do aumento da Contagem de Células Somáticas no leite bovino..... 37

CAPÍTULO III

Tabela 1 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para descrição do rebanho e alimentação de rebanhos leiteiros comerciais, distribuídos em dois níveis de CCS (alta e baixa) e estações fria e quente..... 82

Tabela 2 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para características de vacas e hiperqueratose de teto de rebanhos leiteiros comerciais, distribuídos em dois níveis de CCS (alta e baixa) e estações fria e quente..... 83

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos ± erro-padrão da média e valores de P para produção e composição do leite, de rebanhos leiteiros comerciais com alta e baixa CCS e estações fria e quente..... 84

Tabela 4 - Cargas fatoriais, comunidades e percentual de variância referentes às características de rebanho, conformação da glândula mamária, produção e composição do leite de tanque de propriedades leiteiras..... 85

Tabela 5 - Presença de microrganismos investigados em amostras de leite de tanque de propriedades com alta e baixa CCS na estação quente (EQ) e fria (EF)..... 87

CAPÍTULO IV

Tabela 1 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para características de vacas com CCS baixa ($N = 505$, ≤ 200.000 céls/mL), média ($N = 364$, > 200.000 a ≤ 615.000 céls/mL) e alta ($N = 304$, > 615.000 céls/mL), na estação fria ($N = 601$, EF) e estação quente ($N = 572$, EQ)..... 105

Tabela 2 - Interação entre CCS e Estação para a sujidade de perna e úbere de vacas com CCS baixa (abaixo de 200×10^3 CS/mL) média (entre 201 e 615×10^3 CS/mL) e alta (acima de 615×10^3 CS/mL), na estação fria (EF) e estação quente EQ..... 110

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para produção e composição do leite, de vacas com CCS baixa ($N = 505$, ≤ 200.000 céls/mL), média ($N = 364$, > 200.000 a ≤ 615.000 céls/mL) e alta ($N = 304$, > 615.000 céls/mL), na estação fria ($N = 601$, EF) e estação quente ($N = 572$, EQ)..... 110

Tabela 4 - Interação entre CCS e Estação para a sujidade de perna e úbere de vacas com CCS baixa ($N = 505$, ≤ 200.000 céls/mL), média ($N = 364$, > 200.000 a ≤ 615.000 céls/mL) e alta ($N = 304$, > 615.000 céls/mL), na estação fria ($N = 601$, EF) e estação quente ($N = 572$, EQ)..... 111

Tabela 5 - Cargas fatoriais, comunalidades e percentual de variância referentes a produção e composição do leite, características de rebanho e conformação da glândula mamária de vacas leiteiras.....	112
CAPÍTULO V	
Tabela 1 - Variáveis estruturais e técnicas de manejo das propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.....	138
Tabela 2 - Variáveis associadas ao equipamento de ordenha em 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.....	139
Tabela 3 - Cargas fatoriais, comunalidades e percentual de variância referentes às características de equipamento de ordenha, ordenabilidade e CCS do leite de tanque de propriedades leiteiras	141
Tabela 4 - Médias dos grupos formados pela análise de agrupamento com as características estruturais, de equipamento de ordenha e de manejo de 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.....	142
Tabela 5 - Razões de chances (OR) e intervalos de confiança para a elevação da CCS de tanque de acordo com o modelo de regressão logística para as variáveis explanatórias.....	144
Tabela 6 - Razões de chances (OR) e intervalos de confiança para a elevação da CCS de tanque de acordo com o modelo final de regressão logística.....	144

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBQL	Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite
ISO	International Organization for Standardization (Organização Internacional para Padronização)
CCS	Contagem de Células Somáticas
CMT	California Mastitis Test
CPP	Contagem Padrão em Placas
DEL	Dias em Lactação
ECC	Escore de Condição Corporal
ECS	Escore de Células Somáticas
IN	Instrução Normativa
ITU	Índice de Temperatura e Umidade
IIM	Infecção Intramamária
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MSC	Mastite Subclínica
NUL	Nitrogênio Ureico do Leite
kPa	Quilopascal
PC	Ponto de Congelamento
UHT	Ultra High Temperature

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	20
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
RESPOSTA IMUNE E A ORIGEM DAS CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE	20
Imunidade inata	20
Imunidade adquirida	21
RISCOS ASSOCIADOS AO AUMENTO DAS CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE....	22
Características dos animais	22
Manejo de ordenha	25
Equipamento de ordenha	27
Estresse por calor	27
Manejo, vias de transmissão e microbiologia do leite	29
CONSEQUÊNCIA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA NO LEITE.....	31
Volume de leite produzido	31
Proporção de células somáticas no leite	32
Gordura	32
Proteína	32
Lactose	33
Baixa acidez titulável e alto pH do leite.....	35
Estabilidade do leite ao teste do álcool	36
Crioscopia do leite.....	39
Teores de cloreto do leite.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
OBJETIVOS	51
GERAL	51
ESPECÍFICOS	51
CAPÍTULO II.....	52
EQUIPAMENTO DE ORDENHA E SEU EFEITO NA CONDIÇÃO DO TETO E MASTITE SUBCLÍNICA: REVISÃO	52
RESUMO	52
ABSTRACT	53
INTRODUÇÃO	54
Normatização do equipamento de ordenha.....	56
Sistema balde ao pé.....	56

Sistema canalizado	57
Funcionamento do equipamento de ordenha mecânica	58
Efeito do equipamento de ordenha sobre a integridade do teto e mastite.....	63
Congestão e Edema do teto	63
Formação de anel de base e sua evolução para hiperqueratose	64
Sobreordenha	66
Flutuações de vácuo e contaminação cruzada	67
CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
CAPÍTULO III	73
FATORES RELACIONADOS À CCS ELEVADA E QUALIDADE DO LEITE DE PROPRIEDADES COMERCIAIS A PASTO NA ESTAÇÃO QUENTE.....	73
RESUMO GRÁFICO	73
RESUMO	74
ABSTRACT.....	75
INTRODUÇÃO	76
MATERIAL E MÉTODOS	77
RESULTADOS	81
DISCUSSÃO	89
CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS.....	95
CAPÍTULO IV.....	101
VACAS COM CCS ELEVADA APRESENTAM PIOR DESEMPENHO PRODUTIVO E QUALIDADE DO LEITE INDEPENDENTE DA ESTAÇÃO CLIMÁTICA	101
RESUMO GRÁFICO	101
RESUMO	102
ABSTRACT.....	103
INTRODUÇÃO	104
MATERIAL E MÉTODOS	105
RESULTADOS	108
DISCUSSÃO	115
CONCLUSÃO	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122
CAPÍTULO V	127

RELAÇÃO ENTRE O EQUIPAMENTO DE ORDENHA COM A QUALIDADE DO LEITE E A HIPERQUERATOSE DA EXTREMIDADE DO TETO	127
RESUMO GRÁFICO	127
RESUMO	128
ABSTRACT	129
INTRODUÇÃO	130
MATERIAL E MÉTODOS	131
RESULTADOS	139
DISCUSSÃO	146
CONCLUSÃO	153
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	154
ANEXOS	157
ANEXO 1	157
ANEXO 2	158
CONSIDERAÇÕES FINAIS	161

INTRODUÇÃO

A literatura brasileira identificou produtores com leite apresentando não conformidades na contagem de células somáticas (CCS) em relação ao estabelecido pela Instrução Normativa (IN) 51/2002 do Ministério da agricultura e pecuária (MAPA) (SOMERS et al., 2003; WINCK; THALER NETO, 2009; DE OLIVEIRA et al., 2013) e IN 62/2011 (WERNCKE et al., 2016; BUSANELLO et al., 2017). A dificuldade em melhorar a qualidade de leite no Brasil, fez os prazos para adequação a estas normas serem ampliados. A maioria dos produtores não pertencia aos programas de pagamento pela qualidade e não percebem as perdas econômicas atribuíveis à mastite subclínica (MSC) (BUSANELLO et al., 2017). Por sua vez, há resistência em adotar práticas de ordenha desejáveis, treinamento de equipe e equipamento de ordenha adequado e com aferições regulares (GOUVÊA et al., 2020). Com relação ao plantel, não percebem o impacto da condição da extremidade do teto, conformação de úbere, ausência de linha de ordenha, paridades e dias em lactação elevados (CARDOZO et al., 2015).

Atualmente a IN 76/2018 estabelece os regulamentos técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A (BRASIL, 2018). Mesmo depois da normatização, a presença de mastite em propriedades comerciais do Brasil ainda é alta (SILVA et al., 2021). Para melhorar este índice, precisamos desenvolver programas de controle direcionados a minimizar a mastite em propriedades comerciais (BUSANELLO et al., 2017; SILVA et al., 2021), visando reduzir a propagação do agente causador no ambiente e seu contato com o hospedeiro (SCHROEDER, 1997).

O impacto da MSC sobre a produção de leite e o desempenho econômico depende do patógeno, do estágio da lactação e do número de parições das vacas. Assim, a estimativa das perdas, causadas pela MSC diante da produção de leite e o desempenho econômico, pode ser usada para a tomada de decisões de implementação de medidas de controle (GONÇALVES et al., 2023).

Passada a primeira semana após o parto, as vacas com CCS abaixo de 200.000 céls/mL são consideradas saudáveis (CBQL, 2006), acima disto, indica a presença de MSC em um ou mais quartos mamários (MARQUES et al., 2016). Além do aumento da CCS, a infecção altera a proporção do tipo celular (KITCHEN, 1981). Enquanto os macrófagos têm maior representatividade em vacas sadias (MARQUES et al., 2016), os neutrófilos modulam o início

da defesa imunológica junto das células dendríticas e células *natural killers* (HUSSAIN et al., 2012; MARQUES et al., 2016).

O termo CCS indica a concentração de leucócitos e células epiteliais em 1 mL de leite. A CCS é um indicador da condição higiênico-sanitária do leite e da saúde da glândula mamária, sendo de difícil controle e a sua elevação reduz significativamente a produção de leite (GONÇALVES et al., 2018; GONÇALVES et al., 2023), de componentes (KITCHEN, 1981; CINAR et al., 2015) e há indícios de alterações nas propriedades físicas do leite, portanto, torna-se um importante indicador econômico (EL-TAHAWY; EL-FAR, 2010; GONÇALVES et al., 2018). Além disso, esta condição pode ser agravada sob condições de estresse por calor (CARTWRIGHT et al., 2023) ou escassez de alimentos (KUL et al. 2019). Nas propriedades comerciais a pasto, o efeito da CCS pode ser pronunciado ou encoberto pelo estresse por calor, em função da dificuldade em garantir sombra e água em todos os espaços.

A redução do volume de leite em função do aumento da CCS já está bem documentada na literatura (GONÇALVES et al., 2018). Além disso, a maioria dos autores apontam redução no percentual de lactose (KITCHEN, 1981; SHUSTER et al., 1991; CINAR et al., 2015; ARRUDA JUNIOR, 2018), aumento do percentual de gordura e sólidos totais (CINAR et al., 2015), resultados controversos para proteína do leite e suas frações (LE MARÉCHAL et al., 2011; OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007) e aumento do teor de cloreto (KITCHEN, 1981; OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; GARGOURI et al., 2014). As propriedades físicas do leite também podem ser prejudicadas pelo aumento da CCS. Há indícios de menor estabilidade ao teste do álcool (CHAVEZ et al., 2004), baixa acidez titulável (ARRUDA JUNIOR, 2018), aumento do pH (KITCHEN, 1981; LI; YE; SINGH, 2019) e do ponto de congelamento (HANUŠ et al., 2010).

Identificar os fatores de risco da elevada CCS contribui no desenvolvimento de programas direcionados ao controle de mastite, todavia, a heterogeneidade entre as regiões brasileiras exige que estes programas retratem a condição de cada uma. Alguns estudos têm descrito os principais fatores de risco para MSC em condições brasileiras (OLIVEIRA et al., 2015; CARDOZO et al., 2015; SILVA et al., 2021). A maioria das pesquisas são específicas, considerando sucintamente as características de vaca, os manejos direcionados ao controle de mastite e os patógenos envolvidos (SOUZA et al., 2009; CARDOZO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; SILVA et al., 2021)

O equipamento de ordenha também exerce grande impacto sobre a saúde da glândula mamária, sendo composto por diferentes componentes, como o sistema de produção e controle de vácuo, a pulsação, as unidades para extração do leite e o sistema de transporte

(REINEMANN, 2019). Algumas pesquisas apontaram que a prática de sobreordena pode causar espessamento do tecido do teto, congestão, edema e aumentar a suscetibilidade a infecções intramamárias (WIELAND et al., 2018; ODORČIĆ et al., 2019), assim como realizar as manutenções esporádicas no equipamento de ordenha (CARDOZO et al., 2015).

Os fatores de risco da mastite subclínica permanecem no auge das pesquisas até que consigamos melhorar a qualidade do leite comercializado, principalmente para os indicadores que ainda se encontram em melhoria gradual, como é o caso da CCS. A preocupação em reduzir a presença de mastite nas propriedades comerciais motivou o desenvolvimento de um capítulo para explicar sobre diversos fatores de risco, agentes causadores e consequências do aumento de CCS na qualidade do leite.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

RESPOSTA IMUNE E A ORIGEM DAS CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE

O mecanismo de defesa da glândula mamária é dividido em duas categorias, imunidade inata e adquirida. O sistema inato compreende as barreiras físicas, barreiras químicas, macrófagos, neutrófilos células dendríticas e *natural killers*. A imunidade adquirida envolve as células apresentadoras de抗ígenos junto dos linfócitos.

Imunidade inata

O primeiro mecanismo de defesa é o esfíncter do teto (barreira física), no qual estão contidos os músculos que contraem e bloqueiam a entrada de microrganismos (OVIEDO-BOYSO et al., 2007). Na extremidade do esfíncter se forma o tampão de queratina (barreira química), oriundo da descamação das células do epitélio estratificado e ácidos graxos de cadeia longa. Este tampão captura patógenos invasores e os impede de migrar para a cisterna do teto (SORDILLO et al., 1997). Existem vários fatores que prejudicam o tônus do esfíncter, os quais incluem as lesões nos tetos (hiperqueratose) e a paridade elevada, visto que, com o avanço das lactações, o esfíncter demora mais tempo para se contrair (CARDOZO et al., 2015).

Quando o microrganismo adentra pelo esfíncter do teto e escapa da ação da queratina pode ser eliminado pela ação da lactoferrina (barreira química). Ela é uma glicoproteína de ligação ao Ferro (também está presente nos grânulos de neutrófilos) e antimicrobiano de amplo espectro, principalmente para a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, pois a lactoferrina se quelata ao Ferro e o torna indisponível para o crescimento nos microrganismos, especialmente destas citadas (CHASE et al., 2022).

Em seguida os receptores de conhecimento padrão (RRPs) do sistema inato reconhecem os microrganismos pelos padrões moleculares (PAMPs) associados a eles. Os neutrófilos são leucócitos granulares liberados pela medula óssea na corrente sanguínea e se posicionam nas paredes dos capilares. Fazem parte da primeira linha de defesa e sua principal função é fagocitar e destruir os microrganismos que são atraídos por quimiotaxia (CHASE et al., 2022).

Os macrófagos são mononucleares produzidos pela medula óssea e liberados na corrente sanguínea e nos tecidos na forma de monócito, em seguida ele é diferenciado em macrófago ou célula dendrítica (CHASE et al., 2022). Eles reconhecem os microrganismos na segunda linha de defesa e desencadeiam uma reação imunológica semelhante aos macrófagos, entretanto a resposta é mais lenta e persistente. Eles também podem recrutar mais neutrófilos ou agir como células apresentadoras de抗ígenos (DAMM et al., 2017). As células dendríticas são apresentadoras de抗ígenos especializadas e ajudam iniciar a resposta imune adquirida (CHASE et al., 2022).

As células epiteliais mamárias em apoptose encontradas no leite, decorrem da regeneração tecidual e são predominantes em glândulas mamárias saudáveis. Apesar de não apresentarem função imune, atuam como sentinelas e sinalizam a invasão de patógenos através da maior produção de citocinas. As células *natural killers* são linfócitos inespecíficos ativados em um a dois dias após a infecção, elas exterminam as células infectadas e produzem os linfócitos B e T (SORDILLO et al., 1997; CHASE et al., 2022).

No leite de quartos saudáveis, os linfócitos e macrófagos prevalecem sobre os neutrófilos, todavia, diante de reações inflamatórias acontece a predominância de neutrófilos (SCHWARZ et al., 2011). A tarefa dos linfócitos é regular o início e a supressão da resposta imune, enquanto os macrófagos ingerem bactérias e detritos celulares (DAMM et al., 2017).

Imunidade adquirida

A resposta imune adquirida e inata são desencadeadas juntamente na eliminação de patógenos conhecidos. Diante daqueles não identificados, a imunidade inata pode falhar na tentativa de eliminar o patógeno, após isso, a imunidade adquirida é acionada para reforçar a resposta ao invasor. Este sistema imune utiliza diversos receptores de抗ígeno específicos, linfócitos B e T para regular ou eliminar um sinal provocado por eventos de reconhecimento. Além disso, a resposta imune adquirida induzida tem a capacidade de estabelecer memória específica do抗ígeno para uma resposta rápida e aumentada por exposição subsequente ao mesmo抗ígeno (IWASAKI E MEDZHITOV, 2010).

O sistema reconhece as características específicas do patógeno por meio de anticorpos, registra na “memória” e faz a sua eliminação. Sendo esta resposta imune aumentada pela exposição repetida ao patógeno (SORDILLO et al., 1997). Os linfócitos são as únicas células capazes de reconhecer os抗ígenos por meio dos receptores de membrana específicos.

Os linfócitos B possuem a função de sintetizar e secretar anticorpos que reconhecem e neutralizam os fatores de virulência das bactérias específicas para cada antígeno. Já os linfócitos T, possuem funções efetoras, que incluem a produção de citocinas que vão facilitar a imunidade mediada por células, regulando a magnitude e a duração da resposta imune (SORDILLO, 2018)

Os linfócitos T constituem um grupo variado de células com diferentes funções na resposta imune (SORDILLO et al., 1997). Quando as células apresentadoras reconhecem os抗ígenos, os linfócitos T ativam a função dos linfócitos B, macrófagos e neutrófilos específicos envolvidos na resposta imune. Os linfócitos B produzem os anticorpos e as imunoglobulinas específicas após o reconhecimento do agente pelo linfócito T. As imunoglobulinas terão a função de marcar as bactérias, facilitando o reconhecimento e a fagocitose pelos neutrófilos e macrófagos (CHASE et al., 2022).

RISCOS ASSOCIADOS AO AUMENTO DAS CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE

Vacas sadias possuem CCS abaixo de 200.000 céls/mL, acima deste limiar pode haver MSC em um ou mais quartos mamários (MARQUES et al., 2016). Ao comparar meses sucessivos quanto ao status de uma vaca com CCS < 200.000 céls/mL ou ≥ 200.000 céls/mL, estabelece-se a dinâmica da mastite clínica, podendo a vaca ser classificada como sadia, curada, crônica ou portadora de uma nova infecção intramamária (DUFOUR; DOHOO, 2013).

A identificação dos fatores de risco ajuda a identificar medidas para melhorar a saúde da glândula mamária e a qualidade do leite. A identificação dos fatores normalmente é baseada em uma combinação de diagnóstico e monitoramento que permitem prevenir novos casos e impedir que as infecções se tornem crônicas (CARDOZO et al., 2015). Muitos fatores são conhecidos, mas é impossível avaliar em um único estudo todos os potenciais fatores (DE ALMEIDA, 2020).

Características dos animais

As características da vaca que favorecem o desenvolvimento de MSC se concentram na condição fisiológica, raça, histórico de mastite e características de úbere (Tabela 1). Em condições normais, a imunidade inata bloqueia a entrada de patógenos, devendo o esfíncter ser isento de qualquer lesão. O acúmulo de espículas de queratina dificulta o tônus muscular (MEIN et al., 2001). A escala mais utilizada para pontuar a extremidade do teto foi descrita

por Mein et al. (2001), variando entre a condição sem anel (1) a anel muito rugoso e com presença de muitas espículas de queratina (4), conforme a figura 1. A hiperqueratose é a denominação dada a lesão, a qual se agrava durante a ordenha, seja na ausência de regulagem do equipamento ou pela força aplicada pelo ordenhador (NEIJENHUIS et al., 2001).

A partir do escore de hiperqueratose acima de 3 (DE PINHO MANZI et al., 2012; DUFOUR et al., 2012; CARDOZO et al., 2015), o úbere abaixo da linha de jarrete (SARKER et al., 2013) ou sujo (DE PINHO MANZI et al., 2012; RAMÍREZ et al., 2014), favorecem o desenvolvimento de MSC. Quando se trata da conformação do úbere, ao se tornar mais próximo do solo facilita a entrada de patógenos, sobretudo com o avanço da idade (SARKER et al., 2013; CARDOZO et al., 2015).

Tabela 1 - Fatores de risco relacionados às características do animal que favorecem o aumento da Contagem de Células Somáticas no leite bovino.

Fator de risco	Referência
Extremidade do teto acima de 3 ¹	DE PINHO MANZI et al., 2012; DUFOUR et al., 2012; CARDOZO et al., 2015
Úbere na linha ou abaixo do jarrete	HUSSAIN et al., 2012; CARDOZO et al., 2015; SHARMA et al., 2017; DE ALMEIDA, 2020
Úbere muito sujo	DE PINHO MANZI et al., 2012; RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015
ECC abaixo de 2,5 ²	SARKER et al., 2013
Formato e diâmetro do teto	HUSSAIN et al., 2012; SHARMA et al., 2017
Formato do úbere	SHARMA et al., 2017
Estágio de lactação	SEWALEM et al., 2006; RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; GONÇALVES et al., 2018; SANTOS et al., 2018; DE ALMEIDA, 2020; SILVA et al., 2021
Raça	SEWALEM et al., 2006; RAMÍREZ et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015
Número de partos elevado	RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; SANTOS et al., 2018; DE ALMEIDA, 2020; SILVA et al., 2021

¹ Escala definida por Mein et al. (2001), ² Escore de condição corporal conforme a escala entre 1 a 5.

Hussain et al. (2012) identificaram que, tetos e comprimentos de ductos menores são significativamente comuns em vacas com MSC. Os autores consideram que os patógenos

percorrem distâncias menores para estabelecer a infecção. Por outro lado, Sharma et al. (2017) observaram aumento da CCS em tetos com diâmetro maior e mais próximos do chão.

O aumento da paridade ou dos dias em lactação (DEL) aumentam o tempo de exposição aos patógenos, além de haver a tendência do maior número de lesões na ponta do teto (RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015). Cardozo et al. (2015) avaliaram o risco de vacas desenvolverem MSC ou crônica, sendo observado que vacas com mais de 3 lactações, escore de hiperqueratose acima de 3 (conforme MEIN et al., 2001), úbere na altura do jarrete ou abaixo dele, além de estar muito sujo, favorecem a MSC. Quanto ao risco de uma infecção evoluir para uma forma crônica, vacas com DEL acima de 100 ou com o úbere abaixo da linha do jarrete.

Figura 1 - Condição, descrição e ilustração da ponta do teto bovino conforme a classificação determinada por Mein et al. (2001).

Escore	Descrição	Ilustração
1	Sem anel: Não há a formação de anel, o que é típico ao início da lactação.	 
2	Anel liso ou levemente áspero: anel sem rugosidade, ou de rugosidade moderada, sem a formação de espículas de queratina.	 
3	Áspero: anel áspero e saliente, acompanhado pela formação de espículas de queratina que se estendem por 1 a 3 mm do orifício.	 
4	Muito áspero: anel elevado com espículas de queratina enrijecidas por mais de 3 mm do orifício. Borda áspera e rachada, com aparência “florida”.	 

Vacas da raça Holandesa costumam ter CCS mais elevada em relação às outras raças (RAMÍREZ et al., 2014), mas faltam estudos acerca deste assunto, visto que se identificou maior CCS para Jersey em relação à Holandês (SEWALEM et al., 2006). O atendimento às

exigências nutricionais, minerais e vitaminas otimiza o sistema imunológico e reduz a chance de mastite (SARKER et al., 2013). Em pesquisa de Sarker et al. (2013), o escore de condição corporal (ECC) abaixo de 2,5 (escala de 1 a 5) foi associado à MSC.

A CCS pós-parto de primíparas é elevada e declina antes dos 30 dias após o parto, em seguida, a CCS aumenta linearmente ao longo da lactação em decorrência do risco de exposição aos patógenos (SEWALEM et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2015). Gonçalves et al. (2018) atribuíram o aumento de CCS no início da lactação ao balanço energético negativo e as defesas do úbere prejudicadas pelo estresse metabólico.

Manejo de ordenha

A IN 77/2018 do MAPA estabelece critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação do leite cru na propriedade rural (BRASIL, 2018b). As boas práticas oferecem um direcionamento à equipe técnica do laticínio, entretanto, a adoção dos manejos depende de motivação e capacitação dos produtores de leite (WINCK; THALER NETO, 2009).

Algumas pesquisas científicas identificaram fatores de risco associados ao aparecimento de MSC em regiões brasileiras (CARDOZO et al., 2015; DE ALMEIDA, 2020; SILVA et al., 2021). Na tabela 2 detalhamos alguns fatores de risco associados ao processo de ordenha.

Tabela 2 - Fatores de risco relacionados ao processo de ordenha que favorecem o aumento da Contagem de Células Somáticas no leite bovino.

Fator de risco	Referência
Linha de ordenha	CARDOZO et al., 2015; SILVA et al., 2021
Preparação da vaca	SANDRUCCI et al., 2007
Higiene de ordenha	SILVA et al., 2021
<i>Pré-dipping</i>	DUFOUR et al., 2012; DA COSTA; RAJALA-SCHULTZ; SCHUENEMANN, 2016
<i>Pós-dipping</i>	RAMÍREZ et al., 2014; DA COSTA et al., 2016
Secagem de tetos com papel toalha	DA COSTA; RAJALA-SCHULTZ; SCHUENEMANN, 2016
Manipulação animal com luva descartável	DUFOUR et al., 2012

Protocolo de descarte de animais com mastite recorrente	DUFOUR et al., 2012
Terapia de vaca seca	CARDOZO et al., 2015; SILVA et al., 2021
Vacina J5	SILVA et al., 2021
Manutenção do equipamento de ordenha	CARDOZO et al., 2015

O leite cisternal pode ser extraído pela pressão no esfíncter do teto, já o leite alveolar é deslocado para as cavidades cisternais pelo reflexo de ejeção que acontece durante a preparação da vaca para a ordenha (SANDRUCCI et al., 2007). A estimulação do teto em 12 a 15 segundos resulta na liberação de ocitocina e depois de 60 a 90 segundos as unidades de ordenha podem ser colocadas para aproveitar a ocitocina circulante.

A utilização de luvas descartáveis durante a preparação, limita a aderência bacteriana e reduz a transmissão de patógenos pelas mãos do ordenhador (DUFOUR et al., 2012). O *pré-dipping* (DUFOUR et al., 2012; DA COSTA et al., 2016), a secagem adequada dos tetos (Da Costa et al., 2016) e o *pós-dipping* (DA COSTA et al., 2016; RAMÍREZ et al., 2014) também asseguraram menores CCS.

Gouvêa et al. (2020) dividiram 40 rebanhos leiteiros brasileiros em grande (n=12), médio (n=13) e pequeno porte (n=15) para comparar a morfologia do teto, características e configurações do equipamento de ordenha, práticas de ordenha e a qualidade do leite de cada grupo. As propriedades de pequeno porte tiveram maior CCS e CPP, seguidas pelas de médio e grande porte. Vacas de rebanhos pequenos permaneceram mais tempo em sobreordena do que vacas de rebanhos grandes. Além disso, as práticas de ordenha desejáveis, como uso de luvas, uso de remoção automática das unidades de ordenha, uso de teteiras em boas condições, treinamento da equipe, não fazer aplicação exógena de ocitocina e redução do tempo de sobreordena foram mais frequentes em rebanhos grandes e médios, do que em rebanhos pequenos. O estudo destacou as dificuldades enfrentadas pelos pequenos produtores em manter e usar adequadamente seus equipamentos de ordenha, bem como em aplicar o conhecimento técnico necessário para realizar procedimentos de ordenha e, portanto, produzir leite com baixa CCS e CPP.

Equipamento de ordenha

Diante da necessidade de reunir informações voltadas ao equipamento de ordenha, manejo e sua relação com a saúde do úbere, foi produzido um artigo de revisão bibliográfica considerando a literatura nacional e estrangeira. Este compilado de informações está contextualizado no artigo de revisão bibliográfica disponível no capítulo II.

Estresse por calor

O estresse ocorre quando a vaca não consegue dissipar o calor produzido ou absorvido pelo corpo para manter o equilíbrio térmico corporal (BERNABUCCI et al., 2014). Uma das melhores formas de estimá-lo é pelo índice de temperatura e umidade relativa do ar (ITU), que representa os dois parâmetros em um único valor. Moretti et al. (2017) classifica o ITU em seis classes, que representam a severidade do desconforto com o índice, sendo considerado: seguro (<68), desconforto leve ($68 \leq \text{ITU} < 72$), desconforto ($72 \leq \text{ITU} < 75$), alerta ($75 \leq \text{ITU} < 79$), perigo ($79 \leq \text{ITU} < 84$) e emergência (≥ 84).

A partir do ITU de 75 e 72, as vacas já apresentam queda na produção de leite e dos componentes (proteína e gordura) respectivamente (BERNABUCCI et al., 2014). Essa menor produção de sólidos do leite pode estar relacionada ao menor consumo de matéria seca, como forma de reduzir o calor metabólico gerado pela fermentação ruminal (TAO et al., 2020).

Em estresse por calor a CCS do leite também eleva (IGONO et al., 1988; TAO et al., 2011; BERTOCCHI et al., 2014; CARDOZO et al., 2015). Para Bertocchi et al. (2014), o ITU de 57,3 representa o limite crítico, acima do qual a CCS começa elevar significativamente no leite de tanque. Além disso, a condição de calor e umidade criam condições para o aumento da carga de microrganismos e de vetores, que facilita o seu contato com o úbere (BERTOCCHI et al., 2014).

No trabalho de Bernabucci et al. (2015), a estação do ano influenciou o rendimento de todos os componentes do leite, à exceção da lactose. As menores concentrações de gordura e proteína no leite foram observadas no verão e as maiores no inverno, sendo intermediários na primavera. A porcentagem de amostras de leite com CCS acima de 400.000 céls/mL foi de 25% no verão e 10% no inverno e na primavera. No Brasil, o surgimento de novos casos de MSC também é maior no verão (dezembro a fevereiro) em relação à primavera (setembro a novembro) (CARDOZO et al., 2015).

Estudos mostram que o estresse por calor pode impactar vários processos biológicos, nesta condição o bovino emprega vários mecanismos fisiológicos e celulares para dissipar o calor e proteger as células contra danos (CARTWRIGHT et al., 2023). Esses mecanismos desviam energia para proteção e prolongam outros processos biológicos (CARTWRIGHT et al., 2023). Durante o estresse térmico, doenças como a mastite têm maior ocorrência (DAS et al., 2016), o que pode ser uma função do aumento da sobrevivência de patógenos durante esses períodos, da resposta imunológica prejudicada (CARTWRIGHT et al., 2023) ou pela limitação no consumo de alimento (TAO et al., 2011). Estas são algumas teorias usadas para justificar o efeito do estresse no aumento de CCS do leite.

A maioria do Sul do Brasil tem clima subtropical, com temperaturas médias anuais entre 18 e 21°C. O clima possui estações do ano bem definidas, com invernos frios e verões quentes. As chuvas são bem distribuídas, o que resulta em alta umidade relativa do ar ao longo do ano (WREGE et al., 2012). Em sistemas a pasto, as altas temperaturas e umidade favorecem o estresse por calor, que pode afetar a produção de leite, mas as informações sobre esse impacto ainda não são claras na literatura.

Algumas regiões agroclimáticas no Oeste e Sul de Santa Catarina foram classificadas com risco de estresse por calor por um a seis meses do ano. O mês mais crítico é janeiro, onde o índice de temperatura e umidade (ITU) permaneceu acima do limite mínimo de 68 por 70% do tempo. Entre novembro e março, mais de 40% do tempo nesses meses específicos o ITU permanece acima do limite tolerado pelos bovinos (CONCEIÇÃO; VIEIRA; MISZINSKI, 2023).

De acordo com Brad (2013) o estresse térmico em vacas pode elevar a frequência respiratória, com cerca de 80 a 120 respirações por minuto (rpm) em casos de estresse térmico moderado (ITU entre 72 e 79); 120 até 160 rpm em alto estresse térmico (ITU entre 80 e 89); e mais de 160 rpm em casos de estresse térmico severo (ITU acima de 90). A uma temperatura de 40°C, a ingestão de alimentos pode diminuir em até 40% e a produção de leite pode diminuir até 50%.

Com relação ao efeito do estresse por calor nas características físico-químicas do leite, a diminuição da estabilidade do leite em temperaturas mais elevadas já foi descrita por De Abreu (2015). Hauser et al. (2023) relataram que o estresse por calor aumenta o ponto de congelamento (PC) do leite além de reduzir o nitrogênio ureico do leite (NUL). Tao et al. (2018) e Weng et al. (2018) relataram que altas temperaturas, estresse e estresse oxidativo aumentam a permeabilidade vascular das glândulas mamárias, ocorrendo mais facilmente a precipitação do leite no teste de álcool (STUMPF et al., 2013).

Manejo, vias de transmissão e microbiologia do leite

De acordo com Reinemann (2019) o processo de ordenha deve seguir as seguintes etapas: 1) Fornecer ambiente limpo e de baixo estresse; 2) Manter a rotina operacional consistente durante o processo; 3) Verificar os primeiros jatos de leite e as características de úbere em busca de mastite; 4) Aplicar o *pré-dipping* eficaz; 5) Remover a sujidade e secar completamente os tetos até a sua base com toalha individual; 6) Conectar a unidade de ordenha de 1 a 4 minutos após o início da estimulação; 7) Ajustar as unidades para a melhor ordenhabilidade; 8) Cortar o vácuo quando a taxa de fluxo de leite cair para um nível mínimo e remover as unidades de ordenha e; 9) Aplicar o *pós-dipping* eficiente nos tetos.

Os principais patógenos envolvidos na mastite contagiosa são *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Streptococcus dysgalactiae* (SCHROEDER, 1997; BARKEMA et al., 2009), *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium bovis* (BARKEMA et al., 2009). A fonte primária de contaminação é o próprio úbere (SCHROEDER, 1997) e a forma de propagação acontece de quartos infectados para quartos ou vacas sadias (SCHROEDER, 1997).

Na mastite ambiental a fonte primária é o ambiente, sendo necessário minimizar a exposição do teto aos patógenos para ter o seu controle. Os principais patógenos envolvidos são os Coliformes (*Escherichia coli* (*E. coli*)), *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter aerogenes*), Esteptococos ambientais (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus bovis* e *Streptococcus dysgalactiae*), *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* (SCHROEDER, 1997; BRADLEY; GREEN, 2005).

Na revisão produzida com artigos científicos desenvolvidos no Brasil, o gênero *Streptococcus* spp. e suas espécies *S. agalactiae* e *S. uberis* foram descritos com maior frequência como agentes causadores de mastite. Em seguida, relataram o gênero *Staphylococcus* spp. e seus grupos (coagulase positiva e negativa), bem como a espécie *S. aureus*, gênero *Enterococcus* spp., além do gênero *Corynebacterium* spp. e *E. Coli* (DE ALMEIDA, 2020).

Outros trabalhos também relataram que o *S. agalactiae* e *S. aureus* são os principais agentes a serem erradicados devido ao seu efeito negativo na composição do leite, prejuízos à CCS e facilidade de transmissão (KEEFE, 2012). No entanto, esses microrganismos tem difícil controle porque as vacas infectadas são o reservatório de infecção (KEEFE, 2012).

Ramírez et al. (2014) identificaram que os principais agentes causadores de MSC na Colômbia foram o *S. agalactiae* (34,4%), *Corynebacterium* spp. (13,2%) e *S. aureus* (8,0%).

Os fatores associados à MSC foram raça Holandesa, maior paridade, DEL elevado e úbere sujo. Fatores associados à MSC causada por *S. agalactiae* foram os mesmos, além de ter sido associado à ordenha manual e *pós-dipping* inadequado.

Amostras sem crescimento bacteriano apresentam em média, 264.000 céls/mL sendo 50,0% dessas, até 24.000 céls/mL. Em amostras com isolamento de pelo menos um patógeno, a média da CCS chegou a 779.000 céls/mL, em 50,0% dessas, a CCS foi igual ou maior que 342.000 céls/mL (SOUZA et al., 2009). Entre os patógenos isolados, o principal responsável pela elevação foi *S. agalactiae*, com média de 1 520.000 céls/mL. O *S. aureus* e as demais espécies do gênero *Streptococcus* spp. foram responsáveis pela segunda e terceira maior elevação da CCS, com média da CCS de 966.000 céls/mL e 894.000 céls/mL. *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo apresentaram, em média, 400.000 céls/mL (SOUZA et al., 2009).

O *S. agalactiae* e o *S. aureus* aderem facilmente aos tecidos que revestem o interior da glândula mamária. A *E. coli* não adere, mas se multiplica rapidamente em quartos saudáveis. Inicialmente, as bactérias acometem os tecidos que revestem os grandes ductos coletores de leite e as cisternas. Em seguida, entram em pequenos ductos e áreas alveolares das porções ventrais da glândula (AKERS; NICKERSON, 2011).

Acredita-se que os agentes contagiosos são mais difíceis de ser erradicados, sobretudo o *S. aureus* (SCHROEDER, 1997; GARGOURI et al., 2014). Mesmo que a glândula mamária seja o local primário para o patógeno, ele também é encontrado nas superfícies da pele, nas narinas, na vulva e pode ser encontrado no ambiente, sendo difícil reduzir ou eliminar o reservatório de infecção (KEEFE, 2012). A infecção geralmente resulta em um aumento da CCS (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; GARGOURI et al., 2014), sendo menos percebido em relação à outros patógenos (KEEFE, 2012). A taxa de cura com antibioticoterapia é muito baixa durante a lactação, sendo necessária a linha de ordenha, e na medida do possível as vacas doentes devem ser consideradas como critério de descarte (SCHROEDER, 1997).

A fim de prevenir a mastite contagiosa, vários manejos são recomendados. Exemplo deles é a execução de linha de ordenha, adoção de *pós-dipping* e a desinfecção do equipamento entre os animais (CVETNIC et al., 2016). Durante a ordenha o canal do teto permanece parcialmente aberto por um curto período após a ordenha, nesta condição ele fica exposto a qualquer microrganismo (CVETNIC et al., 2016).

A presença de *E. coli* está relacionada a procedimentos inadequados de higiene do ambiente e dos tetos, portanto, o uso de *pré-dipping* associado a secagem individual dos tetos é fundamental para garantir a eliminação dos microrganismos antes de adentrarem no interior

do teto (OLIVEIRA et al., 2010). Dificilmente se consegue isolá-lo porque as bactérias ficam inviáveis aproximadamente 5 a 6 horas antes do aparecimento dos primeiros sintomas causados pela liberação da endotoxina (CVETNIC et al., 2016).

CONSEQUÊNCIA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA NO LEITE

Volume de leite produzido

A glândula mamária é constituída pelo estroma, tecido conjuntivo e adiposo, cuja função é fornecer estrutura de suporte, de suprimento sanguíneo, linfático e nervoso. Além disso é formada pelo parênquima, constituído pelas células epiteliais secretoras de leite. O alvéolo mamário é considerado a unidade básica de secreção do leite na glândula mamária. Cada alvéolo é composto por uma membrana basal, na qual se apoia a uma camada de células secretoras de leite. O alvéolo é circundado pelo suprimento sanguíneo e linfático que fornece os nutrientes precursores para a síntese do leite pelas células secretoras. A secreção dos componentes sólidos (principalmente lactose) estimula a migração de água do sangue para o lúmen (cavidade central, para armazenamento do leite), de forma a manter a pressão osmótica estável entre o sangue e o leite (SANTOS; FONSECA, 2019).

Quando ocorre uma infecção, os leucócitos se infiltram nos alvéolos e rompem *as tight junctions* para adentrar na célula e combater o processo infeccioso. O dano às células secretoras e às junções faz com que elas tenham menos efetividade. A síntese do leite é prejudicada pela lesão por apoptose ou necrose das células alveolares, que reduzem substancialmente em número e atividade (ZHAO; LACASSE, 2008; BOBBO et al., 2016).

A perda de produção de leite acompanha o aumento da CCS, mas depende do estágio de lactação e da paridade (HAGNESTAM-NIELSEN et al., 2009; CINAR et al., 2015; GONÇALVES et al., 2018; KUL et al., 2019). Vacas de alta CCS e segunda lactação deixam de produzir mais leite em relação às primíparas e a perda de leite também acompanhou a CCS. Adotando quatro intervalos (≤ 200.000 , > 200.000 e ≤ 500.000 , > 500.000 e ≤ 999.000 , e $\geq 1.000.000$ céls/mL), a perda foi de 2,67, 5,35 e 12,26% a partir do segundo intervalo de CCS, em relação às vacas com menos de 200.000 céls/mL (CINAR et al., 2015).

