

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

HELDER DE ARRUDA CÓRDOVA

**PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE, FREQUÊNCIA DE ORDENHA,
PROFUNDIDADE DE ÚBERE E COMPORTAMENTO DE VACAS DA RAÇA
HOLANDESA EM ORDENHA ROBÓTICA**

**LAGES, SC
JUNHO DE 2016**

HELDER DE ARRUDA CÓRDOVA

**PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE, FREQUÊNCIA DE ORDENHA,
PROFUNDIDADE DE ÚBERE E COMPORTAMENTO DE VACAS DA RAÇA
HOLANDESA EM ORDENHA ROBÓTICA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Ciência Animal, da Universidade de Santa
Catarina como requisito para obtenção do
título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Thaler Neto

**LAGES, SC
JUNHO DE 2016**

HELDER DE ARRUDA CÓRDOVA

**PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE, FREQUÊNCIA DE ORDENHA,
PROFUNDIDADE DE ÚBERE E COMPORTAMENTO DE VACAS DA RAÇA
HOLANDESA EM ORDENHA ROBÓTICA**

Tese de doutorado, curso de Pós Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV/UDESC, para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Banca examinadora:

Orientador: _____
Prof. Dr. André Thaler Neto - UDESC

Membro: _____
Prof. Dr. Geraldo Tadeu dos Santos - UEM

Membro: _____
Prof. Dr. Rodrigo Almeida – UFPR

Membro: _____
Prof. Dr. Aldo Gava - UDESC

Membro: _____
Prof. Dr. Ivan Pedro de O. Gomes - UDESC

**LAGES, SC
JUNHO DE 2016**

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV/UDESC – Lages, SC, por ter possibilitado a minha formação acadêmica, da graduação ao doutorado.

A ARM Genética (Castro, PR), na pessoa de seu proprietário Sr. Armando Rabbers e equipe e a DeLaval (Filial Castro, PR) por terem disponibilizado, respectivamente, as suas instalações e animais bem como os seus técnicos, Rafael Martins Garcia e Thiago Boogaard, para a realização deste trabalho.

Aos laboratórios: do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR) da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), Curitiba - PR, na pessoa do Sr. José Augusto Horst; Labvet, em Carambeí, PR, e Laboratório Físico Químico da Fundação ABC, Castro, PR, pela realização das análises do leite.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pelos recursos financeiros.

A Secretaria de Estado da Educação do Paraná, por ter entendido a importância deste trabalho para a pecuária de leite do Paraná, concedendo dois anos de afastamento para realização do doutorado.

Ao Prof. André Thaler Neto pela amizade, parceria, convivência harmoniosa e orientação precisa e altamente qualificada.

Ao Prof. Ivan Pedro de Oliveira Gomes pela amizade, parceria e sugestões sempre oportunas e valiosas.

A todos os professores do curso em especial ao Prof. Aldo Gava pela amizade e ensinamentos.

Ao Técnico em Agropecuária Paulo Rogério Lima, gerente da ARM Genética, pela amizade, parceria, confiança e apoio técnico.

Ao amigo e colega de trabalho Mário João Figueiredo, pelo incentivo e sempre acreditar no meu trabalho.

Aos colegas de pós-graduação, em especial aos doutorandos Leonardo Leite Cardozo e Dileta Regina Moro Alessio, os quais foram decisivos na execução do projeto de pesquisa e análises estatísticas.

A minha família, em especial a Maria e Iolita pela acolhida, carinho e apoio.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste sonho.

A Deus pela minha saúde, proteção, coragem e inspiração nos momentos mais difíceis.

A todos sou eternamente grato !!!

RESUMO

CÓRDOVA, Helder de Arruda. **Produção e qualidade do leite, frequência de ordenha, profundidade de úbere e comportamento de vacas da raça holandesa em ordenha robótica.** 2016. 142 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC), Lages, SC, 2016.

A introdução da ordenha robótica no Brasil fez surgir a necessidade de pesquisas para avaliá-la. Neste trabalho foram utilizadas vacas em lactação, da raça Holandesa, confinadas e ordenhadas no sistema de ordenha voluntária. O trabalho foi conduzido em Castro, PR, de março a junho de 2014. Foram realizados quatro estudos sobre condutividade elétrica (CE); conformação de úbere e limpeza de tetos; frequência de ordenha e bem estar animal e comportamento animal. Na avaliação da CE foram colhidos mensalmente dados eletrônicos e amostras de leite de um quarto mamário de dezoito vacas, por quatro meses. Além da especificidade e sensibilidade da CE, foram estimados os pontos de corte da mesma para os diferentes tipos de mastite. Na avaliação dos efeitos da profundidade do úbere sobre a limpeza dos tetos e sanidade da glândula mamária foram utilizadas vinte vacas, em quatro blocos de acordo com a profundidade da mesma, sendo utilizados dados eletrônicos e *swab* de dois tetos contralaterais. Para avaliar os efeitos da frequência diária de ordenha sobre o desempenho, consumo de concentrado e bem estar animal foram analisados dados eletrônicos de todas as vacas em lactação, mensalmente, após a realização de quatro controles leiteiros (CL). Os dados foram agrupados em três grupos conforme o número diário de ordenhas (1, 2 e +3). Após cada CL de cinco vacas de cada grupo foram colhidos dados para avaliar o bem estar animal. Na avaliação do comportamento animal foram utilizados os dados de todas as vacas em lactação agrupadas em três grupos, conforme a ordem de lactação (1, 2 e +3). Foram utilizados os registros eletrônicos de um dia por mês por vaca, por quatro meses. Os dados foram avaliados através de técnicas de análise uni e multivariada, utilizando-se o pacote estatístico SAS e a metodologia de *Receiver Operating Characteristic Curve* utilizando o *MedCalc Statistical Software*. A CE apresentou forte relação com os teores de lactose e de íons no leite. Leite de quartos mamários com CE $\geq 5,9$ e $\geq 5,3$ a $\leq 5,8$ mS/cm podem ser considerados, respectivamente, com mastite clínica e subclínica. O consumo de concentrado, DEL, a produção do leite e a escala de locomoção influenciaram a frequência de ordenha, a qual não afetou a concentração de cortisol sanguíneo. Em sistemas de ordenha robotizada (SOR), vacas com úbere com piso do úbere um pouco acima do jarrete apresentaram conformação de úbere mais adequada ao SOR. A ordem de parto influenciou o comportamento ingestivo de concentrado, principalmente, em vacas com produção de leite mais alta, porém, não interferiu no comportamento de ordenha de vacas com maior paridade. Os resultados dos quatro estudos poderão ser importantes para configurar os *software* de gerenciamento para emissão de alertas de mastite a partir da CE, fornecimento de concentrado e permissão de ordenha e auxiliar na seleção de vacas com conformação de úbere e comportamento mais adequado ao SOR bem como no manejo e formação de lotes.

Palavras-chave: Ordenha automática. Ordenha voluntária. Condutividade elétrica. Frequência de ordenha.

ABSTRACT

CÓRDOVA, Helder de Arruda. **Milk yield and quality, milking frequency, udder depth and behavior of holstein cows in robotic milking.** 2016. 142 f. Thesis (Doctorate in Animal Science) - University of the State of Santa Catarina. Agroveterinárias Science Center (CAV / UDESC), Lages, SC, 2016.

The introduction of robotic milking in Brazil has given rise to the need for research to evaluate it. In this work we used lactating cows, Holstein, confined and milked in the voluntary milking system. The work was conducted in Castro, PR, from March to June of 2014. Four studies were carried out about electrical conductivity (EC), udder conformation and teat cleaning, milking frequency and animal welfare and animal behavior. In the EC evaluation were collected monthly electronic data and samples of milk from one mammary quarter of eighteen cows for four months. In addition to the specificity and sensitivity of the EC, the cutting points of the same for the different types of mastitis were estimated. In the assessment of the effects of the udder depth on cleaning the teats and health of the mammary gland, twenty cows were used, in four blocks according with udder depth, of which were used electronic data and swab of two teats. To evaluate the effects of daily frequency of milking on performance, concentrate intake and welfare were collected electronic data from all lactating cows, monthly, after the completion of four milk production control (MC) were analysed. Data were grouped into three groups according to the number of daily milking (1, 2 and +3). After each MC five cows in each group data were collected to assess animal welfare. For assessing the behavior of all lactating cows the data were grouped into three groups according to lactation order (1, 2 and +3). Electronic records of one day per month per cow for four months were used. Data were evaluated by analysis techniques univariate and multivariate, using the statistical package SAS and Receiver Operating Characteristic Curve methodology using MedCalc Statistical Software. The EC had a strong relationship with the lactose and ions in milk. Milk of mammary quarters with EC $\geq 5,9$ and $\geq 5,3$ to $\leq 5,8$ mS / cm can be considered, respectively, with clinical and subclinical mastitis. The concentrated intake, days in milk, the milk yield and the locomotion scoring influenced the frequency of milking, which did not affect the blood cortisol concentration. In automatic milking systems (AMS), cows with udder floor just above the hock showed udder conformation more suitable for AMS. The parity influenced the feeding behavior mainly in cows with higher milk yield, but did not affect behavior of milking of cows with higher parity. The results of the four studies will be important to set up the management software for the issuance of mastitis alerts due to increased of the EC, feeding with concentrated, milking permission, assist in the selection of cows with udder conformation and more appropriate behavior to the SOR and in the management and training of lots.

Keywords: Automatic milking. Voluntary milking. Electric conductivity. Frequency of milking.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 – Planta com vista superior do barracão com todas as instalações do sistema	45
Figura 2 – Planta baixa com a divisão do confinamento em áreas (A) e corte detalhado da área do VMS (B).....	46

CAPÍTULO II

Fig. 1. Dispersion of factor loadings, and connections between factors 1 and 2 in the factor analysis and milk yield, composition, and flow, electrical conductivity (EC), mastitis detection index (MDI), somatic cell score (SCS), and the presence of major and minor pathogens (72 cows).....	72
Fig. 2. Area under the curve, cut-off point (criterion), sensitivity, and specificity of electrical conductivity as an indicator of clinical mastitis of 72 cows.....	73
Fig. 3. Area under the curve, cut-off point (criterion), sensitivity and specificity of electrical conductivity as an indicator of subclinical mastitis of 72 cows.....	74
Fig. 4. Comparison of ROC curves for the diagnosis of clinical mastitis based on electrical conductivity, the California Mastitis Test, and somatic cell score of 72 cows.....	76
Fig. 5. Comparison of ROC curves for the diagnosis of subclinical mastitis based on electrical conductivity, the California Mastitis Test, and somatic cell score of 72 cows.	76

CAPÍTULO III

Figura 1. Comparaçāo da frequēcia de ordenha (Ord_Dia) com a produçāo de leite por ordenha (Prod_Ord), consumo de concentrado por dia (Conc_Dia), em A, e produçāo de leite corrigida para gordura e proteína (Prod_ECM), em B, conforme o DEL em meses.....	97
Figura 2. Comparaçāo da frequēcia de ordenha (Ord_dia) com a composiçāo e fluxo de leite (A) e duraçāo da ordenha (B) conforme o DEL em meses.	98

CAPÍTULO IV

Figura 1. Representaçāo gráfica obtida através da análise canônica das características de cada grupo de vacas conforme a profundidade de úbere. Grupo 1 (■); grupo 2 (▲); grupo 3 (◆).	115
---	-----

CAPÍTULO V

Figura 1 – Planta baixa com a divisão do confinamento em áreas (A) e corte detalhado da área do VMS (B).....	128
Figura 2 – Represantação gráfica obtida através da análise canônica das características de cada grupo de vacas conforme a ordem de lactação. Grupo 1(■); grupo 2(▲); grupo 3(♦).....	133

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 – Quantidade de cada ingrediente estimada e composição química da dieta com base na matéria seca (MS) e matéria natural (MN)	47
---	----

CAPÍTULO II

Table 1 - Descriptive analysis of milk yield and composition, and indicators of the health of mammary glands of 72 cows.	70
Table 2 - Factor loadings, communalities, percentages of variance in milk production, composition, and flow, mastitis indicators, and the prevalence of pathogens.....	71
Table 3 – Number of positive (Pos) and negative (Neg) cases, area under the ROC curve (AUC), standard error (StE), P - values, cut-off point, sensitivity (SE), specificity (SP) and limits for clinical and subclinical mastitis of electrical conductivity (mS/cm) and inter-quarter ratio (IQR).	74
Table 4 – Comparisons between pairs of ROC curves for the EC, CMT, and SCS variables, considering the AUC, standard error (StE), and ≠AUC, and significance levels for the diagnosis of CM and SM.....	75
Table 5 – Results of microbiological culturing of milk from 52 mammary quarters with major and minor pathogens, and cases were there was no growth (NG), and their median EC.....	77

CAPÍTULO III

Tabela 1. Cargas fatoriais, comunidades e percentual de variância referentes a produção de leite, características da ordenha, passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado, DEL e métodos para avaliar o bem-estar de 60 vacas em lactação.....	99
Tabela 2. Análise de agrupamentos referente a produção de leite, características da ordenha, passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado, DEL e métodos para avaliar o bem estar, valor de P e número de observações por grupo ⁽¹⁾	100

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Análise descritiva dos dados das vacas incluídas neste estudo (n=20).	113
---	-----

Tabela 2. Cargas fatoriais, comunalidades e percentual de variância da profundidade de úbere, produção de leite, ordenhas diárias e indicadores de efetividade de limpeza dos tetos e saúde da glândula mamária.	114
Tabela 3. Análise de agrupamentos referente à profundidade de úbere, produção de leite, ordenhas dia, escore de células somáticas, indicadores de limpeza dos tetos e número de observações por grupo ⁽¹⁾	116

CAPÍTULO V

Tabela 1 – Análise descritiva das variáveis de produção de leite, comportamento de ordenha e ingestivo (425 observações).	130
Tabela 2 – Cargas fatoriais, comunalidade e percentual de variância referentes ao número de ordenhas/dia, ordem de parto, passagens pelo PCD e consumo de concentrado utilizados para avaliar o comportamento ingestivo de concentrado e a atividade de vacas em lactação.	131
Tabela 3 – Cargas fatoriais, comunalidade e percentual de variância referentes a ordem de parto, produção de leite, características da ordenha e consumo de concentrado utilizados para avaliar comportamento de ordenha de vacas em lactação.	132
Tabela 4 – Análise de agrupamentos referente a ordem de parto, produção de leite, características da ordenha, passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado, DEL, valor de P e número de observações por grupo ⁽¹⁾	134

LISTA DE ABREVIATURAS

#AUC	Difference between the areas under the curve (\neq da área sob a curva)
AGL	Ácidos graxos livres
AMS	Automatic milking system (Sistema de ordenha automática)
APBCRH	Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa
AUC	Area under the curve (Área sob a curva)
BEA	Bem-estar animal
BHI	Brain heart infusion
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CBT	Contagem bacteriana total
CCS	Contagem de células somáticas
CE	Condutividade elétrica
CL	Controle leiteiro
CM	Clinical mastitis
CMT	Califórnia Mastitis Test
CNS	Coagulase-negative staphylococci
DEL	Dias em lactação
DIM	Days in milk
DP	Desvio padrão
DPM	Dieta parcialmente misturada
EC	Electrical conductivity
ECC	Escore da condição corporal
ECM	Produção de leite corrigida para energia e proteína
ECS	Escore de células somáticas
ELC	Escore de locomoção
ELH	Escore de limpeza e higiene
ELTT	Escore de limpeza de tetos com toalhas umedecidas
EL _l	Energia líquida para lactação
EO	Estação de ordenha
EPT	Escore de ponta de teto
EPTM	Escore de ponta de teto médio
ES	Especificidade
F1	Fator um (número do fator)
FDA	Fibra em detergente ácido

FDN	Fibra em detergente neutro
FDNfe	Fibra em detergente neutro fisicamente efetiva
FO	Tráfego forçado
FT	Tráfego livre
IIM	Infecção intramamária
IMI	Intramammary infection
IMS	Ingestão de material seca
IQR	Inter-quarter ratio
K ⁺	Potássio
MC	Milk production control
MDI	Mastitis Detection Index (Índice de detecção de mastite)
MN	Matéria natural
MS	Matéria seca
mS/cm	MiliSiemens por centímetro
Na ⁺	Sódio
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NMC	National Mastitis Council
PARLPR	Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná
PB	Proteína bruta
PCD	Portão de controle e direcionamento
pH	Potencial hidrogeniônico
ROC	Receiver Operating Characteristic
SCC	Somatic cell count
SCS	Somatic cell score
SD	Standard deviation
SE	Sensitivity (Sensibilidade)
SEL	Tráfego seletivo
SM	Subclinical mastitis
SOR	Sistema de ordenha robotizada
SP	Specificity
StE	Standard error
TEQ	Taxa entre quartos mamários
Ufc	Unidade formadora de colônias
VMS	Voluntary Milking System (Sistema de ordenha voluntária)

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA.....	19
2.1.1 Definição e Principais Fatores Determinantes	19
2.1.2 Fatores que Influenciam a Condutividade Elétrica	20
2.1.3 Fatores Ligados a Mastite.....	21
2.1.4 A Condutividade Elétrica como Indicador de Mastite.....	22
2.2 FREQUÊNCIA DE ORDENHA E BEM ESTAR ANIMAL	25
2.2.1 Intervalo e Número de Ordenhas Por Dia	25
2.2.2 Fatores que Interferem na Frequência de Ordenha.....	26
2.2.3 Influência da Frequência de Ordenha Sobre a Produção e Qualidade do Leite	30
2.2.4 Influência Sobre a Saúde e Bem Estar Animal.....	31
2.3 CONFORMAÇÃO DO ÚBERE E HIGIENE DA VACA E DE TETOS	34
2.3.1 Conformação do Úbere e Colocação das Teteiras	34
2.3.2 Limpeza de Tetos e Qualidade do Leite.	35
2.3.3 Limpeza e Higiene da Vaca.....	37
2.4 COMPORTAMENTO ANIMAL.....	39
2.4.1 Comportamento e Dominância Social	39
2.4.2 Comportamento Ingestivo e Manejo Alimentar	40
2.4.3 Comportamento de Ordenha.....	42
3 HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	43
3.1 HIPÓTESES	43
3.2 OBJETIVOS	43
3.2.1 Objetivo Geral	43
3.2.2 Objetivos Específicos.....	43
4 MATERIAL E MÉTODOS – GERAL.....	44
4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS	44
4.2 INSTALAÇÕES: LIMPEZA E MANEJO	44
4.3 DIETA E MANEJO E ALIMENTAR	46
4.4 MANEJO DE ORDENHA	47
4.5 REGISTROS DE DADOS	48

4.6 ANÁLISES LABORATORIAIS	48
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	49
REFERÊNCIAS	50
CAPÍTULO II.....	60
ELECTRICAL CONDUCTIVITY AS A CLINICAL AND SUBCLINICAL	
MASTITIS DETECTOR IN ROBOTIC MILKING, AND ITS RELATIONSHIP	
WITH OTHER INDICATORS OF INTRAMAMMARY INFECTION.....60	
CAPÍTULO III	88
FREQUÊNCIA DE ORDENHA, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE E BEM	
ESTAR ANIMAL EM ORDENHA ROBÓTICA 88	
CAPÍTULO IV.....	107
INFLUÊNCIA DA PROFUNDIDADE DO ÚBERE NA LIMPEZA DOS TETOS E	
SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM ORDENHA ROBÓTICA 107	
CAPÍTULO V	121
COMPORTAMENTO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA EM ORDENHA	
ROBÓTICA 121	
CAPÍTULO VI.....	140
CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO GERAL 140	
6.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	141
6.2 CONCLUSÃO GERAL	142

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A atividade leiteira nas últimas décadas passou por grande modernização. Ao analisar a evolução nos últimos anos, é possível constatar que essa modernização acontece em períodos cada vez mais curtos acompanhando o avanço que ocorre na avicultura de corte e postura, suinocultura e agricultura de precisão. Tudo começou com a adoção da ordenha mecânica em substituição a ordenha manual, até então um fator que limitava a produção em maior escala e comprometia a qualidade do leite. Outro fator foi o resfriamento do leite a granel (em resfriadores por expansão direta) em substituição ao resfriamento em imersão.

Mais recentemente o computador tornou-se uma ferramenta valiosa para a modernização da produção leiteira constituindo-se um passo importante para o desenvolvimento do sistema de ordenha robotizada (SOR). Os sistemas de ordenha são cada vez mais sofisticados, sendo totalmente robotizados que impressionam pela funcionalidade e eficiência se constituindo numa tecnologia de ponta para impulsionar à atividade leiteira. Algumas das tecnologias disponíveis nas máquinas de ordenha convencional foram adaptadas ao robô.

Sistemas de ordenha robotizada foram inicialmente idealizados por futuristas. Na Europa existe um crescente aumento no número de rebanhos leiteiros que adotam este tipo de ordenha. No Brasil, a bacia leiteira de Castro, PR, tem se destacado pela utilização de ordenha convencional com certo nível de automação, como identificação eletrônica dos animais, medição da atividade, extração automática, *display* com informações dos animais na sala de ordenha, medição e condutividade elétrica do leite, entre outras. Em 2012 foram instalados os dois primeiros robôs e periféricos, os quais constituem o sistema voluntário de ordenha.