No Brasil, observou-se redução na produção de leite em função da CCS a partir de 12.400 céls/mL (GONÇALVES et al., 2018). Conforme o início (5 a 19 d), meio (110 a 124 d) e final da lactação (289 a 304 d), as primíparas perderam 0,68; 0,55 e 0,97 kg/d, as vacas de segunda lactação perderam 1,47; 1,09 e 2,45 kg/d e as de terceira lactação perderam 2,22; 1,13

e 2,65 kg/d (GONÇALVES et al., 2018). Quando o ponto de corte foi aumentado para 500.000 céls/mL a perda diária de leite elevou para 0,7 a 2,0 kg/d em primíparas e 1,1 a 3,7 kg/d em multíparas (HAGNESTAM-NIELSEN et al., 2009).

Proporção de células somáticas no leite

As vacas sadias apresentam maior representatividade de macrófagos em relação aos neutrófilos e linfócitos (MARQUES et al., 2016). Por sua vez, os úberes infectados por algum patógeno apresentam elevação da CCS do leite e alteração na proporção de cada um dos tipos de células presentes (KITCHEN, 1981). Ao iniciar a defesa imunológica celular, ocorre o aumento de neutrófilos na tentativa de atenuar o microrganismo invasor, neste caso também ocorre o aumento dos neutrófilos no leite (HUSSAIN et al., 2012; MARQUES et al., 2016). Este processo inflamatório danifica o tecido da glândula mamária e prejudica a qualidade do leite (Tabela 3).

Gordura

Entre os principais componentes, o percentual de gordura parece ser o menos influenciado pela MSC. Muitos trabalhos não encontraram diferenças entre o aumento de CCS e alterações no teor de gordura do leite (VIANNA et al., 2008; CINAR et al., 2015; BOBBO et al., 2016). Alguns autores relataram sua redução (BARBANO et al., 2006; OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; KUL et al., 2019) em função da lipase aumentada causar sua degradação (BARBANO et al., 2006) e aumento dos ácidos graxos livres (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007). Outras justificativas também são aceitas, como a de (KUL et al., 2019), em que a diminuição da síntese de gordura pode ser atribuída pela redução das células epiteliais da glândula mamária. De acordo com Kitchen (1981), em alguns casos em que a produção de leite é reduzida em maior grau do que a gordura é sintetizada, o seu percentual no leite mastítico pode aumentar.

Proteína

Os resultados para o percentual de proteína total do leite permanecem inconsistentes entre as pesquisas. A maior parte delas não observaram relações significativas entre CCS e proteína do leite e as demais garantiram redução ou aumento significativo. O efeito da mastite no teor de proteínas do leite é controverso devido a um efeito compensatório entre as frações

proteicas (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; LE MARÉCHAL et al., 2011). A proteólise da caseína e a diminuição da síntese das principais proteínas do soro, β -lactoglobulina (β -LG), a α -lactalbumina (α -LA), são compensadas por aumentos nos conteúdos de albumina sérica (BSA) e imunoglobulinas através das *tight junctions* (HAENLEIN et al., 1973). Apesar de Batavani; Asr; Naebzadeh (2007) não ter avaliado o percentual de proteína total do leite, eles encontraram a mesma relação de redução de β -LG, α -LA e pré-albumina, bem como o incremento de BSA e imunoglobulina.

Nas pesquisas em que as relações entre a CCS e o teor de proteína total no leite foram negativas, os autores justificam estes resultados na maior atividade proteolítica do leite, menor síntese de caseína pelas células epiteliais e aumento de permeabilidade das *tight junctions* (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; MOSLEHISHAD et al., 2010; CINAR et al., 2015; KUL et al., 2019).

Quando as pesquisas fizeram referência à outras frações proteicas do leite, os dados foram mais estáveis. Em um único experimento, Ogola; Shitandi; Nanua (2007) estudaram várias frações proteicas e concluíram que apesar da proteína, o nitrogênio total e nitrogênio não proteico do leite não variaram em função da CCS, o nitrogênio não caseínico se elevou, enquanto o nitrogênio caseínico foi diminuído devido ao aumento da proteólise.

Ao passo que a proteólise aumenta o percentual de caseína reduz e o NUL ou proteínas do soro aumentam (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; MOSLEHISHAD et al., 2010; CINAR et al., 2015). Esse aumento ocorre em função da CCS estar correlacionada com quantidades aumentadas de protease termoestável (plasmina) no leite. A alta atividade proteolítica também pode ser devido à protease liberada pelos neutrófilos polimorfonucleares, o que leva a uma diminuição na proporção relativa de algumas frações de caseína (α - e β -caseínas) juntas (MARIANI et al., 2022). Outros autores sugerem que a proteína do leite de vacas com MSC aumenta (KITCHEN, 1981; SHUSTER et al., 1991). Shuster et al. (1991) atribui esta característica ao influxo de proteínas séricas (por exemplo, albumina sérica) no leite.

Lactose

A lactose é um dos componentes mais estudados (Tabela 3) e a sua redução tem sido associada com o aumento do CCS do leite (KITCHEN, 1981; SHUSTER et al., 1991; BRUCKMAIER; ONTSOUKA; BLUM, 2004; LEITNER et al., 2007; ALESSIO et al., 2016). Em contrapartida, a lactose encontra-se aumentada no sangue (LEITNER et al., 2004) e na urina (SHUSTER et al., 1991). Endotoxinas de microrganismos e mediadores inflamatórios causam

aumento da permeabilidade das *tight junctions* entre as bordas apicais das células do epitélio alveolar (CAPUCO et al., 2003). Em casos de MSC a permeabilidade é parcialmente mantida, sendo agravada conforme o aumento da CCS. A maior permeabilidade faz com que a lactose extravase do leite para o sangue, reduzindo o seu percentual no leite (SHUSTER et al., 1991).

Leitner et al. (2007) argumentou que a menor concentração de lactose em vacas com MSC foi relacionada à conversão de plasminogênio em plasmina. Essa conversão causa a liberação de β -caseína 1-28, que tem a capacidade de bloquear canais de potássio, reduzindo assim a liberação de lactose no lúmen dos alvéolos mamários (LEITNER et al., 2004). A lactose do leite também pode ser utilizada pelos patógenos como um substrato nutricional (BLUM et al., 2008). A glicose é o principal substrato para a síntese de lactose, durante a inflamação ela é redirecionada para estimular o sistema imunológico em detrimento da produção de leite ou redução do fluxo sanguíneo (MARIANI et al., 2022; KUL et al., 2019).

No outono de uma região subtropical do Brasil, amostras de leite tiveram menores níveis de lactose do que aquelas coletadas na primavera em detrimento às variações nutricionais (ALESSIO et al., 2016). O baixo nível de lactose resultou das variações climáticas, quantidade e qualidade insuficientes de forragem e na primavera ocorre abundância de gramíneas, especialmente *Lolium multiflorum* e *Avena* spp. (NORO et al., 2006). O estresse por calor também leva a diminuição no consumo de alimento e isto pode desencadear um aporte insuficiente de nutrientes para síntese de lactose do leite.

A lactose é o principal componente osmoticamente ativo no leite de quartos mamários saudáveis, a sua concentração só pode ser reduzida se for compensada pelo influxo de eletrólitos transportados pelo sangue (BRUCKMAIER; ONTSOUKA; BLUM, 2004). O equilíbrio osmótico da membrana é controlado pela lactose e pelos íons difusíveis, e geralmente existe uma relação inversa entre a concentração de lactose e os minerais do leite (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007). Quando o teor de lactose reduz, há maior aporte de sódio (Na) e cloro (Cl) para o leite e redução nos teores de potássio (K) e cálcio (Ca). Ogola; Shitandi; Nanua (2007) ressaltam que a maior parte do Ca do leite está associado à caseína. As concentrações reduzidas de caseína podem explicar os níveis mais baixos de Ca em animais acometidos por mastite. O Na é o principal substituto osmótico da lactose no leite com mastite quando a barreira sangue-leite é alterada durante MSC (COSTA et al., 2019).

Baixa acidez titulável e alto pH do leite

A IN 76 (BRASIL, 2018a) estabelece os requisitos para a acidez titulável normal do leite cru refrigerado, a qual deve permanecer entre 0,14 a 0,18 g de ácido lático por 100 mL ou 14 a 18°D. O leite recém ordenhado apresenta-se ligeiramente ácido em decorrência da acidez natural e sua origem vem dos componentes normais, como albumina, citratos, dióxido de carbono, caseínas e fosfatos (GARGOURI et al., 2014). Vacas com MSC possuem níveis mais elevados de citrato e bicarbonato, os quais podem alcalinizar o leite (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007).

Vacas em estresse por calor também podem ter alterações nas frações proteicas do leite, sendo que o teor de α -caseína e β -caseína diminuem, os quais são ricos em grupos fosfato, sendo os constituintes ácidos das micelas de caseína. Assim, seu menor teor no leite pode explicar o menor conteúdo de P, maior pH e menor acidez titulável, comumente registrada durante o verão. A fosforilação da α -caseína e β -caseína necessita da presença do fosfato de ATP, sendo significativamente prejudicado em condições de déficit de energia. Além disso, supõe-se que o menor teor de α e β -caseína no verão podem ser pelo menos parcialmente devido à redução do aporte de energia e proteína via alimentação (BERNABUCCI et al., 2015).

No trabalho de Arruda Junior (2018), a baixa acidez titulável foi associada a propriedades com desbalanceamento de dieta, com ITU, CCS e DEL (184,79 dias) elevados. A literatura aponta dados estáveis de que o aumento de CCS provoca alcalinização do leite, comprovada pela elevação do pH (HAENLEIN et al., 1973; BATAVANI; ASR; NAEBZADEH, 2007; OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; VIANNA et al., 2008; MOSLEHISHAD et al., 2010; BOBBO et al., 2016). No entanto, o efeito comprovado pela redução da acidez titulável ocorreu apenas no experimento de (MOSLEHISHAD et al., 2010).

Vacas saudáveis possuem pH e a acidez titulável entre 6,5 e 6,7 e 14 a 17 graus Dornic (°D), respectivamente. Entretanto, em vacas com mastite esses valores são de mais baixa acidez e pH mais elevados (MOSLEHISHAD et al., 2010). Vianna et al. (2008) pesquisaram o efeito da baixa (< 200.000 céls/mL) e alta (> 700.000 céls/mL) CCS na composição do leite cru e além do pH elevado (6,85 vs. 6,76), encontrou-se menor lactose (4,53 vs. 4,69%) em vacas com CCS elevada.

Na pesquisa de Gargouri et al. (2014) a acidez do leite não apresentou correlação com a CCS do leite de tanque. Todavia, foi encontrada grande amplitude nos resultados, entre 98.000 e 2 499.000 céls/mL para CCS e acidez titulável entre 15 e 29°D. Para Li; Ye; Singh (2019), o pH do leite apresentou diferentes tendências sazonais durante os dois anos de pesquisa (2016-

2017) e o seu pH correlacionou-se positivamente com a CCS do leite. A redução da caseína também pode ser responsável pelo aumento do pH do leite com alta CCS (BOBBO et al., 2016). Entretanto, mais pesquisas são necessárias para melhor entender a relação entre a elevada CCS e a acidez titulável, sobretudo em sistemas com vacas em pastejo oriundas de regiões subtropicais.

Estabilidade do leite ao teste do álcool

A precipitação do leite ao teste do álcool com acidez acima de 14 ou abaixo de 18°D determinam a instabilidade ao teste. Para assegurar a comercialização, o teste do álcool verifica a estabilidade ainda na propriedade e na plataforma de descarregamento da indústria (MARQUES et al., 2007). A IN 76 regulamenta que ele seja comercializado com estabilidade à graduação mínima de 72% (BRASIL, 2018a). Amostras estáveis a graduações superiores são de melhor qualidade, por outro lado, as amostras instáveis na graduação mínima não possuem autorização para industrialização.

Da mesma forma que a composição do leite, a estabilidade não é estudada isoladamente. Ela geralmente se correlaciona com outros indicadores físicos, químicos ou sanitários. No trabalho de Machado et al. (2017), a baixa estabilidade foi associada à alta acidez, baixo pH e alta CPP do leite. Por outro lado, Gargouri et al. (2014) não encontraram correlação entre a estabilidade do leite com a acidez, densidade, gordura e sólidos totais do leite. Mas houve correlação positiva com o teor de cloreto, teor de minerais, condutividade elétrica e CCS do leite.

Outros trabalhos mostraram relações significativas entre a baixa estabilidade e a redução de lactose (MARQUES et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2013; MACHADO et al., 2017), redução de caseína (DE OLIVEIRA et al., 2013), aumento de gordura (MARQUES et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2013), aumento (LI; YE; SINGH, 2019) ou redução de proteína (MACHADO et al., 2017), aumento (LI; YE; SINGH, 2019) ou redução de Ca (FAGNANI; BELOTI; BATTAGLINI, 2014), aumento da razão entre Ca e P inorgânico (LI; YE; SINGH, 2019), força iônica (CHAVEZ et al., 2004), aumento de K (CHAVEZ et al., 2004; Fagnani; Beloti; Battaglini, 2014), aumento de P e redução de fosfato (FAGNANI; BELOTI; BATTAGLINI, 2014). A literatura mostra que o aumento de Na, Cl e K no leite influenciam na força iônica e predispõem à perda de estabilidade (CHAVEZ et al., 2004).

Por outro lado, algumas relações ainda não estão totalmente esclarecidas. Alguns autores relataram que o aumento de CCS não interfere na perda de estabilidade (FAGNANI;

BELOTI; BATTAGLINI, 2018; GARGOURI et al., 2014; LI; YE; SINGH, 2019), outros observaram relações significativas (DE OLIVEIRA et al., 2013; MACHADO et al., 2017) e até mesmo relações contrárias, em que a baixa CCS causa perda de estabilidade (CHAVEZ et al., 2004). Contudo, Machado et al. (2017) comparou seus resultados com os de Chavez et al. (2004) e concluiu que a relação negativa entre CCS e estabilidade do leite de (MACHADO et al., 2017) pôde ser justificada pelo desequilíbrio salino, pois 51,6% das amostras apresentaram CCS superior a 600.000 céls/mL, em contraste com Chavez et al. (2004), que não analisaram leite com mais de 500.000 céls/mL.

No trabalho de Li; Ye; Singh (2019), a estabilidade foi menor no final (72,1%), em relação ao início (76,1%) e meio (77,9%) da lactação. A baixa estabilidade também foi explicada pela escassez de alimentos (ração, silagem e pastagem) ou baixa qualidade causada pelo excesso de calor, ou falta de chuvas (MACHADO et al., 2017; VOGES et al., 2018). Em contrapartida, quanto maior o aporte nutricional, principalmente energético, maior será a estabilidade do leite (WERNCKE et al., 2016).

As deficiências nutricionais e o estresse por calor, de modo isolado ou em conjunto, são preponderantes na perda de estabilidade (VOGES et al., 2018). Em consonância, Fagnani; Beloti; Battaglini (2014) encontraram que a alcalose metabólica compensada, comum no verão de regiões subtropicais, foi o distúrbio metabólico mais prevalente associado à baixa estabilidade.

Tabela 3 - Consequências do aumento da Contagem de Células Somáticas no leite bovino.

Componentes do leite													Referências
Proteína (%)	Sólidos totais (%)	SNG (%)	Proteínas do Soro	Caseína	Índice de proteólise	Gordura (%)	Lactose (%)	K	Cl	Na	Ca	pH	
NI	NI	-	-	-	-	NI	reduz	-	-	-	-	aumento	VIANNA et al., 2008
NI	-	-	NI	reduz	-	NI	reduz	-	-	-	-	aumento	BOBBO et al., 2016
NI	-	-	-	reduz	aumenta	-	reduz	reduz	aumenta	aumenta	reduz	reduz	OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007
NI	-	-	-	-	-	aumenta	reduz	NI	aumenta	aumenta	NI	-	BRUCKMAIER; ONTSOUKA; BLUM, 2004
reduz	Reduz	reduz	-	-	-	reduz	reduz	-	-	-	-	-	EL-TAHAWY; EL-FAR, 2010
NI	NI	reduz	-	-	aumenta	NI	reduz	-	-	-	-	aumenta	MOSLEHISHAD et al., 2010
aumenta	-	reduz	-	-	-	-	reduz	-	-	-	-	-	ARRUDA et al., 2019
NI	-	-	aumenta	reduz	-	-	-	-	-	-	-	aumenta	HAENLEIN et al., 1973
-	-	-	-	-	-	-	-	reduz	aumenta	aumenta	reduz	aumenta	BATAVANI et al., 2007
	NI					aumenta			aumenta				GARGOURI et al., 2014
aumenta	aumenta	-	-	-	-	NI	reduz	-	-	-	-	-	CINAR et al., 2015
reduz	-	reduz	-	-	-	reduz	reduz	-	-	-	-	-	KUL et al., 2019

NI = Não influenciado; - = relação não apresentada

Crioscopia do leite

O índice crioscópico indica o PC do leite é utilizado para detectar fraudes pela adição de água. O PC deve estar entre -0,530°H e -0,550°H, o que corresponde a -0,512°C a -0,531°C (Brasil, 2018a). Valores mais altos (<-0,512°C; próximos de zero) indicam adição de água e valores mais baixos (>-0,531°C; mais afastados de zero) indicam maior quantidade de solutos. Devido à importância desta característica, a IN 76 considera fraude os valores fora do padrão aceitável (BRASIL, 2018a).

No trabalho de Costa et al. (2019) foram estudadas as relações entre o PC e a composição do leite. De modo geral, amostras de leite com maiores PC apresentaram maiores teores de Na. Esperava-se que as vacas com maior PC tivessem associações genéticas com Na e CCS, no entanto, as associações foram moderadas e nulas, respectivamente.

Hanuš et al. (2010) correlacionaram o PC com sólidos totais do leite (-0,50), proteína verdadeira (-0,43), proteína do soro (-0,47), gordura (-0,46), lactose (-0,35), ácido cítrico do leite (0,47) e contagem de células somáticas (-0,36). A diminuição de lactose é substituída por íons salinos (especialmente Na⁺ e Cl⁻), os quais mantém a pressão osmótica e reduzem o PC do leite.

A pesquisa de Kedzierska-Matysek et al. (2011) não indicou efeito significativo da estação no PC do leite, enquanto o estudo de Brzozowski; Zdziarski (2005) observou que o PC do leite era mais alto no outono-inverno (durante o tempo frio) e substancialmente mais baixo durante a época de pastoreio em que as temperaturas são mais elevadas.

O PC também varia em função do estágio de lactação, chegando a -0,5309°C no início (5 a 35d) da lactação, o que indica maior aguagem, alcança o limite de -0,5318°C no meio da lactação (126 a 155d) e reduz para -0,5339°C até o final da lactação (276 a 305d) em função da elevação de solutos. A variação do PC foi associada a alta produção de leite no início da lactação (28,05 a 29,48 kg/d) até os 95 dias e reduziu lentamente até o final da lactação. A diminuição do PC foi associada ao aumento da produção e do teor de proteína do leite. O teor de proteína do leite se comportou inversamente ao volume de leite produzido e se correlacionou negativamente ao PC (OTWINOWSKA-MINDUR; PTAK; GRZESIAK, 2017).

Teores de cloretos do leite

A avaliação dos cloretos é feita para identificar fraudes, visto que a sua adição se destina a “mascarar” a adulteração pela adição de água permitindo a correção da densidade e a crioscopia do leite. De acordo com Arruda Junior (2018), o resultado positivo nem sempre indica fraude por adição de cloretos à amostra. Muitas vezes pode significar que a concentração de cloretos é superior à quantidade normalmente encontrada em animais sadios (0,08% a 0,1%).

O seu teor depende da alimentação, estado de hidratação, raça, espécie, número de lactações, estágio de lactação, sazonalidade, além de alterações patológicas (ARRUDA JUNIOR, 2018). Variações na concentração de cloretos no leite em função do estágio da lactação foram observadas por Raimondo et al. (2009) ao avaliarem leite de vacas Jersey a partir de 12 horas após o parto até 30 dias de lactação, encontrando concentrações máximas de cloretos no período colostral ($1,54 \pm 0,29$ g/L). A partir do segundo dia de lactação, houve uma diminuição significativa que se estendeu até 30 dias de lactação.

Outra característica que eleva o teor de cloretos do leite é o aumento de CCS do leite (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; GARGOURI et al., 2014). Conforme as classificações de CCS, o teor de cloreto pode ser considerado como: <1,10, entre 1,10 e 1,21 e > 1,21 g/L para amostras de leite oriundas de animais saudáveis, com MSC e mastite clínica, respectivamente. A infecção causa danos nas células epiteliais da glândula mamária e aumento da sua permeabilidade, facilitando a transferência de Na e Cl do sangue ao leite (KITCHEN, 1981). Também ocorre redução no Ca, K e pH do leite.

Aumentos entre 30 e 100% na concentração de cloretos podem ocorrer quando vacas são mantidas a 29 e 32°C, quando a concentração de cloretos aumenta para compensar a diminuição de lactose, sendo a variação na proporção cloretos/lactose um mecanismo fisiológico para manter a pressão na glândula mamária (BERNABUCCI; CALAMARI, 1998). Assim, a reação de amostras de leite positivas para cloreto, especialmente no verão, tem sido uma preocupação em diversas indústrias de laticínio.

Inúmeras características relacionadas ao fator animal e de manejo favorecem a transmissão de patógenos entre um animal a outro do rebanho ou até mesmo entre os quartos mamários de um mesmo animal. Além disso, as condições de ambiente em que o animal permanece pode favorecer a transmissão de patógenos relacionados a mastite ambiental. A contagem de células somáticas abaixo de 200.000 céls/mL de leite representa

uma glândula mamária saudável e valores acima disso podem estar relacionados a um desafio sanitário causado pela mastite. Sua elevação prejudica a síntese do volume, dos componentes e as propriedades físicas do leite de vacas leiteiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKERS, R. M.; NICKERSON, S. C. Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 4, p. 275–289, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9231-3>. Acesso em: 17 ago. 2021.
- ARRUDA JUNIOR, L. C. **Variáveis relacionadas a não conformidades em qualidade do leite: baixa acidez titulável e baixo teor de extrato seco desengordurado**. 2018. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.
- ARRUDA, L. C. *et al.* Variation in the content of defatted dry extract in cooling tanks milk samples of dairy farms. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 203–216, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n1p203>. Acesso em: 13 ago. 2022.
- BARBANO, D. M.; MA, Y.; SANTOS, M. V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 15–19, 2006. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72360-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72360-8). Acesso em: 12 jan. 2023.
- BARKEMA, H. W. *et al.* Invited review: The role of contagious disease in udder health. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 4717–4729, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19762787/>. Acesso em: 22 fev. 2022.
- BATAVANI, R. A.; ASRI, S.; NAEBZADEH, H. The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 8, n. 3, p. 205–211, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228771166>. Acesso em: 28 jun. 2021.
- BERNABUCCI, U. *et al.* Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1815–1827, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8788>. Acesso em: 27 jan. 2022.
- BERNABUCCI, U. *et al.* The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 1, p. 471–486, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6611>. Acesso em: 27 jan. 2022.
- BERNABUCCI, U.; CALAMARI, L. Effects of heat stress on bovine milk yield and composition. **Zootecnica e Nutrizione Animale**, n. 6, 1998. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/288255014>. Acesso em: 22 jan. 2022.

BERTOCCHI, L. *et al.* Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. **Animal**, v. 8, n.4, p. 667–674, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1751731114000032>. Acesso em: 22 out. 2023.

BLUM, S. *et al.* Identification of a bovine mastitis Escherichia coli subset. **Veterinary Microbiology**, v. 132, n. 1-2, p. 135-148, 2008.

BOBBO, T. *et al.* The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield, and curd nutrient recovery. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.7, p. 5104–5119, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10512>. Acesso em: 27 set. 2021.

BRAD, W. Milcherzeugung unter den Bedingungen des Klimawandels. Möglichkeiten zur Vermeidung oder Minderung des Hitzestresses, **Bericht ueber Landwirtschaft-Zeitschrift fuer Agrarpolitik and Landwirtschaft**, v. 91, ed. 3, 20p. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.12767/buel.v91i3.34>. Acesso em: 16 nov. 2023.

BRADLEY, A.; GREEN, M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. **In Practice**, v. 27, p. 310–315, 2005. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1136/inpract.27.6.310>. Acesso em: 22 out. 2023.

BRASIL, Instrução Normativa n. 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... Diário Oficial da União, Brasília: seção 1, p.13, Brasília, DF, 20 set. 2002.

BRASIL, Instrução Normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e de seu transporte a granel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 29 dez. 2011.

BRASIL, Instrução Normativa n. 76, de 26 de novembro de 2018^a. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/42ontente/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em: 03 jun 2019.

BRASIL. Instrução Normativa n. 77, de 26 de novembro de 2018b. Critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887. Acesso em: 03 jun. 2019.

BRZOZOWSKI, P.; ZDZIARSKI, K. Freezing point of udder-milk in milk producing cows. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 61, p. 934–936, 2005.

BRUCKMAIER, R. M., ONTSOUKA, C. E.; BLUM, J. W. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. **Medicine Veterinary**, v. 49, n. 8, p. 283–290, 2004.

BUSANELLO M. *et al.* Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6545-6553, 2017. Disponível em: [10.3168/jds.2016-12042](https://doi.org/10.3168/jds.2016-12042). Acesso em: 17 dez. 2021.

CAPUCO, A. V. *et al.* Lactation persistency: Insights from mammary cell proliferation studies. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 3, p. 18-31, 2003.

CARDOZO, L. L. *et al.* Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7675–7685, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8913>. Acesso em: 17 jan. 2020.

CARTWRIGHT, S. L., SCHMIED, J., KARROW, N., MALLARD, B. A. Impact of heat stress on dairy cattle and selection strategies for thermotolerance: a review. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 01-13, 2023.

CONCEIÇÃO, G.; VIEIRA, H. J.; MISZINSKI, J. Índice de estresse calórico para bovinos de leite em Santa Catarina. Anais do 12º Simpósio Brasil Sul de Bovinocultura de Leite, p. 72-74. 2023. Disponível em: https://nucleovet.com.br/anais/anais_bovinocultura_2023.pdf. Acesso em: 16 nov. 2023.

CHAVEZ, M. S. *et al.* Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 2, p. 201–206, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022029904000172>. Acesso em: 20 set. 2020.

CHASE, C. *et al.* **Bovine immunity: making immunology and vaccinology come alive**. Servet editorial, 237p. Espanha, 2022.

CINAR, M. *et al.* Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 1, p. 105–108, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3646>. Acesso em: 17 jan. 2020.

COSTA, A. *et al.* Genetic relationships of lactose and freezing point with minerals and coagulation traits predicted from milk mid-infrared spectra in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 8, p. 7217–7225, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15378>. Acesso em: 23 dez. 2022.

CVETNIĆ, L. *et al.* Microbiological monitoring of mastitis pathogens in the control of udder health in dairy cows. **Slovenian Veterinary Research**, v. 53, p. 131–140, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/310615852>, Acesso em: 24 dez. 2022.

DA COSTA, L. B.; RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SCHUENEMANN, G. M. Management practices associated with presence of *Staphylococcus aureus* in bulk tank milk from Ohio dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 2, p. 1364–1373, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9870>. Acesso em: 22 jan. 2021.

DAMM, M. *et al.* Differential somatic cell count-A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. **Journal of dairy science**, v. 100, p. 4926–4940, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030217302813>. Acesso em: 15 nov. 2023.

DAS, R. *et al.* Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: a review. **Veterinary World**, v. 9, p. 260–268, 2016. Disponível em: <https://www.veterinaryworld.org/Vol.9/March-2016/7.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2023.

DE ABREU, A. S. **Fatores nutricionais e não nutricionais que afetam a composição do leite bovino.** 2015. Tese (Programa de Pós-graduação em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

DE ALMEIDA, T. V. **Fatores de risco para mastite bovina e avaliação fenotípica de resistência antimicrobiana.** 2020. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.

DE OLIVEIRA, C. A. F. *et al.* Composição, contagem de células somáticas e frações de caseína em leites instáveis ao etanol. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 35, n. 1, p. 153–156, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v35i1.11481>. Acesso em: 23 jan. 2022.

DE PINHO MANZI, M. *et al.* Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 430–434, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.05.010>. Acesso em: 27 jan. 2022.

DUFOUR, S. *et al.* Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1283–1300, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4711>. Acesso em: 27 jan. 2022.

EL-TAHAWY, A. S.; EL-FAR, A. H. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 3, p. 463–469, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00597.x>. Acesso em: 22 jul. 2022.

FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 398–402, 2014.

FARIA, P. F. *et al.* Unstable milk occurrence in the semi arid region and its relation with the physico chemical characteristics of milk. **Livestock Research for Rural Development**, v. 29, n. 1, p. 1–8, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/312071150>. Acesso em: 23 jul. 2022.

GARGOURI, A. *et al.* Evaluation of Tunisian milk quality in dairy herds: Inter-relationship between chemical, physical and hygienic criteria. **Animal Science Journal**, v. 85, n.6, p. 714–721, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/asj.12180>. Acesso em: 01 ago. 2022.

GONÇALVES, J. L. *et al.* Milk losses associated with somatic cell counts by parity and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n.5, p. 4357–4366, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13286>. Acesso em: 01 ago. 2022.

GONÇALVES, J. L. *et al.* Effect of bovine subclinical mastitis on milk production and economic performance of Brazilian dairy farms. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 60, p. 1-10, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2023.208514>. Acesso em: 15 nov. 2023.

GOUVÊA, F. L. R. A descriptive study of teat morphology, milking machine characteristics, and milking practices in a sample of Brazilian dairy herds. **Livestock Science**, v. 241, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104196>. Acesso em: 02 ago. 2022.

HAENLEIN, G. F. W.; SCHULTZ, L. H.; ZLKAKIS, J. P. Composition of proteins in milk with varying leucocyte contents. **Journal of Dairy Science**, v. 56, n. 8, p. 1017–1024, 1973.

HAGNESTAM-NIELSEN, C. *et al.* Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3124–3133, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1719>. Acesso em: 07 jul. 2021.

HAUSER *et al.* Effect of heat stress and solar radiation on dry matter intake, biochemical indicators, production, and quality of Holstein and Jersey cows' milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.75, n.4, p.721-734, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12884>. Acesso em: 21 nov. 2023.

HUSSAIN, R. M.; TARIQ, J.; KHAN, A.; KAUSAR, R. Mastitis and associated Histopathological consequences in the context of udder morphology. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 14, p. 947–952, 2012.

IWASAKI, A.; MEDZHITOVA, R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. **Science**, v. 327, p.291-295, 2010.

KĘDZIERSKA-MATYSEK, M. *et al.* The effects of breed and other factors on the composition and freezing point of cow's milk in Poland. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64 n. 3, p. 336-342, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0307.2011.00682.x> Acesso em: 02 nov. 2023.

KEEFE, G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 28, n. 2, p. 203–216, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.010>. Acesso em: 15 jul. 2022.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of Dairy Science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v. 48, p. 167-188, 1981.

KUHN, N. J.; CARRICK, D. T.; WILDE, C. J. Lactose synthesis: the possibilities of regulation. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 2, p. 328–336, 1980. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82934-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82934-1). Acesso em: 12 set. 2022.

KUL, E. *et al.* The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. **Veterinarski Arhiv**, v. 89, n. 2, p. 143–154, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0168>. Acesso em: 15 jul. 2022.

LEITNER, G. *et al.* Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 1, p. 46-52, 2004.

LEITNER, G. *et al.* Aetiology of intramammary infection and its effect on milk composition in goat flocks. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 2, p. 186-193, 2007.

LE MARÉCHAL, C. *et al.* Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products-A review. **Dairy Science and Technology**, v. 91, n. 3, p. 247–282, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0009-6>. Acesso em: 13 jan. 2022.

LI, S.; YE, A.; SINGH, H. Seasonal variations in composition, properties, and heat-induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 9, p. 7747–7759, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16685>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MACHADO, S. C. *et al.* Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 4, p. 340–347, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000400010>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MARIANI, E. *et al.* Summer effect of total and differential somatic cell count on yield, composition and predicted coagulation properties from individual dairy cows, **International Journal of Dairy Technology**, v. 75, p. 298-307, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12857>. Acesso em: 15 nov. 2023.

MARQUES, A. P. L. *et al.* Contagem diferencial de células no leite de vacas com mastite subclínica com as colorações de May-Grünwald Giemsa e Gram. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, n. 2, p. 123–127, 2016.

MARQUES, L. T. *et al.* Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 13, n. 1, 91–97, 2007.

MEIN, G. A. *et al.* Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. non-infectious factors. . . Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, NMC/AABP, Vancouver, 5, 351–374, 2001.

MORETTI, R.; BIFANI, S.; CHESSA, S.; BOZZI, R. Heat stress effects on Holstein dairy cows' rumination. **Animal**, v. 11, p. 2320–2325, 2017.

MOSLEHISHAD, M.; EZZATPANAH, H.; AMINAFSHAR, M. Chemical and electrophoretic properties of Holstein cow milk as affected by somatic cell count. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 4, p. 512–515, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00616.x>. Acesso em: 19 jan. 2021.

NASR, M. A. F.; EL-TARABANY, M. S. Impact of three THI levels on somatic cell count, milk yield and composition of multiparous Holstein cows in a subtropical region. **Journal of Thermal Biology**, v. 64, p. 73–77, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.01.004>. Acesso em: 05 jan. 2021.

NEIJENHUIS, F. *et al.* The effects of machine milking on teat condition. **ICAR Technical Series**, v. 7, p. 33–40, 2001.

NORO, G. *et al.* Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.

ODORČIĆ, M. *et al.* Review: Milking machine settings, teat condition and milking efficiency in dairy cows. **Animal**, v. 13, n. 1, p. 94–99, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1751731119000417>. Acesso em: 07 jul. 2022.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, n. 3, p. 237–242, 2007.

OLIVEIRA, C. S. *et al.* Cow-specific risk factors for clinical mastitis in Brazilian dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 1, n. 121, p. 297-305. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26302854/>. Acesso em: 02 nov. 2023.

OTWINOWSKA-MINDUR, A.; PTAK, E.; GRZESIAK, A. Factors affecting the freezing point of milk from Polish Holstein-Friesian cows. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 3, p. 873–885, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0088>. Acesso em: 10 jan. 2022.

OVIEDO-BOYSO, J. *et al.* Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **Journal of Infection**, v. 54, n. 4, p. 399–409, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.06.010>. Acesso em: 27 jun. 2022.

RAIMONDO, R. F. S. *et al.* Teores de cloretos, lactose e índice cloretos/lactose na secreção láctea de bovinos da raça Jersey no primeiro mês da lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 259–265, 2009.

RAMÍREZ, N. F. *et al.* Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4141–4150, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6815>. Acesso em: 22 out. 2023.

REINEMANN, D. J. **Milking machines and milking parlors**. In Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering, v. 3, pp. 225–243. Elsevier. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00010-5>. Acesso em: 17 out. 2023.

SANDRUCCI, A. *et al.* Factors affecting milk flow traits in dairy cows: Results of a field study. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, p. 1159–1167, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71602-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71602-8). Acesso em: 29 set. 2022.

SANTOS, C. A. *et al.* Efeito da ordem de parto e do estádio de lactação na frequência de mastite bovina em rebanhos mestiços de Holandês e Gir. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 3, p. 18–25, 2018.

SANTOS, M. V. dos; FONSECA, L. F. L. da. **Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções**. [s.1]. 1. ed. 301 p. Pirassununga, 2019.

SARKER, S. C. *et al.* Prevalence and risk factors of subclinical mastitis in lactating dairy cows in north and south regions of Bangladesh. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1171–1176, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0342-7>. Acesso em: 23 jan. 2022.

SCHROEDER, J. W. Mastitis Control Programs Bovine Mastitis and Milking Management, 1997. Disponível em: <https://library.ndsu.edu/ir/bitstream/handle/10365/5362/as1129.pdf?sequence=1>. Acesso em: 03 jan. 2024.

SCHWARZ, D. *et al.* Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 5033-5044, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4348>. Acesso em: 15 nov. 2023.

SEWALEM, A. *et al.* Analysis of the relationship between somatic cell score and functional longevity in Canadian dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 9, p. 3609–3614, 2006. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72400-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72400-6). Acesso em: 10 jan. 2022.

SHARMA, N.; SINGH, N. K.; BHADWAL, M. S. Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 3, p. 429-438, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10233>. Acesso em: 12 fev. 2022.

SHUSTER, D. E. *et al.* Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 11, p. 3763–3774, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78568-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78568-8). Acesso em: 24 jan. 2022.

SILVA, A. C.; LAVEN, R.; BENITES, N. R. Risk factors associated with mastitis in smallholder dairy farms in Southeast Brazil. **Animals**, v. 11, n. 7, p. 2089-2099, 2021. Disponível em: [10.3390/ani11072089](https://doi.org/10.3390/ani11072089). Acesso em: 17 jan. 2022.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DE ROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n.8, p. 1851–1865, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76121-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76121-6). Acesso em: 12 jul. 2022.

SORDILLO, L. M. Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 507-523, 2018.

SOUZA, G. N. *et al.* Somatic cell counts variation in dairy cows according to mastitis pathogens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n.5, p. 1015–1020, 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/262445172>. Acesso em: 22 set. 2022.

STUMPF, M. T. *et al.* Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, p. 1137–1142, 2013.

TAO, S. *et al.* Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 12, p. 5976–5986, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4329>. Acesso em: 13 set. 2022.

TAO, S. *et al.* Symposium review: The influences of heat stress on bovine mammary gland function 1. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 5642–5654, 2018.

VIANNA, P. C. B. *et al.* Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 5, p. 1743–1750, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0639>. Acesso em: 12 out. 2023.

VOGES, J. G. *et al.* Relationship between farm structure and animal feed in unstable non-acid milk occurrence in Planalto Norte of Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-50399>. Acesso em: 12 out 2023.

WENG, X. et al. Effects of heat stress and dietary zinc source on performance and mammary epithelial integrity of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 2617–2630, 2018.

WERNCKE, D. *et al.* Qualidade do leite e perfil das propriedades leiteiras no sul de Santa Catarina: Abordagem multivariada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p. 506–516, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8396>. Acesso em: 17 jul. 2022.

WINCK, C. A.; THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 8, n. 2, p. 164–172, 2009.

WREGE, M. S. *et al.* (2012). Atlas climático da região Sul do Brasil: estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Vol. 2). www.embrapa.br/liv

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. **Journal of animal science**, v. 86, n. 13, p. 57–65, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0302.99>. Acesso em: 15 ago. 2022.

OBJETIVOS

GERAL

Identificar se as características do rebanho, do equipamento de ordenha e as práticas de manejo promovem aumento da CCS de vacas em sistemas de produção baseados em pastagem nas estações fria e quente e se o nível de CCS interfere no desempenho animal e na qualidade do leite produzido.

ESPECÍFICOS

- a) Identificar se a mastite subclínica altera a qualidade do leite de vacas em estação quente manejadas a pasto.
- b) Mensurar as condições do equipamento de ordenha e se elas influenciam na CCS e na hiperqueratose de vacas leiteiras oriundas de pequenas propriedades comerciais a pasto.
- c) Identificar a presença de *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* no leite de propriedades comerciais a pasto.

CAPÍTULO II

EQUIPAMENTO DE ORDENHA E SEU EFEITO NA CONDIÇÃO DO TETO E MASTITE SUBCLÍNICA: REVISÃO

Este capítulo da revisão bibliográfica foi escrito conforme as normas da Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal o qual será submetido

RESUMO

O equipamento de ordenha mal projetado favorece uma resposta inesperada à saúde do teto da vaca. A congestão do teto pode evoluir para edema, formação de anel de base até a hiperqueratose, sendo o agravamento dependente da condição do equipamento e o período em que as vacas são expostas a esta condição. As lesões prejudicam a primeira linha de defesa que combate a entrada de patógenos e predispõe ao desenvolvimento de mastite. Portanto, é crucial compreender o papel de cada componente, o funcionamento da ordenha mecânica e o seu efeito na saúde dos tetos. Contamos com manuais nacionais e internacionais que orientam a respeito da terminologia, funcionamento, dimensionamento e testes de aferição para os equipamentos de ordenha. A escolha do melhor manual depende da qualidade das pesquisas utilizadas no seu desenvolvimento. No Brasil, dispomos do Manual de Recomendações do Comitê de Equipamentos, desenvolvido pelo Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite (CBQL) em 2002. Este manual foi construído baseando-se no manual europeu, da *International Organization for Standardization*. As principais práticas que visam melhorar a ordenhabilidade mantendo as condições normais do teto incluem: a) configurar o vácuo para alcançar 32 a 42 kPa em platô e evitar congestão ou lesão no teto, b) configurar a bomba e o regulador de vácuo para evitar queda de vácuo acima de 2 kPa e consequente deslizamento ou queda de teteiras, diminuição na velocidade da ordenha e o aparecimento de marcas na base dos tetos, c) regulagem dos pulsadores a fim de ter fases de pulsação (A, B, C e D) adequadas e 60 ciclos por minuto, d) priorizar a manutenção do equipamento e troca de componentes conforme a recomendação dos manuais. Esta revisão foi baseada em dados da literatura nacional e estrangeira que buscaram testar as orientações do sistema de vácuo, de pulsação, extração e transporte do leite, na eficiência de ordenha, condição do teto e desenvolvimento de mastite.

Palavras-chave: Hiperqueratose, Equipamento de ordenha, Mastite, Pulsação, Vácuo.

ABSTRACT

Poorly designed milking equipment promotes an unexpected response to the health of the cow's teat. Teat congestion can progress to edema, base ring formation, and hyperkeratosis, with worsening dependence on equipment condition and the duration cows are exposed to this condition. Injuries impair the first line of defense against pathogen entry and predispose to mastitis development. Therefore, understanding the role of each component, the operation of mechanical milking, and its effect on teat health is crucial. We rely on national and international manuals that provide guidance on terminology, operation, sizing, and calibration testing for milking equipment. The choice of the best manual depends on the quality of the research used in its development. In Brazil, we have the Recommendations Manual of the Equipment Committee, developed by the Brazilian Milk Quality Council (CBQL) in 2002. This manual was constructed based on the European manual from the International Organization for Standardization. Key practices aimed at improving milking while maintaining normal teat conditions include: a) configure the vacuum to achieve 32 to 42 kPa during the peak flow period and prevent congestion or injury to the teat b) configure the pump and vacuum regulator to prevent vacuum drop above 2 kPa and consequent slipping or falling of liners, decrease in milking speed and the appearance of marks at the base of the teats , c) adjusting pulsators to have proper pulsation phases (A, B, C, and D) and 60 cycles per minute, d) prioritizing equipment maintenance and component replacement according to manual recommendations. This review was based on data from national and international literature that sought to test guidelines on vacuum systems, pulsation, milk extraction, and transport efficiency in milking, teat condition, and mastitis development.

Keywords: Hyperkeratosis, Milking equipment, Mastitis, Pulsation, Vacuum

INTRODUÇÃO

A função do equipamento de ordenha é retirar o leite da glândula mamária e transportá-lo para um recipiente de armazenamento, sendo o teto a interface entre a glândula mamária e a teteira (Stauffer *et al.*, 2020). Qualquer equipamento de ordenha mecânica contém sistema de vácuo, de pulsação, extração e transporte do leite (CBQL, 2002). Eles devem ser dimensionados de tal forma que garantam a captação do leite em velocidade ideal, mantenha o conforto da vaca e preserve os mecanismos de defesa do teto contra a invasão de patógenos (Vermaak *et al.*, 2022).

Embora deva colher o leite de forma rápida e cuidadosa para manter a saúde do úbere (Reinemann, 2019), equipamentos subdimensionados ou mal regulados são corriqueiros e o teto torna-se o principal lesado. As decorrências a curto prazo podem ser reversíveis, ocorrem após cada ordenha e são representadas por desconforto, mudanças na coloração, firmeza, edema e abertura do orifício do teto (Neijenhuis; De Koning, *et al.*, 2001; Wieland *et al.*, 2017; Odorčić *et al.*, 2019). Porém, os efeitos a longo prazo causados pela alta carga mecânica repetida, são marcados pelo desenvolvimento de hiperqueratose do canal e da extremidade distal do teto (Neijenhuis *et al.*, 2000).

Dentre todas as patologias de teto, a mais estudada é a hiperqueratose (Neijenhuis; De Koning, *et al.*, 2001; Cardozo *et al.*, 2015; Wieland *et al.*, 2017; Odorčić *et al.*, 2019; Gouvêa *et al.*, 2020; Pantoja *et al.*, 2020). Esta é uma das respostas fisiológicas frente às forças aplicadas à pele durante a ordenha, tanto pelo fechamento da teteira, como por uma força desnecessária feita pelo ordenhador (Neijenhuis; De Koning, *et al.*, 2001). As principais configurações que podem favorecer esta condição, contemplam a condição de vácuo, sistema de pulsação, características da teteira e sobreordenha (Pantoja *et al.*, 2020).

Algumas pesquisas utilizaram a escala sugerida por Mein *et al.* (2001) para pontuar a condição da ponta do teto de rebanhos brasileiros. De Pinho Manzi *et al.* (2012) avaliaram 1931 tetos, destes, 31,0% tinham escore 1, 21,5% escore 2, 21,5% escore 3 e 17,9% com escore 4. Na mesma pesquisa, a infecção intramamária (IIM) foi detectada em 58 tetos com escore 1 (10,2%), 98 tetos com escore 2 (16,4%), 73 tetos com escore 3 (17,6%) e 75 tetos com escore 4 (21,7%), respectivamente (De Pinho Manzi *et al.*, 2012). No entanto, poucas pesquisas incluíram o equipamento de ordenha como um fator de risco à hiperqueratose (Cardozo *et al.*, 2015; Gouvêa *et al.*, 2020).

Os primeiros equipamentos de ordenha datam o final do século XIX, eram robustos, muitas vezes lesionavam o epitélio do teto e assustavam os animais. Ao longo de décadas, inúmeras melhorias técnicas aumentaram o desempenho dos equipamentos de ordenha, reduzindo a carga mecânica no teto e o risco de IIM (Odorčić *et al.*, 2019). Para um equipamento funcionar adequadamente, ele deve atender a ordenha integral e ininterrupta do total de vacas em lactação, em tempo mínimo e eficiente (CBQL, 2002; Odorčić *et al.*, 2019).

As normas existentes no mundo todo orientam a respeito da terminologia, funcionamento, dimensionamento e testes de aferição para os equipamentos de ordenha, são elas: AMMTA (Austrália); UNE (Espanha); ASAE (USA); ISO (Europa); Optitraite (França); IMQCS/TEAGASC (Irlanda) e MPTA (Nova Zelândia). No Brasil, ISO (*International Organization for Standardization*) foi usada como referência para a construção do Manual de Recomendações do Comitê de Equipamentos, desenvolvido pelo Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite (CBQL) em 2002. A versão atualizada ISO data 2007 e compreende três sub-normas, sendo elas: ISO 3918 – Termos e Definições (Vocabulário), ISO 5707 – Construção e Performance e ISO 6690 – Testes Mecânicos. Diferentemente da ISO, o Manual do CBQL (2002) é menos detalhado, subdimensiona a capacidade de bomba de vácuo, reconhece o sistema balde ao pé, canalizados de linha baixa, média e alta, mas não menciona o sistema de garrafão central, que ainda é utilizado em propriedades brasileiras. Por outro lado, a ISO detalha as equações embutidas nos cálculos e reconhece o garrafão central (ISO 5707, 2007). Conforme a ISO 3918 (2007), o garrafão central é semelhante do balde ao pé, o qual tem mais de duas unidades de ordenha e possui o reservatório móvel que permite a coleta e retenção do leite de vários animais.

As principais pesquisas referentes ao equipamento de ordenha, seu efeito sobre a saúde do teto e IIM são internacionais (HAMANN *et al.*, 1993; Rasmussen, Madsen, 2000; Neijenhuis; De Koning, *et al.*, 2001; Wieland *et al.*, 2017; Odorčić *et al.*, 2019; Reinemann, 2019; Stauffer *et al.*, 2020). É importante que sejam conduzidas pesquisas no Brasil visando verificar a influência de cada componente da ordenha na saúde de tetos e no surgimento de IIM.

Objetivou-se reunir o conhecimento científico relacionado aos componentes de ordenha mecânica, seu funcionamento, manutenção e efeito na saúde dos tetos e IIM. A revisão foi baseada em dados da literatura nacional e estrangeira.

Normatização do equipamento de ordenha

A normatização dos equipamentos de ordenha é bastante difundida e utilizada na Europa, Estados Unidos, Oceania e, mais recentemente, na América do Sul. Sua implementação e atualização é necessária para melhorar a eficiência do equipamento diante das características do rebanho e recursos da propriedade.

A ISO é uma organização não governamental fundada em 1947, na Suíça. Por meio das comissões técnicas, ela é responsável por desenvolver e atualizar normas que visam melhorar a qualidade dos produtos, serviços, garantir a segurança e a eficiência das operações. As normas desenvolvidas para o funcionamento dos equipamentos de ordenha europeus (3918, 5707 e 6690) foram implantados em 19 de dezembro de 1996. Sendo a norma 3918 necessária para definir os termos utilizados no projeto, fabricação e uso de máquinas de ordenha para vacas, búfalas, ovelhas, cabras ou outros mamíferos utilizados na produção de leite. A norma 5707 descreve a respeito da construção e desempenho e a norma 6690 descreve os testes mecânicos para com o objetivo verificar a conformidade de uma instalação ou componente com os requisitos da ISO 5707.

O CBQL do Brasil propôs a definição das normas técnicas para equipamentos de ordenha. Para isso, adotaram a norma europeia (ISO) e suas respectivas sub-normas (3918, 5707 e 6690) e as normas nacionais (NBR 14763, 14764 e 14765) como normas de referência para a construção daquela brasileira. Portanto, através do Comitê de Equipamentos do CBQL, apresentou-se uma cartilha com recomendações para Equipamentos de Ordenha (CBQL, 2002).

Sistema balde ao pé

Considerado o mais barato, podemos encontrá-lo na configuração móvel ou fixa. Além disso, ambos podem ser adaptados nos dois modelos de sala de ordenha: a) ao nível do solo, no qual o ordenhador e a vaca ficam em mesmo nível ou b) associado a um fosso, onde os animais permanecem ao nível superior a 80 cm do ordenhador.

A configuração fixa facilita a implantação na linha de alimentação, mas também pode ser adaptada ao fosso, sem grandes dificuldades ao ordenhador. Em ambos os modelos de sala de ordenha o transporte do leite para o tanque de resfriamento pode ser manual ou por uma bomba transferidora de leite com acionamento manual.

A configuração móvel também pode ser chamada de “equipamento canalizado móvel” ou “garrafão central”, tendo como principal característica facilitar a ordenha no fosso e ser acompanhado pelo transferidor de leite automático. Esta configuração dificilmente se adapta às salas no nível do solo, mas tem uma configuração muito mais semelhante ao sistema canalizado, quando comparado à configuração fixa. Este sistema é reconhecido pela ISO 5707 (2007) como um sistema do grupo dos equipamentos canalizados e orienta atender às mesmas estimativas de vácuo. A norma do CBQL (2002) classifica este sistema como uma configuração móvel de balde ao pé e orienta estimativas de vácuo do sistema entre 44 e 50 kPa.

Sistema canalizado

Sua principal característica é o circuito fechado, o qual transporta o leite diretamente da vaca ao tanque de expansão e permite que ele seja resfriado em um curto período. O sistema canalizado pode ser adaptado às salas de ordenha ao nível do solo ou em fosso, independente de qual seja, as curvas na tubulação do ar ou leite devem ser evitadas para reduzir a chance de fluxo turbulento do leite ou flutuações de vácuo (Santos; Fonseca, 2019). Ao nível do solo os produtores normalmente estendem a sala de ordenha ao longo da linha de alimentação e os animais permanecem lado a lado. Como não existem tarros, as mangueiras costumam ser muito longas (acima de 2,5m) dificultando a higienização, o bem-estar do ordenhador, além de favorecer o maior consumo de vácuo do sistema (CBQL, 2002).

O sistema canalizado é classificado conforme a posição dos animais no fosso e conforme o transporte do leite. No posicionamento tandem (fila india) os animais permanecem paralelamente ao fosso, no tipo paralelo eles ficam dispostos perpendicularmente ao fosso (90° em relação a ele), um ao lado do outro, e no tipo espinha de peixe são posicionados diagonalmente em relação ao fosso (30 a 50° ; com o úbere voltado para o fosso) (Gouvêa *et al.*, 2020).

A altura da tubulação de ordenha em relação à posição do animal em pé ocorre em três configurações (Brasil, 2002): a tubulação acima de 1,26 m do animal em pé recebe o nome de nível alto, o sistema com a tubulação entre 0 e 1,26 m do animal em pé corresponde ao nível médio e o sistema com tubulação abaixo da posição do animal em pé corresponde ao baixo nível.

Funcionamento do equipamento de ordenha mecânica

A ordenhadeira é composta pelo sistema de produção e controle de vácuo, sistema de pulsação, uma ou mais unidades para extração do leite e um sistema de transporte do leite da unidade de ordenha para o reservatório (Reinemann, 2019). Todos eles trabalham ao mesmo tempo para manter a extração e transporte do leite. Ocasionalmente podemos encontrar algum equipamento adicional para limpeza e sanitização dos componentes que entram em contato com o leite.

- Produção e controle de vácuo: composto pela bomba de vácuo, regulador de vácuo e vacuômetro. Seu objetivo é produzir e manter as condições de vácuo no interior do sistema de ordenha.

A bomba de vácuo deve ser dimensionada para satisfazer as exigências operacionais (ordenha e limpeza) e sua função é extrair o ar do sistema comprimindo-o e expulsando pelo escapamento. Para tanto, deve-se considerar entradas de ar de cada unidade de ordenha, ar produzido por outros equipamentos operados a vácuo, estimar entradas adicionais de ar do sistema, fixação e queda de unidades, além do deslizamento de teteiras (ISO 5707, 2007).

A vazão é a medida em litros de ar por minuto (L/min) que a bomba é capaz de extrair a 50 quilopascal (kPa) de vácuo (ISO 6690, 2007). Durante a ordenha deve succionar cerca de 60 L/min por unidade de ordenha. Para calcular a vazão necessária para uma ordenhadeira funcionar adequadamente, deve-se considerar a quantidade de unidades de ordenha, o sistema, o número de animais, o número de ordenhadores, a pressão atmosférica da região, a presença de válvula de fechamento automático na unidade e componentes adicionais (ISO 5707, 2007).

Segundo a ISO 5707 (2007), a primeira estimativa dimensionada é a de reserva de vácuo efetivo, deve ser suficiente para limitar a queda de vácuo em 2 kPa durante a ordenha. Para sistemas sem válvulas de fechamento automático com até 10 unidades de ordenha, o cálculo da reserva efetiva considera 200 L/min, somados a 30 L/min para cada unidade. Enquanto a ISO 5707 (2007) possui fórmulas pré-determinadas para cada estimativa de entradas de ar, a norma brasileira (CBQL, 2002) estima as entradas adicionais de ar na própria equação da reserva efetiva, além de ignorar a presença de válvulas de fechamento automático. Por fim, as bombas operadas em grandes altitudes necessitam de vazão adicional (ISO 5707, 2007; CBQL, 2002).

O regulador de vácuo possui a função de manter o seu nível operante durante a ordenha. Deve ser sensível em detectar pequenas entradas de ar no sistema, rápido na resposta em fechar a válvula caso seja detectada entrada de ar, além de ter capacidade de admissão de ar no mínimo igual à vazão da bomba (Santos, Fonseca, 2019; Penry; Reineman, 2022). A capacidade do regulador para responder às flutuações de vácuo depende das suas características, bem como de onde ele está localizado no sistema de ordenha (ISO 5707, 2007; Reinemann, 2019).

Os reguladores mais eficientes são os servo-assistidos, também chamados de diafragma, e os controladores de frequência. O teste de queda serve para identificar a queda de vácuo durante o curso normal da ordenha, simulando a remoção de vácuo de um dos conjuntos de ordenha (ISO 6690, 2007). Ao abrir o vácuo, a queda não pode exceder 2 kPa (ISO 6690, 2007; Allcock; Postma, 2013; Reinemann, 2019).

O vacuômetro indica a diferença entre a pressão de dentro do sistema de ordenha e a pressão atmosférica, apresentada em kPa (nível de vácuo), inversamente proporcional à quantidade de ar dentro do sistema (Santos; Fonseca, 2019). Conforme a ISO 5707 (2007), a diferença entre o nível de vácuo indicado no vacuômetro e o vácuo mensurado em teste não deve exceder 1 kPa (ISO 6690, 2007). O nível recomendado varia conforme o tipo de equipamento e inclinação da linha do leite.

A ISO 5707 (2007) recomenda que o vácuo medido na teteira, independente do sistema de ordenha, permaneça entre 32 e 42 kPa durante o pico de fluxo do leite (platô) para haver uma ordenha rápida, completa e suave. Normalmente, ele diminui com o aumento do fluxo de leite (Stauffer *et al.*, 2020). Stauffer *et al.* (2020) testou dois níveis de vácuo do sistema balde ao pé (53 e 46 kPa) para alcançar 48 e 43 kPa durante a ordenha. Com o início do fluxo de leite após a fixação da unidade, o vácuo caiu aproximadamente 3 a 4 kPa, e durante o platô o vácuo alcançou as recomendações da ISO 5707 (2007) entre 32 e 42 kPa. A fim de evitar a sobreordenha e danos ao tecido do teto no período de baixo fluxo de leite, o alto vácuo de 48 kPa deve ser combinado a remoção da unidade ao fluxo de leite de 1kg/min (Stauffer *et al.*, 2020).

O vácuo no coletor pode ser diminuído pela ventilação no bocal da teteira ou pelo orifício do copo coletor. Esta ventilação promove maior admissão de ar, todavia, em excesso, pode causar espuma no leite, elevando a quebra de glóbulos de gordura (Holst *et al.*, 2021). O volume de ar que pode fluir para o orifício do coletor é de 8 a 12 L/min (ISO 5707, 2007). No entanto, a norma não inclui nenhuma restrição quanto aos orifícios integrados à teteira, usados para estabilizar o vácuo na ponta do teto (ISO 5707, 2007).

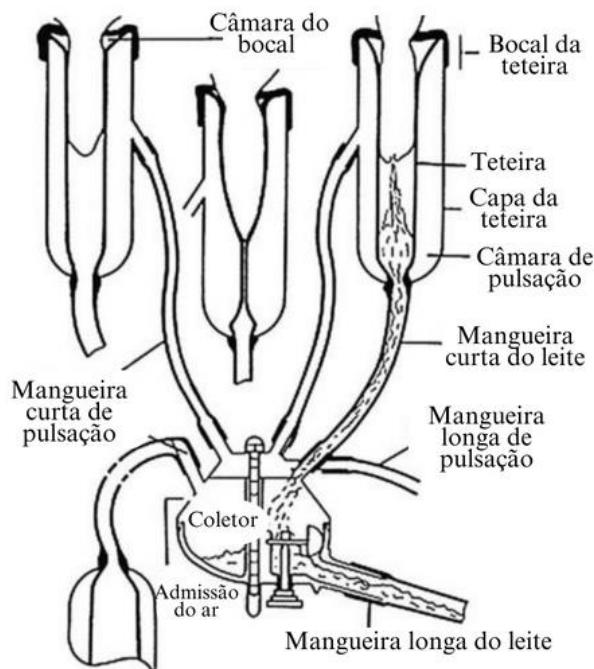
Para sistemas balde ao pé, garrafão central, linhas alta e média o vácuo de trabalho recomendado é de 44 a 50 kPa e para linha baixa 42 a 46 kPa (CBQL, 2002). Stauffer *et al.* (2020) testou o vácuo de 43 e 48 kPa em um sistema balde ao pé, ambos com redução de vácuo durante o platô. Alcançar 48 kPa foram reconhecidos por melhorar o desempenho da ordenha em comparação a 43 kPa. No entanto, o vácuo de 48 kPa deve ser combinado à redução de aproximadamente 7 kPa durante o baixo fluxo de leite (por exemplo, < 2 kg/min) para evitar danos ao tecido do teto.

Conforme a Figura 1, cada unidade de extração do leite é composta por um coletor, quatro teteiras, uma mangueira longa do leite, uma mangueira longa de pulsação e um pulsador. O coletor é produzido em aço inoxidável e termoplásticos de alta resistência, ele conecta as mangueiras curtas de leite e de pulsação às mangueiras longas correspondentes. As mangueiras curtas de pulsação conectam as quatro câmaras de pulsação das teteiras ao pulsador. Cada teteira é envolvida pela sua capa, podendo ser confeccionada em aço inoxidável ou termoplásticos. A teteira é a única parte do sistema que entra em contato direto com o teto da vaca. O espaço formado entre a capa e a teteira é chamado de câmara de pulsação. Neste espaço ocorrem períodos alternados de ação do vácuo e da pressão atmosférica, responsáveis pela retirada do leite e massagem do teto sucessivamente. O vácuo é aplicado continuamente no interior da teteira para retirar o leite e ajudá-la a se manter presa à vaca. O leite recebido em cada mangueira curta é homogeneizado no coletor e transportado para a tubulação do leite pela única mangueira longa de leite ligada ao coletor (Penry; Reineman, 2022).

Os formatos de teteiras podem ser redondas ou triangulares, com ou sem ventilação na câmara do bocal da teteira (Holst *et al.*, 2021). Durante a fase de platô do leite e no momento de retirada da unidade há maior amplitude na flutuação do vácuo na câmara do bocal das teteiras triangulares com ventilação, sendo a principal causa da formação de espuma do leite. As teteiras triangulares não vedam muito bem o teto, especialmente em baixas taxas de fluxo de leite (Holst *et al.*, 2021).

Independentemente da teteira, quando ocorre o deslizamento associado à capacidade insuficiente da bomba de vácuo e/ou mau funcionamento do regulador de vácuo, há entrada de ar na unidade de ordenha e flutuação brusca de vácuo. Contudo, o fluxo normal do leite se inverte e pequenas gotículas de leite podem ser introduzidas pelo canal do teto. Para evitar a contaminação cruzada entre as teteiras, a tecnologia de algumas unidades conta com quatro fluxos de leite separados.

Figura 1 - Identificação das partes de uma unidade de ordenha para acoplar em uma ordenhadeira mecânica (Esquema adaptado de Penry; Reineman (2022).



- Sistema de pulsação: normalmente destina-se um pulsador para cada unidade de ordenha para alternar o vácuo e a pressão atmosférica no interior da câmara de pulsação, conforme o ciclo de pulsação. Durante o movimento cíclico, a teteira abre e colapsa, o que leva à alternância entre a remoção do leite e a massagem do teto (Besier *et al.*, 2016). Quando a câmara está sob vácuo, a teteira está aberta e o leite pode fluir. Quando a câmara está sob pressão atmosférica, a teteira fecha (porque a pressão fora da teteira é maior que a pressão interna) e a ponta do teto é comprimida. O ar atmosférico pode ser fornecido ao pulsador mediante um tubo de alimentação acrescido de filtro ou os pulsadores podem abrir diretamente para a atmosfera.

Os pulsadores são programados para operar simultaneamente (as quatro câmaras de pulsação permanecem sob vácuo ou à pressão atmosférica no mesmo tempo) ou alternadas (as duas câmaras de pulsação dianteiras permanecem sob vácuo enquanto as duas câmaras traseiras estão à pressão atmosférica e vice-versa). A maioria dos sistemas instalados são operados no modo alternado. Para liberar o vácuo da unidade de ordenha, podem ser adotados métodos manuais ou automáticos. Além disso, algumas unidades possuem válvulas de fechamento automático, ativadas quando ar não planejado é admitido pela teteira, como quando uma unidade cai de uma vaca por deslizamento (Reinemann, 2019).

A tubulação de vácuo é normalmente projetada em policloreto de vinila (plástico PVC). Quando subdimensionada resulta em maiores flutuações de vácuo. Conexões e restrições podem causar uma grande parte da queda de vácuo no sistema. Quando ocorrem curvas excessivas, válvulas e outros acessórios, a perda de vácuo pode exceder a estimativa.

O ciclo de pulsação é alternado entre a fase extração do leite (Fases A+B) e massagem do teto (Fases C+D). Numericamente é dividido em quatro fases, medidas em milissegundos. A fase A trata do início do ciclo, em que as paredes da teteira estão em processo de abertura para estimular a descida do leite. Na fase B a parede da teteira se abre para a extração do leite e o teto fica sob ação do vácuo. Na fase C ocorre o início do fechamento da parede da teteira. Durante a fase D as paredes se fecham totalmente entorno da teta e acontece o seu massageamento (Allcock; Postma, 2013). A pulsação fornece a força compressiva para combater o acúmulo de fluídos teciduais no corpo e na extremidade da teta e o pulsador fornece ar à câmara de pulsação de cada teteira à pressão atmosférica ou, alternativamente, ao vácuo do sistema de ordenha (Penry; Reineman, 2022).

Segundo a ISO 5707 (2007), a fase "B" não pode ser inferior a 30% de um ciclo de pulsação, correspondente a 300 milissegundos. Por outro lado, a fase "D" não deve ser inferior a 15% do mesmo ciclo, equivalente a 150 milissegundos. A relação entre a fase de extração e massagem é definida como a duração da fase A+B até a fase C+D. As razões sugeridas para sistemas de ordenha comerciais estão entre 60:40 e 70:30 (Penry; Reineman, 2022). Ao considerar a razão de 65:35, a extração dura 0,65 segundos (650 milissegundos) e a massagem dura 0,35 segundos (350 milissegundos) em cada ciclo que dura 1000 milissegundos, totalizando 60 ciclos de pulsação por minuto (60 000 milissegundos). A ISO 5707 admite intervalos entre 50 e 65 ciclos por minuto.

Quando a razão amplia de 60:40 para 70:30, a extração aumenta às custas da fase de massagem. Esta mudança na proporção não afeta a duração das fases A e C porque elas dependem particularmente do formato, do diâmetro interno do cilindro, da flexibilidade do revestimento, da vazão do leite e das características de pulsação e da própria teteira (Billon; Gaudin, 2001). Neste exemplo, a fase B aumenta às custas da fase D (Penry; Reineman, 2022).

Wang *et al.* (2022) comparou duas relações de pulsação (60:40 vs. 65:35) e identificou que a relação de 65:35 reduz o tempo de ordenha e o tempo de pico de fluxo de leite, aumenta o tempo de baixo fluxo de leite e a hiperqueratose, embora não

influencie a produção de leite. Além disso, os autores também observaram que desprender a unidade com o fluxo de leite de 600 g/min, causa menor escore da extremidade do teto em relação a 800 g/min.

- Sistema de transporte do leite: a tubulação do leite é normalmente construída em aço inoxidável e alguns acessórios sanitários, como cotovelos, válvulas e outros. Minimizar o comprimento da tubulação e o número de conexões reduz a chance de queda e flutuação do vácuo. Além disso, evitar a adição de anéis na tubulação proporciona maior estabilidade no fluxo de leite e vácuo, além de evitar zonas de acúmulos de resíduo de leite (Santos; Fonseca, 2019). Para que o transporte do leite seja em fluxo estratificado, as linhas de leite devem ser dimensionadas com diâmetro e inclinação (1 a 2%) adequados à quantidade de leite que fluirá (ISO 5707, 2007). A inclinação da linha do leite facilita o transporte com maior velocidade em razão da força de gravidade auxiliar, demandando menos vácuo (Santos; Fonseca, 2019; Penry; Reineman, 2022).

Efeito do equipamento de ordenha sobre a integridade do teto e mastite

A curto prazo, o efeito do equipamento pode não ser perceptível, todavia, os danos agravados a cada lactação persistem ao longo de toda a vida da vaca (Mein, 2012). Mesmo que o efeito mecânico do vácuo e da pressão da teteira na fase C+D não possa ser evitado, se bem planejado e regulado eles não ocasionarão efeitos indesejáveis. A revisão científica de Odorčić *et al.* (2020) evidencia que a alteração na teta contempla a sua congestão, podendo evoluir para hiperqueratose a longo prazo. Ambas as condições aumentam a suscetibilidade às novas infecções (Neijenhuis; De Koning, *et al.*, 2001). Para melhor compreensão, classificamos os problemas causados pelo equipamento de ordenha em congestão, edema de teto, formação de anel de base e hiperqueratose.

Congestão e Edema do teto

O vácuo exercido no teto durante a fase D deve ter a força motriz suficiente em massagear o tecido do teto a fim de liberá-lo da congestão, no qual sangue e linfa permanecem acumulados pela ação da fase B (Besier *et al.*, 2016). O congestionamento corresponde ao acúmulo de fluidos em seu caminho de fluxo normal. Se a congestão for

grave e persistente, ocorre edema, o qual é o acúmulo de fluidos fora de seu caminho de fluxo normal (acúmulo extravascular), neste caso, a eliminação do edema é um processo muito mais longo do que da congestão (Reinemann, 2012). Os canais dos tetos congestionados fecham-se lentamente após a ordenha (Neijenhuis *et al.*, 2001), o que representa potencialmente um risco aumentado de invasão de agentes causadores de mastite (Mein, 2012). A recuperação do tecido do teto identificada pelo retorno ao diâmetro e à espessura normal, requer aproximadamente 60 minutos, entretanto já é tempo suficiente para a invasão (Odorčić *et al.*, 2020).

As teteiras sob vácuo elevado causam maior congestão na extremidade da teta, especialmente quando o fluxo de leite nulo e de maior vácuo na câmara do bocal (Penry; Reineman, 2022). Além disso, a fase B com duração superior a 500 milissegundos diminui a taxa de fluxo de leite e aumenta o efeito congestivo.

Os métodos usados para avaliar a congestão do teto dependem da observação de mudanças na cor da pele (Normal, Vermelho e Azul) após a remoção da unidade de ordenha. Além de observar essas mudanças, é importante identificar a localização da mudança de cor (ponta do teto, corpo do teto ou ambos). Se a congestão acontece na ponta, reduzir o vácuo de ordenha reduzirá o congestionamento, pois o nível de vácuo de ordenha é a força para desenvolvê-lo. Se for usado alto vácuo de ordenha, é benéfico reduzir a duração da fase B para reduzir a congestão desenvolvida na extremidade do teto. A pulsação deve ser regulada para que a fase D seja maior de 150 milissegundos, tempo necessário para o alívio congestivo do final do teto. Fases D excessivamente longas (maiores que 250 milissegundos) não causarão danos ao teto, mas reduzirão a velocidade de ordenha, pois, uma porcentagem maior do ciclo de pulsação será em modo de massagem em vez de ordenha. Além disso, a escolha da teteira mais adequada ao tamanho médio de teto do rebanho é importante para ter mais compressão e controlar o problema. Se a congestão acontecer no corpo do teto, deve-se reduzir o nível de vácuo da teteira, além de escolher teteiras com saída de ar no bocal (Reinemann, 2012).

Formação de anel de base e sua evolução para hiperqueratose

Embora a ordenhadeira tente simular a sucção de um bezerro, o vácuo acima do desejado, as pulsações excessivas, o desacoplamento da unidade sem remover o vácuo e a sobreordenha, causam danos ao tecido do teto e muitas vezes evoluem para alterações

patológicas como a congestão da extremidade do teto ou a hiperqueratose (Neijenhuis *et al.*, 2000; Odorčić *et al.*, 2019).

Se os tetos forem expostos a alto vácuo uma única vez, uma única congestão ocorre, quando persiste, o tecido da extremidade distal teto responde formando um anel espesso. Esta formação de anel ocorre durante um período de exposição entre 1 e 4 semanas e pode agravar conforme a evolução da lactação. Mein *et al.* (2001) sugere uma classificação em quatro escores, conforme a gravidade: 1 (sem anel), 2 (anel liso ou levemente rugoso), 3 (anel rugoso com presença de espículas de queratina), e 4 (anel muito rugoso com presença de muitas espículas de queratina).

O canal do teto é vedado pelo fechamento do esfíncter, o qual é revestido por uma camada de queratina que o protege da entrada de microrganismos. Fisicamente, ela também aprisiona as bactérias e as impede de entrar na glândula mamária (Odorčić *et al.*, 2019). A ordenha mecânica remove beneficamente 40% das células de queratina maduras que revestem o canal, entretanto, esta taxa depende da pulsação adequada. Quando a pulsação é muito baixa a remoção diminui para 10 a 20%, diminuindo a taxa de renovação celular. Por outro lado, a pulsação excessiva remove aproximadamente 80% de queratina, expondo células imaturas que podem ser mais lentas para se desprender, além disso, estas células podem ser lesionadas, havendo espessamento, também chamado de hiperqueratose (Mein, 2012).

A hiperqueratose prejudica o fechamento completo do canal e aumenta o risco da invasão de microrganismos (Odorčić *et al.*, 2019). O acúmulo de queratina pode ser visto facilmente nos pontos onde a pressão é aplicada (Allcock; Postma, 2013). Por meio de exame histológico, constatou-se que a hiperqueratose resulta de uma hiperplasia localizada do estrato córneo (Neijenhuis, *et al.*, 2001). Portanto, descrições como "inversão das tetas", "eversão das tetas" ou "tetas prolapsadas" são incorretas, a hiperqueratose significa "crescimento excessivo de queratina" (Mein *et al.*, 2003).

Pantoja *et al.* (2020) revisaram vários trabalhos que discutiram a respeito da hiperqueratose, observando que quartos com condição leve (escore 2) tiveram menor prevalência de IIM ou menor CCS do que quartos com escore 1. O desenvolvimento do escore 2 é uma resposta fisiológica natural à ação do equipamento de ordenha e de alguma forma, torna-se uma barreira protetora contra os agentes causadores da mastite. Por outro lado, a hiperqueratose grave (escore 4) é um fator de risco para mastite clínica ou subclínica, contagiosa ou ambiental.

Indiscutivelmente, a hiperqueratose grave é um fator de risco para a mastite clínica ou subclínica, causada tanto por patógenos contagiosos (especialmente *S. aureus*), como ambientais (Pantoja *et al.*, 2020). No entanto, o efeito da hiperqueratose na CCS é analiticamente limitado, devido aos dados de CCS não serem normalizados e ajustados para os fatores de confundimento (paridade, DEL e produção de leite) (Pantoja *et al.*, 2020). Em contraste, Cardozo *et al.* (2015) relataram que apenas a hiperqueratose grave estava associada ao risco de CCS ≥ 200.000 céls/mL.

Sobreordena

A sobreordena refere-se ao tempo prolongado de ordenha durante o qual o vácuo da extremidade do teto aumenta. Esta condição também predispõe ao edema e hiperqueratose do teto (Gouvêa *et al.*, 2020). Ela começa quando o fluxo de leite para a cisterna do teto é menor que o fluxo para fora do canal do teto (Rasmussen, 2004). Isso pode levar a uma incapacidade de colher a máxima quantidade de leite possível nos primeiros dois minutos de ordenha, aumentando o seu risco devido à remoção tardia do equipamento acoplado à vaca (Vermaak *et al.*, 2022). Esta condição é facilmente observada pela cor anormal, até a formação de anel na base do teto após o desprendimento, vacas agitadas ou chutando durante o período de fluxo tardio, vacas inquietas ou mangueiras longas de leite ou extremidade do teto sem leite (Rasmussen, 2004). Além dos danos, esta condição aponta risco aumentado às novas IIM.

Para melhorar a condição da extremidade do teto, as unidades de ordenha podem ser removidas quando a taxa de fluxo de leite diminuir para 600 g/min em relação a taxas superiores (Wang *et al.*, 2022).

A integridade da ordenha pode ser avaliada pela retirada manual de cada quarto imediatamente após a remoção do equipamento. Se as unidades de ordenha estiverem sendo removidas no momento adequado, a maioria dos quartos terá pouco ou nenhum leite presente após a remoção da unidade. É comum que o quarto de ordenha mais lento tenha algum leite residual após a remoção da unidade. Um guia prático é que menos de 20% dos quartos devem produzir mais de 50 mL de leite quando retirados à mão imediatamente após a remoção da unidade.

Flutuações de vácuo e contaminação cruzada

Durante a ordenha, a transmissão passiva acontece quando uma teteira que ordenhou um teto contaminado entra em contato com o teto de outro animal sadio. Por outro lado, a transmissão ativa ocorre pela movimentação do leite contendo patógenos até o teto sadio, causada por flutuações de vácuo cíclicas ou irregulares. As flutuações cíclicas aparecem devido ao movimento cíclico da teteira, quando ela abre, tende a aumentar o vácuo, e quando fecha, o vácuo tende a diminuir.

Mesmo que as flutuações cíclicas não possam ser impedidas, não há evidências de que elas devam ser evitadas enquanto o vácuo permanece alto e impede a entrada de ar. Como o fluxo de leite aumenta rapidamente após a preparação adequada do teto, a sua exposição ao vácuo total do sistema é curta durante o início da ordenha. A principal exposição do teto ao alto vácuo ocorre no final do processo, quando o fluxo de leite diminui ou cessa sequencialmente em quartos individuais, enquanto possíveis quedas de vácuo desaparecem gradualmente. Durante o alto fluxo de leite, o vácuo na extremidade do teto pode cair abaixo de 30 kPa, causando uma redução no fluxo de leite, maior tempo de funcionamento do equipamento e o aumento do risco de deslizamentos da unidade. O alto vácuo do sistema parece compensar a flutuação de vácuo (inevitável) e, portanto, permite um bom desempenho de ordenha. No entanto, o risco de sobreordenha e hiperqueratose aumenta (Besier; Bruckmaier, 2016)

Flutuações de vácuo irregulares ocorrem quando o vácuo é maior ou menor do que 2 kPa durante o uso normal do equipamento, seja pela colocação e remoção da teteira, deslizamento ou queda da teteira durante a ordenha e retirada da unidade (Romero *et al.*, 2020). Durante flutuações irregulares, ocorre o declínio excessivo seguido da recuperação do nível de vácuo em uma unidade de ordenha. Como consequência, a queda de teteiras ocorre, pois não há força suficiente para mantê-las acoplada aos tetos. O baixo nível de vácuo é causado pela irregularidade de outros componentes, seja quando a bomba de vácuo não tem capacidade de succionar o ar que adentra ao sistema, o regulador não consegue atenuar a entrada de ar devido dano, não reconhecer a entrada de ar ou quando houve entrada de sujeira e bloqueio na tubulação de vácuo (Taffarel *et al.*, 2012).

Durante o fluxo reverso do leite, a entrada repentina de ar pelo bocal de uma ou mais teteiras causa a queda repentina do vácuo, em consequência, a pressão (vácuo) dentro da cisterna do teto é menor do que abaixo do teto. Se esta diferença de pressão

ocorre por cerca de 0,02 a 0,05 s em um nível de 1,5 a 7 kPa já acontece a aspiração de bactérias que possam estar presentes no orifício do teto para o canal (Romero *et al.*, 2020). Além disso, pequenas gotas de leite são sugadas e impulsionadas em alta velocidade contra a extremidade das outras tetas da mesma unidade de ordenha. Se o impacto ocorrer quando a teteira estiver na posição aberta (ordenha), as gotas de leite contaminadas podem se depositar no canal do teto e até mesmo passar por ele, introduzindo os microrganismos. Embora este mecanismo seja indesejável, tem um efeito menor se ocorrer no início da ordenha, pois os microrganismos podem ser evacuados com o fluxo de leite à medida que a vaca é ordenhada (Romero *et al.*, 2020). Em bovinos, esta situação tem se mostrado mais frequente nas seguintes circunstâncias (Rasmussen *et al.*, 1994): a) fixação e retirada da unidade quando o teto estiver vazio, b) uso de teteiras com diâmetro do bocal menor que o diâmetro do teto e c) retirada das teteiras durante a fase de massagem.

Embora não seja um aspecto de regulagem, é importante fazer a troca de teteiras conforme a recomendação da ISO, ou antes do seu ressecamento. Quando elas estão em más condições de uso dificultam a massagem, a aderência no teto e a pulsação, pois possuem fissuras que favorecem a entrada de ar. Estas condições aumentam a chance de colonização da parte interna da teteira (Taffarel *et al.*, 2012).

CONCLUSÃO

Os resultados dos estudos revisados demonstram a importância do adequado funcionamento do equipamento de ordenha para a saúde da glândula mamária. Estes estudos indicam que a principal evidência de falhas no equipamento de ordenha a curto prazo é a alteração de cor da pele do teto. Ao persistir a condição anormal o quadro evolui para edema, anel de base ou hiperqueratose. A condição prejudicada da extremidade do teto favorece a entrada de microrganismos, especialmente quando a unidade de ordenha apresenta fluxo reverso do leite ou deslizamento de teteiras. O equilíbrio entre as fases de pulsação conforme a recomendação das pesquisas é fundamental para uma ordenha completa e suave a fim de evitar períodos de sobreordenha. Por fim, alavancar pesquisas em condições brasileiras é importante para testar as recomendações, atualizar e enriquecer a normatização para garantir menor efeito adverso sobre o teto da vaca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLCOCK, J.; POSTMA, E. Understanding dynamic milking machine tests. **Livestock**, v.18, n.2, p.24–29, 2013.
- BESIER, J.; LIND, O.; BRUCKMAIER, R.M. Dynamics of teat-end vacuum during machine milking: Types, causes and impacts on teat condition and udder health - A literature review. **Journal of Applied Animal Research**, v.44, n.1, p.263–272, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 48, de 12 de agosto de 2002. Regulamento técnico de equipamentos de ordenha dimensionamento e funcionamento. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 ago. 2002.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 77, de 26 de novembro de 2018. Critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 nov. 2018.
- CARDOZO, L.L.; THALER NETO, A.; SOUZA, G.N.; PICININ, L.C.A.; FELIPUS, N.C.; RECHE, N.L.M.; SCHMIDT, F.A.; WERNCKE, D.; SIMON, E.E. Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n.11, p.7675–7685, 2015.
- CBQL. Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite. Comitê de Equipamentos. **Equipamentos de ordenha**: recomendações do comitê de equipamentos. São Paulo: Quiron, 2002.
- DE PINHO MANZI, M.; NÓBREGA, D.B.; FACCIOLE, P.Y.; TRONCARELLI, M.Z.; MENOTTI, B.D.; LANGONI, H. Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n.1, p.430–434, 2012.
- GOUVÉA, F.L.R.; CARDOZO, L.L.; CANAL, J.; TRONCARELLI, M.Z.; PANTOJA, J.C.F. A descriptive study of teat morphology, milking machine characteristics, and milking practices in a sample of Brazilian dairy herds. **Livestock Science**, n.241, p.1–8, 2020.
- HAMANN, J.; MEIN, G. A.; WETZEL, S. Teat Tissue Reactions to Milking: Effects of Vacuum Level. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.4, p.1040–1046, 1993.
- HOLST, G.E.; ADRION, F.; UMSTÄTTER, C.; BRUCKMAIER, R.M. Type of teat cup liner and cluster ventilation affect vacuum conditions in the liner and milking performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.104, n.4, p.4775–4786, 2021.
- ISO. International Organization for Standardization, 2007. Milking machine installations – ISO 3918 Vocabulary. Int. Organ. Stand.