No Brasil, o constante aumento de salários ocorridos nos últimos anos, em especial do salário mínimo, aumentou o custo da mão de obra na atividade leiteira. Paralelamente ao custo, o produtor enfrenta a dificuldade de encontrar profissionais especializados, os quais são disputados no mercado de trabalho. Outro questionamento que se faz é sobre as gerações futuras. Com as facilidades que a vida urbana oferece, além dos aspectos econômicos, boas condições de trabalho e qualidade de vida passam a ser fundamentais para que os jovens permaneçam no campo. Portanto, pequenas e médias propriedades leiteiras de todo o sul do Brasil enfrentam dificuldades na sucessão.

Atualmente, devido a rotina e a carga de trabalho exigida na atividade leiteira, a qualidade de vida dos produtores e funcionários é afetada, pois tarefas como a ordenha e a alimentação dos animais dependem de horários fixos e precisam ser executadas diariamente.

Esta rotina muitas vezes se torna motivo para que muitas pessoas desistam ou não se sintam atraídas pelo trabalho nestas condições. O SOR permite melhor qualidade de vida e de trabalho, mais tempo livre e flexibilidade de horário, menos trabalho físico e, em muitos casos, também uma nova esperança de dar continuidade ao negócio familiar, sendo estes alguns dos fatores determinantes para adoção do SOR.

Como em 2012 foram instalados os primeiros robôs na América Latina, para os próximos anos mais unidades de ordenha automática poderão ser instaladas nesta região. Portanto, a demanda por profissionais para consultoria e também para operar este sistema deverá aumentar à medida que essa tecnologia for sendo aceita pelos produtores. Assim como a demanda por pesquisadores, deverá aumentar também, para investigar e auxiliar na aplicação deste sistema nas condições de produção oferecidas pelas propriedades localizadas nas diferentes regiões produtoras do país.

Com a tendência de elevação do valor real dos salários, os gastos com mão de obra podem limitar cada vez mais a rentabilidade da atividade leiteira. Dois caminhos apresentam-se como possíveis estratégias para minimizar esse problema: capacitação da mão de obra e o uso de novas tecnologias como a utilização de sistemas automáticos de ordenha. A utilização de máquinas e equipamentos que dependam menos da intervenção do homem, a automação e análise de indicadores relacionados ao uso do maquinário e insumos (concentrados, aditivos, etc.) são algumas iniciativas que podem auxiliar o produtor a melhorar a produtividade da atividade leiteira.

Os investimentos em equipamentos, com a finalidade de proporcionar o ambiente adequado e maior produtividade aliados ao material genético e ao manejo praticado, só terão o retorno esperado se houver uma eficiência da intervenção necessária em determinadas fases da produção, com a precisão efetiva exigida. Esta precisão está relacionada com a pesquisa minuciosa para avaliar as etapas de produção, pois não é possível imprimir uma melhoria num processo, se este não for conhecido em todas as suas etapas.

Fatores socioeconômicos considerados pelos produtores na adoção de qualquer nova tecnologia são complexos e precisam de análise cuidadosa, requerendo um acompanhamento dos setores de pesquisa quanto a sua aplicação. Estes aspectos necessitam de avaliações mais apuradas, quer ao nível do animal, em termos do seu efeito no desempenho, estado sanitário e bem-estar.

O alto custo do robô e a falta de mão de obra qualificada são algumas das desvantagens, aliadas a desconfiança com esta tecnologia, a qual poderá ser superada com dados de pesquisa que poderão ser realizadas nos próximos anos em parceria com as empresas

fabricantes de robôs para ordenha. Isto possibilitará a abertura de uma nova linha de pesquisa, a qual poderá ser de suma importância para a bovinocultura de leite no futuro.

Algumas pesquisas, especialmente na Europa e América do Norte, têm avaliado o efeito do SOR sobre a produção e qualidade do leite, bem-estar e comportamento animal e redução dos custos com mão de obra. Embora muitas questões ainda continuem sem resposta em relação à sanidade, bem-estar e comportamento animal e estratégias para combinar com sucesso o SOR com o sistema de produção de leite em pastagem e em *compost barn*.

Como o SOR é uma tecnologia introduzida recentemente no Brasil, pesquisas em relação ao comportamento e bem-estar das vacas, produção e qualidade do leite bem como a incidência de doenças como mastite e laminites, principalmente, precisam ser realizadas sob as condições das regiões produtoras de leite do país para que possa ser validada e adaptada a essas condições trazendo melhor retorno aos produtores que já adotaram ou pretendem adotá-la. Enfim, tendo em consideração que o SOR, como uma ferramenta integrante da Zootecnia de Precisão é, ainda, uma tecnologia embrionária, porém, com um futuro que se acredita ser promissor no país o seu conhecimento e domínio torna-se fundamental para a atividade leiteira.

Neste trabalho, o objetivo geral foi avaliar a condutividade elétrica do leite, produção e a qualidade do leite em função da conformação do úbere e da frequência de ordenha e o comportamento e bem-estar de vacas em lactação no SOR.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

2.1.1 Definição e Principais Fatores Determinantes

No sistema de ordenha automática, diferentes dispositivos podem ser instalados na linha do leite para a detecção de mastite. A maioria deles está baseada em medir características de leite continuamente durante a ordenha. Isto permite o uso de diferentes métodos matemáticos para processar os dados: comparação da condutividade elétrica (CE) entre quartos mamários, cálculo de médias da CE, análise da variação dos padrões do leite durante a ordenha ou considerando os valores máximos e mínimos durante a ordenha (NORBERG, 2005). Enfim segundo Mottram et al. (2007) em sistemas de ordenha robotizada, a detecção de mastite é feita por uma combinação de inspeção humana dos animais, por meio de eletrodos no sistema de ordenha para detectar alterações na condutividade do leite (condutividade elétrica) e pela análise de dados em *software* de gerenciamento de rebanho para detectar mudanças na produção de leite e de outros fatores.

A CE é determinada por um condutivímetro e consiste na capacidade de uma solução conduzir uma corrente elétrica entre dois eletrodos e é medida em miliSiemens por centímetro (mS/cm) (NORBERG, 2005). A condutividade elétrica ou o inverso de resistência, tem sido utilizada para detectar mastite (NORBERG et al., 2004). A mensuração da CE de leite mastítico é um método indireto e rápido para a detecção de mastite subclínica (FOX e MCSWEENEY, 1998, citados por GÁSPÁRDY et al., 2012). O princípio está baseado na medida de concentrações de sódio (Na^+), potássio (K^+) e outros íons livres, especialmente cloreto que é diretamente proporcional a condutividade elétrica (GÁSPÁRDY et al., 2012). Os íons cloreto e os íons sódio presentes na circulação sanguínea e durante o processo inflamatório atravessam os capilares sanguíneos, direcionando-se ao lúmen dos alvéolos da glândula mamária. Tal processo ocorre devido ao aumento da permeabilidade vascular e à destruição das junções celulares e do sistema de bombeamento iônico causados pelo processo inflamatório (ZAFALON et al., 2005). As enzimas e os íons são liberados como resultado da resposta imunitária do animal contra a infecção e alterações na química da membrana celular (MOTTRAM et al., 2007).

Quando a vaca apresenta mastite, as concentrações de Na^+ e cloro (Cl^-) no leite aumentam o que tem como consequência o aumento da CE. No outro sentido, o K^+ e lactose

encontram-se diminuídos, o que mantém a osmolaridade inalterada. O aumento do teor de gordura do leite reduz a CE, devido à sua característica de baixa condutividade dos glóbulos de gordura (SANTOS, 2005). A mastite ocasiona danos nos tecidos da glândula mamária e isso leva a uma diminuição da capacidade do sistema de síntese de enzimas das células secretoras, consequentemente, a biossíntese de lactose também é diminuída (PYÖRÄLÄ, 2003).

2.1.2 Fatores que Influenciam a Condutividade Elétrica

As avaliações da sensibilidade (SE) e especificidade (ES) da CE como um meio para identificar infecção intramamária (IIM) tem variado muito nas suas conclusões. Fatores tais como a temperatura, concentração de gordura, sólidos de leite e fração do leite têm sido variadamente citados que podem influenciar a medição do CE (WOOLFORD et al., 1998). Alguns resultados pobres obtidos para detecção de mastite no SOR podem ser explicados em parte pela fração de leite analisado: CE do leite amostrado antes do reflexo de ejeção foi demonstrado ser mais alta devido a isso o leite cisternal tem um valor diagnóstico melhor (BRUCKMAIER et al., 2004b).

No SOR a CE é mensurada após o começo da ejeção do leite e deve ser medida continuamente ao longo da ordenha. A mensuração da CE pode ser alterada se houver a deposição de coágulos do leite sobre os sensores (NORBERG et al., 2004) ou se a produção de leite sofrer forte declínio ou for interrompida durante a ordenha. A ordenha da manhã mostrou ser o melhor momento para avaliar a evolução das diferentes medições *on line*, mesmo quando os intervalos de ordenha são iguais (ZECCONI et al., 2004). A CE é mais baixa quando o intervalo de ordenha varia de 9 a 12 horas (BATH; WORSTORFF, 2000). Portanto, o intervalo de ordenha deve ser considerado para a mensuração da CE em ordenha automática.

Segundo Gáspardy et al. (2012), em geral a CE como indicadora de mastite nem sempre tem sido eficiente devido a mesma ser influenciada por vários fatores como: a variação entre vacas, rebanhos e raças, nas diferentes fases de lactação, intervalo de ordenha, teor de gordura no leite, alimentação, temperatura do leite, duração da ordenha, fração láctea coletada, patogenicidade do agente e depósitos de gordura, minerais e sujidades nos eletrodos dos sensores. A CE e a produção de leite aumentam com o número de lactações (GÁSPÁRDY et al., 2012). Segundo esses autores isso revelou uma relação positiva entre a CE e a produção de leite que se deve ao fato de que vacas de alta produção são mais sensíveis

a infecções de úbere do que vacas de produção mais baixa. A idade da vaca, estágio de lactação, entre vacas do mesmo rebanho, rebanhos diferentes e até na mesma vaca também podem influenciar no resultado da CE (NIELEN et al., 1992).

A comparação da taxa entre quartos mamários (TEQ) é preferível em vez dos valores absolutos da CE (NIELEN et al., 1992; NORBERG et al., 2004) porque possibilita eliminar a variação devido a raça, paridade da vaca, intervalo de ordenha, DEL, temperatura de leite e composição (HAMANN; ZECCONI, 1998).