ISO. International Organization for Standardization, 2007. Milking machine installations – ISO 5707 construction and performance. Int. Organ. Stand.

ISO. International Organization for Standardization, 2007. Milking machine installations – ISO 6690 mechanical tests. Int. Organ. Stand.

LEITE CARDOZO, L. Identificação dos fatores de risco associados a ocorrência de hiperqueratose na extremidade dos tetos em rebanhos leiteiros. Santa Catarina, 2017. 168p. Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, SC, 2017.

MEIN, G.A. The role of the milking machine in mastitis control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.28, n.2, p.307–320, 2012.

MEIN, G.A.; NEIJENHUIS, F.; MORGAN, W.F.; REINEMANN, D.J.; HILLERTON, J.E.; BAINES, J.R.; OHNSTAD, I.; RASMUSSEN, M.D.; TIMMS, L.; BRITT, J.S.; FARNSWORTH, R.; COOK, N.; HEMLING, T. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. non-infectious factors. Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, NMC/AABP, Vancouver, 5, 351–374, 2001. Disponível em: <<http://www.uwex.edu/milkquality/>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

MEIN, G.A.; WILLIAMS, D.M.D.; REINEMANN, D.J. Effects of milking on teat-end hyperkeratosis: 1. Mechanical forces applied by the teatcup liner and responses of the teat. 42nd Annual Meeting of the National Mastitis Council, 26–29, 2003. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/237237307>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

NEIJENHUIS, F.; BARKEMA, H.W.; HOGEVEEN, H.; NOORDHUIZEN, J.P.T.M. Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.12, p.2795–2804, 2000.

NEIJENHUIS, F.; DE KONING, K.; BARKEMA, H.; HOGEVEEN, H. The effects of machine milking on teat condition. **ICAR Technical Series**, v.7, p.33–40, 2001.

NEIJENHUIS, F.; KLUNGEL, G.H.; HOGEVEEN, H. Recovery of cow teats after milking as determined by ultrasonographic scanning. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.12, p.2599–2606, 2001.

NEIJENHUIS, F.; MEIN, G.A.; BRITT, J.S.; REINEMANN, D.J.; HILLERTON, J.E.; FARNSWORTH, R.; BAINES, J.R.; HEMLING, T.; OHNSTAD, I.; COOK, N.; MORGAN, W.F.; TIMMS, L. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 4. Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis. Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, p.362–366, 2001.

ODORČIĆ, M.; BLAU, U.; LÖFSTRAND, J.; BRUCKMAIER, R.M. Short communication: Teat wall diameter and teat tissue thickness in dairy cows are affected by intramammary pressure and by the mechanical forces of machine milking. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.1, p.884–889, 2020.

ODORČIĆ, M., RASMUSSEN, M. D., PAULRUD, C. O., & BRUCKMAIER, R. M. Review: Milking machine settings, teat condition and milking efficiency in dairy cows. **Animal**, v.13, n.1, p.94–99, 2019.

PANTOJA, J.C.F.; CORREIA, L.B.N.; ROSSI, R.S.; LATOSINSKI, G.S. Association between teat-end hyperkeratosis and mastitis in dairy cows: A systematic review. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.2, p.1843–1855, 2020.

PENRY, J.F.; REINEMANn, D.J. Encyclopedia of dairy sciences: Milking Machines: Principles and Design. v.1, 3 ed. p.805 – 814, 2022.

RASMUSSEN, M.D. Influence of switch level of automatic cluster removers on milking performance and udder health. **Journal of Dairy Research**, v.60, p.287–297, 1993.

RASMUSSEN, M.D. Overmilking and teat condition. *NMC Annual Meeting Proceedings*, p.169–175, 2004. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/268175964>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

RASMUSSEN, M. D.; FRIMER, E.S.; DECKER, E.L. Reverse Pressure Gradients Across the Teat Canal Related to Machine Milking. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.4, p.984–993, 1994.

RASMUSSEN, M.D.; MADSEN, N.P. Effects of milkline vacuum, pulsator airline vacuum, and cluster weight on milk yield, teat condition, and udder health. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.1, p.77–84, 2000.

REINEMANN, D.J. The smart position on teat condition Biomechanics of Milk Extraction and Lactation Physiology View project Machine Milking Performance and Evaluation View project. *New Zealand Milk Quality Conference*, p.124–131, 2012. Disponível em: <>. Acesso em: 12 ago. 2023.

REINEMANN, D.J. Milking machines and milking parlors. In: Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering, 3 st, Elsevier, 2019. p. 225–243. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00010-5>>. Acesso em: 12 ago. 2023.

ROMERO, G.; PERIS, C.; FTHENAKIS, G.C.; DIAZ, J.R. Effects of machine milking on udder health in dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v.188, p.1-8, 2020.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções. São Paulo: Edição dos autores, 2019. 301p.

STAUFFER, C.; FEIERABEND, M.; BRUCKMAIER, R.M. Different vacuum levels, vacuum reduction during low milk flow, and different cluster detachment levels affect milking performance and teat condition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.10, p.9250–9260, 2020.

TAFFAREL, L. E.; COSTA, P.B.; TSUTSUMI, C.; TODERO, E.J.; CAVILHÃO, C.; PIRES, S.C. Manutenção de ordenhadeiras em propriedades familiares do Oeste do Paraná. **Revista UDESC Em Ação**, v.6, n.1, p.1–12, 2012.

VERMAAK, P.; PETZER, I.M.; KARZIS, J. Effects of milking machine settings and teat liners on bovine udder health. **South African Journal of Animal Sciences**, v.52, n.4, p.421–432, 2022.

WANG, J.; LOVARELLI, D.; ROTA, N.; SHEN, M.; LU, M.; GUARINO, M. The potentialities of machine learning for cow-specific milking: automatically setting variables in milking machines. **Animals**, v.12, n.13, p.1-14, 2022.

WIELAND, M.; NYDAM, D.V.; VIRKLER, P.D. A longitudinal field study investigating the association between teat-end shape and two minute milk yield, milking unit-on time, and time in low flow rate. **Livestock Science**, v.205, p.88–97, 2017.

CAPÍTULO III

FATORES RELACIONADOS À CCS ELEVADA E QUALIDADE DO LEITE DE PROPRIEDADES COMERCIAIS A PASTO NA ESTAÇÃO QUENTE

RESUMO GRÁFICO



RESUMO

A elevada contagem de células somáticas (CCS) prejudica a produção de leite, dos componentes e pode prejudicar as propriedades físicas do leite. A disseminação de agentes causadores de mastite subclínica pode ser favorecida pela rotina inadequada de ordenha. Nosso objetivo foi identificar os fatores associados à CCS elevada e ainda, se a CCS e a estação quente (EQ) prejudicam a qualidade do leite de propriedades comerciais a pasto. Por fim, buscamos identificar a presença dos principais agentes causadores de mastite contagiosa (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*) e ambiental (*Escherichia coli*). Foram visitadas 62 propriedades na EQ de 2021 e 59 na estação fria (EF) de 2022. As propriedades eram localizadas no Oeste do Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil. A partir de uma amostragem do tanque de expansão determinamos a composição do leite (gordura, proteína, caseína, lactose, EST, ESD, NUL) e o ponto de congelamento do leite por espectrometria de radiação infravermelha, a CCS e a contagem padrão em placas (CPP) por citometria de fluxo. Além disso determinamos a estabilidade ao teste do álcool (ETA), pH, acidez titulável (AT), conteúdo de cloretos e a identificação microbiológica (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli*). Todas as vacas lactantes foram avaliadas para *Califórnia Mastitis Test*, profundidade de úbere, condição da extremidade do teto, *udder clearance*, sujidade de perna e úbere. Os dados foram avaliados através da análise univariada, utilizando a análise de variância, sendo as variáveis significativas quando $P < 0,05$. A análise multivariada foi realizada pela técnica de análise fatorial e foram consideradas significativas as cargas fatoriais $\geq 0,4$. Dividimos as propriedades em alta ($n=55$) e baixa ($n=66$) CCS, conforme o ponto de corte de 400.000 céls/mL. Não identificamos *Streptococcus agalactiae*, o *Staphylococcus aureus* foi encontrado apenas em EF e a *Escherichia coli* apenas em propriedades de baixa CCS. Em propriedades com CCS elevada identificamos vacas mais velhas ($P = 0,0032$) e com úberes mais profundos ($P = 0,0212$), leite com menor teor de lactose ($P = 0,0002$) e maior concentração de cloretos ($P = 0,0121$). Na EQ identificamos menor acidez titulável ($P < 0,0001$). A qualidade do leite foi similar em propriedades de CCS elevada independentemente da estação climática, não havendo evidência de um prejuízo maior devido à alta CCS, quando associado a condições de estresse térmico.

Palavras-chave: contagem de células somáticas, estação climática, Instrução Normativa
76

ABSTRACT

The Somatic Cell Count (SCC) impairs milk production and its components and may compromise the physical properties of milk. The routine milking process can favor the spread of agents that cause subclinical mastitis. Our objective was to identify factors associated with high SCC and investigate whether SCC and the warm season (WS) adversely affect the milk quality on pasture-based commercial farms. Additionally, we aimed to determine the presence of major contagious agents of mastitis (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*) and environmental agents (*Escherichia coli*). We visited 62 farms during the WS of 2021 and 59 during the cold season (CS) of 2022. The farms were in the West of Santa Catarina, Southern Brazil. From a sampling of the bulk tank, we determined the composition of the milk (fat, protein, casein, lactose, EST, ESD, NUL) and the freezing point of the milk by infrared radiation spectrometry, the SCC and the standard plate count by flow cytometry. In addition, we determine stability to the alcohol test, pH, titratable acidity, chloride content and microbiological identification (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *Escherichia coli*). All lactating cows were assessed for the California Mastitis Test, udder depth, teat end condition, udder clearance, leg, and udder cleanliness. Data were analyzed through univariate analysis, using analysis of variance, with variables considered significant at $P < 0.05$. Multivariate analysis was performed using factor analysis, with factor loadings ≥ 0.4 being considered significant. Farms were divided into high ($n=55$) and low ($n=66$) SCC categories, based on the cutoff point of 400,000 cells/mL. *Streptococcus agalactiae* was not identified, *Staphylococcus aureus* was found only in CS, and *Escherichia coli* was found only in farms with low SCC. In high SCC farms, we identified older cows ($P = 0.0032$) with deeper udders ($P = 0.0212$), milk with lower lactose content ($P = 0.0002$) and higher chloride concentration ($P = 0.0121$). In WS identified lower titratable acidity ($P < 0.0001$). Milk quality was similar in high SCC farms regardless of the climatic season, providing no evidence of greater impairment due to high SCC when associated with heat stress conditions.

Keywords: somatic cell count, climatic season, Normative Instruction 76

INTRODUÇÃO

Para o melhor controle da mastite subclínica (MSC), o processo de ordenha deve fornecer ambiente limpo, de baixo estresse, rotina operacional consistente e garantida eliminação dos agentes causadores de mastite (REINEMANN, 2019). Além disso, a propagação de patógenos pode ser minimizada mediante à verificação da existência de mastite no leite, seguido pela aplicação do *pré-dipping* e remoção da sujidade com toalha individual. A unidade de ordenha deve ser acoplada entre 1 e 4 minutos após o início da estimulação e quando a taxa de fluxo de leite cair, o vácuo deve ser cortado para que a unidade seja removida, seguido da aplicação do *pós-dipping* nos tetos (REINEMANN, 2019).

Diante das falhas no manejo, os fatores de risco tornam a propagação dos patógenos no ambiente mais fácil, especialmente quando se trata da ausência de linha de ordenha (CARDOZO et al., 2015), falhas na preparação das vacas (RAMÍREZ et al., 2014; DUFOUR et al., 2012) e descuido com o equipamento de ordenha (CARDOZO et al., 2015). As características das vacas também podem se tornar fatores de risco da MSC através da elevada paridade (ALESSIO et al., 2016), estágio de lactação elevado (RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015), hiperqueratose da extremidade do teto (CARDOZO et al., 2015), elevada profundidade (CARDOZO et al., 2015) e sujidade de úbere (RAMÍREZ et al., 2014). O ambiente, por meio do estresse por calor também favorece a MSC (BERTOCCHI et al., 2014; CARDOZO et al., 2015; IGONO et al., 1988; NASR; EL-TARABANY, 2017; TAO et al., 2011), seja pelo aumento de vetores (BERTOCCHI et al., 2014), redução do consumo alimentar (TAO et al., 2011) ou aumento da temperatura de úbere (IGONO et al., 1988).

No Brasil, Cardozo et al. (2015) identificaram que as vacas com mais de três lactações, escore de hiperqueratose \geq três (conforme escala proposta por MEIN et al., 2001), úbere abaixo do jarrete ou muito sujo, além da ausência de linha de ordenha, possuem maior risco de desenvolver novos casos de mastite subclínica (MSC) no rebanho. Também foi observado que o risco de desenvolver MSC crônica é favorecido em vacas com mais de 100 dias em lactação (DEL) ou pela falta de manutenção do equipamento de ordenha (CARDOZO et al., 2015).

Apesar dos gêneros *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. serem majoritariamente discutidos na MSC, é importante estudá-los para identificar sua frequência em ambientes com características distintas. No compilado de dados

brasileiros, o gênero *Streptococcus* spp. foi mais prevalente (*S. agalactiae* e *S. uberis*), seguido pela *Staphylococcus* spp., (principalmente *S. aureus*) (ALMEIDA et al., 2020). Embora as bactérias gram-negativas tenham sido menos encontradas no leite de animais doentes, o principal agente identificado foi a *Escherichia coli* (*E. coli*) (ALMEIDA et al., 2020).

Além de reduzir o rendimento do leite, a MSC também causa mudanças na síntese dos componentes do leite (BOBBO et al., 2016; NASR; EL-TARABANY, 2017; KUL et al., 2019; GONÇALVES et al., 2018; ARRUDA JUNIOR, 2018). Além disso, há indícios de que haja menor estabilidade ao teste do álcool (ETA) (MACHADO et al., 2017; DE OLIVEIRA et al., 2013), aumento do pH (LI et al., 2019), redução do ponto de congelamento (PC) (HANUŠ et al., 2010) aumento do conteúdo de cloretos (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007; GARGOURI et al., 2014) e baixa acidez titulável (AT) diante da MSC (ARRUDA JUNIOR, 2018).

São escassos os estudos que abordem o efeito da CCS elevada de rebanhos comerciais em condições de clima quente sobre todos os parâmetros determinados pela Instrução Normativa (IN) 76 (2018). Objetivou-se identificar os fatores associados à MSC, além de identificar o efeito do nível de CCS de tanque nas propriedades físicas e presença de microrganismos no leite.

MATERIAL E MÉTODOS

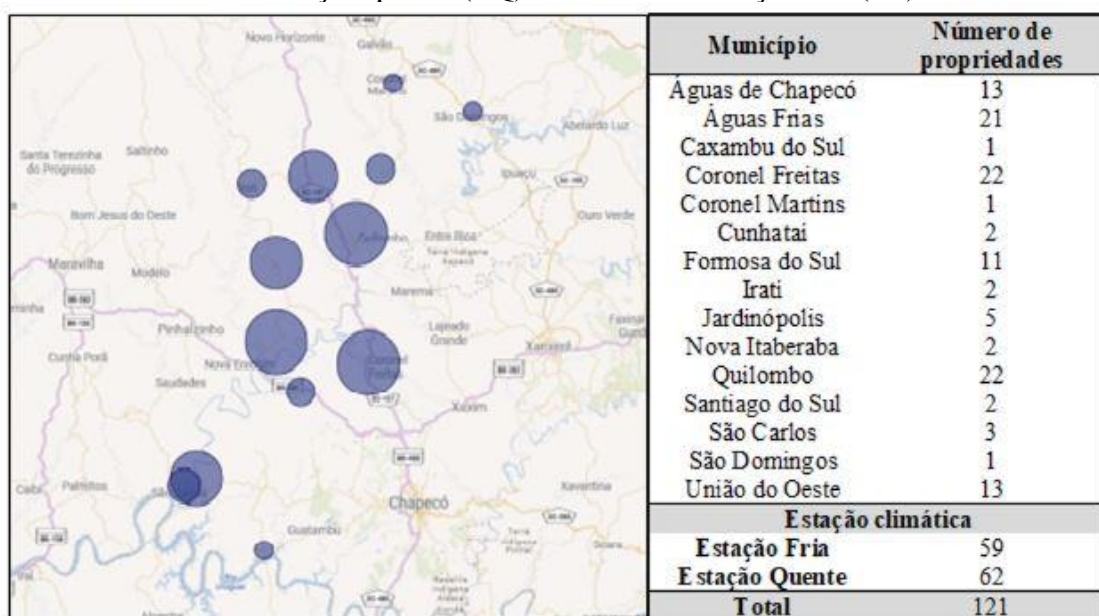
Região e escolha das propriedades

O procedimento experimental foi aprovado no Comitê de Ética para Humanos da Plataforma Brasil – Ministério da Saúde (nº 44702821.7.0000.0118) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (nº 9643091220). O estudo foi conduzido em uma Cooperativa presente no Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil. Esta cooperativa orientava os produtores de acordo com Reinemann (2019) e oferecia gratificação pelo rendimento de sólidos, baixa CCS e contagem padrão em placas (CPP) do leite comercializado. A região apresenta clima subtropical do tipo temperado úmido e verão quente, segundo Köppen (ALVARES et al., 2013).

As propriedades comerciais da região Oeste de Santa Catarina foram ranqueadas conforme suas médias aritméticas da CCS de tanque dos dois meses precedentes à visita

(três resultados mensais). Selecionamos as 20% com menores (≤ 300.000 céls/mL) e maiores (> 700.000 céls/mL) médias aritméticas de CCS. Por fim, identificamos apenas aquelas de sistema a pasto. Visitamos 62 propriedades comerciais na EQ (janeiro, fevereiro e março) de 2021 e 59 na estação fria (junho, julho e agosto) de 2022 (EF), conforme o mapa da Figura 1. Em cada propriedade, avaliamos o plantel de vacas lactantes, coletamos de informações e uma amostra de leite do tanque de expansão.

Figura 1 - Localização das 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil visitadas na estação quente (EQ) de 2021 e na estação fria (EF) de 2022.



Coleta de amostras de leite

O leite do tanque de expansão foi homogeneizado por aproximadamente 15 minutos e foi coletado com concha de inox que passou por flambagem em álcool 96% imediatamente antes da coleta. Coletamos quatro amostras de cada propriedade: 1) frasco de 50 mL com bronopol para a determinação da composição (gordura, proteína, caseína, lactose, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), nitrogênio ureico (NUL), CCS e ponto de congelamento (PC); 2) frasco de 50 mL com azidiol para a determinação da CPP; 3) frasco de 10 mL, estéril e isento de conservante para identificação microbiológica; 4) frasco de 80 mL, estéril e isento de conservante para as análises físicas.

Os frascos contendo conservantes foram homogeneizados por inversão, mantidos à 4°C e encaminhados ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores Brasileiros da Raça Holandesa – APCBRH, Curitiba, PR. Das amostras sem conservante,

a de 80 mL foi mantida a de 4°C e transferida ao laboratório da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC Oeste, Chapecó para análises físicas (pH, AT, ETA e conteúdo de cloretos) e a amostra de 10 mL foi mantida a -20°C durante 150 dias para posterior identificação dos microrganismos.

Análises de leite

A CCS e a CPP foram determinadas por citometria de fluxo. A composição do leite e o PC foram verificados por espectrometria de radiação infravermelha. As análises físicas foram realizadas antes de completar 12 horas após a coleta.

A ETA foi identificada em Placa de Petri, pela homogeneização de 2 mL de leite e 2 mL de álcool até a formação de coágulo. Utilizamos as graduações alcoólicas entre 68 e 88%, com intervalos de 2%. A estabilidade foi considerada à última graduação capaz de não induzir a formação de coágulo (TRONCO, 2010).

A AT foi analisada em acidímetro, pela titulação gradual de hidróxido de sódio à 10 mL de leite e três gotas de fenoftaleína. O volume capaz de mudar a cor do leite, de branco para rosa-claro indicou a sua acidez (BRASIL, 1981). O pH foi mensurado por potenciometria em peagâmetro digital (Akso, modelo K39- 6322PHC).

O conteúdo de cloretos (g/L) foi determinado pelo método de Mohr (GARGOURI; HAMED; EL FEKI, 2013), onde homogeneizamos 10 mL de leite, 125 mL de água destilada e duas gotas de ácido nítrico. Titulamos a mistura com nitrato de prata (0,08 mol/L) até a menor condutividade (Akso, modelo K39- 003PHC). Na equivalência da menor condutividade a titulação foi interrompida e o volume de nitrato de prata (V; em mL) determinado para ajustar aos valores da fórmula:

$$\text{CONTEÚDO DE CLORETOS} = (0,142 * V) * 2$$

A identificação dos microrganismos foi realizada a partir de amostras congeladas, no Laboratório de Bacteriologia do Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) no Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC - CAV, Lages. Foram realizadas pesquisas para os agentes primários de mastite *S. aureus*, *S. agalactiae* e *E. coli*. As amostras de leite (10 mL) foram descongeladas em geladeira até sua semeadura em placa. A identificação de *S. aureus* foi feita em meio de cultura em Agar Baird-Parker acrescido de emulsão gema de ovo com telurito. Para a identificação de *S. agalactiae* foi utilizado o meio Edwards Medium (Modified) com adição de 6% de sangue bovino esterilizado. Para a identificação de *E. coli* foi utilizado o meio de cultura Ágar

MacConkey, seletivo para bactérias gram-negativas. De cada amostra de leite foram semeados 10 µL em cada um dos três meios de culturas e incubados por 24 a 72 horas a 37°C. Após a incubação, as colônias suspeitas foram identificadas e confirmadas por testes bioquímicos específicos para as bactérias *S. aureus*, *S. agalactiae* e *E. coli*, conforme Oliveira; Vaz (2018). Foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* - ATCC como controle positivo nos isolamentos microbiológicos. As cepas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli* possuem números de registro ATCC 25923, 12386 e 25922, respectivamente.

Avaliações das vacas lactantes

Todas as vacas lactantes do plantel foram avaliadas durante a ordenha. Após a preparação dos tetos e descarte dos três primeiros jatos de leite realizamos o *Califórnia Mastitis Test* (CMT) na raquete Walmur®, adicionando 2 mL de reagente (Tadabras®) e 2 mL de leite. Após a homogeneização, o resultado para cada teto foi classificado como 0 (negativo), 0,5 (traços), 1 (reação fracamente positiva), 2 (reação positiva) ou 3 (reação fortemente positiva).

Durante o processo de ordenha, avaliamos a profundidade do úbere, sendo medida a distância (cm) da base do úbere até a linha do jarrete (COENTRÃO et al., 2008). Na mesma oportunidade mensuramos o *udder clearance*, pela distância (cm) da base do úbere em relação ao solo (BJELLAND et al., 2011). Pontuamos a sujidade de perna e de úbere em 1 (totalmente limpo), 2 (pouco sujo), 3 (sujo) ou 4 (completamente sujo) (SCHREINER; RUEGG, 2003). Após o desacoplamento da unidade de ordenha, o escore de ponta de teto (EPT) foi pontuado em escores 1 (sem anel), 2 (anel liso ou levemente áspido), 3 (anel áspido) ou 4 (anel muito áspido) (MEIN et al., 2001).

Coleta de informações

Aplicamos um *checklist* (Anexo 1) para obter informações sobre as vacas, estrutura da propriedade, manejo higiênico e sanitário do rebanho. Estes dados foram complementados pelo questionário semiestruturado (Anexo 2).

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância, utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS®, sendo previamente testados para normalidade de resíduos pelo procedimento UNIVARIATE do pacote estatístico SAS®, usando o teste de Kolmogorov-Smirnov com significância de 0,05. O modelo estatístico incluiu os efeitos da classe de CCS das propriedades (baixa < 400.000 céls/mL; alta > 400.000 céls/mL), da estação (quente e fria) e da interação entre estas. Variáveis foram consideradas com diferença significativa quando P < 0,05. Visando obter normalidade dos resíduos, os dados de CCS foram transformados para Escore de Células Somáticas (ECS) pela fórmula:

$$ECS = \log_2 \left(\frac{CCS + 1}{100} \right) + 3$$

Paralelamente às análises estatísticas univariada foi realizada análise multivariada pela técnica de análise fatorial, visando avaliar a relação das variáveis relacionadas aos rebanhos, às vacas e de qualidade do leite entre si. A análise foi realizada utilizando o procedimento FACTOR do pacote estatístico SAS®, com a rotação da matriz Promax, sendo os dados previamente padronizados pelo procedimento STANDARD. Foram consideradas significativas as cargas fatoriais $\geq 0,4$.

RESULTADOS

Em nosso estudo avaliamos 121 propriedades leiteiras, sendo 66 de baixa e 55 de alta CCS (Tabela 1). Quanto à estrutura das propriedades, as de alta CCS tiveram vacas com paridade mais elevada ($P = 0,0032$) e forneciam concentrado com maior percentual de proteína do concentrado na EQ ($P = 0,0392$), não havendo interação entre a classe de CCS e a estação do ano para nenhuma variável estudada. Destaca-se que a composição dos rebanhos em termos de número de animais por categoria nos rebanhos avaliados foi similar nos rebanhos com baixa e alta CCS, assim como nas diferentes estações climáticas (Tabela 1).

Quanto às características das vacas lactantes (Tabela 2), a CCS elevada foi associada aos plantéis com CMT elevado ($P < 0,0001$), úberes mais próximos do jarrete ($P = 0,0212$) e do chão ($P = 0,0484$). A EQ foi associada ao menor CMT dos plantéis (P

$< 0,0001$), úberes mais próximos do jarrete ($P = 0,0013$) e pernas das vacas menos sujas ($P < 0,0001$).

Os valores médios de CCS foram de 238.550 e 630.820 cels/mL para as propriedades de baixa e alta CCS, respectivamente (Tabela 3). A CCS não afetou a produção e a composição do leite, exceto para o teor de lactose que foi mais baixo nos rebanhos com alta CCS ($P = 0,0002$). O conteúdo de cloretos ($P = 0,0121$) também foi mais elevado nas propriedades de alta CCS, as quais também apresentaram maior CPP ($P = 0,0184$) e o maior estabilidade ao teste do álcool ($P = 0,0058$).

Ao considerarmos a estação climática, o ESD ($P = 0,0430$), conteúdo de cloretos ($P = 0,0029$) e o NUL ($P = 0,0103$) foram mais elevados na EF. Por outro lado, a relação caseína:proteína (CN:P) foi maior na EQ ($P = 0,0001$), junto da baixa ETA ($P < 0,0001$), baixo pH ($P = 0,0391$) e baixa AT ($P < 0,0001$).

Tabela 1 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para descrição do rebanho e alimentação de rebanhos leiteiros comerciais, distribuídos em dois níveis de CCS (alta e baixa) e estações fria e quente.

Variável	CCS				Estação				EPM	Valor de P		
	N ²	Baixa	N	Alta	N	Fria	N	Quente		CCS	Estação	CCSxEst
Vaca lactante, und.	64	22,00±1,27	54	23,52±1,38	58	23,06±1,34	60	22,33±1,32	10,1869	0,4301	0,6999	0,6755
Vacas seca, und.	64	4,53±0,39	53	3,96±0,43	57	4,10±0,42	60	4,43±0,41	3,1671	0,3360	0,5322	0,2460
Novilha, und.	64	8,95±0,86	53	8,09±0,95	57	7,96±0,92	60	9,13±0,89	6,9085	0,5406	0,4327	0,2963
Bezerra, und.	64	6,00±0,62	53	6,56±0,68	57	6,84±0,65	60	5,70±0,64	4,9720	0,5628	0,1957	0,3380
Animais improdutivos, und.	65	19,23±1,35	53	18,62±1,49	57	18,96±1,44	61	18,95±1,39	10,8941	0,7742	0,9359	0,5501
Grupamento genético ¹	65	2,01±0,07	53	2,08±0,08	58	2,08±0,07	60	1,99±0,07	0,5789	0,4985	0,4797	0,4161
Dias em leite, dias	47	183,49±6,15	32	193,13±7,45	35	186,77±7,13	44	187,89±6,36	42,1746	0,3305	0,7854	0,7119
Paridade	51	2,75±0,10	33	3,25±0,12	35	3,02±0,12	49	2,89±0,102	0,7154	0,0032	0,5602	0,9669
Concentrado, kg	62	5,25±0,21	52	4,79±0,23	54	5,09±0,23	60	5,00±0,22	1,6967	0,1262	0,8595	0,0725
Proteína do concentrado, %	62	18,53±0,03	49	19,14±0,04	52	18,44±0,27	59	19,11±0,25	1,9344	0,1072	0,0392	0,0824
Silagem, kg/dia	57	15,45±0,85	48	16,11±0,93	49	14,88±0,92	56	16,51±0,86	6,4231	0,5805	0,1958	0,9716

¹Pontuação determinada pela média de animais com cada raça; 1 = Jersey; 2 = Cruzada (Holandesa x Jersey, Holandesa x Zebuína ou Jersey x Zebuína); 3 = Holandês. ²Número de observações.

Tabela 2 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para características de vacas e hiperqueratose de teto de rebanhos leiteiros comerciais, distribuídos em dois níveis de CCS (alta e baixa) e estações fria e quente.

Variável	CCS				Estação				EPM	Valor de P		
	N ¹	Baixa	N	Alta	N	Fria	N	Quente		CCS	Estação	CCS x Est
Profundidade de úbere, cm	65	9,24±0,36	54	8,04±0,40	59	9,55±0,38	60	7,85±0,38	2.9629	0,0212	0,0013	0,4263
<i>Udder clearance</i> , cm	65	57,64±0,52	54	56,15±0,57	59	57,71±0,55	60	56,23±0,54	4.2128	0,0484	0,0502	0,9202
Sujidade de perna ²	65	2,60±0,08	54	2,77±0,09	59	2,94±0,08	60	2,42±0,09	0,6651	0,2441	<0,0001	0,3254
Sujidade de úbere ³	65	1,46±0,05	54	1,54±0,05	59	1,53±0,05	60	1,46±0,05	0,4213	0,2949	0,3725	0,5854
EPT médio ⁴	65	2,07±0,05	54	2,17±0,05	59	2,35±0,05	60	1,88±0,05	0,4090	0,3084	<0,0001	0,8821
Hiperqueratose ⁵ , %	65	0,27±0,02	54	0,32±0,03	59	0,40±0,03	60	0,19±0,03	0,1970	0,2065	<0,0001	0,6869
Escore CMT ⁶	65	0,39±0,03	54	0,78±0,03	59	0,68±0,03	60	0,46±0,03	0,2454	<0,0001	<0,0001	0,9799
Teto seco	62	0,84±0,19	53	1,02±0,21	59	0,92±0,19	56	0,92±0,19	1.5162	0,5499	0,9272	0,2892

¹Número de observações. ²Pontuação de 1 a 4, sendo 1=limpo a 4=muito sujo. ³Pontuação de 1 a 4, sendo 1=limpo a 4=muito sujo. ⁴Escore médio de ponta de teto, pontuado de 1 a 4, sendo 1=extremidade do teto sem formação de anel a 4=extremidade do teto com anel muito áspido. ⁵Frequência de escores 3 + 4. ⁶Pontuação do CMT: 0 (negativo), 0,5 (traços), 1 (reação fracamente positiva), 2 (reação positiva) e 3 (reação fortemente positiva).

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos ± erro-padrão da média e valores de P para produção e composição do leite, de rebanhos leiteiros comerciais com alta e baixa CCS e estações fria e quente.

Variável	CCS				Estação				EPM	Valor de P		
	N 11	Baixa	N	Alta	N	Fria	N	Quente		CCS	Estação	CCS x Est
Leite kg/vaca/dia	50	15,72±0,54	45	15,54±0,57	35	15,67±0,65	60	15,61±0,49	3,8220	0,7761	0,9142	0,8269
CCS cels x 1000/mL	66	238,55±19,96	54	630,82±22,06	59	445,05±21,10	61	386,08±20,76	162,1425	-	-	-
ECS ¹	66	5,33±0,02	54	5,78±0,02	59	5,56±0,02	61	5,51±0,02	0,1815	<0,0001	0,3188	0,9220
CPP ²	66	4,31±0,07	52	4,55±0,08	57	4,44±0,07	61	4,39±0,07	0,5525	0,0184	0,6270	0,7421
Gordura, %	66	3,92±0,05	54	3,93±0,05	59	3,96±0,05	61	3,88±0,05	0,3888	0,8787	0,2421	0,5509
Proteína, %	66	3,27±0,02	54	3,31±0,03	59	3,32±0,03	61	3,26±0,03	0,2013	0,2904	0,1467	0,9110
Lactose, %	66	4,46±0,01	52	4,38±0,02	57	4,41±0,02	61	4,44±0,01	0,1160	0,0002	0,2350	0,3351
Caseína, %	66	2,62±0,02	54	2,66±0,02	59	2,65±0,02	61	2,63±0,02	0,1650	0,2336	0,5515	0,8741
EST ³ , %	66	12,64±0,07	53	12,65±0,07	58	12,74±0,07	61	12,56±0,07	0,5323	0,9758	0,0683	0,6578
ESD ⁴ , %	66	8,72±0,03	52	8,71±0,03	57	8,76±0,03	61	8,67±0,03	0,2299	0,6938	0,0430	0,8491
G:P ⁵	66	1,19±0,01	54	1,18±0,01	59	1,19±0,01	61	1,18±0,01	0,0819	0,4439	0,6818	0,3355
CN:P ⁶	66	0,80±0,001	54	0,80±0,001	59	0,79±0,001	61	0,80±0,001	0,0104	0,4849	0,0001	0,8559
NUL ⁷ , mg/dl	66	14,73±0,51	54	14,43±0,56	59	15,57±0,54	61	13,65±0,53	4,1356	0,6072	0,0103	0,5460
Gordura, kg/dia	50	0,61±0,02	45	0,60±0,02	35	0,62±0,02	60	0,60±0,02	0,1265	0,6828	0,4942	0,9981
Proteína, kg/dia	50	0,51±0,02	45	0,51±0,02	35	0,52±0,02	60	0,50±0,02	0,1265	0,8879	0,6492	0,7622
Álcool ⁸ , GL	66	73,63±0,32	51	75,25±0,36	57	77,61±0,34	60	71,23±0,33	2,5880	0,0058	<0,0001	0,4494
pH	42	6,56±0,02	38	6,58±0,02	19	6,62±0,02	61	6,55±0,01	0,1072	0,3666	0,0391	0,6003
AT ⁹ , °D	66	18,77±0,21	53	18,19±0,24	58	18,23±0,23	61	17,83±0,22	1,7455	0,0503	<0,0001	0,2323
PC ¹⁰ , °C	65	-0,539±0,002	50	-0,537±0,002	59	-0,538±0,002	56	-0,539±0,002	0,0139	0,4812	0,7884	0,1680
Cloretos, g/L	65	0,855±0,02	51	0,922±0,02	56	0,924±0,02	60	0,848±0,02	0,1355	0,0121	0,0029	0,0895

¹Escore de células somáticas, ECS=log2((CCS+1)/100)+3. ²Contagem padrão em placas. ³Extrato seco total. ⁴Extrato seco desengordurado. ⁵Relação entre gordura e proteína. ⁶Relação entre caseína e proteína. ⁷Nitrogênio ureico do leite. ⁸Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos. ⁹Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). ¹⁰Ponto de congelamento. ¹¹Número de observações.

Tabela 4 - Cargas fatoriais, comunalidades e percentual de variância referentes às características de rebanho, conformação da glândula mamária, produção e composição do leite de tanque de propriedades leiteiras.

Variável	Fator						Comunalidade
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Estação climática ¹	-0,8858	-0,0011	-0,1009	0,0712	-0,0335	0,0207	80,28
Álcool, °GL ²	0,8444	0,0695	-0,1156	0,1440	0,06713	0,0793	79,13
Hiperqueratose ³	0,7275	-0,1183	0,1067	0,5202	0,02997	0,1097	71,71
AT ⁴ , °D	0,2018	0,6756	-0,0752	-0,1543	0,19520	-0,1857	59,22
PC ⁵ , °C	0,0312	-0,8617	-0,1905	0,0506	0,1452	-0,0783	81,69
Proteína, %	0,1740	0,5248	0,6371	-0,0009	0,09682	0,1015	83,71
Lactose, %	-0,1714	0,8044	-0,0494	0,1170	-0,0168	-0,2565	77,49
Grupamento genético ⁶	0,2253	0,1258	-0,7995	0,1100	-0,0419	0,0028	71,14
Leite, kg/vaca/dia	0,1491	0,2768	-0,4569	0,5913	0,0508	0,0894	73,34
Gordura, %	0,1575	0,1664	0,8816	-0,0412	0,0534	-0,0676	81,13
Concentrado ⁷ , kg	0,1403	-0,2123	-0,1936	0,7882	0,0786	-0,0885	68,18
CPP ⁸	-0,1422	-0,0734	-0,2052	-0,6919	0,2534	0,3357	62,57
Vaca lactante, und.	-0,0778	-0,1495	0,1769	0,3462	0,5481	0,1348	50,50
Sujidade de perna ⁹	0,3237	-0,0137	-0,0400	-0,0664	0,7856	-0,0216	79,22
Sujidade de úbere ⁹	0,0617	0,0934	0,0536	-0,0800	0,8334	0,0168	71,13
Cloretos, g/L	0,2327	0,1017	-0,1611	-0,2825	-0,4801	0,5003	54,47
Prof. Úbere, cm	0,3725	-0,2369	-0,1633	-0,3357	-0,0602	-0,4865	69,42

ECS ¹⁰	0,0386	-0,0599	-0,0586	-0,2575	0,1615	0,7404	64,71
Paridade	0,0698	-0,2222	0,0524	0,0384	-0,0684	0,6707	50,72
Proteína do concentrado, %	-0,2451	0,1533	-0,3124	0,3645	0,3156	-0,0294	51,84
Variância explicada	18,52%	15,24	13,44	9,25	7,05	5,60	

¹Inverno (1) ou verão (2). ²Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos. ³Frequência de 3+ 4. ⁴Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). ⁵Ponto de congelamento do leite. ⁶Pontuação determinada pela média de animais com cada raça 3 = holandês; 1 = Jersey; 2 = cruzada (Holandesa x Jersey, Holandesa x Zebuína ou Jersey x Zebuína). ⁷Quantidade de concentrado fornecido por animal e por dia. ⁸Contagem padrão em placas. ⁹Pontuação de 1 a 4, sendo 1=limpo a 4=muito sujo. ¹⁰Escore de células somáticas, ECS=log2((CCS+1)/100)+3.

Na análise de fatorial, os seis primeiros fatores explicaram 69,08% da variância (Tabela 4). O fator 1 (F1) explicou 18,52% da variação e indicou associação negativa entre a estação climática com a hiperqueratose e ETA, indicando valores mais elevados destes na EF. O fator 2 (F2) explicou 15,24% da variação e relacionou o aumento do PC com a redução de AT, do teor de proteína e da lactose do leite. O terceiro fator (F3) explicou 13,44% da variação, indicando que o aumento do teor de gordura foi associado ao aumento do teor de proteína do leite. Diante do aumento dos teores de gordura e proteína do leite, o grupamento genético (3 = Holandês; 2 = cruzada (Holandesa x Jersey, Holandesa x Zebuína ou Jersey x Zebuína); 1 = Jersey) e a produção de leite reduziram. O fator 4 (F4) explicou 9,25% da variação, indicou associação positiva entre a quantidade de concentrado fornecido e a produção de leite, entretanto foi negativamente associado a CPP. O fator 5 (F5) explicou 7,05% e considerou que a sujidade de úbere, de perna e o número de vacas lactantes foram positivamente relacionados. Por sua vez, o número de vacas lactantes aumentou enquanto o conteúdo de cloretos do leite diminuiu. O sexto fator (F6) explicou 5,60% da variância e identificou que a CCS do leite aumentou juntamente à paridade e o conteúdo de cloretos. No entanto, quanto maior a CCS do leite, mais próximo o úbere foi do jarrete.

A presença dos microrganismos está descrita na Tabela 5. Na EF avaliamos 58 amostras, sendo 31 de baixa e 27 de alta CCS, por outro lado, na EQ avaliamos 61 amostras, sendo 35 de baixa e 26 de alta CCS.

Tabela 5. Presença de microrganismos investigados em amostras de leite de tanque de propriedades com alta e baixa CCS na estação quente (EQ) e fria (EF).

		<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
		EQ	EF	EQ	EF	EQ	EF
Baixa CCS	Frequência absoluta	0/35	0/31	0/35	4/31	2/35	4/31
	Frequência relativa %	.	.	.	12,90	5,71	12,90
Alta CCS	Frequência absoluta	0/26	0/27	0/26	3/27	0/26	0/27
	Frequência relativa %	.	.	.	11,11	.	.

¹ células/mL × 10³. ²UFC/ mL × 10³

DISCUSSÃO

A quantidade de animais distribuídos nas diferentes categorias, bem como a produção de leite das vacas lactantes, não diferiu entre estações climáticas ou CCS de tanque. As nossas constatações retrataram as principais características de propriedades comerciais do Sul do Brasil, constituídas por plantéis pequenos (10 a 46 vacas lactantes), baixa produção de leite e alimentação a pasto (WERNCKE et al., 2016; SILVA et al., 2021). Em pesquisas similares, não foram identificadas relações entre a estrutura de rebanho e a CCS de tanque (WERNCKE et al., 2016; SILVA et al., 2021).

Considerando rebanhos maiores, os resultados são contraditórios e consideram vários sistemas de produção. No estudo de Busanello et al. (2017) a prevalência de MSC em nível de vaca não foi influenciada pela estrutura do rebanho ($P = 0,35$). Cardozo et al. (2015) avaliaram propriedades com aproximadamente 47 vacas lactantes, sendo aquelas com produção de leite entre 1000 e 1500 L/d ou 41 a 80 vacas em lactação ($P < 0,01$) apresentaram maior proporção de novas infecções subclínicas ou crônicas.

Além da base alimentar constituída por pastagem, as propriedades suplementavam planta inteira de milho (*Zea mays*) ensilada (90% das propriedades). No inverno, nenhum tipo de suplementação ensilada foi fornecido por 11,80% das propriedades. Do restante, 84,82% forneciam planta inteira de milho (*Zea mays*) e 3,38% sorgo (*Sorghum bicolor*) ensilados.

O concentrado comercial ou fabricado na propriedade foi suplementado em 91% das propriedades, enquanto aproximadamente 2,5% forneciam milho seco triturado com palha e sabugo e 6% não forneceram concentrado. O concentrado e as silagens complementavam a dieta total das vacas lactantes. A maioria das propriedades não balanceava a dieta e fornecia o concentrado conforme a estimativa visual da produção de leite. A análise fatorial indicou que o maior fornecimento de concentrado foi relacionado à maior produção de leite, sendo positivo o resultado buscado com a suplementação.

Na EQ o pastejo rotacionado aconteceu com trocas diárias de piquetes, exclusivamente formada por gramíneas perenes (*Axonopus compressus*, *Brachiaria decumbens*, *Cynodon plectostachyus*, *Cynodon dactylon* e *Panicum maximum*) e em alguns casos, anuais (*Avena sativa*, *Pennisetum glaucum* e *Sorghum sudanense*). Semelhante à pesquisa de Werncke et al. (2016), na EF predominaram as gramíneas anuais temperadas, em especial aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium multiflorum*). Algumas propriedades direcionavam os animais nas gramíneas perenes no período

noturno para evitar o pisoteamento excessivo das gramíneas anuais de inverno. Diferente de Werncke et al. (2016), em nossa pesquisa não houve pastejo em leguminosas.

Características de vacas

As propriedades com CCS elevada apresentaram vacas com maior paridade e úberes mais próximos do jarrete e do solo. Estudos anteriores como os de Ramírez et al. (2014), Cardozo et al. (2015) e Silva et al. (2021), identificaram o aumento no risco de MSC em vacas multíparas e naquelas com úbere na linha do jarrete ou abaixo dela.

A maior paridade em propriedades com CCS elevada demonstrou a importância do descarte destes animais. A análise fatorial reforçou essa observação, especialmente no F6, onde a CCS e a paridade apresentaram uma associação positiva. Alessio et al. (2016) também identificaram essa associação entre CCS e paridade. Embora seja comum descartar vacas de alta paridade, especialmente aquelas afetadas por MSC, é possível mantê-las no rebanho desde que sejam colocados no final da linha de ordenha (REINEMANN, 2019).

Considerando que identificamos microrganismos de origem contagiosa (*S. aureus*) e este é facilmente transmitido para os quartos mamários saudáveis, a linha de ordenha diminui a chance de disseminação (CARDOZO et al., 2015) e deve ser implantada sempre que possível (DUFOUR et al., 2012; CARDOZO et al., 2015).

Embora não tenhamos encontrado outras associações em nível de vaca, a literatura existente oferece dados consistentes, indicando que a MSC é influenciada por fatores como DEL elevado (RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015; SILVA et al., 2021), além de fatores associados a higiene do úbere (RAMÍREZ et al., 2014; CARDOZO et al., 2015), e condição da extremidade do teto, conforme evidenciado por Cardozo et al. (2015).

A pior conformação do úbere nas vacas de propriedades com CCS elevada está em consonância com as descobertas da pesquisa de Cardozo et al. (2015). Além disso, a profundidade de úbere foi positivamente associada à paridade e à CCS elevada. Com o avanço da idade, ocorre o aumento na profundidade de úbere e esta condição facilita a entrada de patógenos pelo esfíncter do teto (CARDOZO et al., 2015; SARKER et al., 2013). Neste estudo não classificamos a posição do úbere conforme a linha do jarrete, mas mensuramos exatamente a distância entre eles e pudemos observar que as propriedades com CCS elevada tiveram vacas com o úbere abaixo da linha do jarrete.

Apesar do menor *udder clearance* e da maior profundidade de úbere em propriedades de CCS elevada, as vacas não tiveram maior sujidade constatada. Identificamos úberes com menor profundidade em rebanhos avaliados na EQ, todavia a sua sujidade não foi prejudicada, ao passo que a umidade do ambiente também foi menor nesta estação. A EF normalmente é mais úmida e culmina em pernas mais sujas nesta estação. Os úberes das vacas na EF foram mais distantes do chão, mesmo assim não impediu de serem igualmente sujos àqueles da EQ.

Qualidade do leite

A MSC faz parte de um grupo complexo de doenças que limitam o desenvolvimento econômico das propriedades. A MSC provoca aumento da CCS, perda de produção e alteração na composição do leite (BOBBO et al., 2016; KUL et al., 2019). Neste estudo, as 121 propriedades foram divididas em alta e baixa CCS adotando o limiar de 400.000 céls/mL, sendo os valores médios de 238.500 e 630.820 céls/mL para os rebanhos de baixa e alta CCS, respectivamente. A CPP de tanque foi maior em propriedades de CCS elevada. Em consonância, a análise fatorial indicou que, propriedades com CPP elevada possuíram menor produção de leite e rebanhos com menor percentual de hiperqueratose grave (escore 3+4).

O menor teor de lactose no leite de propriedades com alta CCS pode ser atribuído a diversas razões isso porque a lactose atua na regulação osmótica do leite e em circunstâncias normais apresenta-se estável. A α -lactalbumina faz parte da lactose sintetase, e a sua redução, especialmente em MSC, prejudica a síntese de lactose (HAENLEIN et al., 1973). Além da menor síntese, ocorre maior permeabilidade das *tight junctions*, o que facilita o extravasamento da lactose do leite para o sangue (SHUSTER et al., 1991). Por outro lado, o maior influxo de alguns eletrólitos do sangue para o leite visa compensar a sua baixa concentração osmótica (BRUCKMAIER; ONTSOUKA; BLUM, 2004). Geralmente existe uma relação inversa entre a concentração de lactose e alguns minerais do leite (KUHN et al., 1980), especialmente sódio e cloro (ALHUSSIEN; DANG, 2018).

A redução de lactose em função do aumento de CCS do leite está bem documentada na literatura (SHUSTER et al., 1991; EL-TAHAWY; EL-FAR, 2010; ALHUSSIEN; DANG, 2018; BOBBO et al., 2016; ALESSIO et al., 2016). A lactose foi negativamente relacionada à CCS de vacas Jersey e Holandesas na análise fatorial de

Alessio *et al.* (2016). Em nosso estudo a CCS e o teor de lactose não tiveram cargas fatoriais elevadas, uma vez que, nosso estudo considerou amostras de tanque e Alessio *et al.* (2016) estudou o leite de vacas individuais.

A IN 76 regulamenta que o leite seja comercializado com ETA ao mínimo de 72% (Brasil, 2018). Amostras estáveis às graduações superiores são de melhor qualidade, por outro lado, aquelas instáveis à 72% não são autorizadas à industrialização. A ETA foi maior em alta CCS, entretanto, permitiu a comercialização do leite também em baixa CCS. Apesar de FELIPUS *et al.* (2023) não ter avaliado o leite imediatamente após a sua ordenha, transportá-lo do tanque de expansão para os caminhões graneleiros e para o silo da leiteria melhorou a estabilidade ao teste do álcool. Acredita-se que a agitação do leite resfriado, seguida de diferentes tempos de armazenamento aumentam a concentração de cálcio iônico no leite e prejudicam sua estabilidade (CZERNIEWICZ, KRUK; KIEŁCZEWSKAL, 2006).

Sabemos que a ETA é facilmente influenciada por diversas características, portanto recomendamos outras abordagens utilizando amostras individuais para fazer constatações acerca do efeito da CCS ou da estação climática. A maior parte da literatura explica que o aumento de CCS não interfere na perda de estabilidade do leite (FAGNANI; BELOTI; BATTAGLINI, 2014; GARGOURI *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2019), outros observaram relações significativas (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013; MACHADO *et al.*, 2017) e até mesmo contrárias, em que a baixa CCS que causa a perda de estabilidade (CHAVEZ *et al.*, 2004), assim como em nosso estudo.

Na EQ a estabilidade média de 71,2% indicou que algumas propriedades tiveram dificuldade em se adequar à IN 76 (BRASIL, 2018). Aquelas que não atenderam às especificações ficaram à mercê de ter o leite rejeitado pela indústria. Na EF, a estabilidade à 77%, indicou maior segurança em comercializá-lo, em consonância, a análise fatorial apontou que quando entramos na EQ, o grau alcoólico capaz de coagular o leite diminuiu sendo negativamente associados.

A baixa estabilidade na EQ é explicada pela escassez ou baixa qualidade de alimentos (ração, silagem e pastagem), pelo estresse por calor ou falta de chuvas (BATTAGLINI *et al.*, 2013; MACHADO *et al.*, 2017; VOGES *et al.*, 2018). As deficiências nutricionais e o estresse por calor são preponderantes no desencadeamento de instabilidade (BATTAGLINI *et al.*, 2013; VOGES *et al.*, 2018). Além disso, a alcalose metabólica compensada é comum na EQ de regiões subtropicais e foi associada à perda de estabilidade (FAGNANI; BELOTI; BATTAGLINI, 2014).

Assim como Gargouri et al. (2014), também encontramos relação positiva entre o conteúdo de cloretos e a CCS do leite (Tabelas 3 e 4). Concomitantemente, a elevada CCS e o conteúdo de cloretos foram associados à paridade das vacas. O aumento de Na, Cl e K durante a MSC são decisivos em elevar a força iônica do leite e predispor à instabilidade ao teste do álcool (CHAVEZ et al., 2004). De acordo com as classificações de CCS, o conteúdo de cloretos é < 1,10, entre 1,10 e 1,21 e > 1,21 g/L para úberes saudáveis, subclínicos e clínicos, respectivamente (GARGOURI et al., 2014). Em nosso estudo o conteúdo de cloretos foi relacionado ($P < 0,001$) com a CCS do leite a granel, o que permitiu que fosse utilizado como indicador de infecção da glândula mamária conforme sugerido por Gargouri et al. (2013).

O ESD foi menor na EQ, semelhante à pesquisa de Arruda Júnior et al. (2019) onde foi encontrado menor ESD em amostras de tanque avaliadas na EQ, sendo que a sua diminuição foi concomitante aos menores teores de proteína e lactose encontrados. Esse fato foi relacionado às condições estressantes de calor a que as vacas foram submetidas (ARRUDA JÚNIOR et al., 2019). Quando a condição termoneutra é comparada ao estresse por calor, e as vacas são alimentadas à vontade ou restritivamente (30%), percebemos que no estresse por calor, o consumo se limita à 28%. A única condição que não prejudica a produção de leite e os teores de lactose e proteína, é manter as vacas em condição termoneutra e fornecer alimentação à vontade (WHEELOCK et al., 2010). A menor disponibilidade de alimentos no outono também contribui para a redução da lactose e de ESD (ALESSIO et al., 2016; ARRUDA JÚNIOR et al., 2019).

O teor de gordura e proteína do leite foram positivamente relacionados entre si, e negativamente relacionados à produção de leite e ao grupamento genético. A maior produção de leite diluiu os sólidos, além disso, o teor de gordura e proteína do leite foram menores em rebanhos com mais vacas da raça Holandesa, indicado pelo maior grupamento genético, seguido das mestiças e Jersey.

Apesar do percentual de proteína do concentrado ter sido menor na EF, nesta época do ano foi comum o pastejo em gramíneas com elevado teor de nitrogênio não proteico, demonstrando a suscetibilidade à maior excreção de NUL, caso não tenha havido a reformulação da dieta. Apesar do NUL do leite ter variado entre as estações climáticas e ser mais elevado na EF, independente da época do ano ou grupo de CCS, ele permaneceu adequado, resultado do frequente ajuste da proteína do concentrado para alcançar melhor aproveitamento da dieta e índices produtivos.

Identificação Microbiológica

Não foi identificado o crescimento de *S. agalactiae* nas amostras de tanque analisadas. Esta constatação pode não retratar efetivamente a real condição das amostras de leite de tanque. Foram levantadas várias suposições para este resultado, visto que as propriedades comerciais costumavam segregar alguns tetos acometidos por MSC e a nossa avaliação ser feita a nível de tanque. Além disso, as amostras permaneceram congeladas por 150 dias (5 meses) e as células bacterianas congeladas podem ser danificadas mecanicamente por cristais de gelo intra e extracelulares (EL-KEST; MARTH, 1992). De acordo com Hubáčková e Ryšánek (2007), o congelamento de amostras de leite é inadequado para armazenamento de amostras antes da avaliação da qualidade higiênica em função do elevado risco potencial de diagnóstico incorreto, especialmente se tratando de *E. coli* e *S. aureus*.

Ao considerar os demais agentes investigados (*S. aureus* e *E. coli*), houve maior crescimento de ambos em baixa CCS e na EF. A infecção por *S. aureus* é uma das principais causas de MSC em todo o mundo (DUFOUR et al., 2012). Por ter origem infecciosa, sua presença indica falhas de higiene durante a ordenha e alerta para o risco de animais doentes atuarem como fonte de infecção para aqueles saudáveis (DUFOUR et al., 2012). Esperávamos ter encontrado maior crescimento de *S. aureus* em propriedades com CCS elevada por ser um causador de mastite contagiosa e ser de difícil controle. No entanto, o *S. aureus* foi mais prevalente em baixa CCS e em EF. Para tanto, ressalta-se o que já foi discutido a respeito do efeito da segregação dos tetos e congelamento das amostras.

No Paraná, quatro grupos de microrganismos (*Staphylococcus sp.*, Enterobactérias, *S. aureus* e *Pseudomonas sp.*) foram responsáveis por 81% do total identificado, sendo a *Staphylococcus sp.* a mais frequente (29,68%), seguido de Enterobactérias (21,15%) e *S. aureus* (16,51%). O *S. agalactiae* foi identificado em 1,67% das amostras (BETTANIN et al., 2019). Não houveram diferenças significativas para os patógenos entre as estações do ano durante o período, mas os autores ressaltaram que a umidade do ambiente é um dos principais fatores que favorece a incidência das Enterobactérias (BETTANIN et al., 2019).

Em nosso estudo, a *E. coli* foi identificada apenas em amostras com baixa CCS, além de ter sido mais prevalente na EF. O ambiente é a principal fonte das Enterobactérias (BETTANIN et al., 2019). Baseado no pressuposto, De Pinho Manzi et al. (2012)

esperavam que as vacas com hiperqueratose grave ou úberes muito sujos estivessem mais predispostas a desenvolver mastite por patógenos ambientais, o que não foi observado por eles.

Em nosso experimento não relacionamos a presença dos microrganismos com seus fatores de risco, todavia, a hiperqueratose grave e presença de *E. coli* foram maiores na EF. Apesar da sujidade de úbere não ter sido influenciada pela época do ano, a umidade do ambiente favorece o crescimento microbiano e a condição da extremidade do teto indica que o esfíncter demora mais tempo para se contrair e facilita a entrada de agentes veiculados pelo ambiente.

CONCLUSÃO

As propriedades comerciais com CCS elevada apresentam plantéis formados por vacas mais velhas e com úberes mais profundos, produzindo leite com menor teor de lactose e maior concentração de cloretos. Na EQ as propriedades tiveram AT mais baixa, mas dentro do recomendado pela normativa vigente.

A elevada CCS afeta a qualidade do leite de modo similar na estação fria e quente, não havendo evidência de um prejuízo maior devido à alta CCS, quando associado a condições de estação quente.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. V. *et al.* Microrganismos isolados de mastite bovina e em leite cru no Brasil. **Uniciências**, v. 24, n. 1, p. 58-64, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17921/1415-5141.2020v24n1p58-64>. Acesso em: 02 nov. 2023.

ALESSIO, D. R. M. *et al.* Multivariate analysis of the lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 37, n. 4, p. 2641-2652, 2016.

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil, **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n, 6, p. 711–728, 2013.

ALHUSSIEN, M. N.; DANG, A. K. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. **Veterinary World**, v. 11, n. 5, p. 562-577, 2018. Disponível em: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.11/May-2018/1.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2023.

ARRUDA JUNIOR, L. C. Variáveis relacionadas a não conformidades em qualidade do leite: baixa acidez titulável e baixo teor de extrato seco desengordurado. 2018. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.

ARRUDA, L. C. *et al.* Variation in the content of defatted dry extract in cooling tanks milk samples of dairy farms. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 203–216, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n1p203>. Acesso em: 13 ago. 2022.

BERTOCCHI, L. *et al.* Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. **Animal**, v. 8, n.4, p. 667–674, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1751731114000032>. Acesso em: 22 out. 2023.

BETTANIN, J. *et al.* Frequency of isolation of the bovine mastitis pathogens from Southwest of Paraná. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 13, n. 4, p. 440 – 451, 2019.

BOBBO, T. *et al.* The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield, and curd nutrient recovery. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.7, p. 5104–5119, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10512>. Acesso em: 27 set. 2021.

BJELLAND, D. W. *et al.* Production, reproduction, health, and growth traits in backcross Holstein × Jersey cows and their Holstein contemporaries. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 5194-5203, 2011.

BRASIL, Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Brasília, DF, 1981.

BRASIL, Instrução Normativa n. 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/96ontente/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em: 03 jun 2019.

BUSANELLO M. *et al.* Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6545-6553, 2017. Disponível em: [10.3168/jds.2016-12042](https://doi.org/10.3168/jds.2016-12042). Acesso em: 17 dez. 2021.

CARDOZO, L. L. *et al.* Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7675–7685, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8913>. Acesso em: 17 jan. 2020.

CHAVEZ, M. S. *et al.* Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 2, p. 201–206, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0022029904000172>. Acesso em: 20 set. 2020.

COENTRÃO, C. M, et al, Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v, 60, n, 2, p, 283–288, 2008,

CZERNIEWICZ, M.; KRUK, A.; KIEŁCZEWSKAL, K. Storage stability of raw milk subjected to vibration. **Agricultural and Food Sciences**, v. 15, p. 56-65, 2006.

DE OLIVEIRA, C. A. F. *et al.* Composição, contagem de células somáticas e frações de caseína em leites instáveis ao etanol. **Acta Scientiarum – Technology**, v. 35, n. 1, p. 153–156, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v35i1.11481>. Acesso em: 23 jan. 2022.

DE PINHO MANZI, M. *et al.* Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 430–434, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.05.010>. Acesso em: 27 jan. 2022.

DUFOUR, S. *et al.* Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1283–1300, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4711>. Acesso em: 27 jan. 2022.

EL-KEST, S. E.; MARTH, E. H. Freezing of *Listeria monocytogenes* and Other Microorganisms: A Review. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 8, p. 639-648, 1992.

EL-TAHAWY, A. S.; EL-FAR, A. H. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 3, p. 463–469, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00597.x>. Acesso em: 22 jul. 2022.

FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 398–402, 2014.

FELIPUS N. C. *et al.* Quality of refrigerated raw milk according to the bulk transport conditions. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 45, p. 1-8, 2023.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; EL FEKI, A. Analysis of raw milk quality at reception and during cold storage: combined effects of somatic cell counts and psychrotrophic bacteria on lipolysis. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 1405–1411, 2013.

GARGOURI, A. *et al.* Evaluation of Tunisian milk quality in dairy herds: Inter-relationship between chemical, physical and hygienic criteria. **Animal Science Journal**, v. 85, n. 6, p. 714–721, 2014.

GONÇALVES, J. L. *et al.* Milk losses associated with somatic cell counts by parity and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4357–4366, 2018.

HANUŠ, O. *et al.* The analysis of relationships between chemical composition, physical, technological and health indicators and freezing point in raw cow milk. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. 1, p.11–29, 2010.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2103-2112, 1994.

HAENLEIN, G. F. W.; SCHULTZ, L. H.; ZLKAKIS, J. P. Composition of proteins in milk with varying leucocyte contents. **Journal of Dairy Science**, v. 56, n. 8, p. 1017–1024, 1973.

HUBÁČKOVÁ, M.; RYŠÁNEK, D. Effects of freezing milk samples on the recovery of alimentary pathogens and indicator microorganisms. **Acta Veterinaria**, v. 76, n. 2, p. 301-307, 2007. Disponível em: <https://actavet.vfu.cz/76/2/0301/>. Acesso em: 18 mar. 2024.

IGONO, M. O. *et al.* Bio-meteorology Effect of season on milk temperature, milk growth hormone, prolactin, and somatic cell counts of lactating cattle. **International Journal of Biometeorology**, v. 32, p. 194-200, 1988.

KUHN, N. J.; CARRICK, D. T.; WILDE, C. J. Lactose synthesis: the possibilities of regulation. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 2, p. 328–336, 1980. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82934-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82934-1). Acesso em: 12 set. 2022.

KUL, E. *et al.* The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. **Veterinarski Arhiv**, v. 89, n. 2, p. 143–154, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0168>. Acesso em: 15 jul. 2022.

LI, S.; YE, A.; SINGH, H. Seasonal variations in composition, properties, and heat-induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 9, p. 7747–7759, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16685>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MACHADO, S. C. *et al.* Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 4, p. 340–347, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000400010>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MEIN, G. A. *et al.* Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. Non-infectious factors. . . Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, NMC/AABP, Vancouver, 5, 351–374, 2001.

NASR, M. A. F.; EL-TARABANY, M. S. Impact of three THI levels on somatic cell count, milk yield and composition of multiparous Holstein cows in a subtropical region. **Journal of Thermal Biology**, v. 64, p. 73–77, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.01.004>. Acesso em: 05 jan. 2021.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, n. 3, p. 237–242, 2007.

OLIVEIRA, S. J.; VAZ, A. K. **Guia bacteriológico prático: identificação, patogenicidade e imunidade.** Canoas: Ulbra, 2018, 272p.

RAMÍREZ, N. F. *et al.* Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4141–4150, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6815>. Acesso em: 22 out. 2023.

REINEMANN, D. J. **Milking machines and milking parlors.** In *Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering*, v.3, pp. 225–243. Elsevier. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00010-5>. Acesso em: 17 out. 2023.

RUEGG, P.; RASMUSSEN, M. D.; REINEMANN, D. **The seven habits of highly successful milking routines.** A3725 UW Extension publications, Madison, WI. 7p. 2000.

SARKER, S. C. *et al.* Prevalence and risk factors of subclinical mastitis in lactating dairy cows in north and south regions of Bangladesh. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1171–1176, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0342-7>. Acesso em: 23 jan. 2022.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, B. Experimental and observation leading to development of the California Mastitis test. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 130, p.199-204, 1957.

SCHREINER, D. A.; RUEGG, P. L. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 11, p. 3460–3465, 2003.

SHUSTER, D. E. *et al.* Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 11, p. 3763–3774, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78568-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78568-8). Acesso em: 24 jan. 2022.

SILVA, A. C.; LAVEN, R.; BENITES, N. R. Risk factors associated with mastitis in smallholder dairy farms in Southeast Brazil. **Animals**, v. 11, n. 7, p. 2089-2099, 2021. Disponível em: [10.3390/ani11072089](https://doi.org/10.3390/ani11072089). Acesso em: 17 jan. 2022.

TRONCO, V, M. Manual para inspeção da qualidade do leite. 4.ed. Santa Maria: UFSM, 2010. 195p.

TAO, S. *et al.* Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 12, p. 5976–5986, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4329>. Acesso em: 13 set. 2022.

TOMAZI, T *et al.* Association of herd-level risk factors and incidence rate of clinical mastitis in 20 Brazilian dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 161, p. 9-18, 2018.

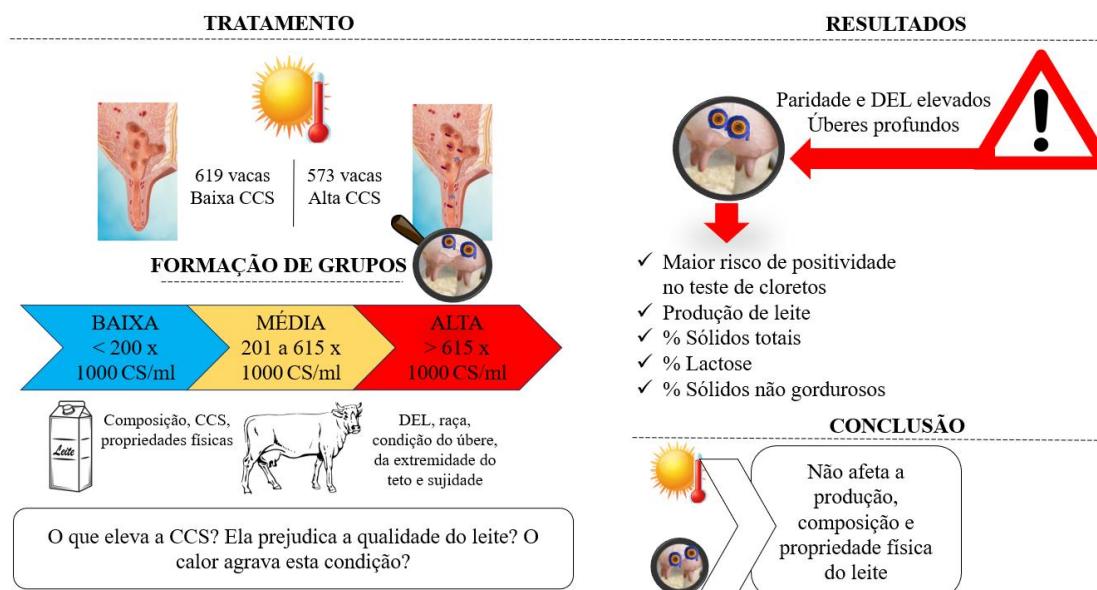
VOGES, J. G. *et al.* Relationship between farm structure and animal feed in unstable non-acid milk occurrence in Planalto Norte of Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-50399>. Acesso em: 12 out 2023.

WERNCKE, D. *et al.* Qualidade do leite e perfil das propriedades leiteiras no sul de Santa Catarina: Abordagem multivariada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p. 506–516, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8396>. Acesso em: 17 jul. 2022.

CAPÍTULO IV

VACAS COM CCS ELEVADA APRESENTAM PIOR DESEMPENHO PRODUTIVO E QUALIDADE DO LEITE INDEPENDENTE DA ESTAÇÃO CLIMÁTICA

RESUMO GRÁFICO



RESUMO

A qualidade do leite é afetada pela contagem de células somáticas (CCS) e pela condição climática. Poucas pesquisas científicas representaram a condição subtropical e o sistema de produção a pasto sob a CCS e estação quente (EQ). Nossa objetivo foi identificar as variáveis associadas a vacas com CCS elevada e identificar as características do leite produzido, especialmente quando manejadas em EQ. Avaliamos 573 vacas lactantes na EQ (janeiro, fevereiro e março) e 619 na estação fria (junho, julho e agosto) de 2022, oriundas de 54 propriedades comerciais do Oeste do Estado de Santa Catarina, Brasil. Em cada vaca, determinamos a composição do leite, CCS, estabilidade ao teste do álcool, pH, acidez titulável, conteúdo de cloretos, profundidade de úbere, condição da extremidade do teto, *udder clearance*, sujidade de perna e úbere. As vacas foram divididas em baixa CCS (≤ 200.000 céls/mL), média CCS (> 200.000 céls/mL e ≤ 615.000 céls/mL) e alta CCS (> 615.000 céls/mL). Os dados foram avaliados através da análise univariada, utilizando a análise de variância, sendo as variáveis significativas quando $P < 0,05$. A análise multivariada foi realizada pela técnica de análise fatorial e foram consideradas significativas as cargas fatoriais $\geq 0,4$. A elevada CCS reduziu a produção de leite ($P < 0,0001$) e de sólidos ($P = 0,0041$), além dos percentuais de lactose ($P < 0,0001$) e de sólidos não gordurosos do leite ($P < 0,0001$). Vacas com elevada CCS apresentaram elevado teor de cloretos no leite ($P < 0,0001$). Os efeitos da CCS sobre a produção, composição e propriedade física do leite independem da estação climática. As vacas mais velhas, com DEL mais elevado e úberes mais profundos foram mais propensas à MSC, independente da raça.

Palavras-chave: Conteúdo de cloretos, Características de vaca, Mastite subclínica, Raça bovina.

ABSTRACT

The quality milk its affected by somatic cell count (SCC) and climatic conditions. Few scientific studies have represented the subtropical condition and pasture-based production systems under CCS and warm season (WS). Our objective was to identify variables associated with cows with high SCC and to identify milk characteristics, especially when managed in WS. We evaluated 573 lactating cows in the WS (january, february and march) and 619 in the cold season (june, july and august) of 2022, from 54 commercial properties in the West of the state of Santa Catarina, Brazil. For each cow, we determined milk composition, SCC, alcohol stability test, pH, titratable acidity, chloride content, udder depth, teat end condition, udder clearance, leg, and udder cleanliness. Cows were divided into low SCC ($\leq 200,000$ cells/mL), medium SCC ($> 200,000$ cells/mL and $\leq 615,000$ cells/mL), and high SCC ($> 615,000$ cells/mL). Data were evaluated through univariate analysis, using analysis of variance, with variables considered significant when $P < 0.05$. Multivariate analysis was performed using factor analysis, and factor loadings ≥ 0.4 were considered significant. High SCC reduced milk ($P < 0.0001$) and solids production ($P < 0.0041$), as well as the percentages of lactose ($P < 0.0001$) and non-fat milk solids ($P < 0.0001$). Cows with high SCC showed elevated chloride levels in milk ($P < 0.0001$). The effects of SCC on production, composition, and physical properties of milk were independent of the climatic season. Older cows with higher days in lactation and deeper udders were more prone to mastitis, regardless of the breed.

Keywords: Chloride content, Cow characteristics, Subclinical mastitis, Bovine breed.

INTRODUÇÃO

A elevada temperatura e umidade relativa do ar das regiões subtropicais desafia a perda de calor corporal em vacas leiteiras a pasto, especialmente nas estações quentes (ALVARES et al., 2013; NASR; EL-TARABANY, 2017). Esta condição dificulta a termorregulação e pode favorecer o estresse térmico por calor e o aumento da contagem de células somáticas (CCS) do leite (CARDOZO et al., 2015; NASR; EL-TARABANY, 2017; TAO et al., 2011). A maior predisposição à mastite se deve ao aumento da sobrevivência de patógenos, à resposta imunológica prejudicada (CARTWRIGHT et al., 2023) ou pela limitação no consumo de alimento (TAO et al., 2011).

Foi documentado que a CCS reduz o volume de leite e altera os componentes (BOBBO et al., 2016; NASR; EL-TARABANY, 2017; KUL et al., 2019; GONÇALVES et al., 2018; ARRUDA JUNIOR, 2018). O estudo da qualidade física do leite destaca-se pela constante inconformidade do leite com a Instrução Normativa 76 (BRASIL, 2018), que causa o descarte do leite e prejuízo aos produtores rurais.

Temos evidências de que a CCS elevada prejudica a estabilidade ao teste do álcool (ETA) (MACHADO et al., 2017; DE OLIVEIRA et al., 2013), causa baixa acidez titulável (AT) (MOSLEHISHAD; EZZATPANAH; AMINAFSHAR, 2010; ARRUDA JUNIOR, 2018), redução do ponto de congelamento (PC) (HANUŠ et al., 2010; KEDZIERSKA-MATYSEK et al., 2011) e aumenta o conteúdo de cloretos do leite (GARGOURI et al., 2014).

A propriedades físicas do leite podem ser influenciadas diretamente ou indiretamente pelo estresse por calor. A literatura aponta que a ETA é prejudicada pela alcalose respiratória (Fagnani; Belotti; Battaglini, 2014), estresse por calor (MACHADO et al., 2017; VOGES et al., 2018) e pelo estado nutricional das lactantes (VOGES et al., 2018). A baixa AT foi associada ao índice de temperatura e umidade (ITU), dias em lactação (DEL) e ordem de parto elevadas (ARRUDA JUNIOR, 2018). O ITU elevado também pode favorecer reações positivas no teste qualitativo para cloretos (ARRUDA JUNIOR, 2018). Há indícios de que o PC aumenta durante o verão (OTWINOWSKA-MINDUR; PTAK; GRZESIAK, 2018; BJERG et al., 2005) e no início da lactação (OTWINOWSKA-MINDUR; PTAK; GRZESIAK, 2018). Os autores indicam que o maior PC pode ser influenciado por mudanças na dieta, na temperatura (BJERG et al., 2005) e pela grande ingestão de água após a desidratação (BJERG et al., 2005).

A qualidade físico-química do leite é afetada pela CCS e pela condição climática quente. Nas regiões de clima subtropical os fatores climáticos são desafiadores para a produção leiteira, sobretudo, para vacas em pastejo. Objetivou-se identificar as variáveis associadas a vacas com CCS elevada e identificar as características físico-químicas do leite produzido.

MATERIAL E MÉTODOS

O procedimento experimental foi aprovado no Comitê de Ética para Humanos da Plataforma Brasil – Ministério da Saúde (nº 44702821.7.0000.0118) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (nº 9643091220).

Foram avaliadas 573 vacas na EQ (janeiro, fevereiro e março) de 2022 e 619 na estação fria (junho, julho e agosto) de 2022 (EF), totalizando 1192 vacas lactantes, oriundas de 54 propriedades comerciais do Oeste do Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil (Figura 1). A região apresenta o clima subtropical do tipo temperado úmido com verão quente (Cfa), conforme Köppen (ALVARES et al., 2013). Escolhemos as propriedades conforme a média aritmética da CCS de tanque, a qual deveria ser acima de 500.000 céls/mL para garantir a presença de vacas de alta e baixa CCS em mesmo rebanho.

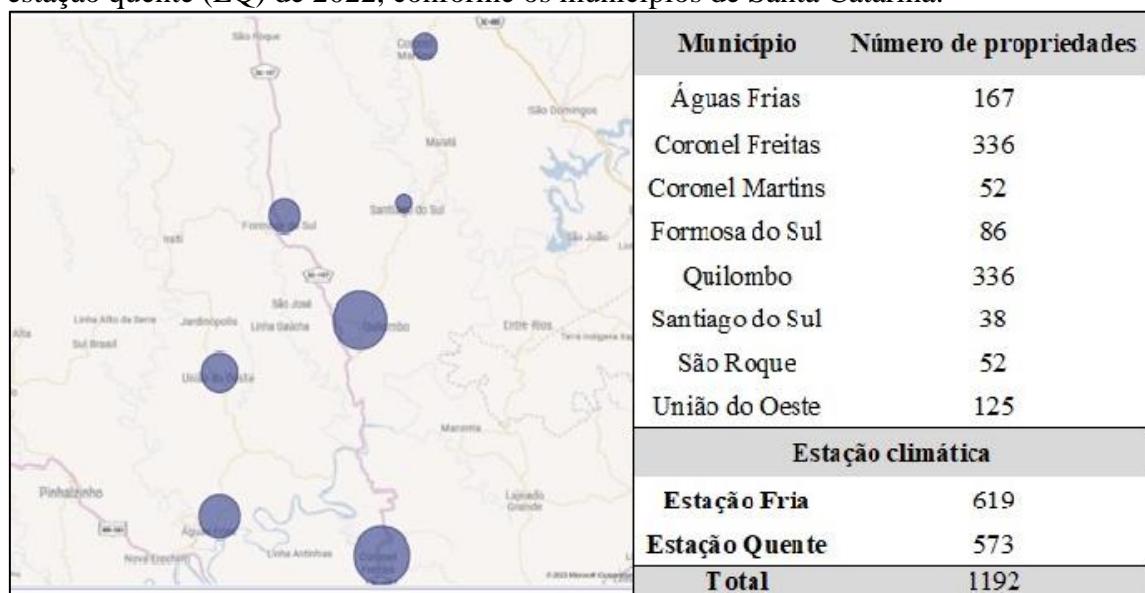
Coleta de leite

Para cada vaca avaliada, colheu-se uma amostra de leite composta e diária. Em equipamento canalizado a amostragem ocorreu em coletores graduados (Milkmeter®) e instalados na linha de ordenha. Ao final do processo de ordenha de cada vaca, identificamos o volume de leite produzido e após a homogeneização no próprio coletor, obtivemos a amostra. Em sistemas balde ao pé a amostragem acontecia após a pesagem e homogeneização do leite no tarro. Todas as propriedades efetuavam duas ordenhas no período de 24h, portanto, eram visitadas no turno matutino, seguido pelo vespertino, ou vice-versa. Após a primeira coleta de leite, as amostras eram mantidas à 4°C até a segunda coleta.

A amostra composta com volume aproximado de 200 mL foi homogeneizada e dela retirada uma alíquota de 50 mL, que foi mantida com Bronopol® à 4°C e

encaminhada ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores Brasileiros da Raça Holandesa – Apcbrh, Curitiba, PR. A subamostra de 150 mL foi mantida em mesma temperatura para as análises físicas no laboratório da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC Oeste, Chapecó.

Figura 1 - Distribuição do número de vacas leiteiras avaliadas na estação fria (EF) e estação quente (EQ) de 2022, conforme os municípios de Santa Catarina.



Análises de leite

A composição (gordura, proteína, caseína, lactose, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), nitrogênio ureico do leite (NUL), CCS e o PC do leite foram determinados no Laboratório da APCBRH, sendo a CCS por citometria de fluxo e os demais por espectrometria por radiação infravermelha. A subamostra sem conservante foi analisada imediatamente após a segunda coleta e finalizada em até 12 horas para verificação da ETA, AT pH e conteúdo de cloretos.

A ETA foi identificada em Placa de Petri, pela homogeneização de 2 mL de leite e 2 mL de álcool até a formação de coágulo. Utilizamos as graduações alcoólicas entre 68 e 88%, com intervalos de 2%. A estabilidade foi considerada à última graduação capaz de não induzir a formação de coágulo (Tronco, 2010).

Em acidímetro a AT foi analisada pela titulação gradual de hidróxido de sódio em 10 mL de leite e três gotas de fenoftaleína. O volume titulado capaz de mudar a cor do leite de branco para rosa-claro indicou sua acidez (Brasil, 1981). O pH foi mensurado por potenciometria em peagâmetro digital (Akso, modelo K39- 6322PHC).

O conteúdo (g/L) de cloretos foi determinado pela homogeneização de 10 mL de leite, 125 mL água destilada e duas gotas de ácido nítrico (GARGOURI; HAMED; EL FEKI, 2013). A mistura foi titulada com nitrato de prata (0,08 mol/L) até a menor condutividade (Akso, modelo K39-003PHC). Na equivalência da menor condutividade a titulação foi interrompida e o volume de nitrato de prata (V; em mL) determinado. O conteúdo de cloretos (g/L) foi determinado pela fórmula:

$$\text{CONTEÚDO DE CLORETO} = (0,142 * V) * 2$$

Avaliações dos animais

Durante um dos processos de ordenha avaliamos a profundidade do úbere, sendo medida a distância (cm) da base do úbere até a linha do jarrete (COENTRÃO et al., 2008). Na mesma oportunidade, mensuramos o *udder clearance* pela distância (cm) da base do úbere em relação ao solo (Bjelland et al., 2011). Pontuamos a sujidade de perna e de úbere conforme os escores 1 (totalmente limpo), 2 (pouco sujo), 3 (sujo) ou 4 (completamente sujo) (SCHREINER; RUEGG, 2003). Após o desacoplamento da unidade de ordenha avaliamos a condição da extremidade do teto pontuando em escores 1 (sem anel), 2 (anel liso ou levemente áspero), 3 (anel áspero) ou 4 (anel muito áspero) (MEIN et al., 2001). Para cada vaca avaliada, obtivemos as informações de DEL, número de partos e grupamento genético.