Trabalho realizado por Zecconi et al. (2004) mostrou que o rebanho, e a idade têm uma influência significativa na variação da produção de leite, CE e duração da ordenha. Esses autores relataram que dois dias antes da mastite foram observados uma redução na produção de leite e um aumento de CE, independentemente do agente etiológico.

2.1.3 Fatores Ligados a Mastite

Gáspárdy et al. (2012), de acordo com os sinais clínicos classificaram as mastites em subclínica e clínica (hiperaguda, aguda, subaguda e crônica). Nas mastites subclínicas a presença de micro-organismos no leite pode ser demonstrada através de cultura e de testes especiais. Estes testes geralmente mostram uma alta contagem de células no leite que podem ser considerados um sinal positivo de mastite. Segundo os autores acima citados, a mastite subclínica é a forma dominante em vacas de leite e, frequentemente, permanece sem ser detectada e, consequentemente, sem tratamento. Vacas com mastite subclínica constituem um reservatório de bactérias ou outros micro-organismos que são fontes importantes de infecção em potencial. Jacobs e Siegfard (2012) observaram uma leve mudança na CE no leite com níveis de contagem de células somáticas (CCS) variando entre 200.000 a 300.000 células/mL. A mensuração da CE no leite de forma isolada pode não ser sensível o suficiente para detectar com segurança mastite subclínica (HAMANN; ZECCONI, 1998; BRUCKMAIER et al., 2004a).

Existe uma grande diversidade na etiologia infecciosa da mastite. Isto faz com que os testes diagnósticos para mastite subclínica possam ter comportamentos diferentes devido à resposta à infecção de acordo com o micro-organismo responsável pela doença e como o quarto mamário é afetado (ZAFALON et al., 2005). Norberg (2005) observou que as infecções causadas por diferentes bactérias podem provocar diferentes alterações na avaliação da CE. Para Woolford et al. (1998) a CE aumenta conforme o agente causador e o andamento da ordenha. Kuplulu et al. (1995), citado por Kasikci et al. (2012), relataram que de acordo

com resultados de análises microbiológicas de 308 quartos mamários de vacas com mastite subclínica, o leite de quartos subclinicamente infectados com *Staphylococcus aureus* tiveram uma condutividade elétrica mais alta (7,5 mS/cm) que o leite de quartos com mastite subclínica infectados por *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Escherichia coli* (5,24, 5,54, e 4,86 mS/cm, respectivamente).

Hillerton e Walton (1991) encontraram para o leite de vacas com infecção subclínica por *Staphylococcus aureus* uma condutividade elevada (7,1 a 7,5 mS/cm), mas o leite de vacas com infecções subclínicas por *Streptococcus uberis* não evidenciaram acentuado aumento da condutividade (5,3 a 5,6 mS/cm). Estes autores referem que as infecções por *Streptococcus uberis* foram detectadas em 50% dos casos, verificando-se um leve aumento da CE do leite duas ordenhas antes do aparecimento dos sinais visíveis da mastite. Pyörälä (2003) reportou que quartos mamários infectados com *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* têm valores de condutividade inferiores do que os quartos infectados com estreptococos ambientais.

2.1.4 A Condutividade Elétrica como Indicador de Mastite

A mastite ocasiona alterações na composição do leite e a sua extensão dependente da resposta inflamatória. Em caso de persistência ou quando a mastite não é diagnosticada os alvéolos mamários são danificados e, consequentemente, perdem sua integridade anatômica. Nesse caso a barreira sangue-leite é rompida e, componentes fluídios extracelulares, como cloreto, sódio, hidrogênio, potássio e íons hidróxido, entram na glândula e se misturam com o leite (ZHAO; LACASSE, 2008). Quando esses danos são mais intensos ainda pode ser detectado sangue no leite. Conforme os autores acima, outras mudanças também acontecem no leite incluindo condutividade elétrica e concentração hidrogeniônica (pH) aumentadas, conteúdo de água elevado e a presença de coágulos e flocos visíveis. Como a alteração de alguns componentes são maiores que outros podem ser utilizados como ferramenta para a detecção do processo inflamatório (PYÖRÄLLÄ, 2003). Sabendo que essas alterações ocorrem durante a mastite, testes indiretos como a CCS, *California Mastitis Test* (CMT), CE, pH, conteúdo de cloreto e lactose podem ser utilizados para diagnóstico dessa enfermidade (RUEGG; REINEMANN, 2002). Zafalon e Nader Filho (2007) relataram que em vacas com mastite, as alterações mais pronunciadas nas características físico-químicas do leite ocorrem no pH e na condutividade elétrica.

O processo inflamatório da glândula mamária pode ser diagnosticado por vários métodos através de exames diretos que se fundamentam na identificação do agente etiológico mediante a cultura e identificação de micro-organismos no leite. Os exames indiretos baseiam-se em vários critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória. Um teste diagnóstico, utilizado para o controle e erradicação de doença animal, tem por objetivo identificar, individualmente, animais infectados (ZAFALON et al., 2005). A precisão destes testes pode ser medida pela SE, que é a proporção de animais doentes que são corretamente classificados como doentes, e pela ES, que corresponde a percentagem de animais saudáveis que são devidamente enquadrados como saudáveis.

Os valores preditivos positivos e negativos são definidos como a probabilidade que um animal saudável ou doente apresenta de ser corretamente classificado, considerando a prevalência da doença na população estudada. A sensibilidade e a especificidade da CE são os parâmetros mais comuns utilizados para diagnosticar mastite em SOR, mas também a acurácia juntamente com a taxa de falsos alertas são importantes na utilização deste método neste sistema. Conforme Hovinen e Pyörällä (2011) um método para detecção automática de leite anormal deve ter a SE >70% e a ES >99%.

Um estudo usando um sistema para avaliar a condutividade elétrica na linha do leite estimou a SE e a ES para mastite clínica em 70% e 98%, respectivamente (STEENEVELD et al., 2010). Em outro estudo conduzido por Mottram et al. (2007) mostrou uma sensibilidade e especificidade para CE absoluta nos quartos mamários avaliados de 56 e 82%, respectivamente. Isto significa que 18% dos quartos constantes da lista de alerta eram falsos positivos e mais da metade dos casos verdadeiros não eram listados. Não obstante, uma variação alta de sensibilidade e especificidade pode ser encontrada na literatura quando a CE foi usada para a detecção de infecções de úbere.

Na fase inicial de um programa de controle, a sensibilidade de um teste diagnóstico é considerada como a característica mais importante para garantir que todos os animais doentes num rebanho sejam detectados. Quando a prevalência da doença é reduzida, a especificidade torna-se mais importante e um segundo teste diagnóstico pode ser conduzido para aumentar a capacidade de identificação de animais não doentes (ZAFALON et al., 2005).

Ilie et al. (2010) encontraram nos quartos com mastite subclínica ($n = 115$), a média da CE foi de 5,42 mS/cm, enquanto para os quartos saudáveis ($n=21$) foi de 4,53 mS/cm e 6,31 mS/cm para as vacas com mastite ($n = 52$) de 50 vacas em lactação classificadas como saudáveis, clínica e subclínicamente infectadas.

A precisão da detecção de mastite no SOR é altamente dependente de algoritmos e da combinação de diferentes métodos utilizados (HOVINEN et al., 2006). Uma abordagem bastante comum para identificar quartos com mastite foi reportada por Norberg et al. (2004), a qual considera a TEQ para comparar quartos dentro do mesmo animal. Uma estratégia para identificar os quartos infectados utiliza a taxa entre quartos mamários, dividindo a leitura do quarto com CE mais alta pela média de dois quartos com a menores leituras dentro do mesmo úbere. Comparação entre quartos é preferível em vez da CE absoluta (NIELEN et al., 1992; NORBERG et al., 2004). Quartos com CE maior que 15% do que a média da leitura dos dois quartos com CE mais baixa têm uma alta probabilidade de ser infectados (WOOLFORD et al., 1998). Uma TEQ de 1,15 produz, consideravelmente, mais alarmes do que uma de 1,20 (HOVINEN et al., 2006). Essa proporção deve ser ajustada pelo produtor, o qual, consequentemente, poderá escolher entre ter mais alarmes com maior precisão e mais falsos positivos, ou menos alarmes com menor sensibilidade, dependendo do estado de saúde do úbere do rebanho e outros métodos usados para monitorar a saúde da glândula mamária.

A CCS é um método comum para identificar a inflamação de glândula mamária e o resultado frequentemente se aproxima do CMT. Em programas de melhoramento genético de gado leiteiro a CE pode ser utilizada como um traço indicador de resistência a mastite em substituição a informações de CCS (NORBERG et al., 2004), uma vez que, segundo Janzekovic et al. (2009), existe uma correlação positiva entre a CCS e a CE. O aumento da CE do leite é diretamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e da CCS (VERCESI FILHO et al., 2013). Com base em ensaios experimentais de mastite, a CE começa a subir antes dos sinais clínicos aparecerem e declina mais rapidamente do que a CCS (BRUCKMAIER et al., 2004b)

Nascif Júnior et al. (2006) relataram que o CMT apresentou a maior sensibilidade (100%) entre os testes e a CE a maior especificidade (86,98%). Esses autores sugerem que as alterações fisiológicas que ocorrem no início e no final do período de lactação podem interferir significativamente na interpretação dos resultados do CMT e da CE. Esse problema pode ser minimizado pelo uso de ambos os testes, uma vez que eles são baseados em tipos diferentes de resposta inflamatória.

A detecção de mastite pode ser baseada na avaliação da inflamação do úbere através CCS que reflete a resposta do combate ao agente patogênico e no exame bacteriológico do leite. Outras alterações que ocorrem na CE e na lactose do leite refletem os danos ao epitélio do úbere e da barreira sangue-leite. A lactose pode estar reduzida em 5 a 20%, enquanto que a

principal proteína do leite, a caseína, pode estar diminuída em 6 a 18%, e os sólidos totais têm um decréscimo de 3 a 12% (ELIAS et al., 2005).

A análise de cor do leite também tem sido utilizada em sistemas de ordenha automática para a indicação de infecção por mastite, ou seja, a presença de uma cor amarela ou de sangue no leite pode ser altamente indicativa de mastite (VIGUIER et al., 2009). No entanto, o teor de gordura do leite pode também influenciar a cor, consequentemente, alguns sensores de cor não conseguem detectar a mastite subclínica (HOVINEN et al., 2006). Uma vez que a cor do leite é dependente do percentual de gordura e da alimentação, a coloração amarela nem sempre é uma indicação de mastite, e assim, idealmente, o sistema não deve reagir a ela com muita facilidade (HOVINEN et al., 2006). No SOR a CE é normalmente utilizada em conjunto com produção de leite, taxa de fluxo, cor e temperatura do leite (DE MOL; OUWELTJES, 2001). Usando a combinação de alertas variados (CCS, EC, cor do leite e produção prevista), pode permitir maior sensibilidade a mastite em potencial (STEENEVELD et al., 2010).