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS®, sendo previamente testados para normalidade de resíduos pelo procedimento UNIVARIATE do pacote estatístico SAS®, usando o teste de Kolmogorov-Smirnov com significância de 0,05. O modelo estatístico incluiu os efeitos da classe de CCS das propriedades (baixa \leq 200.000 céls/mL; média $>$ 200.000 céls/mL e \leq 615.000 céls/mL; alta $>$ 615.000 céls/mL), da estação (quente e fria), da interação entre estas e da propriedade leiteira. Variáveis foram consideradas com diferença significativa quando $P < 0,05$. Visando obter normalidade dos resíduos, os dados de CCS foram transformados para Escore de Células Somáticas (ECS) pela seguinte equação:

$$ECS = \log_2 \left(\frac{CCS + 1}{100} \right) + 3$$

A relação entre as classes de CCS e o percentual de vacas com hiperqueratose foi analisada pelo teste de qui-quadrado.

Paralelamente às análises estatísticas univariada foi realizada análise multivariada pela técnica de análise fatorial, visando avaliar a relação das variáveis relacionadas aos rebanhos, às vacas e de qualidade do leite entre si. A análise foi realizada utilizando o procedimento FACTOR do pacote estatístico SAS®, com a rotação da matriz Promax, sendo os dados previamente padronizados pelo procedimento STANDARD. Foram consideradas significativas as cargas fatoriais $\geq 0,4$.

RESULTADOS

As características de rebanho associadas às vacas com CCS elevada estão disponíveis na Tabela 1. A exceção da CCS e do ECS, todas as variáveis diferiram entre as vacas dos 54 rebanhos ($P < 0,0001$). A profundidade de úbere ($P < 0,0001$) e o *udder clearance* ($P < 0,0001$) indicaram maior proximidade do úbere com o jarrete e com o chão em vacas de alta CCS. A média de profundidade do úbere aumentou progressivamente nos grupos de CCS baixa, média e alta. Em contrapartida, o valor médio de *udder clearance* foi inferior nos grupos com CCS média e alta, comprovando sua proximidade com o chão em vacas com CCS > 200.000 céls/mL. Vacas de alta CCS também tiveram o maior valor médio para DEL ($P < 0,0001$) e número de partos ($P < 0,0001$).

A EQ foi associada às vacas com menor DEL ($P = 0,0463$). Houve interação entre CCS e a estação climática para o escore de sujidade de perna ($P = 0,0373$) e úbere ($P = 0,0049$), sendo que as vacas tiveram úberes e pernas mais limpos na EQ, independentemente do nível de CCS (Tabela 2). A interação entre a estação e o nível de CCS não foi evidenciada pelo teste de Tukey para sujidade de perna (Tabela 2). Enquanto as vacas com nível médio de CCS apresentaram úberes mais sujos do que as vacas com baixa CCS, somente no inverno.

A pontuação da extremidade do teto não diferiu entre os níveis de CCS ($P = 0,3531$) ou estações climáticas ($P = 0,5743$), assim como a percentagem de tetas com hiperqueratose. A frequência de vacas com hiperqueratose (escore de ponta de teta 3 ou 4 em pelo menos um dos tetos) não diferiu entre os níveis de CCS pelo teste de qui-quadrado ($P = 0,3622$), sendo que 56,27% das vacas tiveram hiperqueratose em pelo menos uma das tetas.

As vacas de baixa CCS (≤ 200.000 céls/mL) apresentaram valor médio de 80.500 céls/mL, enquanto as de média CCS (> 200.000 e ≤ 615.000 céls/mL) apresentaram 372.900 e as de alta CCS (> 615.000 céls/mL) média de 1 877,300 céls/mL (Tabela 4).

A produção de leite foi maior em vacas de baixa CCS ($P < 0,0001$) quando comparada às vacas com mastite subclínica, ou seja, acima de 200.000 céls/mL. A exceção do teor de gordura e da concentração de NUL, as demais variáveis de composição físico-química do leite diferiram entre os grupos de CCS (Tabela 4)

Os percentuais de gordura ($P < 0,0001$), proteína ($P = 0,0091$), lactose ($P = 0,0002$), caseína ($P = 0,0019$), EST ($P < 0,0001$), ESD ($P = 0,0021$), relação gordura:proteína ($P < 0,0001$), relação caseína:proteína (CN:P) ($P = 0,0065$), produção de proteína ($P = 0,0089$) e AT do leite ($P = 0,0009$) foram menores na EQ.

Vacas de alta e média CCS tiveram maiores percentuais de proteína e caseína ($P < 0,0001$). O teor de lactose foi maior em vacas de baixa, seguido da média e alta CCS ($P < 0,0001$). O percentual de EST foi maior em vacas com média CCS ($P = 0,0041$) e menor em vacas com CCS elevada, todavia, aquelas com baixa CCS não diferiram das demais. Vacas de baixa e média CCS tiveram maiores percentuais de ESD ($P < 0,0001$). A relação CN:P ($P = 0,0241$) e a produção de proteína do leite ($P = 0,0023$) foram menores na alta CCS.

Houve interação entre o nível de CCS e a estação climática para NUL ($P = 0,0225$) e rendimento de gordura do leite ($P = 0,0445$), sendo que o maior rendimento para ambos os parâmetros foi em vacas de baixa CCS alocadas na estação fria.

Com relação as propriedades físicas do leite, as vacas de alta CCS tiveram baixa AT ($P < 0,0001$), menor PC ($P = 0,0139$) e maior pH ($P < 0,0001$). O conteúdo de cloretos foi maior em vacas de alta CCS ($P < 0,0001$). Na EQ houve baixa AT ($P = 0,0009$) e PC do leite ($P < 0,0001$).

Tabela 1 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para características de vacas com CCS baixa (N = 505, ≤ 200.000 céls/mL), média (N = 364, > 200.000 a ≤ 615.000 céls/mL) e alta (N = 304, > 615.000 céls/mL), na estação fria (N = 601, EF) e estação quente (N = 572, EQ).

Variável	CCS			Estação		EPM	Valor de P		
	Baixa	Média	Alta	EF	EQ		CCS	Estação	CCS x Est
Profundidade de úbere, cm	9,79±0,29a	7,37±0,34b	6,10±0,37c	8,15±0,26	7,36±0,27	6,4058	<0,0001	0,2648	0,7965
<i>Udder clearance, cm</i>	57,33±0,33a	54,76±0,39b	53,66±0,42b	55,75±0,30	54,75±0,31	7,4063	<0,0001	0,2210	0,9891
Grupamento genético ¹	1,94±0,03	1,84±0,04	1,91±0,04	1,97±0,03	1,83±0,03	0,7335	0,1749	0,0908	0,5922
Dias em leite, dias	149,86±4,80b	176,08±5,65a	196,43±6,19a	186,82±4,50	161,44±4,51	107,8449	<0,0001	0,0463	0,7105
Paridade	3,04±0,09c	3,58±0,11b	4,12±0,12a	3,69±0,08	3,47±0,08	2,0294	<0,0001	0,3751	0,2214
Sujidade de perna ²	2,80±0,03	2,79±0,04	2,83±0,04	3,17±0,03	2,44±0,03	0,7703	0,8583	<,0001	0,0373
Sujidade de úbere ²	1,55±0,04	1,67±0,04	1,55±0,05	1,84±0,03	1,33±0,04	0,8487	0,1068	<,0001	0,0049
Escore de ponta de teta ³ (%)	2,53±0,04	2,56±0,04	2,63±0,05	2,60±0,03	2,55±0,03	0,8175	0,3531	0,5743	0,1783

¹Pontuação determinada pela média de animais com cada raça; 1 = Jersey; 2 = cruzada (Holandesa x Jersey, Holandesa x Zebuína ou Jersey x Zebuína); 3 = holandês. ²Pontuação de 1 a 4, sendo 1= limpo a 4= muito sujo. ³Pontuação de 1 a 4, sendo 1=limpo a 4=muito sujo. ³Escore de ponta de teto, pontuado de 1 a 4, sendo 1=extremidade do teto sem formação de anel a 4=extremidade do teto com anel muito áspido. ⁴Número de observações.

Tabela 2 - Interação entre CCS e Estação para a sujidade de perna e úbere de vacas com CCS baixa (abaixo de 200×10^3 céls/mL) média (entre 201 e 615×10^3 céls/mL) e alta (acima de 615×10^3 céls/mL), na estação fria (EF) e estação quente EQ.

CCS	Sujidade de perna			Sujidade de úbere		
	EF	EQ	Média	EF	EQ	Média
Baixa	3,19 Aa	2,40 Ba	2,80	1,70 Ab	1,32 Ba	1,55
Média	3,21 Aa	2,37 Ba	2,79	2,01 Aa	1,28 Ba	1,67
Alta	3,10 Aa	2,55 Ba	2,83	1,81 Aab	1,40 Ba	1,55
Média	3,17	2,44		1,84	1,33	

Letras diferentes maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ($P > 0,05$).

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos, erro-padrão da média (EPM) e valores de P para produção e composição do leite, de vacas com CCS baixa ($N = 505$, ≤ 200.000 céls/mL), média ($N = 364$, > 200.000 a ≤ 615.000 céls/mL) e alta ($N = 304$, > 615.000 céls/mL), na estação fria ($N = 601$, EF) e estação quente ($N = 572$, EQ).

Variável	CCS			Estação		EPM	Valor de P		
	Baixa	Média	Alta	EF	EQ		CCS	Estação	CCS x Est
Leite, kg/vaca/dia	17,05±0,22a	15,83±0,26b	15,30±0,29b	16,50±0,20	15,62±0,21	4,9928	<0,0001	0,1114	0,1042
CCS, céls x 1000/mL	80,50±38,63c	372,91±45,50b	1877,28±49,78a	769,66±35,41	784,14±36,29	867,9907	-	-	-
ECS ¹	4,81±0,01c	5,53±0,02b	6,16±0,02a	5,52±0,01	5,48±0,01	0,3016	<0,0001	0,2137	0,9387
Gordura, %	4,01±0,04	4,22±0,04	4,13±0,05	4,44±0,03	3,85±0,03	0,8045	0,0651	<0,0001	0,2096
Proteína, %	3,35±0,02b	3,50±0,02a	3,48±0,02a	3,50±0,02	3,39±0,02	0,3816	<0,0001	0,0091	0,3458
Lactose, %	4,48±0,01a	4,29±0,02b	4,05±0,02c	4,31±0,01	4,24±0,01	0,3244	<0,0001	0,0002	0,4777

Caseína, %	2,68±0,01b	2,79±0,02a	2,79±0,02a	2,81±0,01	2,70±0,01	0,3087	<0,0001	0,0019	0,3134
EST ² , %	12,94±0,05ab	13,05±0,06a	12,76±0,06b	13,24±0,04	12,59±0,05	1,0787	0,0041	<0,0001	0,1374
ESD ³ , %	8,84±0,02a	8,84±0,02a	8,60±0,03b	8,83±0,02	8,68±0,02	0,4485	<0,0001	0,0021	0,2063
G:P ⁴	1,22±0,01	1,21±0,01	1,19±0,01	1,27±0,01	1,14±0,01	0,2038	0,1203	<0,0001	0,3613
CN:P ⁵	0,80±0,00a	0,790,00ab	0,79±0,00b	0,79±0,00	0,79±0,00	0,004251	0,0241	0,0065	0,7168
NUL ⁶ , mg/dl	17,37±0,20a	16,27±0,23b	15,29±0,25c	16,87±0,18	15,76±0,18	4,3944	<0,0001	0,0218	0,0225
Cloretos, g/L	0,85±0,01c	0,95±0,01b	1,11±0,01a	0,95±0,01	0,99±0,01	0,1862	<0,0001	0,0547	0,9070
Gordura, kg/dia	0,69±0,01a	0,65±0,01ab	0,62±0,01b	0,71±0,01	0,60±0,01	0,2189	0,0006	<0,0001	0,0445
Proteína, kg/dia	0,57±0,01a	0,54±0,01ab	0,52±0,01b	0,56±0,01	0,52±0,01	0,1520	0,0023	0,0089	0,1740
Álcool ⁷ , °GL	79,89±0,22	79,08±0,26	79,09±0,29	78,85±0,21	79,85±0,21	5,0341	0,0379	0,0722	0,4547
pH	6,62±0,01c	6,65±0,01b	6,68±0,01a	6,65±0,01	6,64±0,01	0,1252	<0,0001	0,4875	0,2822
AT ⁸ , °D	18,81±0,10a	18,33±0,12b	17,16±0,13c	18,53±0,10	17,67±0,10	2,3397	<0,0001	0,0009	0,3524
PC ⁹ , °C	-0,53096±0,00a	-0,5328±0,00ab	-0,53369±0,00b	-0,5287±0,00a	-0,5362±0,00b	0,012372	0,0139	<0,0001	0,4777

¹Escore de células somáticas, ECS= log2((CCS+1)/100)+3. ²Extrato seco total. ³Extrato seco desengordurado. ⁴Relação entre gordura e proteína.

⁵Relação entre caseína e proteína. ⁶Nitrogênio ureico do leite. ⁷Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos. ⁸Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). ⁹Ponto de congelamento. ¹⁰Número de observações.

Tabela 4 - Interação entre CCS e Estação para Nitrogênio Ureico do Leite (NUL, mg/dl) e Produção de gordura (kg/dia) de vacas com CCS baixa (N = 505, ≤ 200.000 céls/mL), média (N = 364, > 200.000 a ≤ 615.000 céls/mL) e alta (N = 304, > 615.000 céls/mL), na estação fria (N = 601, EF) e estação quente (N = 572, EQ).

CCS	NUL			Gordura		
	EF	EQ	Média	EF	EQ	Média
Baixa	18,24 Aa	16,50 Ba	17,37	0,74 Aa	0,62 Ba	0,68
Média	17,07 Aa	15,47 Aa	16,27	0,72 Aa	0,59 Ba	0,65
Alta	15,29 Ab	15,29 Aa	15,29	0,64 Ab	0,58 Aa	0,61
Média	16,86	15,75		0,70	0,59	

Letras diferentes maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si ($P > 0,05$).

Tabela 5 - Cargas fatoriais, comunalidades e percentual de variância referentes a produção e composição do leite, características de rebanho e conformação da glândula mamária de vacas leiteiras.

Variável explanatórias	Fatores						Comunalidades
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
ECS ¹	0,70250	0,17210	-0,03600	-0,05948	-0,00483	0,13426	53,30
Cloretos, g/L	0,82172	-0,12957	0,03988	-0,08546	-0,00279	-0,13733	77,47
Lactose, %	-0,86729	-0,17001	0,00025	0,01903	0,00133	-0,06414	78,86
AT, °D ²	-0,60990	0,47024	0,00614	0,13372	0,02945	0,01018	60,85
Gordura, %	-0,05718	0,76189	-0,06905	-0,03837	0,02986	0,03934	57,09
Proteína, %	-0,00232	0,88119	-0,06398	-0,03215	-0,08422	0,04715	78,72
Dias em leite, dias	0,32339	0,56218	0,17571	0,11449	0,06450	0,05767	46,20
Grupamento genético ³	0,12963	-0,37144	0,54767	0,22259	0,02739	0,04105	50,37
Sujidade de perna ⁴	-0,03251	0,07361	0,83715	0,03959	0,04494	-0,02409	71,49

Sujidade de úbere ⁴	-0,02880	0,00137	0,75355	-0,17141	-0,21471	0,00652	60,41
Paridade	0,15153	-0,11185	0,05518	-0,73815	-0,01320	-0,15872	66,09
Profundidade de úbere, cm	-0,07433	-0,10806	0,05552	0,87019	-0,04227	-0,12570	80,10
Estação climática ⁵	0,09774	-0,17952	-0,22965	-0,00282	-0,75648	0,14580	70,13
PC ⁶ , °C	0,09472	-0,31623	-0,10675	0,18320	0,55850	0,25745	55,98
C:P ⁷	0,00654	-0,06010	-0,29940	-0,14075	0,69339	-0,07987	53,82
Hiperqueratose ⁸	0,15026	0,25895	0,04370	-0,00713	0,05348	0,78865	60,45
Álcool ⁹ , °GL	-0,10358	-0,19094	-0,08812	0,06534	-0,24363	0,61944	52,17
Leite, kg/vaca/dia	-0,31071	-0,27542	0,23046	-0,31915	0,17284	0,37696	64,00
Variância explicada	17,96%	13,85%	9,88%	8,00%	7,45%	6,05%	

¹Escore de células somáticas, ECS=log2((CCS+1)/100)+3. ¹Inverno (1) ou verão (2). ²Acidez titulável, medida em graus Dornic (°D). ³Pontuação determinada pela média de animais com cada raça 1 = Jersey; 2 = cruzada (Holandesa x Jersey, Holandesa x Zebuína ou Jersey x Zebuína); 3 = Holandês. ⁴Pontuação de 1 a 4, sendo 1=limpo a 4=muito sujo. ⁵Inverno (1) ou verão (2). ⁶Ponto de congelamento. ⁷Relação entre caseína e proteína.

⁸Frequência de 3+ 4. ⁹Maior graduação alcoólica, em graus Gay-Lussac (°GL) que o leite não formou grumos.

Na análise fatorial do conjunto completo de dados foram considerados seis fatores que explicaram 63,2% da variação total (Tabela 6). O Fator 1 (F1) explicou 17,96% da variação, no qual o percentual de lactose do leite foi associado positivamente à AT e negativamente relacionado ao nível de CCS e de cloretos. O segundo fator (F2) explicou 13,85% da variância e mostrou que o percentual de proteína foi positivamente relacionado ao percentual de gordura, AT e DEL. O terceiro fator (F3) explicou 9,88%, onde o grupamento genético, a sujidade de perna e úbere tiveram associação positiva. O quarto fator (F4) explicou 8,00%, no qual a profundidade de úbere foi negativamente relacionada à paridade. O quinto fator (F5) explicou 7,45% e a estação climática foi associado negativamente ao PC e à relação CN:P do leite. O sexto fator (F6) explicou 6,05% da variância, onde a elevação do escore de hiperqueratose do teto foi positivamente relacionado à ETA do leite. Destaca-se que a produção de leite/vaca/dia não apresentou carga fatorial maior que 0,4 em nenhum dos fatores, mas apresentou relação de menor valor, inversa a CCS (Fator 1) e relacionado positivamente ao aumento da paridade (Fator 4) e da hiperqueratose (Fator 6).

DISCUSSÃO

Características de rebanho

Todas as propriedades deste estudo eram do sistema de produção baseado em pastagem com suplementação volumosa de silagem de milho (*Zea mays*), concentrado proteico, feno ou pré-secado conforme os critérios adotados pelo produtor. Uma variedade de raças foi avaliada, sendo 47,43% Holandês, 38,51% Jersey e 14,06% cruzadas. O tamanho médio das propriedades comerciais era de 29 hectares (variando de 5,8 a 98ha), o tamanho dos rebanhos era de aproximadamente 22,55 vacas lactantes (variando de 7 a 58 vacas) e a produção média de leite por vaca e por dia foi de 16,07 litros (variando de 3 a 45 litros). Voges et al. (2018) também avaliaram propriedades comerciais oriundas de cooperativas de Santa Catarina, mas abordaram propriedades de produção familiar com média de oito vacas lactantes e baixa produção de leite (105 litros). Entretanto, as raças eram semelhantes, a alimentação também era baseada em pastagem, poucas propriedades suplementavam volumoso (geralmente silagem de milho) e algumas forneciam suplementação concentrada.

Das 54 propriedades comerciais visitadas avaliamos um total de 573 vacas na EQ e 619 na EF. No entanto, utilizamos os dados de apenas 572 e 601 vacas na EQ e na EF, respectivamente. A ausência de interação significativa entre o nível de CCS e a estação climática para nenhuma característica de composição ou propriedade física do leite demonstrou que os efeitos da CCS sobre a qualidade do leite independem da estação climática.

Nossos resultados reafirmaram os achados em pesquisas anteriores, em que a CCS do leite é maior em vacas com úberes mais próximos do chão (CARDOZO et al., 2015), com alta paridade (ALESSIO et al., 2016; RAMÍREZ et al., 2014) e DEL elevado (RAMÍREZ et al., 2014). O posicionamento do úbere na altura ou abaixo do jarrete pode refletir a idade, número de partos e a produção de leite elevadas (COENTRÃO et al., 2008). Estes úberes têm chance de serem mais sujos pela sua proximidade com o chão. Em nosso estudo, a sujidade e a profundidade de úbere não apresentaram nenhuma relação significativa. Mesmo assim, as vacas com o úbere mais próximo do jarrete tiveram maior CCS e conforme aumentou o seu distanciamento com o jarrete a CCS reduziu.

O esfíncter do teto é revestido internamente por uma camada de queratina que aprisiona os microrganismos e os impedem de entrar na glândula mamária (ODORČIĆ et al., 2019). Em condições normais, a extremidade do teto deve ser lisa e isenta de qualquer lesão (MEIN et al., 2001) para oferecer a proteção necessária e evitar a entrada de agentes causadores de mastite. Quando as condições de manejo ou equipamento de ordenha causam hiperqueratose (MEIN et al., 2001) prejudicam o fechamento completo do esfíncter (ODORČIĆ et al., 2019). As tetas com escores 1 e 2 possuem menor CCS quando comparadas à hiperqueratose 3 e 4 (DE PINHO MANZI et al., 2012). A revisão de literatura desenvolvida por Pantoja et al. (2020) evidenciou que os quartos mamários com hiperqueratose leve (escore = 2) tinham CCS mais baixa e menor prevalência de infecção intramamária do que os quartos mamários com escore 1. Os autores ressaltaram que o desenvolvimento de hiperqueratose leve como resposta fisiológica à ordenha, pode ter um efeito protetor contra agentes contagiosos. Em nosso estudo não encontramos relação entre CCS e a hiperqueratose. Acima de três, a hiperqueratose eleva o risco de um novo caso de mastite subclínica no plantel (CARDOZO et al., 2015). No entanto, Pantoja et al. (2020) relataram que a interpretação das associações entre hiperqueratose e MSC podem ser confundidas quando não consideram outros fatores nas análises, especialmente a paridade.

Não foi o objetivo deste estudo avaliar os riscos associados ao aumento da hiperqueratose, entretanto, a manutenção esporádica do equipamento de ordenha deve ser investigada por elevar o risco de tornar a mastite crônica (CARDOZO et al., 2015). Além das pulsações excessivas, sobreordenha, congestão da extremidade do teto e desacoplamento da unidade sem remover o vácuo favorecem a hiperqueratose (ODORČIĆ et al., 2019). A repetição do processo de ordenha aumenta a probabilidade de exposição aos agentes contagiosos (RAMÍREZ et al., 2014).

Ao contrário da maioria dos estudos anteriores que estabeleceram uma relação positiva entre alta produção de leite e hiperqueratose (NEIJENHUIS et al., 2000; CARDOZO et al., 2015), nosso estudo direcionou sua atenção para vacas com uma produção média relativamente baixa de leite, registrando 16,07 litros por vaca por dia. Identificamos uma relação fraca com a hiperqueratose, contrariando a expectativa de um efeito pronunciado nesse grupo específico de vacas. Embora a média de produção de leite seja considerada baixa, constatamos que 57% das vacas avaliadas apresentavam hiperqueratose. Esse dado destaca a relevância da análise, uma vez que, mesmo em contextos de produção leiteira menos intensiva, a incidência de hiperqueratose não pode ser negligenciada.

Qualidade composicional do leite

Agrupamos as vacas em três intervalos de CCS que originaram médias aritméticas para baixa (80.502 céls/mL), média (372.908 céls/mL) e alta CCS (1 877.283 céls/mL). Em nosso estudo a produção de leite foi significativamente menor em vacas de média e alta CCS, entretanto, a perda de produção não acompanhou o agravamento da MSC. A produção de leite diária tende a ser menor em vacas com CCS elevada, escassez de alimentos (KUL et al. 2019, CINAR et al., 2015; GONÇALVES et al., 2018), DEL e paridade elevadas (HAGNESTAM-NIELSEN et al., 2009). Em nosso estudo, a queda na produção de leite foi identificada a partir do grupo de baixa CCS, assim como em outros trabalhos da literatura (KUL et al. 2019, CINAR et al., 2015; GONÇALVES et al., 2018). Acima de 500.000 céls/mL a perda em primíparas pode alcançar 0,7 a 2,0 kg (3 a 9%) e em multíparas entre 1,1 e 3,7 kg (4 a 18%), dependendo do estágio da lactação (HAGNESTAM-NIELSEN et al., 2009).

O percentual de gordura não foi influenciado pela MSC ($P = 0,0651$) assim como outras pesquisas (CINAR et al., 2015; BOBBO et al., 2016). O percentual de lactose foi

inversamente proporcional à CCS do leite, corroborando com o evidenciado por Alessio et al. (2016) e Alessio et al. (2021). Diversas pesquisas já demonstraram redução no percentual de lactose do leite pela elevada CCS (ARRUDA JUNIOR, 2018; KUL et al. 2019; CINAR et al., 2015; SHUSTER et al., 1991). A mastite reduz o teor de lactose do leite através de vários mecanismos. Um deles é causado pela maior permeabilidade das *tight junctions*, facilitando o extravasamento da lactose do leite para o sangue (SHUSTER et al., 1991). Isto reduz a secreção de lactose, promove a conversão de plasminogênio em plasmina e causa uma redução subsequente na excreção de lactose no lúmen dos alvéolos da glândula mamária (SILANIKOVE et al., 2009). Os danos causados pela inflamação e infecção diminuem o número de células secretoras (RYSOVA et al., 2023). A lactose é responsável por manter o equilíbrio osmótico entre o sangue e o lúmen alveolar da glândula mamária e contribui para os sólidos do leite (ALESSIO et al., 2021).

A lactose também é o principal componente osmótico do leite e a sua redução ocorre mediante a entrada de eletrólitos transportados pelo sangue (BRUCKMAIER; ONTSOUKA; BLUM, 2000). Altas concentrações de sódio e cloro e menores de lactose, cálcio e potássio são identificadas em quartos mamários infectados. Esta relação depende da maior permeabilidade dos alvéolos, que levam à transferência de componentes de sangue para o leite, incluindo citratos, bicarbonatos além do próprio sódio e cloro. (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007). O conteúdo de cloretos aumentou concomitante à CCS do leite, semelhante aos achados em outras pesquisas (BRUCKMAIER; ONTSOUKA; BLUM, 2004; ALHUSSIEN et al., 2016; OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007).

Com base na compreensão atual, este estudo representa uma das mais abrangentes investigações realizadas sobre o teor de cloretos em vacas lactantes, englobando uma extensa amostragem de 1173 casos. A aplicação da análise fatorial revelou uma associação positiva entre a CCS e o conteúdo de cloretos no leite, reforçando conclusões de Gargouri et al. (2014).

O estudo prévio conduzido em amostras de leite de tanque, também constatou uma correlação positiva ($r=0,999$; $P < 0,01$) entre esses dois parâmetros (GARGOURI et al., 2014). Nesta pesquisa, amostras de tanque com CCS variando entre 98.000 e 2499.000 céls/mL exibiram teores de cloretos entre 0,84 e 1,41 g/L de leite (GARGOURI et al., 2014). Adicionalmente, os autores desenvolveram uma equação de regressão para estimar o teor de cloretos no leite ($\text{Cloreto (g/L)} = -1,13 + 0,39 \times \text{Log10CCS}$).

A avaliação qualitativa de cloretos é preconizada pela legislação brasileira para a detecção de reconstituíntes de densidade (BRASIL, 2018a). Contudo, nossa pesquisa optou por não incluir tal análise, uma vez que falsos positivos podem ocorrer mesmo na ausência de adulteração, sendo influenciados por características individuais dos animais, variações diurnas e pela CCS do leite (FORNASARI; MONTANHINI, 2015).

Conforme as categorias estabelecidas por Gargouri et al. (2014), o teor de cloreto pode ser classificado como <1,10, entre 1,10 e 1,21, e >1,21 g/l para amostras de leite com CCS ≤ 400.000, >400.000 a ≤ 800.000, e ≥800.000 céls/mL, respectivamente. Em nossa pesquisa, exploramos intervalos mais restritos, resultando em médias de teor de cloretos mais baixas. Em CCS baixa (\leq 200.000 céls/mL), o teor de cloretos alcançou 0,85 g/L, em CCS média (> 200.000 a \leq 615.000 céls/mL), 0,95 g/L, e em CCS elevada (> 615.000 céls/mL), 1,11 g/L.

Em conformidade com estudos anteriores (ALHUSSIEN et al., 2016, CINAR et al., 2015), observou-se que vacas com CCS elevada apresentaram um maior teor de proteína no leite. Adicionalmente, constatou-se que os percentuais de proteína e caseína no leite foram mais elevados em vacas com CCS classificada como alta ou média, enquanto aquelas com CCS baixa exibiram percentuais mais reduzidos. Esses achados sugerem uma possível correlação entre a saúde da glândula mamária, indicada pela CCS, e a composição do leite em termos de proteína e caseína. Contudo, é fundamental considerar outros fatores, como nutrição, genética e manejo, que também podem influenciar essas relações. Quando se analisou a produção de proteína (kg/vaca/dia), observou-se que, apesar do menor percentual de proteína em vacas com baixa CCS, a produção total de leite desses animais superou esse efeito. Adicionalmente, vacas com CCS mais baixa apresentam uma produção de leite superior, e tendem a exibir teores mais baixos proteína.

A maior relação CN:P em vacas de baixa CCS sugere que houve menor proteólise do leite, causando menor percentual de proteínas do soro (CINAR et al., 2015). Em contraste, vacas com CCS média e alta apresentaram relações CN:P semelhantes, sugerindo uma possível proteólise do leite. Correlações foram identificadas entre a CCS e a relação CN:P ($r=-0,83$, $p<0,05$) e conteúdo de nitrogênio não caseínico ($r=0,70$, $p<0,05$) (OGOLA; SHITANDI; NANUA, 2007). Apesar do efeito significativo entre os grupos de CCS ($P=0,0241$), a diferença entre as vacas de baixa e alta CCS foram de menos de 0,1 pontos percentuais, sendo que os valores médios de todos os grupos foram muito

próximos a 80%, valores estes que se encontram dentro da faixa de normalidade. Foi observada uma variabilidade bastante baixa para esta variável (76,6 a 81,1%).

Os menores teores de gordura, proteína, lactose, caseína, EST, ESD, relação G:P, relação CN:P e produção de proteína foram identificados na EQ. Em nosso estudo não conseguimos estudar o efeito da dieta e da ambiência separadamente, mas sabemos que a associação das duas prejudicam a síntese dos componentes do leite. Estas mesmas relações foram identificadas por Bernabucci et al. (2015), os quais observaram efeito significativo da época do ano para os percentuais de proteína (verão = 3,29% e inverno = 3,5%), EST (verão = 11,91; inverno = 12,58), ESD (verão = 8,75; inverno = 9,00) e gordura (verão = 3,20; inverno = 3,8). Embora Heck *et al.* (2009) tenha avaliado a variação sazonal do leite de vacas holandesas por meio amostras oriundas de tanques, também observaram menor rendimento dos componentes no verão, por outro lado, atribuíram o efeito às mudanças sazonais de origem alimentar.

Apesar de não terem explorado as características da dieta, Bernabucci et al. (2015) sugeriram que a menor produção de proteína e caseína do leite, bem como a relação CN:P seja oriunda de fatores dietéticos. A fosforilação das caseínas necessita de γ -fosfato de ATP e durante o estresse por calor, ocorre uma diminuição do consumo e as exigências de manutenção aumentam, as vacas podem entrar em balanço energético negativo. Com isso, estes autores supõem que a menor concentração de α -caseína e β -caseína no leite na EQ, pode ser parcialmente devido à redução na disponibilidade de energia e proteína, afetando a síntese e a proporção da caseína no leite.

Propriedades físicas do leite

A AT e o pH nos indicam a acidez natural do leite cru, sendo aceitável a comercialização de leite cru em amostras de tanque no Brasil com a acidez entre 14 e 18°D (Brasil, 2018). Ao analisarmos vacas lactantes com concentrações mais elevadas de CCS, verificamos uma diminuição na AT e um aumento do pH, indicando a menor acidez do leite, todavia a menor AT encontrada em vacas com CCS elevada ainda esteve dentro do intervalo tolerado pela IN 76 (BRASIL, 2018).

A literatura contém dados consistentes de que a CCS prejudica o pH do leite (BOBBO et al., 2016; ALHUSSIEN et al., 2016). A pesquisa de Bobbo *et al.* (2016) identificou o efeito quadrático da CCS no pH do leite de vacas lactantes. Em consonância, Alhussien et al. (2016) encontrou elevação de 6,61 para 6,63 comparando vacas saudáveis

e com MSC, respectivamente. Em nossa pesquisa, o pH do leite elevou de 6,61 para 6,68 ao comparar o grupo de baixa CCS (≤ 200.000 céls/mL) com o de alta CCS (> 615.000 céls/mL), semelhante aos dados de Alhussien et al. (2016).

Com relação à qualidade física do leite, a estação climática afetou apenas a AT e o PC do leite. Observamos menor AT na estação quente, corroborando com Bernabucci; Basiricó; Morera (2013). Embora o pH esteja relacionado à AT, não encontramos o seu aumento durante a EQ. A literatura justifica a redução da AT e elevação do pH pela diminuição de α -caseína e β -caseína no leite do verão, frações ricas em grupos fosfato e componentes ácidos da micela de caseína (BERNABUCCI; BASIRICÓ; MORERA, 2013; BERNABUCCI et al., 2015). Não avaliamos as frações de caseína, mas identificamos que o percentual total de caseína foi menor na EQ.

Por mais que o PC tenha permanecido dentro dos limites estabelecidos na IN 76 (2018), ele foi influenciado pela estação climática e pelo nível de CCS. As vacas com média e alta CCS e em EQ tiveram o PC do leite significativamente menor. Ou seja, nestas condições as vacas apresentaram maior concentração de solutos no leite. Pelo que temos conhecimento, esta foi a primeira pesquisa brasileira que estudou vacas a pasto, relacionando o PC do leite em diferentes níveis de CCS e condições climáticas. O PC já foi correlacionado negativamente com a CCS do leite (-0,36) de vacas Holandesas recebendo dieta total misturada na República Checa (HANUŠ et al., 2010). Por outro lado, (KĘDZIERSKA-MATYSEK, et al., 2011) avaliaram vacas em sistema confinado da Polônia e compararam amostras acima ou abaixo de 400.000 céls/mL, no outono e no inverno vs. verão e primavera, como resultado não encontraram dependência com a PC do leite.

No Brasil, Oliveira et al. (2020) estudou algumas propriedades físicas do leite de tanque em Minas Ferais, ele encontrou baixa AT e PC elevado nos meses de inverno. Por outro lado, a maior instabilidade ao teste do álcool foi identificada no final do inverno, correspondendo à transição do período seco para o chuvoso.

Em nossa pesquisa não encontramos relação entre o PC e as características de vaca na análise fatorial, mas a literatura já apontou relações significativas com o DEL e a paridade (KĘDZIERSKA-MATYSEK et al., 2011; RYSOVA et al., 2023).

A análise fatorial apontou que o PC foi diretamente proporcional à relação CN:P, a qual já foi identificada ($r = 0,36$ para raça Holandês e 0,42 para raça Simmental; $P < 0,05$ e 0,01) por Hanuš et al. (2010). Ambas as pesquisas indicaram que os piores valores de PC foram associados a valores mais elevados de CN:P. Os resultados de Kędzierska-

Matysek et al. (2011), Petrera et al. (2016) e Rysova et al. (2023) sugerem que as variações para o PC do leite são resultado de diferenças em proteína, lactose, cloretos e constituintes solúveis em água, como Ca, K e Mg, os quais variaram significativamente em função da CCS e da estação climática.

CONCLUSÃO

Vacas em sistema de produção baseado em pastagem e com elevada CCS possuem menor produção de leite e de sólidos do leite, além de menores concentrações de lactose e de sólidos não gordurosos do leite.

O efeito da CCS sobre a produção, composição e propriedade física do leite independe da estação climática.

O maior teor de cloretos no leite de vacas com CCS elevada aumentam o risco de não conformidade do leite pelo teste qualitativo de cloretos.

Vacas mais velhas, com DEL mais elevado e úberes mais profundos são mais propensas à MSC, independente da raça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALESSIO, D. R. M. *et al.* Multivariate analysis of the lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 37, n. 4, p. 2641-2652, 2016.
- ALESSIO, D. R. M. *et al.* Lactose and its relationship with other milk constituents, somatic cell count, and total bacterial count. **Livestock Science**, v. 252, p. 1-7, 2021.
- ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil, **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ALHUSSIEN, M. N.; DANG, A. K. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. **Veterinary World**, v. 11, n. 5, p. 562-577, 2018. Disponível em: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.11/May-2018/1.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2023.
- ARRUDA JUNIOR, L. C. **Variáveis relacionadas a não conformidades em qualidade do leite: baixa acidez titulável e baixo teor de extrato seco desengordurado.** 2018. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.

BERNABUCCI, U.; BASIRICÓ, L.; MORERA, P. Impact of hot environment on colostrum and milk composition. **Cellular and Molecular Biology**, v. 59, n. 1, p. 67– 83, 2013.

BERNABUCCI, U. *et al.* Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1815–1827, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8788>. Acesso em: 27 jan. 2022.

BOBBO, T. *et al.* The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation properties, curd firmness modeling, cheese yield, and curd nutrient recovery. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n.7, p. 5104–5119, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10512>. Acesso em: 27 set. 2021.

BRUCKMAIER, R. M., ONTSOUKA, C. E.; BLUM, J. W. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. **Medicine Veterinary**, v. 49, n. 8, p. 283–290, 2004.

BJELLAND, D. W. *et al.* Production, reproduction, health, and growth traits in backcross Holstein × Jersey cows and their Holstein contemporaries. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 5194-5203, 2011.

BJERG, M.; RASMUSSEN, M. D.; NIELSEN, M. O. Changes in freezing point of blood and milk during dehydration and rehydration in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 9, p. 3174–3185, 2005.

BRASIL, Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Brasília, DF, 1981.

BRASIL, Instrução Normativa n. 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em: 03 jun 2019.

CARDOZO, L. L. *et al.* Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7675–7685, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8913>. Acesso em: 17 jan. 2020.

CARTWRIGHT, S. L., SCHMIED, J., KARROW, N., MALLARD, B. A. Impact of heat stress on dairy cattle and selection strategies for thermotolerance: a review. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 01-13, 2023.

CINAR, M. *et al.* Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 1, p. 105–108, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3646>. Acesso em: 17 jan. 2020.

COENTRÃO, C. M, et al, Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v, 60, n, 2, p, 283–288, 2008,

DE OLIVEIRA, C. A. F. *et al.* Composição, contagem de células somáticas e frações de caseína em leites instáveis ao etanol. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 35, n. 1, p. 153–156, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v35i1.11481>. Acesso em: 23 jan. 2022.

DE PINHO MANZI, M. *et al.* Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 430–434, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.05.010>. Acesso em: 27 jan. 2022.

FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 398–402, 2014.

FORNASARI, M. T. C.; MONTANHINI, M. T. M. Avaliação da eficiência da prova qualitativa de cloreto para investigação de adulteração do leite. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 2, p. 75 – 79, 2015.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; EL FEKI, A. Analysis of raw milk quality at reception and during cold storage: combined effects of somatic cell counts and psychrotrophic bacteria on lipolysis. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 1405–1411, 2013.

GARGOURI, A. *et al.* Evaluation of Tunisian milk quality in dairy herds: Inter-relationship between chemical, physical and hygienic criteria. **Animal Science Journal**, v. 85, n. 6, p. 714–721, 2014.

GONÇALVES, J. L. *et al.* Milk losses associated with somatic cell counts by parity and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4357–4366, 2018.

HAGNESTAM-NIELSEN, C. *et al.* Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3124–3133, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1719>. Acesso em: 07 jul. 2021.

HANUŠ, O. *et al.* The analysis of relationships between chemical composition, physical, technological and health indicators and freezing point in raw cow milk. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. 1, p.11–29, 2010.

HECK, J. M. L. et al. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 4745–4755, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030209708045>. Acesso em: 02 nov. 2023.

KĘDZIERSKA-MATYSEK, M. *et al.* The effects of breed and other factors on the composition and freezing point of cow's milk in Poland. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64 n. 3, p. 336-342, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0307.2011.00682.x> Acesso em: 02 nov. 2023.

KUL, E. *et al.* The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. **Veterinarski Arhiv**, v. 89, n. 2, p. 143–154, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0168>. Acesso em: 15 jul. 2022.

MACHADO, S. C. *et al.* Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 4, p. 340–347, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000400010>. Acesso em: 12 ago. 2022.

MEIN, G. A. *et al.* Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. non-infectious factors. . . Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, NMC/AABP, Vancouver, 5, 351–374, 2001.

MOSLEHISHAD, M.; EZZATPANAH, H.; AMINAFSHAR, M. Chemical and electrophoretic properties of Holstein cow milk as affected by somatic cell count. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 4, p. 512–515, nov. 2010.

NASR, M. A. F.; EL-TARABANY, M. S. Impact of three THI levels on somatic cell count, milk yield and composition of multiparous Holstein cows in a subtropical region. **Journal of Thermal Biology**, v. 64, p. 73–77, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.01.004>. Acesso em: 05 jan. 2021.

NEIJENHUIS, F., H. W. *et al.* Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2795–2804, 2000.

ODORČIĆ, M. *et al.* Review: Milking machine settings, teat condition and milking efficiency in dairy cows. **Animal**, v. 13, n. 1, p. 94–99, 2019.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, n. 3, p. 237–242, 2007.

OLIVEIRA, L. R. *et al.* Seasonality and collection routes influence the occurrence of non-acid unstable milk, the density and cryoscopy of milk supplied to a dairy industry in northern Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p.1522-1534, 2020.