2.2 FREQUÊNCIA DE ORDENHA E BEM ESTAR ANIMAL

2.2.1 Intervalo e Número de Ordenhas Por Dia

Um dos grandes problemas da ordenha robotizada são os longos e curtos intervalos de ordenha e, principalmente, a variação do intervalo entre ordenhas. A reduzida frequência de ordenha leva a perda de leite através do canal do teto, maior tempo de ordenha e distensão do úbere, com impactos negativos sobre a capacidade locomotora, conforto da vaca e saúde do úbere. Longos intervalos podem levar a menor produção de leite devido a diminuição do fluxo de sangue mamário que por sua vez, regula negativamente a capacidade do úbere para extrair nutrientes do sangue (DELAMAIRE; GUINARD-FLAMENT, 2006a), que são dois fatores que influenciam grandemente a síntese de leite. O fluxo arterial de nutrientes diminuiu com o aumento do intervalo de ordenha (DELAMAIRE; GUINARD-FLAMENT, 2006b). Esses autores afirmaram que a redução na produção de leite observada devido a um aumento do intervalo de ordenha estava mais associada a uma queda na absorção de nutrientes pela glândula mamária do que com uma perda de eficiência da glândula mamária em converter estes nutrientes em componentes do leite.

Por outro lado, intervalos muito curtos (< 8 hs) poderá ser problemático devido a falta de tempo suficiente para a recuperação dos tetos (NEIJENHUIS et al., 2001), o que poderá

ocasionar problemas de saúde do úbere a longo prazo. Embora a maioria dos intervalos de ordenha no SOR varia entre 7 a 9 horas, variação considerável do intervalo dentro do mesmo rebanho foi reportada (HOGEVEN et al., 2001; ABENI et al., 2005a; GYGAX et al., 2007). Em um estudo de Gygax et al. (2007), 11,5% dos intervalos de ordenha eram mais curtos que 6 horas e 21% eram mais longos que 12 horas.

O número de ordenhas depende de vários fatores como da configuração do sistema de ordenha, número e disponibilidade de máquinas, tamanho de rebanho e sistema de tráfego das vacas (KONING et al., 2002). A grande variação observada no intervalo de ordenha no SOR pode ser atribuída em parte à fase de lactação e a efeitos individuais de cada vaca (LOVENDAHL; CHAGUNDA, 2011). A saúde e o conforto da vaca são fatores importantes para mais visitas a estação de ordenha (EO) e no comportamento das vacas, tornando-se fundamental para o sucesso da ordenha robotizada (RODENBURG, 2012).

2.2.2 Fatores que Interferem na Frequência de Ordenha

A maior força motivadora que impulsiona o tráfego da vaca no SOR é a alimentação (KONING et al., 2002). Melin et al. (2006) reconhecem que a alimentação é a principal razão pela qual as vacas visitam a unidade de ordenha. Eles também relataram que para as vacas, provavelmente, o encontro com a ordenha seja gratificante. No SOR, o fornecimento de alimentos frescos em vários momentos ao longo do dia pode atrair os animais para se alimentar e permanecer de pé após a ordenha, em vez de deitar-se (DEMING et al., 2012). Esta aproximação seria benéfica para saúde de úbere (DeVRIES et al., 2010), bem como para o tráfego das vacas, resultando em maior frequência de ordenha, intervalos de ordenha mais consistentes e menos buscas de vacas (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008).

Segundo Madsen et al. (2010), a palatabilidade dos concentrados utilizados em um sistema automático de ordenha influencia significativamente o número de visitas das vacas a EO e a produção de leite. Concentrados com uma melhor palatabilidade através da adição de aromatizantes e substâncias palatabilizantes têm mostrado ser capazes de atrair as vacas e aumentaram as suas visitas ao robô (MIGLIORATI et al., 2009). O ideal é fornecer 1,5 kg de ração por ordenha, pois oferecendo uma maior quantidade de concentrado não resulta em visitas mais frequentes ao robô ou na redução de buscas (BACH et al., 2007). No entanto, o efeito da quantidade de concentrado oferecido interage com a concentração de energia da dieta parcialmente misturada (DPM) fornecida à vontade e o aumento da oferta de concentrado pode ter um efeito positivo significativo na frequência de ordenha com DPM

com baixa concentração de energia (WEISBJERG; MUNKSGAARD, citados por MADSEN et al., 2010, [dados não publicados]). De acordo com Ipema (1997), são requeridos 12 minutos para uma vaca consumir 3,5 kg de concentrado. Como a duração de ordenha é aproximadamente de 7,5 minutos, especialmente para vacas com frequência de ordenha alta, um volume maior de concentrado poderia ser prejudicial. A estrutura física dos concentrados também é importante para o consumo, pois as vacas preferem concentrados peletizados aos farelados.

O fornecimento mais frequente da DPM pode aumentar as visitas à unidade de ordenha (RODENBURG e WHEELER, 2002). A disponibilidade de alimentos é importante, pois a falta de alimentação durante partes do dia vai aumentar o comportamento sincronizado de descanso e ingestivo entre as vacas. Este, por sua vez, resulta em mais filas na sala de espera, mais longo e mais variação no intervalo de ordenha, bem como uma maior necessidade de buscar as vacas para a unidade de ordenha (FORSBERG, 2008; SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008). No entanto, de acordo com Rodenburg e Wheeler (2002), a frequência com que a aproximação da ração no comedouro, de volta para alimentação, não afetou o fluxo dos animais na unidade de ordenha.

O tráfego da vaca correto e regular através da unidade de ordenha parece ser fundamental na melhoria da eficiência do SOR, bem-estar animal e desempenho (MIGLIORATI et al., 2009). O bom funcionamento do tráfego das vacas é uma condição prévia para o sucesso no SOR. Isto inclui um ótimo número de visitas na área de alimentação (número de refeições) e na EO (número de ordenhas) de todas as vacas do rebanho quando são mantidas confinadas ou em pastagem (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008). O número de ordenhas diárias e a alimentação das vacas no SOR, bem como o número de vezes que procuram o robô, são influenciados pelo tipo do sistema de tráfego ou circulação no confinamento (KETELAAR-DELAUWERE et al., 1998). Jacobs e Siegfard (2012) definiram tráfego das vacas no SOR como uma série de portões automáticos de triagem ou a falta destes que forçam as vacas a seguirem um padrão de rotina definida através das diferentes áreas do confinamento. Para Forsberg (2008) o termo "sistema de tráfego das vacas" significa movimento das mesmas no estábulo para executar atividades como alimentação, ordenha e descanso.

O comportamento ingestivo e a ingestão de alimentos são aspectos importantes a considerar para decidir o sistema de tráfego das vacas (JACOBS; SIEGFORD, 2012). Forsberg (2008) postulou que no SOR o sistema de tráfego de vacas pode ser forçado (FO), controlado ou com controle seletivo de portões (SEL) ou livre (FT). No FO, as vacas tem que

passar no robô ao deslocarem-se a partir da área de descanso para a área de alimentação para obter acesso aos alimentos (concentrado ou misturado). Com SEL as vacas podem entrar no área de alimentação via robô ou através de portões de controle até que seja dada permissão para a serem ordenhadas. Se uma vaca tem permissão para ser ordenhada é negada a passagem para a área de alimentação através do portão de controle. Nesse caso, ela tem que passar pelo robô para obter acesso aos alimentos. FT oferece as vacas o livre acesso à zona de alimentação, sem ser impedido ou forçado por portões.

Estes três sistemas de tráfego foram usados desde o início em rebanhos comerciais, mas outros sistemas foram posteriormente desenvolvidos, por exemplo *Feed FirstTM* (VMSTM, DeLaval, Tumba, Suécia) o qual é uma combinação dos sistemas de tráfego FT e SEL. *Feed firstTM* é uma inversão do tráfego forçado que permite que as vacas acessem a área de alimentação da área de repouso através de portões, mas elas só podem retornar para a área de descanso após serem ordenhadas pelo robô ou através de pré-seleção de portões que separa as vacas que não podem serem ordenhadas diretamente para o *free stall* ou área das cama (RODENBURG, 2012). A circulação inversa (*Feed FirstTM*) é a que apresenta mais vantagens, ou seja, mais visitas à área de alimentação, aumentando a ingestão de matéria seca (MS); aumenta a capacidade do robô; reduz a necessidade de trabalho para ir buscar vacas atrasadas, reduzindo-as a 1%; intervalos entre ordenhas mais regulares e as vacas novas adaptam-se melhor (SANTOALHA, 2009).

Conforme vários autores os sistemas de tráfego que tem melhor desempenho em relação a frequência de ordenha são os tráfegos seletivo com portão de controle e direcionamento (PCD) e o tráfego forçado, o qual é pouco utilizado devido ao estresse dos animais. No tráfego seletivo o manejo do PCD é fundamental para a frequência da ordenha. Já o tráfego livre diminui a frequência de ordenha e aumenta o número de buscas. Fazendas com tráfego livre informaram em média 16,2% de buscas, enquanto que fazendas com algum tipo de tráfego guiado (tráfego forçado ou tráfego com portões de seleção) obtiveram em média 8,52% de buscas, uma ou duas vezes por dia (RODENBURG; HOUSE, 2007). Markey (2013) reportou que em pesquisa realizadas em 165 propriedades com os sistemas de tráfego *Feed First* e tráfego livre com e sem área de espera os produtores informaram que eles foram buscar em média 16,6, 24,0 e 23,0 vacas por dia, respectivamente. Segundo Svennersten-Sjaunja e Pettersson (2008), a produção de leite não diferiu muito mas tendeu a ser mais alta no tráfego livre. Em relação à lotação, segundo Castro et al. (2012), a fim de maximizar a produção de leite por robô e ano, o tamanho do rebanho deve variar entre 59 a 68 vacas por robô com 2,40 a 2,60 ordenhas por dia.

A claudicação constitui atualmente um dos problemas de saúde, econômico e de bem-estar mais importantes nas explorações leiteiras. As superfícies de cimento, limitações de espaço e o efeito da nutrição dos animais no período de transição da secagem para a lactação, foram identificados como os principais fatores responsáveis pela claudicação em vacas leiteiras (SPRECHER et al., 1997).

A laminitide influencia significativamente a frequência de ordenha, ou seja, as vacas saudáveis são mais propensas a ter uma frequência de ordenha maior (KLAAS et al., 2003). No sistema de ordenha voluntária vacas com problemas de cascos podem estar menos dispostas a se aproximar do robô. Vacas que visitam o robô de ordenha com menos frequência têm piora do escore de locomoção que aquelas que visitam o robô mais vezes (BORDERAS et al., 2008).