OTWINOWSKA-MINDUR, A.; PTAK, E. Effects of lactation number, milk yield and milk composition on freezing point of milk of Polish holstein-friesian cows. **Journal of Central European Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 83–94, 2018.

PETRERA, F. *et al.* New insights into the quality characteristics of milk from Modenese breed compared with Italian Friesian. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, n. 4, p. 559-567, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1828051X.2016.1222889>. Acesso em: 05 nov. 2023.

RAMÍREZ, N. F. *et al.* Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4141–4150, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6815>. Acesso em: 22 out. 2023.

RYSOVA, K. L. *et al.* dynamics of milk parameters of quarter samples before and after the dry period on Czech farms. **Animals**, v. 13, n. 4, 1-14. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36830497/>. Acesso em: 02 nov. 2023.

SCHREINER, D. A.; RUEGG, P. L. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 11, p. 3460–3465, 2003.

SHUSTER, D. E. *et al.* Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 11, p. 3763–3774, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78568-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78568-8). Acesso em: 24 jan. 2022.

TRONCO, V, M. Manual para inspeção da qualidade do leite. 4.ed. Santa Maria: UFSM, 2010. 195p.

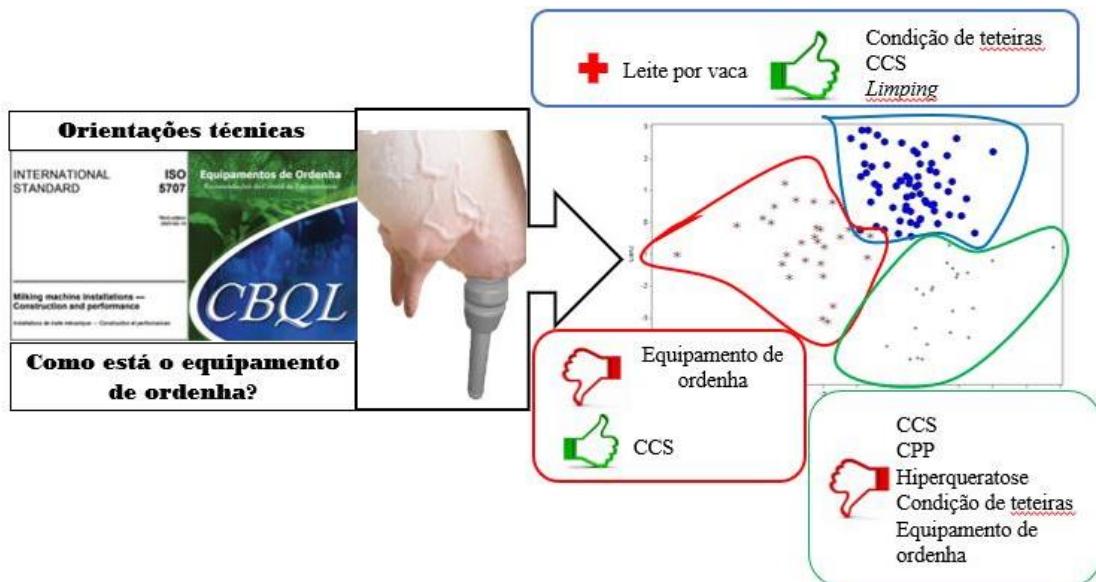
TAO, S. *et al.* Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 12, p. 5976–5986, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4329>. Acesso em: 13 set. 2022.

VOGES, J. G. *et al.* Relationship between farm structure and animal feed in unstable non-acid milk occurrence in Planalto Norte of Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-50399>. Acesso em: 12 out 2023.

CAPÍTULO V

RELAÇÃO ENTRE O EQUIPAMENTO DE ORDENHA COM A QUALIDADE DO LEITE E A HIPERQUERATOSE DA EXTREMIDADE DO TETO

RESUMO GRÁFICO



RESUMO

A importância em estudar as condições do equipamento de ordenha se deve ao fato de estar intimamente ligado ao teto. Nossa objetivo foi verificar a condição dos equipamentos de ordenha de pequenas propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, seu efeito na hiperqueratose da extremidade do teto e na qualidade do leite de vaca, assim como identificar os fatores de risco associados à CCS elevada. Foram visitadas 62 propriedades na estação quente (EQ) de 2021 e 59 na estação fria (EF) de 2022, localizadas no Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil. A partir de uma amostragem do tanque de expansão determinamos a CCS e a CPP por citometria de fluxo. Todas as vacas lactantes das propriedades comerciais foram avaliadas para a condição da extremidade do teto. A condição estática do equipamento de ordenha foi averiguada com o pulsógrafo portátil MilkoTest MT52, BEPRO® para aferir as fases do ciclo de pulsação, frequência de pulsação, o máximo vácuo do sistema e a queda de vácuo. A qualidade de teteira das unidades de ordenha foi averiguada por inspeção visual. A vazão da bomba de vácuo foi mensurada com um caudalímetro. Posterior as mensurações, foi estimada a vazão de ideal da bomba de vácuo (L/min) para cada equipamento de ordenha avaliado, conforme as especificações da ISO 5707 (2007) e do CBQL (2002), em seguida, foram calculadas as relações entre as bombas medidas e estimadas. Para as análises estatísticas a CCS foi transformada em escore de células somáticas (ECS), conforme: $ECS = \log_2(CCS/100) + 3$. Os dados foram analisados por meio de técnicas de análise multivariada (análise fatorial, de agrupamento e discriminante). Para a análise fatorial foram consideradas significativas as cargas $\geq 0,4$. Realizamos a análise de fatores de risco, onde avaliamos o risco de uma propriedade ter CCS elevada (maior que 400.000 céls/mL). Foram considerados fatores de risco quando apresentassem ligações significativas com a CCS elevada ($P < 0,05$). A maioria dos equipamentos de ordenha não atenderam às exigências para estimativa de bomba de vácuo e como consequência a queda de vácuo foi elevada. As propriedades com teteiras desgastadas tiveram maior ECS e CPP e este desgaste causou maior duração das fases A e C do ciclo de pulsação. Rebanhos com maior hiperqueratose foram ordenhados com equipamentos de maior pulsação. A pulsação e o vácuo elevados aumentaram a ECS do leite. O fato de não fornecer dieta aniônica no pré-parto, lavar os tetos no manejo de ordenha, não realizar linha de ordenha, ter teteiras desgastadas e baixo *limping* favoreceu a CCS elevada.

Palavras-chave: Equipamento de ordenha, Qualidade de teteiras, Matite, *Limping*

ABSTRACT

The importance of studying milking equipment conditions is due to its close connection to the teat. Our objective was to verify whether the milking equipment on small commercial farms in the West of Santa Catarina meets the specifications of ISO 5707 (2007) and CBQL (2002), and to examine its impact on teat-end condition and somatic cell count (SCC) 'n cow's milk. Were visited 62 farms in the warm season (WS) of 2021 and 59 in the cold season (CS) of 2022, located in the West of Santa Catarina, Southern Brazil. From a sampling of the expansion tank, we determined SCC and standard plate count (SPC) using flow cytometry. All lactating cows on commercial farms were assessed for teat-end condition. The static condition of the milking equipment was examined using the portable pulsograph MilkoTest MT52, BEPRO® to measure pulsation cycle phases, pulsation frequency, maximum system vacuum, and vacuum drop. The liner quality of milking units was checked by visual inspection. The vacuum pump flow rate was measured with a flowmeter. After measurements, the ideal vacuum pump flow rate (L/min) was estimated for each evaluated milking equipment according to the specifications of ISO 5707 (2007) and CBQL (2002). Then, the ratios between measured and estimated pumps were calculated. For statistical analyses, SCC was transformed into somatic cell score (SCS) using the formula: $SCS = \log_2(SCC/100) + 3$. Data were analyzed using multivariate analysis techniques (factor analysis, clustering, and discriminant analysis). Factor loadings ≥ 0.4 were considered significant for factor analysis. We conducted a risk factor analysis, assessing the risk of a farm having high SCC (greater than 400,000 cells/mL). Risk factors were considered when they showed significant associations with high SCC ($P < 0.05$). Most milking equipment did not meet the requirements for vacuum pump estimation, resulting in elevated vacuum drop. Farms with worn liners had higher SCS and SPC, causing longer durations of pulsation cycle phases A and C. Herds with more hyperkeratosis were milked with higher pulsation equipment. Elevated pulsation and vacuum increased milk SCS. Not providing anionic pre-partum diet, teat washing during milking management, not having a milking line, worn liners, and poor udder hygiene favored high SCC.

Keywords: Milking equipment, Quality of teat cups, Mastitis, Limping

INTRODUÇÃO

O equipamento de ordenha deve extrair o leite do úbere e transferi-lo para um recipiente de armazenamento. Embora deva colhê-lo de forma rápida e cuidadosa (REINEMANN, 2019), quando o equipamento for subdimensionado ou mal regulado prejudica a saúde do teto, o qual se torna a interface entre a glândula mamária e a teteira (STAUFFER et al., 2020). A ausência de regulagem é um fator de risco à mastite subclínica (MSC) (CARDOZO et al., 2015), a curto prazo as decorrências são reversíveis, manifestando-se após cada ordenha por meio de desconforto, mudanças na cor, firmeza, edema e abertura do orifício do teto (HAMANN et al., 1994; NEIJENHUIS et al., 2001; WIELAND et al., 2018; ODORČIĆ et al., 2019). Porém, a longo prazo a alta carga mecânica repetida pode favorecer o aparecimento de alterações no teto, em especial a hiperqueratose do canal e da extremidade do teto (HAMANN et al., 1994; NEIJENHUIS et al., 2000).

A decorrência mais estudada é a hiperqueratose conforme evidenciado em estudos anteriores (HAMANN et al., 1994; NEIJENHUIS et al., 2001; WIELAND et al., 2018; ODORČIĆ et al., 2019; PANTOJA et al., 2020; GOUVÊA et al., 2020). Até o momento, temos conhecimento de que as configurações do equipamento de ordenha que mais prejudicam a extremidade do teto de vacas brasileiras contemplam a condição de vácuo, sistema de pulsação, características da teteira e sobreordenha (PANTOJA et al., 2020).

As principais pesquisas referentes ao equipamento de ordenha possuem origem estrangeira e apontam indícios de que as configurações prejudicam a CCS do leite (HAMANN et al., 1993; RASMUSSEN, MADSEN, 2000; NEIJENHUIS; WIELAND et al., 2017; ODORČIĆ et al., 2019; REINEMANN, 2019; STAUFFER et al., 2020). É importante que sejam conduzidas pesquisas no Brasil, visando verificar a influência de cada configuração na saúde de tetos e no surgimento de MSC.

O sistema de vácuo tem função de extrair o leite por meio da sucção produzida pela bomba, na qual a pressão é identificada e estabilizada pelo regulador de vácuo (ISO 5707, 2007). Quando a queda de vácuo excede 2 kPa (ISO 6690, 2007), a velocidade da ordenha (HAMANN et al., 1993; RASMUSSEN; MADSEN, 2000; BESIER; BRUCKMAIER, 2016) e a força de massagem pela teteira (HAMANN et al., 1993) são reduzidas e aumentam as chances de deslizamentos causados pelas flutuações de vácuo descontroladas (RASMUSSEN; MADSEN, 2000).

Cada ciclo de pulsação é dividido entre as fases de extração do leite (Fases A+B) e massagem do teto (Fases C+D). É recomendado a relação de 60:40 entre as duas fases, com 60 ciclos de pulsação por minuto (ISO 5707, 2007) para alcançar agilidade na ordenha e condição da extremidade do teto adequada (WANG et al., 2022). A duração da fase "B" não pode ser inferior à 30% de um ciclo de pulsação e a fase "D" à 15% do ciclo (ISO 5707, 2007). Apesar da ISO 5707 (2007) não reconhecer um intervalo de duração para as fases A e C, elas devem ser mantidas em aproximadamente 14 a 16% e 12% do ciclo, respectivamente (BILLON; GAUDIN, 2001), sendo que a falha de pulsação implica na elevação da CCS do leite (BILLON; GAUDIN, 2001).

No Brasil, dois documentos regulamentam a instalação e manutenção dos equipamentos de ordenha. A ISO 5707 (2007) é complexa e foi direcionada aos equipamentos europeus. Complementarmente, a ISO 6690 (2007) orienta a respeito de uma série de avaliações que atestam a eficiência dos sistemas em pleno funcionamento. O Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite (CBQL) formalizou outro documento brasileiro, mas não detalhou as equações embutidas nos cálculos, não reconheceu o sistema de garrafão central, além de subdimensionar a capacidade de bomba de vácuo em relação à ISO 5707 (CBQL, 2002). Independente do documento escolhido pela empresa, é importante considerar os critérios utilizados no momento da instalação de máquinas de ordenha.

No Brasil, Gouvêa et al. (2020) descreveram as configurações de equipamentos e manejo de ordenha adotadas por 40 rebanhos leiteiros, além de classificar as características em categorias de tamanho do rebanho. Até onde sabemos, nenhum trabalho publicado no Brasil relacionou as configurações de equipamentos de ordenha com o nível de CCS do rebanho. Além disso, também não encontramos dados que apontem a adequação dos equipamentos de acordo com as especificações das normas regulamentadoras. Nossa hipótese é de que os equipamentos de ordenha de pequenas propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina estejam subdimensionados e que sua configuração seja um fator de risco para a MSC e a hiperqueratose de vacas leiteiras. Objetivou-se verificar se os equipamentos de ordenha de pequenas propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina atendem às especificações da ISO 5707 (2007) e do CBQL (2002), além de verificar o seu efeito na condição da extremidade do teto e na qualidade do leite das vacas.

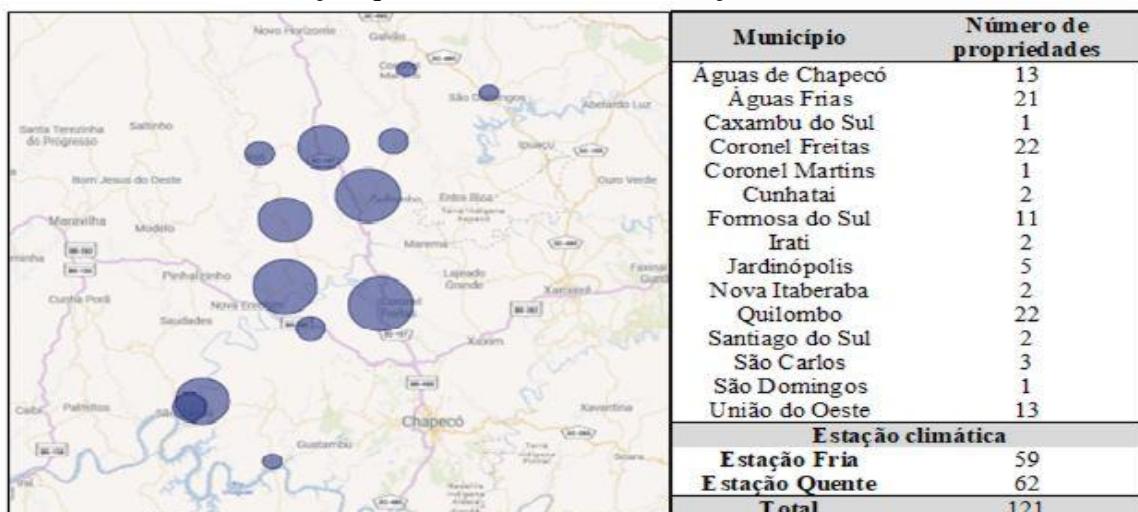
MATERIAL E MÉTODOS

Rebanho e dados

O procedimento experimental deste estudo foi aprovado no Comitê de Ética para Humanos da Plataforma Brasil – Ministério da Saúde (nº 44702821.7.0000.0118) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (nº 9643091220). O estudo foi conduzido em propriedades comerciais integradas à uma cooperativa da mesorregião Oeste do Estado de Santa Catarina, Sul do Brasil. A região apresenta o clima subtropical do tipo temperado úmido com verão quente (Cfa), conforme Köppen (ALVARES et al., 2013).

No início do experimento as propriedades foram ranqueadas conforme a média aritmética da CCS de tanque dos dois meses precedentes à visita (três resultados mensais). Selecionamos 20% daquelas que tinham menores e maiores médias aritméticas de CCS. Por fim, identificamos apenas aquelas de sistema a pasto. Visitamos 62 propriedades comerciais na estação quente (janeiro, fevereiro e março) de 2021 (EQ) e 59 na estação fria (junho, julho e agosto) de 2022 (EF) conforme o mapa da Figura 1. Em cada propriedade avaliamos a condição estática do equipamento de ordenha, amostramos o leite do tanque, coletamos informações e acompanhamos uma ordenha para avaliação dos animais. Ao todo avaliamos 2693 vacas em lactação, sendo 1062 Holandesas, 547 Jersey e 1084 cruzadas Holandesa x Jersey, Holandesa x Zebuína ou Jersey x Zebuína. As vacas eram ordenhadas 2 vezes ao dia em ordenhadeiras, sendo o leite armazenado em tanques de expansão.

Figura 1- Localização das 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil visitadas na estação quente (EQ) de 2021 e estação fria (EF) de 2022.



Coleta de informações

Aplicamos um *checklist* (Anexo 1) para obter informações sobre as vacas, estrutura da propriedade, manejo higiênico e sanitário do rebanho. Estes dados foram complementados por um questionário semiestruturado (Anexo 2).

Avaliações dos animais e do leite

A condição da extremidade do teto foi verificada após o desacoplamento da unidade de ordenha e pontuado em escores 1 (sem anel), 2 (anel liso ou levemente áspido), 3 (anel áspido) ou 4 (anel muito áspido) (MEIN et al., 2001).

O leite do tanque de expansão foi homogeneizado por aproximadamente 15 minutos e coletado com concha de inox que passou por flambagem em álcool 96% imediatamente antes da coleta. Duas amostras com volume igualitário de 50 mL foram coletadas de cada propriedade. Uma amostra foi armazenada em frasco com bronopol para a determinação da CCS e a outra em frasco com azidiol para a determinação da CPP. Os frascos foram homogeneizados por inversão, mantidos à 4°C e encaminhados ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores Brasileiros da Raça Holandesa – APCBRH, Curitiba, PR. A CCS e a CPP foram determinadas em equipamento automatizado pela técnica de citometria de fluxo.

Avaliação estática do equipamento de ordenha

A condição estática de cada pulsador foi aferida com o dispositivo eletrônico MilkoTest MT52, BEPRO®. Foram mensuradas a taxa de pulsação (pulsões por minuto), as fases do ciclo de pulsação (Fases A, B, C e D em milissegundos) e o nível de vácuo do sistema (kPa), conforme apresentado na figura 2. Nesta mesma oportunidade realizamos o teste de queda do vácuo pela abertura do vácuo de uma das unidades de ordenha até a estabilização no menor valor de vácuo (ISO 6690, 2007). Para determinar a queda subtraiu-se o máximo valor de vácuo e o menor valor observado no teste (Figura 3). O *limping* foi calculado para cada pulsador através da diferença entre a fase A+B dos canais CH1 e CH2 (milissegundos). O *limping* médio foi transformado em percentual pela fórmula:

$$limping = \frac{(CH1 - CH2) * 100}{1000}$$

Em cada propriedade comercial foi calculada uma média de cada variável (taxa de pulsação, fases do ciclo de pulsação (Fases A, B, C e D), nível de vácuo do sistema, queda de vácuo e *limping*) correspondente à avaliação de cada pulsador.

A vazão da bomba de vácuo medida (VBM) foi verificada com caudalímetro acoplado ao início da tubulação da bomba de vácuo, o qual vedou o sistema. Ao ligar a bomba ajustou-se o vacuômetro do caudalímetro até a marca de 50 kPa para identificar a vazão (L/min). Além disso, a vazão de bomba de vácuo foi estimada conforme as especificações do CBQL (2002) e da ISO 5707 (2007) para a condição de cada propriedade comercial.

Figura 2 - Mensuração das fases do ciclo de pulsação e pulsações por minuto (A) e o nível de vácuo no sistema (B) com o dispositivo MilkoTest MT52, BEPRO®.



Figura 3 - Simulação do teste de queda conforme a ISO 6690 (2007) mensurado pelo dispositivo eletrônico MilkoTest MT52, BEPRO®.



Figura 4 - Vazão da bomba de vácuo verificada com caudalímetro. A esquerda o caudalímetro encontra-se inativo (0 kPa) e a direita o caudalímetro encontra-se acoplado ao início da tubulação da bomba de vácuo marcando 50 kPa.



Estimativa de variáveis relacionadas aos equipamentos de ordenha

A base de cálculo da vazão da bomba de vácuo depende do tipo de ordenha mecânica (balde ao pé, canalizada linha alta, canalizada linha média, canalizada linha baixa ou garrafão central) e da quantidade de unidades de ordenha acopladas. Para o cálculo seguiram-se as orientações dos documentos:

- a) CBQL (2002): para o sistema balde ao pé consideramos 200 L para uma unidade e adicionamos o requerimento de 60 L para cada unidade excedente. Para

sistemas canalizados de linha média e quatro unidades oferecemos 690 L. A norma não considera sistemas menores de quatro unidades, portanto, subtraímos 40 L a cada unidade a menos e para cinco ou mais seguimos o requerimento da tabela apresentada na norma. Após o cálculo, a vazão da bomba (L/min) foi corrigida conforme a altitude de cada propriedade, identificada entre 300 e 700m para todas elas, e nível de vácuo da bomba de 45 kPa, portanto utilizamos o fator de correção igual a 0,94 (CBQL, 2002). O documento não apresenta uma base de cálculo para garrafão central. Em cada propriedade comercial foi calculada a relação entre a VBM e a vazão de bomba de vácuo estimada pelo CBQL (2002), identificada por VBCBQL.

- 1) Baseado na norma ISO 5707 (2007): a vazão de bomba foi determinada pela soma de várias estimativas: **A reserva efetiva mínima** foi dimensionada para o funcionamento das unidades de ordenha conforme o tipo de ordenha mecânica em equipamentos sem válvulas de fechamento automático (item A.1 da ISO 5707);
- 2) Foi considerado 10% da reserva efetiva mínima para calcular a **eficiência (perda) de regulagem**, em seguida foi adicionado à reserva efetiva mínima, independente do equipamento;
- 3) **O consumo de ar de cada unidade de ordenha** foi estimado pela soma de 35 L para cada unidade, independentemente do tipo de equipamento;
- 2) **A perda por vazamento de leite** foi estimada pela adição de 10 L (independentemente do tipo de equipamento) à 2 L para cada unidade de ordenha;
- 3) Somamos a eficiência (perda) de regulagem (considerando a reserva efetiva mínima), o consumo de ar de cada unidade de ordenha e a perda por vazamento de leite para determinar 5% deste somatório que representa a **perda de vácuo nas tubulações** (A.4.7 da ISO 5707). Por fim, a perda de vácuo nas tubulações foi adicionada ao somatório para identificar a vazão da bomba de vácuo conforme a norma ISO 5707 (2007).

A vazão demandada foi corrigida conforme a altitude de cada propriedade, identificada entre 300 e 700m para todas elas, e nível de vácuo da bomba de 45 kPa, portanto utilizamos o fator de correção igual a 0,94. Em cada propriedade comercial foi calculada a relação entre a VBM e a vazão de bomba de vácuo estimada pela ISO 5707 (2007), identificada por VBISO.

Análise estatística

Para as análises estatísticas transformamos a CCS em escore de células somáticas (ECS) que foi calculada pela fórmula:

$$ECS = \log_2 \left(\frac{CCS + 1}{100} \right) + 3$$

Os dados foram analisados por meio de técnicas de análise multivariada (análise fatorial, de agrupamento e discriminante), usando o pacote estatístico SAS® visando avaliar a relação das variáveis relacionadas às características da propriedade, do equipamento de ordenha, do rebanho e da qualidade do leite entre si. A análise fatorial foi realizada utilizando o procedimento FACTOR do pacote estatístico SAS®, com a rotação da matriz Promax, sendo os dados previamente padronizados pelo procedimento STANDARD. Foram consideradas significativas as cargas fatoriais $\geq 0,4$. A análise fatorial permite avaliar a relação entre as variáveis, visando reduzir o conjunto original de variáveis em um menor número de fatores, agrupando em cada fator as variáveis mais correlacionadas.

A análise de agrupamento foi utilizada como complemento da análise fatorial, o que pode melhorar a compreensão dessas relações por meio da formação de grupos com semelhanças entre si e diferenças entre os grupos. A análise de agrupamento foi realizada usando PROC FASTCLUS para separar as variáveis em grupos com características intragrupo semelhantes e diferenças entre os grupos. O método de Ward foi aplicado usando a distância euclidiana para estimar as médias padronizadas de cada grupo e transformá-los novamente em médias originais. A análise discriminante foi realizada utilizando PROC DISCRIM para classificar corretamente as observações dentro de cada grupo.

Na análise de fatores de risco, foi avaliado o risco de uma propriedade ter CCS elevada (maior que 400.000 céls/mL). Para estimar esses riscos, as variáveis explicativas foram classificadas em 3 grupos. O primeiro grupo de variáveis relacionadas à estrutura da fazenda incluía o volume de produção de leite por vaca (abaixo de 15,5 ou acima de 15,5 L/d), o número de vacas em lactação (até 20 e acima de 20), o número de unidades de ordenha (até 3 e acima de 3), o número de vacas por unidade de ordenha (até 7,5 e acima de 7,5), o número de pulsadores (até 3 e acima de 3), a qualidade da teteira (desgastada ou nova), a frequência de troca da teteira (em intervalos de até 4 meses ou

acima de 4 meses), tipo de sala de ordenha (estábulo ou fosso), modelo da ordenhadeira (balde ao pé e canalizada) e hiperqueratose da extremidade do teto (até 2 ou acima de 2). O segundo grupo de variáveis reuniu as características relacionadas ao equipamento de ordenha, como o tipo de pulsador (mecânico ou eletrônico), o tipo de regulador de vácuo (molas/peso ou servo-assistido), a pulsação (até 56, 57 a 64 ou mais de 64 pulsações por minuto), a fase A+B do ciclo de pulsação (até 60% ou acima de 60%), a fase C+D do ciclo de pulsação (até 40% ou acima de 40%), o vácuo inicial do sistema (estático) (até 46 kPa ou acima de 46 kPa), a queda de vácuo (até 10 kPa ou acima de 10 kPa), a VBCBQL e a VBISO (até 0 ou acima de 0 litros por minuto) e o *limping* (até 1,6 ou acima de 1,6%).

O terceiro grupo de variáveis relacionadas ao manejo da ordenha e controle de mastite, incluindo a limpeza dos tetos (sempre, quando sujos ou nunca), secagem dos tetos (não/pano comum ou pano individual/papel toalha), eliminação dos três primeiros jatos de leite (não ou sim), ordenha de vacas com mastite por último (não ou sim), uso de sanitizante na ordenhadeira (não ou sim) e fornecimento de dieta aniônica (não ou sim).

A análise de fatores de risco foi realizada em procedimento Glimmix utilizando o pacote estatístico SAS®. Para estimar o risco de ter CCS elevada, utilizou-se o modelo *Stepwise*, tendo como variável dependente a CCS da propriedade. As variáveis explicativas incluídas no modelo foram aquelas associadas às características da propriedade, dos rebanhos, vacas, procedimentos de manejo e equipamento de ordenha. Essas variáveis explicativas foram selecionadas por meio de análise bivariada com teste qui-quadrado. As variáveis incluídas no modelo *Stepwise* foram aquelas que apresentaram ligações significativas com a CCS elevada, conforme determinado pelo teste qui-quadrado e $P < 0,05$.

Inicialmente foi estimado o risco de uma propriedade ter elevada CCS prevista por cada variável explicativa na forma de uma razão de chances (OR). Após a identificação dos riscos para cada grupo de variáveis explicativas, essas variáveis foram utilizadas para identificar o modelo final com melhor ajuste para a CCS, criando um modelo que incorporou todas as características mais importantes previamente identificadas.

RESULTADOS

Os valores médios e os dados de dispersão da estrutura das propriedades, bem como das avaliações dos animais e das técnicas de manejo encontram-se na Tabela 1. Na Tabela 2 encontram-se as características do equipamento de ordenha. O estudo envolveu propriedades comerciais de pequeno porte. Em média, as propriedades tinham 23 vacas lactantes, enquanto 28,92% dos plantéis tinham até 15 vacas, 59,50% tinham de 16 a 35 vacas e 11,57% de 36 a 63 vacas leiteiras.

Tabela 1 - Variáveis estruturais e técnicas de manejo das propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.

Variável	N	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Vacas por unidade de ordenha (und)	117	7,58	2,26	2,80	13,00
Unidades de ordenha (und)	119	3,08	1,22	1,00	8,00
Modelo de sala de ordenha ¹	120	1,60	0,49	1,00	2,00
Modelo de ordenhadeira ²	120	1,61	0,49	1,00	2,00
Uso de sanitizante ³	120	1,65	0,48	1,00	2,00
Limpeza dos tetos ⁴	117	1,72	0,80	1,00	3,00
Eliminação dos três primeiros jatos de leite ⁵	117	1,85	0,36	1,00	2,00
<i>Pré-dipping</i> ⁶	120	1,76	0,43	1,00	2,00
Secagem dos tetos ⁷	120	1,77	0,41	1,00	2,00
Linha de ordenha ⁸	118	1,39	0,49	1,00	3,00
Condição da teteira ⁹	117	1,61	0,49	1,00	2,00
Frequência de troca das teteiras ¹⁰	120	1,44	0,50	1,00	2,00
EPT médio ¹¹	119	2,12	0,47	1,22	3,33
ECS ¹²	120	5,53	0,29	4,68	6,11

¹Modelo de sala de ordenha (1=estábulo e 2=fosso), ²Modelo da ordenhadeira (balde ao pé =1 e canalizada=2), ³Uso de sanitizante na ordenhadeira (não= 1 e sim= 2), ⁴Limpeza dos tetos sempre = 1, quando sujos = 2 ou nunca=3, ⁵Eliminação dos três primeiros jatos de leite (1=não e 2=sim), ⁶Realizar *pré-dipping* (1=não e 2=sim), ⁷Secagem dos tetos (1 = não ou com pano comum e 2 = realiza com pano individual ou com papel toalha), ⁸Ordenha de vacas com mastite por último (1=não e sim=2), ⁹Condição de teteira desgastada = 1 e nova = 2, ¹⁰Frequência de troca acima de 6 meses = 1 e frequência de troca em até 6 meses = 2, ¹¹Escore médio de ponta de teto, pontuado de 1 a 4, sendo 1=extremidade do teto sem formação de anel a 4=extremidade do teto com anel muito áspero, ¹²ECS=log2((CCS+1)/100)+3.

Tabela 2 - Variáveis associadas ao equipamento de ordenha em 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.

Variável	N	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
VBISO ¹ (L/min)	119	555,06	202,51	249,90	1006,40
VBCBQL ² (L/min)	114	479,81	199,38	188,00	808,40
VBM ³ (L/min)	117	480,25	276,71	44,00	1200,00
Relação entre vazão estimada (ISO) e medida (L/min)	117	-73,56	208,57	-527,63	556,01
Relação entre vazão estimada (CBQL) e medida (L/min)	112	3,10	212,87	-493,40	625,60
Vácuo inicial do sistema (kPa)	116	46,38	3,69	36,80	59,60
Queda de vácuo (kPa)	107	12,90	9,62	0,30	39,10
Pulsadores (und)	118	3,00	1,09	1,00	6,00
Pulsação (pulsações/min)	116	59,80	6,44	43,03	82,55
Fase A + B (milissegundos)	116	601,79	71,90	412,66	841,10
Fase C + D (milissegundos)	116	413,37	51,07	301,25	645,00
Fase A (proporção)	116	0,20	0,04	0,11	0,33
Fase B (proporção)	116	0,39	0,04	0,28	0,48
Fase C (proporção)	116	0,13	0,02	0,08	0,24
Fase D (proporção)	116	0,28	0,03	0,13	0,33
Fase A + B (proporção)	116	0,59	0,02	0,53	0,67
Fase C + D (proporção)	116	0,41	0,02	0,32	0,47
Limping ⁴ (%)	115	2,27	2,18	0,05	10,10
Regulador de vácuo ⁵	120	1,63	0,48	1,00	2,00
Tipo de pulsador ⁶	120	1,15	0,35	1,00	2,00

¹Vazão de bomba mensurada conforme ISO 5707 2007, ²Vazão de bomba mensurada conforme CBQL 2002; ³Vazão da bomba de vácuo medida; ⁴Diferença de A+B entre os dois canais de vácuo, ⁵Tipo de regulador de vácuo (1=molas ou peso e 2=diafragma), ⁶Tipo de pulsador (1= mecânico e 2= eletrônico).

Na análise de fatorial, os seis primeiros fatores explicaram 63,28% da variância (Tabela 3). Cerca de 21,76% da variação foi explicada pelo fator 1 (F1), o qual indicou uma relação positiva entre a pulsação e a duração das fases A e C, por outro lado teve associação negativa com a duração da fase B e uma tendência para a fase D (-0,35047).

O fator 2 (F2) explicou 15,23% da variância e associou várias características relacionadas a capacidade da bomba de vácuo, indicando que os equipamentos com menores quedas de vácuo (kPa) tiveram maiores vazões de bomba medida e maiores relações entre a vazão estimada pela ISO e a medida. O terceiro fator (F3) relacionou características estreitamente ligadas com a hiperqueratoose, a qual foi teve associação positiva com a produção de leite/vaca/dia e a pulsação e associação negativa com o *limping*. O quarto fator (F4) relacionou positivamente a ECS com o vácuo inicial do sistema e a queda de vácuo, todavia, foram relacionadas negativamente com a duração da fase D do ciclo de pulsação. O fator 5 (F5) explicou 7,34% e considerou parâmetros relacionados à frequência para troca de teteiras. A troca frequente e a melhor condição da teteira apresentaram relação positiva com o número de vacas por unidade de ordenha.

A análise discriminante de agrupamento mostrou diferenças entre os três grupos formados pela análise de agrupamento. As distâncias que separaram as diferenças entre os grupos e dentro de cada grupo podem ser observadas graficamente (Figura 1).

A análise de agrupamento permitiu identificar as características dos agrupamentos formados. Adicionalmente, a análise individual de cada grupo permitiu identificar as diferenças na estrutura das propriedades, técnicas de manejo, características das vacas e do equipamento de ordenha em cada grupo (Tabela 4). O grupo 1 foi composto por 60 propriedades que tinham similaridade na maior produção de leite por vaca, melhores condições de teteiras, ECS e *limping* mais baixos. O grupo 2 foi formado por 30 propriedades com problemas relacionados ao equipamento de ordenha, especialmente no que diz respeito à vazão de bomba, vácuo inicial do sistema e *limping*. O grupo 3 foi representado por 22 propriedades com maior ECS e CPP do leite, maior hiperqueratoose, pior condição de teteiras e trocas menos frequentes, além disso, possuíam equipamento de ordenha com maior pulsação e vácuo inicial do sistema.

Tabela 3. Cargas fatoriais, comunidades e percentual de variância referentes às características de equipamento de ordenha, ordenabilidade e CCS do leite de tanque de propriedades leiteiras.

Variáveis	F1	F2	F3	F4	F5	Comunalidades
	Sistema de pulsação	Bomba de vácuo	Hiperqueratose	CCS	Condição de teteira	
Fase A (%)	0,77897	0,02576	-0,08218	0,30232	-0,07966	83,11
Fase B (%)	-0,91496	-0,01312	0,04585	0,05558	0,01931	82,11
Fase C (%)	0,81564	-0,03629	0,08393	0,11997	0,17132	76,14
Fase D (%)	-0,35047	0,01395	-0,02443	-0,61570	-0,05883	60,30
Pulsação (pulsações/min)	0,57118	0,02248	0,55390	-0,16080	0,04912	58,11
Queda de vácuo (kPa)	-0,08757	-0,75475	0,11910	0,49815	-0,09637	79,62
VBM ¹ (L/min)	-0,14101	0,70163	0,35930	0,27937	-0,14840	80,30
VBISO ² (L/min)	0,02900	0,92242	0,06995	0,03567	-0,07443	87,31
Produção de leite (L/vaca/dia)	-0,27014	-0,08272	0,68650	-0,05094	0,08295	57,49
<i>Limping</i> ³ (%)	-0,06774	-0,24263	-0,61019	0,07548	0,02989	46,02
Hiperqueratose ⁴	0,10549	0,03851	0,60240	0,28200	0,06739	46,06
Vácuo inicial do sistema (kPa)	0,08009	-0,16561	0,14376	0,66892	-0,17123	58,56
ECS ⁵	-0,06898	0,26800	-0,27672	0,63106	0,28657	58,61
Vacas por unidade de ordenha	0,04755	-0,07724	-0,04222	0,17841	0,72485	55,31
Condição da teteira ⁶	-0,32145	0,00371	0,35811	-0,05246	0,42302	42,33
Frequência de troca das teteiras ⁷	0,08565	-0,04478	0,13816	-0,10490	0,62351	43,05
Variância explicada	21,76	15,23	10,19	08,76	07,34	

¹Vazão da bomba de vácuo medida, ²Vazão de bomba mensurada conforme ISO 5707 2007, ³Diferença entre a fase A+B dos canais de vácuo

⁴Média dos 4 tetos, ⁵ECS=log2((CCS+1)/100)+3, ⁶Condição de teteira desgastada = 1 e nova = 2, ⁷Frequência de troca acima de 6 meses = 1 e frequência de troca em até 6 meses = 2.

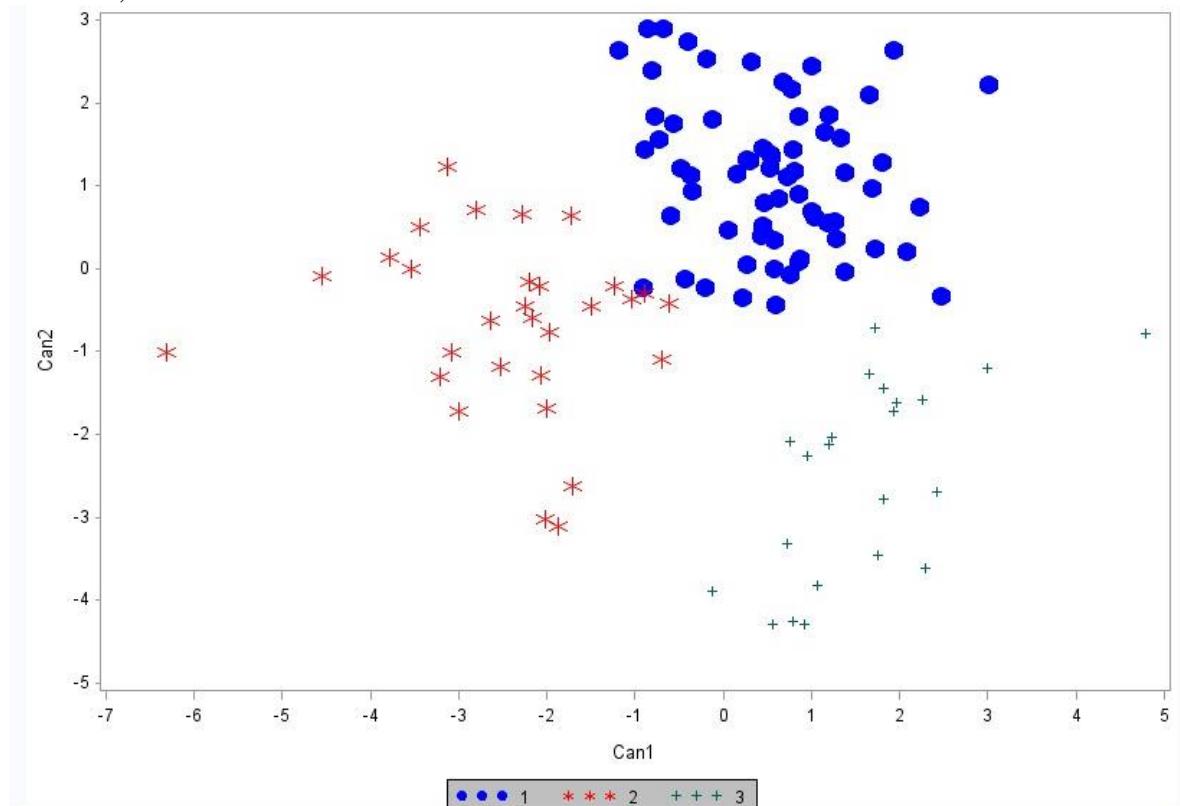
Tabela 4. Médias dos grupos formados pela análise de agrupamento com as características estruturais, de equipamento de ordenha e de manejo de 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.