A avaliação da frequência de visitas ao SOR (redução de visitas) poderá ajudar na detecção precoce de problema de casco. Bach e colaboradores (2007) relataram decréscimo de visitas a EO e maior taxa de busca para vacas com alto escore de locomoção (escore ≥ 3 numa escala de 1 a 5) em relação a vacas com baixo escore de locomoção. Num estudo com 8 rebanhos ordenhados no SOR, vacas classificadas com claudicação tiveram uma baixa frequência de ordenha quando comparadas com vacas sadias (KLAAS et al., 2003). Para os autores acima citados a laminitide está mais associada com o manejo e a concepção da instalação e não ao tipo de sistema de ordenha.

A frequência de ordenha depende do manejo como o tráfego das vacas e de fatores ambientais como a temperatura e umidade do ar e do sistema de alimentação (PIRLO et al., 2005). Pirlo et al. (2005) observaram que o efeito prejudicial do alto índice de temperatura e umidade no verão é maior no SOR do que com a ordenha tradicional, devido à atividade reduzida das vacas. As vacas reduzem a locomoção durante as horas mais quentes do dia e isto pode afetar a espontaneidade do deslocamento dos animais em direção à estação de ordenha (SPERONI et al., 2006). Portanto, devem ser tomadas medidas para aliviar o desconforto e para atrair vacas para a ordenha durante as estações quentes.

Conforme citações feitas acima, o desenho das instalações pode influenciar o conforto e bem-estar dos animais e a de ordenha. Alguns problemas como estresse calórico, laminitide, sujidades de tetos e úberes, tráfego dos animais, IIM, etc., podem ter origem nas instalações, limpeza e manutenção das mesmas.

A capacidade de uma EO em termos de utilização pode ser expressa por sua taxa de ocupação, que é definida como a porcentagem de horas que a EO de fato ordenha por dia. Não é possível usar a unidade de ordenha o dia todo, pois por algum tempo é necessário parar as

visitas e restringir o acesso para limpeza do sistema. Markey (2013) observou uma taxa de ocupação por robô de 16,6, 17,1 e 16,7 horas/dia para os sistemas de tráfego *Feed First* e tráfego livre com e sem área de espera, respectivamente.

2.2.3 Influência da Frequência de Ordenha Sobre a Produção e Qualidade do Leite

Atualmente existem vários trabalhos relatando o efeito do aumento da frequência de ordenha no início da lactação como alternativa para aumentar a produção durante a lactação. Segundo (WALL; MACFADDEN, 2007) o estímulo comprovadamente local (glândula mamária), promovido pelo aumento da frequência de ordenha no início da lactação, resulta em aumento na produção de leite. Neste trabalho o lado direito de cada úbere foi ordenhado 2x ao dia e o lado esquerdo foi ordenhado 4x por dia e a produção de cada metade do úbere foi medida separadamente. Ao final de toda lactação (305 dias), o lado esquerdo, que teve maior frequência de ordenha, produziu em média 1,8 kg/dia a mais do que o lado direito.

Em outro estudo (SOBERON et al., 2011) constataram o incremento de 2,2 kg de leite/dia em animais durante os sete meses em que a lactação foi acompanhada. A superioridade ocorreu no grupo em que a ordenha foi realizada 4 vezes ao dia nos primeiros 21 dias de lactação versus o grupo controle onde a ordenha foi realizada 2 vezes ao dia.

Num terceiro estudo realizado por Eslamizad et al. (2010) com 120 vacas da raça Holandesa, separadas em três grupos de 40 animais com diferentes frequências de ordenha (Grupo 1 - seis ordenhas diárias por toda a lactação; Grupo 2 - seis ordenhas diárias pelo período inicial de 90 dias e três ordenhas no restante da lactação; e Grupo 3 - três ordenhas diárias durante a lactação), a produção de leite aumentou principalmente no período inicial do experimento quando comparado seis ordenhas diárias com três, diminuindo a diferença no restante da lactação, se tornando viável apenas para o período inicial até os 90 dias. As vacas do Grupo 2 (6x -3x) produziram 469,7 kg de leite a mais durante a lactação em relação ao Grupo 3 (3x).

Uma análise preliminar do grupo de pesquisa de Svennersten-Sjaunja e Pettersson (2008) indicou que a maior frequência de ordenha em SOR pode aumentar a produção de leite durante toda a lactação em cerca de 13% (vacas) e 17% (novilhas), desde que o aumento da frequência seja mantido durante a lactação inteira. O aumento da frequência de ordenha durante o início da lactação aumentou a proliferação de células secretoras de leite (HALE et al., 2003), e a apoptose parece ser sensível ao número de ordenhas por dia. Svennersten-Sjaunja e Pettersson (2008) concluíram que, provavelmente, o aumento da frequência de

ordenha no início da lactação influencia a dinâmica celular dentro da glândula mamária durante a lactação.

Markey (2013) reportou como produção total de leite por robô/dia de 1.529, 1.583 e 1.550 kg para os sistemas de tráfego *Feed FirstTM* e tráfego livre com e sem área de espera, respectivamente. Castro et al. (2012) relataram que o SOR na Galícia, Espanha, ordenhavam uma média de 52,7 vacas com 2,69 ordenhas por vaca por dia e produção de leite de 549.734 kg/robô por ano (1.506 kg/dia).

A produção diária de leite é mais afetada pela taxa de fluxo de leite, produção de cada vaca e número de grupos de vacas no sistema (KONING et al., 2002; CASTRO et al., 2012). A taxa de fluxo diminui com o aumento da frequência de ordenha (HOGEVEN et al., 2001), sugerindo que intervalos de ordenha mais longos podem conduzir a menor tempo de ordenha com melhor utilização da capacidade do robô.

Mudanças na frequência de ordenha modificam a produção e a composição de leite de forma marcante dependendo do componente (lactose, gordura ou proteína). Os sólidos do leite podem variar conforme o intervalo de ordenha, principalmente, o teor de gordura. Quando as vacas foram ordenhadas com intervalo de 6 horas, todos os constituintes do leite, exceto a lactose (maior com intervalo de 12 horas) e proteína (igual nos dois intervalos - 6 e 12 horas), foram maiores no leite de quando as vacas foram ordenhadas com intervalo de 12 horas (NIELSEN et al., 2005).

O aumento da frequência de ordenha, ou seja, intervalos mais curtos de ordenha, pode causar o aumento do teor de ácidos graxos livres (AGL) no leite (ABENI et al., 2005a; WIKING et al, 2006). Por conseguinte, foram descobertos teores aumentados de AGL depois do aumento da frequência de ordenha devido ao aumento do tamanho dos glóbulos de gordura, os quais são mais suscetíveis a lipólise em função do tamanho (WIKING et al., 2006). Portanto, esses autores observaram que a redução da produção de leite por ordenha era um fator importante a considerar nos teores de AGL porque os intervalos mais curtos resultam em mais baixos rendimentos de leite por ordenha (RASMUSSEN et al., 2006). Os níveis de AGL aumentaram em propriedades que introduziram o SOR quando comparado aos níveis da ordenha convencional (KLUNGEL et al., 2000).

2.2.4 Influência Sobre a Saúde e Bem Estar Animal

Segundo Mollenhorst et al. (2011) fatores que podem influenciar a saúde do úbere devido o intervalo de ordenha poderiam ser o tempo total de ordenha (dano de teto e risco de

invasão bacteriana durante e depois de ordenhar), exposição do úbere a patógenos quando a ordenha é mais frequente e mais pressão no úbere quando os intervalos ficam muito longos. O SOR permite ordenhar mais frequente o que reduz o tempo para as bactérias multiplicarem na glândula mamária (RASMUSSEN et al., 2001). A variação em intervalos de ordenha foi positivamente relacionada com a CCS, mostrando que a variação no intervalo de ordenha é ainda mais importante do que o próprio intervalo de ordenha (MOLLENHORST et al., 2011; SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008).

Dados de fazendas comerciais indicaram que a CCS do resfriador de leite era notadamente mais alto em rebanhos onde as vacas tiveram uma variação alta do intervalo de ordenha, com desvio padrão >3 horas (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008). Segundo Nielsen et al. (2005) geralmente, a ECS foi maior ($P < 0,01$) quando as vacas foram ordenhadas a cada 6 hs ($5,76 \pm 0,10$) em comparação com um intervalo de 12 hs ($5,56 \pm 0,10$). Em SOR outros fatores, além do intervalo de ordenha, como a produção, paridade e DEL estão relacionados com a CCS (MOLLENHORST et al., 2011).

Quaisquer efeitos adversos devido ao baixo desempenho do equipamento de ordenha ou eventos accidentais nas vacas poderão ser observados pelas mudanças na cor do teto, por edema no úbere, na condição da base do teto, na pele ou, especialmente, no esfíncter do teto (NEIJENHUIS; HILLERTON, 2003). A hiperqueratose ou calosidade do teto é outro indicador importante de bem-estar. É definida pelo aparecimento de um anel espesso no orifício do teto, por vezes acompanhado de rugosidade (CERQUEIRA et al., 2012).

Este distúrbio é a resposta do canal do teto a traumatismos repetidos e altera a sua capacidade para se manter completamente fechado e impedir a infecção do úbere por micro-organismos patogênicos, dificultando ainda uma correta desinfecção da extremidade do teto (NEIJENHUIS et al., 2000). O nível de hiperqueratose do teto poderá estar diretamente relacionado com as condições específicas da máquina de ordenha devido ao nível de vácuo durante a ordenha e a prática de sobre ordenha. Contudo, fatores associados ao animal tais como, forma da extremidade, posição e comprimento do teto, assim como produção de leite e a paridade revelaram igualmente relação com a calosidade do teto (BAKKEN, 1981, citado por CERQUEIRA et al., 2012).

O aumento da frequência da ordenha no SOR pode influenciar a integridade da extremidade do teto (BERGLUND et al., 2002). Estudos anteriores sugeriram que a ordenha no SOR levou a uma piora na saúde dos tetos em relação a ordenha convencional (RASMUSSEN et al., 2001). Os autores acima citados associaram o decréscimo na saúde do úbere com a deterioração das condições do esfíncter do teto. A ordenha dos quartos mamários

individualmente na ordenha automática reduz a sobre ordenha, em comparação com a ordenha do úbere todo (HOGEVEN et al., 2001), especialmente nos tetos anteriores. Como média ideal de intervalo de ordenha (sem problemas para a qualidade do leite e tetos) vários autores citam 9 a 10 horas o que equivale a 2,4 a 2,6 ordenhas dias. Entre esses autores estão Castro et al. (2012) que sugerem como ideal 2,4 a 2,6 ordenhas por dia.

O aumento do número de ordenhas por dia, geralmente, leva ao aumento de produção de leite, que por sua vez eleva a exigência diária por nutrientes e mobilização de reservas corporais. Wiktorsson et al. (2003), ao investigar alguns aspectos fisiológicos e metabólicos de vacas em SOR ao longo das primeiras 19 semanas de lactação e com alta frequência de ordenha, mostraram que as vacas primíparas podem sofrer severo balanço energético negativo, com maior mobilização de tecido que vacas mais velhas. Abeni et al. (2005b), ao comparar o escore da condição corporal (ECC) de vacas ordenhadas em SOR e em ordenha convencional não encontraram diferença. Ambos os grupos tiveram mudanças semelhantes no ECC depois de parir sendo que no SOR as vacas apresentaram uma tendência mais lenta na recuperação.

Estudos que compararam níveis de estresse em vacas ordenhadas em ordenha robotizada versus ordenha convencional encontraram níveis semelhante de tensão (HOPSTER et al., 2002), mas cada um destes estudos relatou que entre ordenhas as concentrações de cortisol no leite refletiram uma alta tensão no SOR. Todos estes estudos envolveram tráfego forçado com pré-seleção e em um caso os autores especularam que isto pode ter contribuído para os níveis de tensão ligeiramente mais altos observados entre ordenhas. Wenzel et al. (2003) e Abeni et al. (2005b) encontraram concentrações de cortisol mais altas em leite e sangue, em vacas submetidas ao trânsito parcialmente forçado, quando comparado com ordenha convencional em sistema auto *tandem*, respectivamente, embora todos os estudos informaram valores de cortisol absolutos baixo.

Em um estudo mais recente, Gygax et al. (2006) não encontraram diferenças nos níveis de cortisol entre vacas ordenhadas em tráfego forçado ou livre e em sala de ordenha auto *tandem*. Rodenburg (2012) insinuou que os rebanhos em SOR são mais tranquilos porque raramente são perturbadas pelos humanos, exceto em caso de buscas para a ordenha. Segundo Gygax et al. (2006) o nível de cortisol no leite parece aumentar quando somado a CCS, ou seja, animais que tinham elevado cortisol de leite no SOR eram mais propensos a desenvolver alta CCS quando comparados com vacas ordenhadas em sala de ordenha tipo auto *tandem*.

2.3 CONFORMAÇÃO DO ÚBERE E HIGIENE DA VACA E DE TETOS

2.3.1 Conformação do Úbere e Colocação das Teteiras

No SOR a detecção de mastite é feita automaticamente, sem exame visual do ordenhador. A localização dos tetos e a colocação das teteiras são partes cruciais do processo de ordenha. Este processo pode ser dificultado por um braço robótico com mau funcionamento, má colocação dos tetos ou úbere com formato anormal, tetos sujos, ou inquietação da vaca que poderá resultar em ordenha incompleta de um ou mais quartos (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008).

Das causas conhecidas, uma falha indefinida do dispositivo de limpeza em um rebanho e o comportamento inquieto das vacas em vários rebanhos foram associados com a maioria das limpezas de tetos totalmente mal sucedida, enquanto que a estrutura anormal de úbere e tetos foi associada com a maioria das limpezas de tetos parcialmente frustradas (HOVINEN et al., 2005). A distância aumentada entre os tetos da frente, especialmente em vacas velhas e a distância diminuída em primíparas criaram a maioria dos problemas na colocação das teteiras (MILLER et al., 1995). Rodenburg (2002) descreveu uma relação entre o piso de trás do úbere muito alto em relação ao solo com falhas na colocação das teteiras, o que sugere uma dificuldade para o sensor localizar os tetos posteriores mais altos no plano horizontal. O efeito da falha de ordenha na produção de leite foi mais pronunciada quando os dias em lactação (DEL) aumentaram (JACOBS; SIEGFORD, 2012).

No rebanho do Projeto *Greenfield*, Nova Zelândia, 8% das vacas novas foram rejeitadas devido à conformação do úbere o que poderia resultar em dificuldades de limpeza e ordenha (JACOBS; SIEGFORD, 2012). Oito por cento das limpezas de teto por vaca falharam devido a problemas com a máquina e 4% por causa de problemas com a vaca, inclusive coices (KAIHILAHTI et al., 2007). Gygax et al. (2007) relataram que a colocação das teteiras tiveram êxito em 94 a 98% das ordenhas, dependendo do equipamento utilizado. O úbere anormal e a estrutura do teto só foram significativamente associadas com o sucesso da técnica de higienização dos tetos em sistema de limpeza de tetos com escovas rotativas (HOVINEN et al., 2005).

No SOR a contaminação cruzada dos tetos, na mesma vaca, é inibida, porém, a transferência de bactérias entre vacas pode acontecer através da unidade de ordenha (HOVINEN; PYÖRÄLÄ, 2011). Formas incorretas de tetos e lesões, bem como a morfologia

do úbere (grande e suspenso) permitem a transmissão mais fácil, penetração e multiplicação bacteriana (JANZEKOVIC et al., 2009).

A colocação das teteiras segura e consistente é crucial para o sucesso de qualquer SOR. O mau funcionamento deste processo pode conduzir a ejeção e o vazamento do leite devido à demora em iniciar a ordenha e reduz a capacidade de ordenha do robô (GYGAX et al, 2007). Um aumento de 0,5 minuto no processo de ordenha (entrada e saída do sistema, identificação, preparação do úbere e colocação das teteiras) reduz a capacidade de ordenha em 5 a 8% (KONING; OUWELTJES, 2000, citados por GYGAX et al., 2007). Essas diferenças de tempo podem ser causadas por características individuais de cada vaca como conformação do úbere, a qual pode influenciar o tempo de colocação das teteiras (MACUHOVA et al., 2004).

No SOR características exteriores da vaca como formato e tamanho do úbere e a colocação dos tetos são fundamentais, pois poderá haver dificuldade na colocação das teteiras em vacas com úberes profundos ou muito grande e/ou com tetos muito fechados (CARLSTRÖM, 2014). Segundo esse autor, resultados demonstraram que a alta velocidade de ordenha está geneticamente associada ao formato do úbere, ou seja, úberes rasos, inserção posterior do úbere alta, colocação dos tetos anteriores fechadas e tetos curtos e finos. Segundo Gygax et al. (2007), o tempo de admissão pode ser crítico em vacas que têm dificuldade de se ajustar ao SOR ou em vacas com uma conformação de úbere inadequada porque elas tendem a hesitar ao entrar na estação de ordenha. Esses autores relataram que a capacidade do SOR pode ser melhorada encurtando a fase de preparação e reduzindo a proporção de ordenhas incompletas. Isto pode diminuir o tempo de ocupação da OE e aumentar a capacidade do SOR.

2.3.2 Limpeza de Tetos e Qualidade do Leite.

Vários fatores contribuem para as rotas de contaminação dos tetos por bactérias dentro do estabulo como alimentos contaminados, material das camas e uso de raspadores mecânicos (MAGNUSSON, 2007). O estudo de Hovinen et al. (2005) indicou claramente que há deficiências da técnica de limpeza dos tetos no SOR. Para superar o problema, o manejo de higiene precisa ser melhorado, não só focando a limpeza dos tetos mais também mantendo altos padrões higiênicos nas camas e piso dos corredores (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008). A higiene pobre dos tetos foi associada com uma alta incidência de

mastite clínica (BREEN et al., 2009), CCS (SCHREINER; RUEGG, 2003; DOHMEN et al., 2010) e de IIM.

A limpeza é menos eficiente no esfíncter do que no corpo e na base do teto (HOVINEN et al., 2005). Bactérias e sujidades localizadas no orifício dos tetos têm acesso direto ao canal do teto contaminando a glândula mamária e também o leite. No SOR, tetos sujos antes da ordenha é um fator de risco para o aumento de novos casos de vacas com CCS alta e aumento da CCS no rebanho (DOHMEN et al., 2010). No SOR não existe, atualmente, método disponível para distinguir entre tetos sujos e limpos ou para monitorar a efetividade da limpeza (MOTTRAM, 1997). Conforme Knappstein et al. (2002) a contagem de coliformes entre 100 e 1000 ufc/mL é uma indicação de que a preparação dos tetos é insuficiente.

Os primeiros estudos sobre limpeza de tetos em SOR observaram que a limpeza com escovas rotativas horizontais ou mesmo com a quinta teteira (teteira de limpeza) era uma boa limpeza, mas não tão eficiente quanto à limpeza manual (SCHUILING, 1992, citado por SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008). Knappstein et al. (2004) observaram diferenças significativas na eficiência de limpeza dos tetos das diferentes marcas de SOR ao mensurar a contagem bacteriana total (CBT). Porém a contaminação inicial das tetas tem influência significativa na eficiência da limpeza dos tetos independente da marca de SOR (DOHMEN et al., 2010).

Em trabalhos publicados por Knappstein et al. (2004) e Hovinen et al. (2005) foram encontradas grandes diferenças na limpeza antes e depois da higienização dos tetos. Hovinen et al. (2005), ao examinar visualmente os tetos limpos com diferentes sistemas de limpeza, observaram que o sistema de limpeza com teteira (quinta teteira) foi mais eficiente do que o sistema com escovas rotativas horizontais, especialmente para tetos extremamente sujos. Em contraste, o estudo de Knappstein et al. (2004) indicou que tetos extremamente sujos foram limpados mais efetivamente com escovas, porém, os tetos ligeiramente sujos ficavam mais limpos com a quinta teteira. Um experimento medindo o conteúdo de esporos do leite após a contaminação artificial dos tetos forneceu resultados contraditórios: a limpeza com a quinta teteira foi mais eficiente que a limpeza manual com papel toalha úmido (MELIN et al., 2002).

Wendt e Pallas (2004, citados por HOVINEN; PYÖRÄLÄ, 2011) ao avaliarem a limpeza do equipamento em dois rebanhos com SOR constataram uma limpeza e desinfecção incompleta de todo o sistema (escovas, insufladores e braço robótico), bem como uma desinfecção insuficiente dos tetos após a ordenha, resultando em alta prevalência de mastite

nos rebanhos avaliados. Jago et al. (2006) encontraram somente 67% de sucesso na técnica de limpezas de tetos quando os quatro tetos foram limpados com escovas rotativas.