Variáveis	Grupos			Valor de P
	1	2	3	
Vacas por unidade de ordenha (und)	7,77	7,48	7,02	0,3896
VBISO ¹ (L/min)	-39,86ab	-248,41b	47,61a	<0,0001
Queda de vácuo (kPa)	12,63	14,97	11,05	0,2888
VBM ² (L/min)	551,74ab	211,04b	593,86a	<0,0001
Vácuo inicial do sistema (kPa)	46,59b	44,15c	48,61a	<0,0001
Pulsação (pulsações/min)	60,96ab	55,05b	62,32a	<0,0001
Fase A (%)	0,19b	0,18b	0,24a	<0,0001
Fase B (%)	0,40ab	0,41a	0,35b	<0,0001
Fase C (%)	0,13b	0,12b	0,15a	<0,0001
Fase D (%)	0,28b	0,29a	0,26c	<0,0001
<i>Limping</i> (%)	1,84b	3,67a	1,77b	0,0002
Hiperqueratose ³	2,25ab	1,78b	2,13a	<0,0001
Produção de leite (L/vaca/dia)	17,03ab	14,37b	13,28b	<0,0001
ECS ⁴	5,49b	5,49b	5,71a	0,0039
Condição da teteira ⁵	0,78a	0,52b	0,18c	<0,0001
Frequência de troca das teteira ⁶	0,54a	0,33b	0,27c	0,0392
CPP ⁷	4,06c	4,73b	5,02a	<0,0001
N	60	30	22	

¹Vazão de bomba mensurada conforme ISSO 5707 2007, ²Vazão de bomba medida,

³Média dos 4 tetos, ⁴ECS=log2((CCS+1)/100)+3, ⁵Condição de teteira desgastada = 1 e nova = 2, ⁶Frequência de troca acima de 6 meses = 1 e frequência de troca em até 6 meses = 2, ⁷CPP=log2((CPP+1)/100)+3

Figura 5 - Análise discriminante de agrupamento com as características estruturais, de equipamento de ordenha e de manejo de 121 propriedades comerciais do Oeste de Santa Catarina, Sul do Brasil.



O modelo com melhor ajuste para o risco de uma propriedade comercial ter CCS elevada (Tabela 5) incluiu as variáveis associadas a estrutura da propriedade (quantidade de vacas por unidade de ordenha e condição da teteira), ao equipamento de ordenha (*limping*) e variáveis associadas ao manejo preventivo da mastite (dieta aniônica e lavagem dos tetos). Com relação a estrutura da propriedade, as propriedades com condição da teteira desgastada apresentaram maior risco de CCS elevada ($OR = 2,22$; $P = 0,0658$). Com relação ao equipamento de ordenha, o menor *limping* ($OR = 4,15$; $P = 0,0040$) foi o único fator que predispôs significativamente ao aumento de CCS. Dentre os manejos pesquisados, a não adoção de pré-parto com dieta aniônica foi decisivo em favorecer o aumento de CCS de tanque das propriedades comerciais ($OR = 2,82$; $P = 0,0229$). Com relação ao manejo de ordenha, apenas a lavagem dos tetos foi considerada um fator de risco na análise ($P = 0,0407$). As propriedades que sempre lavam os tetos apresentam grandes riscos em relação a não lavagem ($OR = 2,78$).

Tabela 5 - Razões de chances (OR) e intervalos de confiança para a elevação da CCS de tanque de acordo com o modelo de regressão logística para as variáveis explanatórias.

Grupo de variáveis	Variáveis explanatórias	Categoria	OR	95% Risco de intervalo de confiança			Valor de P
				Inferior	Superior		
Estrutura da propriedade	Vacas por unidade de ordenha	<7,50	0,43	0,16	1,11		
		>7,50 ¹					0,0802
	Condição da teteira	Nova ¹					0,0658
Equipamento de ordenha	<i>Limping</i>	Desgastada	2,22	0,95	5,19		
		>1,6 ¹					0,0040
Manejo	Dieta aniônica	Sim ¹					
		Não	2,82	1,16	6,87		0,0229
	Lava tetos	Sim*	2,78	0,95	8,13		1vs.3
		Quando sujo ^{ns}	0,71	0,22	2,31	0,0407	2vs.3
		Não ¹					

¹Categoria de referência; * P < 0,10; ns não significativo

O modelo final de regressão logística para determinar o risco de ter CCS elevada na propriedade comercial (Tabela 6) foi composto pelo fornecimento de dieta aniônica e pelo *limping*. Propriedades que não faziam manejo pré-parto com fornecimento de dieta aniônica tiveram maior risco de ter CCS elevada (OR = 4,32; P = 0,0035). Além disso, propriedades com *limping* < 1,6% apresentaram maior risco de ter CCS elevada (OR = 5,37; P = 0,0009). Também houve uma tendência de propriedades com maior número de vacas por conjunto de ordenha apresentarem maior risco de elevada CCS (OR = 0,44; P = 0,0679).

Tabela 6. Razões de chances (OR) e intervalos de confiança para a elevação da CCS de tanque de acordo com o modelo final de regressão logística.

Variáveis explanatórias	Categoria	OR	95% Risco de intervalo de confiança			Valor de P
			Inferior	Superior		
Dieta aniônica	Sim ¹					
	Não	4,32	1,63	11,41		0,0035
Vacas por conjunto	<7,5	0,44	0,18	1,06		
	>7,5 ¹					0,0679
<i>Limping</i>	>1,6 ¹					
	<1,6	5,37	2,02	14,23		0,0009

DISCUSSÃO

Neste estudo avaliamos 121 propriedades comerciais. Excluímos os dados de uma delas devido à presença de valores discrepantes (*outliers*). Nas demais propriedades, alguns dados não foram incorporados à análise, pois não foram fornecidos pelos produtores rurais. Essas omissões foram detalhadas no número (N) das tabelas 1 e 2. Em média, as propriedades comerciais apresentaram $3,08 \pm 1,22$ unidades de equipamentos de ordenha, $3,00 \pm 1,09$ pulsadores e $7,58 \pm 2,26$ vacas em lactação por unidade de ordenha. A maioria das propriedades tinham salas de ordenha com fosso (60%) e sistema canalizado (60,83%). Ao longo do estudo foi percebido que uma parte dos produtores migraram para sistemas mais tecnificados conforme foram estimulados pela cooperativa, ou seja, saíram de sistemas balde ao pé e migraram para sistemas canalizados ou trocaram pulsadores mecânicos para pulsadores eletrônicos. Diante destas alterações consideramos a situação encontrada no momento da avaliação estática. Os produtores rurais eram capacitados frequentemente pela cooperativa a fim de melhorar a qualidade do leite cru comercializado e implementar manejos com ênfase em controle de mastite. Algumas técnicas de manejo de ordenha indicadas pela cooperativa eram adotas pela maioria das propriedades, tais como o uso de sanitizante na linha de ordenha (65%), a eliminação dos três primeiros jatos de leite (85%), *pré-dipping* (76%) e *pós-dipping* (100% das propriedades) foram técnicas muito difundidas. Entretanto, observamos que muitos produtores ainda realizavam a lavagem dos tetos regularmente, em algumas propriedades era realizada quando estivessem visualmente sujos. Por outro lado, a maioria opta por secar os tetos utilizando panos individuais ou papel toalha. A adoção de linha de ordenha, ordenhando vacas com mastite após as saudáveis foi adotada por somente 39% das propriedades. Diante dessa realidade, a cooperativa incentiva a avaliação individual da CCS para detectar casos crônicos e contribuir para o descarte dos animais doentes.

O funcionamento do equipamento de ordenha depende do sistema de pulsação, sistema de produção e controle de vácuo, extração e transporte do leite da unidade de ordenha para o reservatório (REINEMANN, 2019). Todos eles trabalham ao mesmo tempo para manter a extração e transporte do leite ininterruptas.

A maioria dos equipamentos de ordenha apresentava reguladores de vácuo do tipo diafragma, embora uma parcela ainda utilizasse reguladores do tipo molas ou peso. Nos tipos peso ou molas o nível de vácuo muda à medida que o fluxo varia através da abertura do regulador, o regulador diafragma é menos sensível à mudança de vácuo

(SPENCER, 2011). No que diz respeito aos pulsadores, a maioria era mecânico, sendo que a resistência à adoção de pulsadores eletrônicos se justificava pelo elevado custo associado a essa tecnologia.

A vazão da bomba de vácuo aferida pelo caudalímetro revelou uma notável variação entre os diferentes equipamentos de ordenha avaliados, registrando uma média de $480,25 \pm 276,71$ L/min. No entanto, é importante destacar que esse indicador por si só não é capaz de determinar se a bomba atende às especificações necessárias para a ordenha eficiente do rebanho. Ao calcularmos a vazão necessária para uma ordenha adequada em cada rebanho incluído no estudo, observamos uma associação negativa entre a vazão necessária e a vazão medida, conforme definido pela norma ISO 5707 (2007) ($-73,56 \pm 208,57$ L/min). Além disso, ao considerarmos a estimativa do CBQL (2002), observou-se uma disponibilidade bastante reduzida de vazão ($3,10 \pm 212,87$ L/min). Estas duas relações nos informaram que em média, a vazão média não atendeu ao requerimento da norma ISO 5707 (2007) e está no limite em atender a estimativa do CBQL (2002), contanto que não haja nenhuma demanda além daquelas já estimadas.

Sistema de pulsação: frequência e duração das fases A, B, C e D

Durante cada pulsação acontece a abertura e o fechamento cíclicos da teteira envolta do teto. A fase de extração compreende as fases A+B, durante este período a câmara de pulsação se encontra com vácuo para promover a abertura da teteira e expor o teto ao vácuo, o qual diminui com o fluxo de leite. Esta condição estimula a descida do leite por diferencial de pressão (alta no úbere e baixa no coletor que está conectado ao vácuo) (AMBORD; BRUCKMAIER, 2010). Na fase de massagem (C+D) a câmara de pulsação admite o ar atmosférico para aumentar a pressão da câmara de pulsação e conseguir ultrapassar a pressão do vácuo interno e fazer com que a teteira colapse envolta do teto. Neste momento o fluxo de leite diminui até cessar, enquanto o vácuo na extremidade do teto é muito próximo daquele do sistema (AMBORD; BRUCKMAIER, 2010).

Alterar a relação de pulsação de 60:40 para 65:35 é capaz de melhorar o tempo de ordenha (WANG et al., 2022; KASKOUS, 2018), nesta mudança o tempo em pico de fluxo do leite é cerca de 7% maior (WANG et al., 2022) sendo que a taxa de fluxo melhora e a produção de leite por ordenha aumenta (KASKOUS, 2018). No entanto, esta alteração compromete a saúde do úbere, identificada pelo maior escore de hiperqueratose

(KASKOUS, 2018; WANG et al., 2022). A relação de pulsação média encontrada nas propriedades avaliadas foi de 59:41 e representa a condição real das bombas de vácuo, as quais possuem baixa vazão.

A ISO 5707 (2007) recomenda a frequência de pulsações entre 50 e 65 ciclos por minuto. Embora tenhamos encontrado médias que estejam em conformidade com os requisitos da ISO 5707 (2007) observamos a presença de equipamentos com frequências de pulsação demasiadamente baixas (43,03 pulsações/min) e excessivamente altas (82,55 pulsações/min). Essas irregularidades na pulsação têm uma relação direta com o aumento da CCS no leite, conforme indicado por Billon e Gaudin (2001).

Em contraste, Gouvêa et al. (2020) conduziram uma avaliação em rebanhos de maior porte, com uma frequência reconhecida de manutenção periódica, resultando em ciclos de pulsação adequados. Isso contrasta com nossas descobertas, destacando a importância da aferição regular e ajustes frequentes para assegurar uma ordenha eficaz das vacas lactantes.

A duração média das fases do ciclo de pulsação não foram um problema nos equipamentos avaliados, visto que, atendiam os parâmetros para fase B ($39\pm4,0\%$) e fase D ($28\pm3,0\%$) (ISO 5707, 2007). A ISO não apresenta uma regulamentação para as fases A e C, mas é sugerido que alcancem aproximadamente 14 a 16% para a fase A e 12% para a fase C (BILLON; GAUDIN, 2001; SPENCER, 2011). O F1 da análise fatorial indicou uma tendência de relação negativa entre a duração das fases A, C e a condição de teteira, sendo que, o maior desgaste das teteiras exige altas fases A ($20\pm4,0\%$) e C ($13\pm2,0\%$), causadas pela dificuldade no movimento adequado de abertura e fechamento.

As propriedades comerciais com maior número de vacas por unidade de ordenha costumavam ter trocas mais frequentes e a melhor condição da teteira. A troca de teteiras deve ser a cada 2500 ordenhas ou 6 meses (CBQL, 2002). Assim, o massageamento correto pode ser garantido junto da facilidade de higienização. Apesar de não ter sido explorada na análise fatorial, a análise de agrupamento nos indicou que o grupo 3 foi formado por propriedades com menor frequência de troca, teteiras mais desgastadas e maior CPP.

As propriedades comerciais com maior ECS possuíam menores durações das fases D do ciclo de pulsação, mas garantiam o tempo suficiente para o alívio do congestionamento dos tetos após a ordenha (ISO 5707, 2007; UPTON et al., 2016). Durante a fase D, a compressão do revestimento facilita o fluxo venoso e a remoção de fluidos acumulados nos tecidos da extremidade do teto (UPTON et al., 2016). A curta

duração da fase D resulta em uma nova infecção a cada 800 quartos de ordenha, enquanto a fase D adequada resulta em uma nova infecção a cada 4000 quartos de ordenha (UPTON et al., 2016).

A pulsação foi associada com a produção de leite e a duração da fase B (extração), esta relação explica o objetivo de ordenhar as vacas mais rapidamente e com maior fluxo de leite desde que a duração mínima da fase D seja respeitada. Identificamos que a maior pulsação implicou no aumento da hiperqueratose de teto, a qual tornou-se mais evidente em vacas de maior produção de leite, todavia, não encontramos relação com a ECS do leite. Esta ausência de relação com a ECS pode ser justificada por se tratar de amostras de leite de tanque, diferentemente de Cardozo et al. (2015) que encontrou relação significativa entre hiperqueratose e ECS.

A pulsação remove benéficamente 40% das células de queratina maduras que revestem o canal do teto. Quando a pulsação é muito baixa, a remoção diminui para 10 a 20%, diminuindo a taxa de renovação celular. Por outro lado, a pulsação excessiva remove aproximadamente 80% de queratina, expondo as células imaturas que poderiam ser mais lentas para se desprender, além de serem lesionadas, havendo seu espessamento (MEIN, 2012). Esta relação foi identificada em nosso estudo pela maior hiperqueratose média do plantel de vacas ordenhadas em equipamentos com pulsação mais elevada.

O *limping* indica a diferença entre as fases de extração do leite (A+B) nos dois canais de vácuo, avaliados na mangueira curta que interliga o pulsador com a unidade de ordenha. A maior a amplitude do *limping* representa que os canais estão pulsando descompassados, seja pela sujidade no interior do equipamento ou algum defeito. Não existem dados na literatura para comparar nossos achados, esta pesquisa é inédita e encontramos uma grande amplitude de valores ($2,27 \pm 2,18\%$). Na prática, o *limping* elevado foi identificado principalmente em equipamentos de pulsador mecânico, especialmente quando eram fixados sob o tarro, visto que o local facilita a subida do leite ao pulsador quando não percebido pelo ordenhador que o tarro estaria cheio. A associação negativa envolvendo o *limping* e a hiperqueratose não era esperada. Por se tratar de um compilado de dados a campo, a grande amplitude encontrada para o *limping* pode ter camouflado outras associações. Estas constatações impulsionam a realização de outras investigações direcionadas a estudar o *limping* em propriedades comerciais.

Sistema de produção e controle de vácuo

O nível de vácuo deve ser estável e suficiente para a extração do leite sem que prejudique o tecido do teto (STAUFFER et al. 2020; AMBORD; BRUCKMAIER, 2010), para isso, a bomba e o regulador de vácuo devem ter alta sensibilidade e resposta rápida (ROMERO et al., 2020). Por outro lado, a queda de vácuo do sistema pode acontecer durante o curso normal da ordenha em consequência das entradas de ar, quando o regulador de vácuo é ineficiente em identificá-las ou quando a bomba não consegue dissipar a entrada de ar e atingir a pressão de trabalho adequada (TAFFAREL et al., 2012; (ROMERO et al., 2020).

Na prática, o vácuo não pode ter queda maior de que 2 kPa (ISO 6690, 2007; ALLCOCK; POSTMA, 2013; REINEMANN, 2019). Em nosso estudo encontramos médias superiores ($12,90 \pm 9,62$ kPa), as quais indicaram graves problemas relacionados a produção e controle de vácuo. Primeiramente identificamos o que ocasionou a queda de vácuo nestas propriedades comerciais para depois identificar os seus efeitos.

Por meio da análise fatorial confirmamos que os equipamentos com menores quedas de vácuo eram aqueles que tiveram maiores vazões de bomba e maiores relações entre a vazão estimada pela ISO e a medida. Esta vazão (L/min) excedente é benéfica, pois atenua possíveis quedas de vácuo (> 2 kPa) que acontecem ao longo da ordenha e não foram contabilizadas na reserva efetiva. Por sua vez, a reserva efetiva (L/min) é uma estimativa do fluxo de ar que pode entrar accidentalmente na instalação sem que o nível de vácuo do sistema caia mais de 2 kPa (ISO 5707, 2007). Considera-se que o mínimo de reserva efetiva seja de 80 L/min para balde ao pé e 200 L/min para os outros tipos de ordenhadeiras, somados à 25 e 30 L/min para cada unidade de ordenha adicionada, respectivamente (ISO 5707, 2007).

Em nosso estudo a queda de vácuo foi associada positivamente à ECS. Nossa objetivo não foi testar diferentes quedas de vácuo, mas sim constatar as condições das propriedades comerciais brasileiras. Quando a queda de vácuo excede 2 kPa (ISO 6690, 2007), a velocidade da ordenha (HAMANN et al., 1993; RASMUSSEN; MADSEN, 2000; BESIER; BRUCKMAIER, 2016) e a força de massagem pela teteira (HAMANN et al., 1993) são reduzidas e aumentam as chances de deslizamentos de teteira (RASMUSSEN; MADSEN, 2000). Ainda, o deslizamento da unidade da ordenha está relacionado a um aumento na taxa de novas infecções do úbere (SPENCER, 2011). A ISO 5707 (2007) não prevê uma estimativa para o vácuo do sistema, mas determina que

quando medido na teteira permaneça entre 32 e 42 kPa durante o pico de fluxo do leite. Para sistemas balde ao pé, garrafão central, linhas alta e média, o CBQL (2002) recomenda o vácuo do sistema em 44 a 50. O vácuo excessivamente alto (> 50 kPa) aumenta a chance de sobreordena, assim como a hiperqueratose e infecções intramamárias (SPENCER, 2011). Nossa análise fatorial reconfirma esta observação, pois o vácuo inicial do sistema foi associado positivamente à ECS e a queda de vácuo, contudo, houve apenas uma tendência de relação com a hiperqueratose (0,28200).

Em sistemas canalizados de linha média e alta, o alto fluxo de leite causa uma perda de vácuo, a qual pode ser excessiva quando a tubulação obedece ao fluxo vertical (AMBORD; BRUCKMAIER, 2010). Como consequência, o vácuo medido na teteira diminui em resposta ao aumento do fluxo de leite (STAUFFER et al., 2020; AMBORD; BRUCKMAIER, 2010). Para evitar a queda de unidade, deslizamento de teteiras ou elevar a velocidade de ordenha costuma-se elevar o vácuo do sistema (SPENCER, 2011). Na prática, esta estratégia era comum em ordenhadeiras com bombas de vácuo insuficientes para evitar deslizamento de teteiras enquanto as vacas eram ordenhadas, isso porque as bombas, na maioria das vezes não tinham vazões suficientes.

Análise de agrupamento

A excessiva queda de vácuo (kPa) alerta o grave problema entorno do sistema de produção e controle de vácuo, independente do grupo formado. Esta condição reflete a desassistência na regulagem dos equipamentos de ordenha. Apesar da diferença estatística atribuída à duração das fases do ciclo de pulsação (A, B, C e D), todos os grupos apresentaram duração das fases B e D minimamente suficientes (ISO 5707, 2007).

O grupo 1 foi formado por propriedades tecnificadas, as quais tinham maior produção de leite (L/vaca/dia), melhor condição de teteira, trocas de teteira mais frequentes e menor CPP, sendo um dos grupos com ECS mais baixa. As propriedades tinham elevada hiperqueratose, que foi semelhante aos outros grupos, o *limping* foi baixo, mas não diferiu do grupo 3. A relação entre a vazão estimada (ISO) e a medida foi negativa e insuficiente em atender à reserva efetiva, contudo, a queda de vácuo para o grupo alcançou 12,63 kPa e não diferiu dos demais grupos.

O grupo 2 foi formado por propriedades com problemas relacionados ao equipamento de ordenha, especialmente a baixa vazão de bomba de vácuo (L/min) e pior relação entre a vazão estimada (ISO) e a medida. Apesar de ter tido a mais baixa vazão

de bomba de vácuo, a queda de vácuo média para o grupo (14,97 kPa) não diferiu dos demais. O menor vácuo inicial do sistema (44,15 kPa) causado pela ausência de regulagem não foi um fator crucial em causar elevação da ECS quando comparado ao grupo 1. Apesar de não ter sido incluído o tipo de pulsador na análise de agrupamento, neste grupo identificamos o maior *limping*, coincidentemente eram propriedades com menores vazões de bomba, sugerindo serem sistemas menos tecnificados, os quais não exigiram maiores vazões, ou seja, sistemas balde ao pé e pulsadores mecânicos.

O grupo 3 foi representado pelo menor número de propriedades (n=22), todavia foi o grupo que indicou associações importantes com a ECS do leite. Estas propriedades tinham a maior vazão da bomba de vácuo medida e a maior relação entre a vazão estimada (ISO) e a medida, a qual chegou até a ser positiva, mas foi insuficiente em evitar a queda de vácuo (> 2 kPa). Este grupo foi caracterizado pelo maior vácuo inicial do sistema (48,61 kPa), a fase D mais curta (26%) e a maior pulsação (62,32 pulsações/min). A ISO 5707 (2007) recomenda a frequência de pulsações entre 50 e 65 ciclos por minuto, mas na prática a regulagem é realizada para atender 60 ciclos por minuto. Na análise fatorial deste estudo identificamos uma associação positiva entre a pulsação e a hiperqueratose, por sua vez, o grupo 3 foi representado por propriedades com pulsação e hiperqueratose elevadas, as quais culminaram na maior ECS para o grupo. A troca de teteiras menos frequente ocasionou o seu maior desgaste e dificultou os movimentos da teteira que culminaram em maior duração das fases A e C do ciclo de pulsação. Além disso, o desgaste favorece o acúmulo de sujidades e dificulta a sua higienização, o que contribuiu com a maior CPP deste grupo.

Análise de fatores de risco

As estratégias para o controle e monitoramento da mastite são projetadas principalmente para reduzir o número de novas infecções, eliminar infecções estabelecidas e diminuir a duração das infecções através do uso de técnicas recomendadas (CARDOZO et al., 2015). A maioria das pesquisas fazem constatações a partir de testes com características específicas do equipamento de ordenha (UPTON et al., 2016; WIELAND et al., 2018; ODORČIĆ et al., 2019; STAUFFER et al., 2020). As pesquisas dificilmente fazem constatações abrangentes como a de Gouvêa et al. (2020), que descreveram a morfologia do teto e as características da máquina de ordenha. Cardozo et

al. (2015) elencaram fatores de risco para a MSC, todavia, não fizeram constatações acerca do equipamento de ordenha.

Em nosso estudo as propriedades com elevada quantidade de vacas por unidade de ordenha foram um risco potencial para elevadas CCS de tanque. Apesar de não ter relacionado o tamanho de rebanho com o número de unidades de ordenha, Cardozo et al. (2015) constatou que os grandes rebanhos apresentaram maior proporção de novas infecções subclínicas.

A limpeza adequada das tetas, a retirada dos 3 primeiros jatos de leite, o uso de caneca para detecção de mastite clínica e a realização do *pós-dipping* reduziram significativamente a ocorrência de novos casos de MSC no estudo de Cardozo et al. (2015). Considerando as variáveis estudadas em nosso estudo, identificamos poucos fatores de risco, dentre eles, lavar os tetos no manejo de ordenha e ter teteiras desgastadas nas unidades de ordenha foram alguns identificados. Por outro lado, o fornecimento de dieta aniônica no pré-parto contribui para manter a baixa ECS de propriedades comerciais.

Apesar da aferição estática do equipamento de ordenha ter apontado diversas irregularidades, grande parte delas não chegaram a ser um risco potencial ao aumento de CCS de tanque das propriedades comerciais. Identificamos que o *limping* abaixo de 1,6% foi um risco para a elevação da CCS de tanque. Ele nos indica que os dois canais de pulsação possuem a duração das fases A+B muito próximas, sendo o valor mais adequado nos equipamentos de ordenha. Esta similaridade entre a duração das fases A+B dos canais elevou a chance da ECS prejudicar a saúde do rebanho.

CONCLUSÃO

Os equipamentos de ordenha de propriedades leiteiras do Oeste de Santa Catarina, em sua maioria, não atendem às exigências estimadas quanto à capacidade da bomba de vácuo e como consequência a queda de vácuo aumenta.

As propriedades com teteiras desgastadas possuem ECS e CPP mais elevadas. Além disso, o desgaste dificulta a abertura e o fechamento das teteiras, identificada pela maior duração das fases A e C do ciclo de pulsação. A maior taxa de pulsação leva ao aumento da hiperqueratose de teto. Além disso, a taxa de pulsação e o nível de vácuo elevados aumentam a CCS do leite.

Não fornecer dieta aniônica, lavar os tetos no manejo de ordenha, ter teteiras desgastadas e baixo *limping* são fatores preponderantes para a mastite subclínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLCOCK, J.; POSTMA, E. Understanding dynamic milking machine tests. **Livestock**, v.18, n.2, p.24–29, 2013.
- ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil, **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n, 6, p. 711–728, 2013.
- AMBORD, S., BRUCKMAIER, R. M. Milk flow-dependent vacuum loss in high-line milking systems: Effects on milking characteristics and teat tissue condition. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3588–3594, 2010.
- BESIER, J., LIND, O., BRUCKMAIER, R. M. Dynamics of teat-end vacuum during machine milking: Types, causes and impacts on teat condition and udder health - A literature review. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n. 1, p. 263–272, 2016.
- BILLON, P., GAUDIN, V. Influence of the duration of a and c phase of pulsation on the milking characteristics and on udder health of dairy cows. ICAR Technical Series, n. 7, p. 105-111, 2001.
- CARDOZO, L. L. *et al.* Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7675–7685, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8913>. Acesso em: 17 jan. 2020.
- CBQL.Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite. Comitê de Equipamentos. **Equipamentos de ordenha:** recomendações do comitê de equipamentos. São Paulo: Quiron, 2002.
- GOUVÊA, F. L. R. *et al.* A descriptive study of teat morphology, milking machine characteristics, and milking practices in a sample of Brazilian dairy herds. **Livestock Science**, v. 241, p. 1–8, 2020.
- HAMANN, J., MEIN, G. A., WETZEL, S. Teat tissue reactions to milking: Effects of vacuum level. **Journal of Dairy Science**. v. 76, p. 1040–1046, 1993.
- HAMANN, J., NIPP, B., PERSSON, K. Teat tissue reactions to milking: Changes in blood flow and thickness in the bovine teat. **Milchwissenschaft**, v. 49, p.243–247, 1994.
- ISO. International Organization for Standardization, 2007. Milking machine installations – ISO 3918 Vocabulary. Int. Organ. Stand.

ISO. International Organization for Standardization, 2007. Milking machine installations – ISO 5707 construction and performance. Int. Organ. Stand.

ISO. International Organization for Standardization, 2007. Milking machine installations – ISO 6690 mechanical tests. Int. Organ. Stand.

KASKOUS, S. Optimization of the Pulsation Ratio During the Course of Milk Removal after using A Quarter Individual Milking System “MultiLactor”. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 6, n. 6, p. 284-289, 2018.

MEIN, G. A. *et al.* Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. non-infectious factors. . . Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, NMC/AABP, Vancouver, 5, 351–374, 2001.

MEIN, G.A. The role of the milking machine in mastitis control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.28, n.2, p.307–320, 2012.

NEIJENHUIS, F. *et al.* Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2795–2804, 2000.

NEIJENHUIS, F.; DE KONING, K.; BARKEMA, H.; HOGEVEEN, & H. The effects of machine milking on teat condition. Em: ICAR Technical Series, 7, 2001, [...]. 2001. p. 33–40.

ODORČIĆ, M. *et al.* Review: Milking machine settings, teat condition and milking efficiency in dairy cows. **Animal**, v. 13, n. 1, p. 94–99, 2019.

PANTOJA, J. C. F. *et al.* Association between teat-end hyperkeratosis and mastitis in dairy cows: A systematic review. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 1843–1855, 2020.

RASMUSSEN, M. D., MADSEN, N. P. Effects of milkline vacuum, pulsator airline vacuum, and cluster weight on milk yield, teat condition, and udder health. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 77–84, 2000.

REINEMANN, D. J. Milking machines and milking parlors. Em: **Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 225–243.

ROMERO, G. *et al.* Effects of machine milking on udder health in dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v.188, p.1-8, 2020.

SPENCER, S. B. Principles and Design: Milking Machines. Pennsylvania State University, University Park, PA, USA. p. 941-951, 2011.

STAUFFER, C., FEIERABEND, M., BRUCKMAIER, R. M. Different vacuum levels, vacuum reduction during low milk flow, and different cluster detachment levels affect

milking performance and teat condition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 9250–9260, 2020.

TAFFAREL, L. E. *et al.* Manutenção de ordenhadeiras em propriedades familiares do Oeste do Paraná. **Revista UDESC Em Ação**, v.6, n.1, p.1–12, 2012.

UPTON, J. *et al.* Effect of pulsation rest phase duration on teat end congestion **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 3958–3965, 2016.

WANG, J. *et al.* The potentialities of machine learning for cow-specific milking: automatically setting variables in milking machines. **Animals**, v.12, n.13, p.1-14, 2022.

WIELAND, M., NYDAM, D. V., VIRKLER, P. D. A longitudinal field study investigating the association between teat-end shape and two minute milk yield, milking unit-on time, and time in low flow rate. **Livestock Science**, v. 205, p. 88–97, 2017.

WIELAND, M. *et al.* Short communication: Teat-end shape and udder-level milking characteristics and their associations with machine milking-induced changes in teat tissue condition. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 11447–11454, 2018.

ANEXOS

ANEXO 1

Produção			
Quantidade de vacas _____ Raça (s): _____ Volume produzido diário			
CCS dos últimos 3 meses ____/____/____ CBT dos últimos 3 meses ____/____/____			
Controle leiteiro _____ nº vacas em lactação: _____			
Lotes de ordenha			
Lote 1:	_____	Lote 2:	_____
Lote 3:	_____	Lote 4:	_____
Ordenha			
Tipo de ordenha: <input type="checkbox"/> balde ao pé <input type="checkbox"/> espinha de peixe <input type="checkbox"/> carrossel <input type="checkbox"/> outro _____			
Horário de ordenha: ____começa ____termina ____começa ____termina ____começa ____termina			
Qual o número de ordenhadores? <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Outro: _____			
Quantas vezes ao dia os animais são ordenhados? <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3			
Possui quantos conjuntos de ordenha? _____			
Qual o material das teteiras? <input type="checkbox"/> Borracha <input type="checkbox"/> Silicone			
Possui extração automática das teteiras? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Manutenção do equip, ordenha <input type="checkbox"/> Periódica <input type="checkbox"/> Eventual (quando tem algum problema) <input type="checkbox"/> Nunca			
Faz linha de ordenha? <input type="checkbox"/> Sempre <input type="checkbox"/> Às vezes <input type="checkbox"/> Nunca			
O(s) ordenhador(es) utiliza(m) luvas descartáveis para realizar a ordenha? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Faz a lavagem dos tetos com água? <input type="checkbox"/> Sempre <input type="checkbox"/> Quando muito sujo <input type="checkbox"/> Nunca			
Faz o teste da caneca (eliminação dos três primeiros jatos de leite)? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Faz pré-dipping? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não (nome/princípio/concentração) _____			
Faz secagem dos tetos? <input type="checkbox"/> Sim, <input type="checkbox"/> Papel toalha <input type="checkbox"/> Pano <input type="checkbox"/> Não			
Faz pós-dipping? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não (nome/princípio/concentração) _____			
Ordem de procedimentos da rotina de ordenha:			
Fornece alimento para as vacas durante a ordenha? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Fornece alimento para as vacas imediatamente após a ordenha? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Faz o teste CMT (Califórnia Mastite Teste)? <input type="checkbox"/> Sim, regularmente <input type="checkbox"/> Sim, ocasionalmente <input type="checkbox"/> Não			
Faz (CCS) individual das vacas em lactação? <input type="checkbox"/> Sim, regularmente <input type="checkbox"/> Sim, ocasionalmente <input type="checkbox"/> Não			
Faz tratamento de mastite subclínica durante a lactação? <input type="checkbox"/> Sim, Qual(ais) critério(s) para tratar?			
Utiliza vacina para mastite? <input type="checkbox"/> Sim, Qual? _____ <input type="checkbox"/> Não			

Faz descarte de animais por mastite? () Sim, Qual(ais) critério(s)? _____ <input type="checkbox"/> Não
Utiliza água morna para enxágue da ordenhadeira após ordenha? () Sim () Não
Utiliza detergente alcalino para limpeza da ordenhadeira? () Sim, com água quente () Sim, com água à temperatura ambiente () Não
Utiliza detergente ácido para limpeza da ordenhadeira? () Sim () Não
Faz sanitização da ordenhadeira com solução de cloro antes da ordenha? () Sim () Não
Equipamento/sala de ordenha
Quantidade de postos de ordenha: _____ n° de pulsadores: _____
Caída da linha de leite: _____ Altura da linha de leite: _____ alta _____ média _____ baixa
Marca do equipamento: _____
Modelo da bomba de vácuo: _____
Potência da bomba de vácuo: _____
Tempo de uso do equipamento: _____ Realiza manutenção: () Periódica; () Eventual (quando tem algum problema) () Nunca
Qual a periodicidade: _____ Qual empresa realiza a manutenção:
Material da teteira: _____ silicone _____ borracha _____ híbrida _____ marca/modelo
Forma: _____ triangular _____ quadrada _____ redonda _____ freq, de troca das teteiras
Última troca das teteiras: _____
Condições das teteiras: _____ nova _____ desgastada _____ muito desgastada
Freq, Troca das mangueiras longas de leite: _____ Última troca: _____
Condição das mangueiras longas de leite: _____

ANEXO 2

QUESTIONÁRIO TÉCNICO	
CARACTERIZAÇÃO DOS PROPRIETÁRIOS E PROPRIEDADE RURAL	
Identificação da propriedade	
Data da entrevista:	
Nome do proprietário:	
Endereço:	
E-mail:	
Área total da propriedade rural (em ha):	
Área da propriedade destinada à produção de leite (inclusive para a produção de alimentos, em ha):	
CARACTERIZAÇÃO DA PRODUÇÃO LEITEIRA E REBANHO	
Número total de animais da propriedade (bovinos)	
Número de vacas em lactação	
Número de vacas secas	

Raça do rebanho	(<input type="checkbox"/>) Holandesa (<input type="checkbox"/>) Pardo suíço (<input type="checkbox"/>) Jersey Puro (<input type="checkbox"/>) Girolando (<input type="checkbox"/>) Gir (<input type="checkbox"/>) Mestiça
Qual a frequência de coleta do leite?	(<input type="checkbox"/>) todos os dias (<input type="checkbox"/>) 1 vez a cada 2 dias (<input type="checkbox"/>) 1 vez a cada 3 dias (<input type="checkbox"/>) outro _____
Conhece o DEL dos animais	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Se sim, qual é o DEL médio? _____
Sistema de produção	
MANEJO ALIMENTAR: PASTO COM SUPLEMENTAÇÃO	
Espécie	Período de utilização
Período de pastejo	(<input type="checkbox"/>) Manhã (<input type="checkbox"/>) Tarde (<input type="checkbox"/>) Noite (<input type="checkbox"/>) 24 horas
Que tipo de concentrado é utilizado?	(<input type="checkbox"/>) Mistura comercial (<input type="checkbox"/>) Preparado na propriedade (_____) Outro, qual? _____
Fornece silagem?	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não
Fornece feno ou pré-secado?	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não qual? _____
Existe piqueteamento	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não
Bebedouros	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não
Sombreamento	(<input type="checkbox"/>) em todos os piquetes (<input type="checkbox"/>) em alguns (<input type="checkbox"/>) nenhum
Adubação	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não
Irrigação	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não
Local de suplementação	(<input type="checkbox"/>) pasto (<input type="checkbox"/>) sala de alimentação (<input type="checkbox"/>) durante a ordenha
Dieta Formulada	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Quantidade _____
Horário de suplementação	(<input type="checkbox"/>) antes da ordenha (<input type="checkbox"/>) durante (<input type="checkbox"/>) após

Equipamento de redução do estresse térmico no local de suplementação	(<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Qual _____
Alimentos frequentemente utilizados	
CARACTERIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES PARA ORDENHA	
A sala de espera possui:	Sombra: (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Água: (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Cobertura: (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Sistema de resfriamento: (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não Se _____ sim, qual? Tipo _____ de piso: _____
Qual é o piso da Sala de ordenha?	chão batido (<input type="checkbox"/>) piso de alvenaria
Qual é a forma de resfriamento do leite?	(<input type="checkbox"/>) Tarro/Freezer com água (<input type="checkbox"/>) Direto no Freezer (<input type="checkbox"/>) Expansão
CARACTERIZAÇÃO DO MANEJO DE ORDENHA	
Faz sanitização do conjunto de teteiras (se houver) entre uma vaca e outra?	(<input type="checkbox"/>) Sim, sempre Qual produto? _____ (<input type="checkbox"/>) Não
Há problemas com mastite no rebanho?	(<input type="checkbox"/>) Sim, muito frequente; (<input type="checkbox"/>) Sim, frequente; (<input type="checkbox"/>) Sim, pouco frequente; (<input type="checkbox"/>) Não
Qual o indicativo para começar o tratamento de mastite:	(<input type="checkbox"/>) Caneca positivo; (<input type="checkbox"/>) CMT/Raquete positivo; (<input type="checkbox"/>) Sinais visuais; (<input type="checkbox"/>) Outros _____ Produto: _____ Há quanto tempo utiliza? _____
Como é feita a higienização do tanque resfriador e do equipamento de ordenha?	(<input type="checkbox"/>) Utiliza detergente específico para ordenhadeira; (<input type="checkbox"/>) Utiliza detergente específico para resfriador; (<input type="checkbox"/>) Utiliza água quente; (<input type="checkbox"/>) Utiliza detergente comum

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicam que algumas propriedades com sistema de produção baseado em pastagem, mesmo com assistência técnica especializada, não conseguiram melhorar a CCS de tanque. Identificou-se resistência em descartar vacas mais velhas e de úberes profundos, o que culminou em maior CCS, independentemente de sua raça. Estas características devem ser consideradas na seleção de bovinos leiteiros para melhorar a conformação da glândula mamária. Desta forma os produtores que conseguem maximizar a distância do úbere ao chão e a exposição aos agentes veiculados pelo ambiente, especialmente a *Escherichia coli*.

Manter vacas com DEL elevado no rebanho favorece a disseminação de *Staphylococcus aureus*, especialmente na estação fria. Além disso, dificulta a redução da mastite subclínica do rebanho.

A CCS elevada prejudica a produção de leite e dos componentes sólidos, associando-se a menor concentração de lactose e a maior concentração de cloretos do leite. Estes dois parâmetros estão associados negativamente por ambos terem relação com a osmolaridade da glândula mamária e síntese do leite. Embora não tenhamos feito o teste qualitativo de cloretos, nossos resultados alertam para o risco de não conformidade do leite pelo teste qualitativo de cloretos.

A elevada CCS afeta a qualidade do leite de modo similar na estação fria e quente, não havendo evidência de prejuízos devido à alta CCS, quando associado a condições de estação quente. Por outro lado, na estação quente as propriedades tiveram acidez titulável do leite mais baixa, mas dentro do recomendado pela Instrução Normativa 76 (2018).

Nossa pesquisa sobre equipamento de ordenha é inédita no Brasil, o compilado de informações fornece embasamento científico para diversas melhorias a serem feitas e serão discutidas em seguida. A maioria dos equipamentos de ordenha de propriedades comerciais a pasto do Oeste de Santa Catarina não atendem às exigências para estimativa de bomba de vácuo, como consequência a queda de vácuo aumenta. Por mais que não esteja associado a condição da extremidade do teto ou a mastite subclínica é crucial dimensionar o equipamento adequadamente para garantir a ordenha eficiente do plantel. Recomenda-se investir em sistemas de ordenha mais eficientes (pulsador e regulador de vácuo) e manter a troca regular de teteiras.

As propriedades com teteiras desgastadas possuem leite com maior CCS e CPP. O desgaste dificulta a higienização e atrapalha o movimento de abertura e fechamento das teteiras. A maior pulsação e o maior vácuo aumentaram a CCS do leite, entretanto, apenas a maior pulsação esteve associada ao aumento da hiperqueratose de teto. Alguns fatores de risco para elevação da CCS incluem não fornecer dieta aniônica no pré-parto, lavar os tetos durante a ordenha, teteiras desgastadas, baixo *limping* e alto número de vacas por unidade de ordenha.

A vasta gama de dados a partir da aferição dos equipamentos de ordenha e a escassez de comprovação científica destacam a necessidade de conduzir mais pesquisas, especialmente para abordar lacunas ainda não esclarecidas por este estudo.