Em um estudo de campo em nove propriedades, o sucesso da técnica de higienização dos tetos foi insatisfatório em mais de um terço das vacas avaliadas (HOVINEN et al., 2005). Segundo esses autores, na limpeza de tetos com a quinta teteira, 10% das limpezas mal sucedidas ocorriam devido à inquietação das vacas, vacas que se moviam depois de localização dos tetos, deslizamento do conjunto de limpeza ou coice. Neste método de limpeza a pigmentação preta dos tetos e pelos longos do úbere estavam associados com limpezas de tetos mal sucedidas (HOVINEN et al., 2005). Conforme esses mesmos autores, na limpeza com escovas rotativas, onde os tetos não são localizados antes de limpar, 20 a 50% das limpezas mal sucedidas estavam ligadas a vacas inquietas ou vacas que se levantavam impedindo que o sistema funcionasse corretamente. Ao avaliar a limpeza dos tetos visualmente, Knappstein et al. (2004) e Hovinen et al. (2005) encontraram 69% e 35% dos tetos totalmente limpos depois da limpeza, respectivamente. Dohmen et al. (2010) observaram que 8% das vacas ainda tinham tetos sujos ou muito sujos depois da limpeza. Em um estudo, acima de 45% dos tetos permaneciam extremamente sujos (HOVINEN et al., 2005).

Relatórios dos Países Baixos e Dinamarca indicaram que a CBT do leite de tanques resfriadores aumentou depois da introdução do SOR (KLUNGEL et al., 2000; RASMUSSEN et al., 2002). Rasmussen et al. (2002) sugeriram que as bactérias responsáveis pelo aumento da CBT poderiam ter origem na pele do teto devido a limpeza insuficiente ou no inadequado resfriamento do leite. No estudo de Knappstein et al. (2004), a contagem de bactérias dos tetos, em alguns rebanhos, aumentou após a limpeza. Para superar estes problemas, a gestão da higiene deve ser melhorada, não apenas com foco na higiene do teto, mas também a manutenção de elevados padrões de higiene das camas e piso dos corredores.

2.3.3 Limpeza e Higiene da Vaca

No SOR a limpeza dos tetos antes de ordenha é feito sem o controle visual do ordenhador o que aumenta os cuidados com a limpeza das vacas. Em um estudo de campo com avaliação bacteriológica e escore visual de limpeza dos tetos, mostrou que a limpeza automática foi menos efetiva que limpeza manual (KNAPPSTEIN et al., 2004; BADE et al., 2008). Baseado nestes estudos, a limpeza dos tetos ao chegar a ordenha contribuí mais do que a própria limpeza antes da ordenha. Por conseguinte, limpeza da vaca é mais importante no SOR do que na ordenha convencional. O desenho do estábulo e o conforto da vaca têm um

grande efeito na limpeza do úbere (COOK, 2004). Segundo o autor acima, em vacas em lactação, a higiene pobre aumenta o risco de mastite e laminita.

Segundo trabalho de DeVries et al. (2012) o escore de limpeza e higiene (ELH) mais pobre das coxas e flancos, úbere e pernas estava associado a limpeza menos frequente dos corredores pelos raspadores automáticos de esterco. A limpeza do piso dos corredores tem efeito na CCS e também na limpeza das camas (DeVRIES et al., 2012).

Conforme DeVries et al. (2012), as vacas mais velhas, geralmente, têm o úbere maior, mais profundos e mais próximos do piso o que aumenta a possibilidade do mesmo ser mais sujo devido respingar mais esterco. Além disso, é provável que vacas de alta produção comam mais e façam refeições mais longas e maiores, e assim gastam mais tempo em pé nos corredores de alimentação (DeVRIES et al., 2012).

Reneau et al. (2005) relataram que a higiene das vacas melhora a medida que o tempo de lactação aumenta. Esses investigadores sugeriram que a ingestão de matéria seca (IMS) mais alta está associada com maior rendimento de leite o que resulta em maior produção de esterco. Portanto, a paridade e, consequentemente, a maior produção de leite está associada com a higiene mais pobre do úbere e pernas. Para DeVries et al. (2012) quanto maior o tempo em pé antes da ordenha maior o escore de higiene e limpeza do úbere e a baixa frequência de descanso nas camas está associado com a pobre higiene e limpeza das pernas. A higiene da vaca em lactação está associada com o comportamento de descanso e com a limpeza do ambiente (DeVRIES et al., 2012).

Fontes primárias de exposição da glândula mamária aos patógenos ambientais causadores de IIM incluem a umidade e dejetos no ambiente da vaca (SCHREINER; RUEGG, 2002). Higiene no SOR é importante porque a limpeza automática do úbere é um processo padrão, ou seja, a limpeza dos tetos não pode ser ajustada a cada vaca. A higiene pobre das vacas em lactação tem sido constantemente associada com a alta CCS e o risco de mastite subclínica (SCHREINER; RUEGG, 2003; RENEAU et al., 2005; DOHMEN et al., 2010).

Os resultados do estudo de Breen et al. (2009) mostraram uma associação clara entre vacas com úberes muito sujos e o aumento do risco de IIM durante toda a lactação. O ELH avaliado com base na sujidade da úbere, coxas e pernas (variando de 1 a 4, onde 1 equivale a muito limpo e 4 muito sujo) foi relacionado com a CCS de forma positiva, principalmente em relação a sujidade do úbere (DOHMEN et al., 2010). Vacas com ELH 4 do úbere, antes da ordenha, aumentaram a probabilidade de desenvolver IIM na ordenha seguinte em comparação com ELH 1 e 2 (BREEN et al., 2009). Cada mudança de 1 unidade no ELH do

úbere posterior e membros posteriores está associado com uma mudança na CCS do leite do tanque de 40.000 a 50.000 células/mL (DOHMEN et al., 2010). Segundo Schreiner e Ruegg (2003) o ELH do úbere está significativamente associado com o ELH das pernas ($P<0.001$), sendo que os ELH do úbere 1, 2, 3, e 4 correspondem aos ELH 1,86, 2,24, 2,70, e 3,42 das pernas, respectivamente. Tipicamente, vacas confinadas em *free stall* tem ELH mais alto nas pernas devido a pobre higiene dos corredores (COOK, 2002). O escore da ponta de teto (EPT) e o ELH das vacas influenciam o risco de mastite por alguns patógenos causadores de IIM, especialmente por *Escherichia coli* em comparação com o *Streptococcus uberis* (BREEN et al., 2009). Melhores condições higiênicas foram associadas com a CCS do tanque mais baixa (BARKEMA et al., 1998).

Um estudo com o SOR em 28 fazendas nos Países Baixos para identificar fatores de risco que afetavam a qualidade de leite, mostrou que a CCS do tanque de leite aumentou nas fazendas com uma higiene global pobre (KONING et al., 2003). Schreiner e Ruegg (2003) observaram que o ELH do úbere e pernas estava significativamente associado com a CCS em 1.250 vacas em lactação de 8 rebanhos. Outro estudo, também em 8 rebanhos, com 1.093 vacas em lactação mostrou existir relação entre o ELH do úbere, pernas e coxas com a CCS (RENEAU et al., 2005). Relações positivas foram observadas entre a porcentagem média anual de novos casos de IIM com alta CCS e a proporção de vacas com tetos sujos antes da ordenha; a proporção de ordenhas onde tetas não foram cobertos com spray de desinfecção dos tetos; a proporção de vacas com um úbere sujo e a proporção de vacas com coxas sujas (DOHMEN et al., 2010).

2.4 COMPORTAMENTO ANIMAL

2.4.1 Comportamento e Dominância Social

Segundo Jacobs et al. (2012), a compreensão de como as interações entre vacas e o seu ambiente influencia o movimento através do SOR torna-se imperativo para o sucesso do sistema. Os rebanhos estabilizados consistem de vacas com baixo e alto valor de dominância no ranking social e isto influencia os padrões de ordenha dependendo da posição social (WIKTORSSON; SØRENSEN, 2004). A competição por recursos (alimento, água e áreas de repouso), agravada no caso de estábulos mal concebidos, é um importante fator de perturbação social, gerando comportamentos agressivos e instabilidade social no rebanho (CERQUEIRA et al., 2012). O valor de domínio social não se correlaciona com idade (em

dias), número de lactação e produção de leite (KETELAAR; LAUWERE et al., 1996). A literatura é contraditória sobre a relação entre grau de dominância e fatores individuais de cada vaca.

Conforme Jacobs et al. (2012), a ordem de lactação foi um preditor de vacas que bloquearam as passagens nos corredores. Segundo esses autores a interação entre paridade e peso vivo foi observada. Especificamente, primíparas mais pesadas bloquearam mais as passagens que primíparas mais leves. Assim, é possível que as primíparas com peso mais alto (assumiram posição mais baixa que multíparas) bloqueavam as passagens como forma de melhorar o seu status social e o acesso a OE. No SOR as vacas primíparas agrupadas isoladamente não melhoraram a produção de leite, embora o número diário de ordenhas tenha aumentado (BACH et al., 2006). Em geral, as vacas com valores mais baixos de dominância passam mais tempo na sala de espera e visitam menos a EO (KETELAAR; LAUWERE et al., 1996).

Os padrões do comportamento de descanso são importantes para a saúde, produtividade e bem-estar do animal. DeVries et al. (2011) observaram que os padrões de comportamento de descanso de vacas ordenhadas em SOR são influenciados pela frequência de ordenha e produção de leite. Estes autores relataram que o tempo médio em pé após a ordenha foi de 78 minutos. Além disso, o tempo em pé após a ordenha pode influenciar saúde do úbere (DeVRIES et al., 2011). Vacas com uma frequência de ordenha mais alta visitam a EO também à noite, interferindo, possivelmente, com o comportamento de descanso (HELMREICH et al., 2014). As vacas de baixo ranking social gastam mais tempo na área de espera, enquanto que vacas de paridade mais altas gastam mais tempo na área de descanso e se escovando (OLOFSSON et al., 2001).

2.4.2 Comportamento Ingestivo e Manejo Alimentar

Há influências múltiplas no comportamento alimentar incluindo o tipo de alimentação e comedouro, composição e características físicas da dieta, hierarquia social e competição pelo alimento e água (DeVRIES et al., 2003). Dentro de um grupo de bovinos, a hierarquia social, competição pelo alimento, água, espaço e a disponibilidade de alimento determinam o comportamento ingestivo e a ingestão de matéria seca (GRANT; ALBRIGHT, 2001). Os resultados do estudo de Uetake et al. (1997) indicam que a ordenha no SOR, com área de espera, afeta a sincronização social das vacas em atividades como alimentação e descanso e reduz significativamente o tempo gasto com a ingestão de alimentos mais do que sala de

ordenha. Para harmonizar os sistemas com as tendências psicológicas e sociais das vacas em lactação, o desenho do SOR deve considerar o aumento do número de EO para acomodar mais vacas simultaneamente.

No comportamento ingestivo o mais importante não é quantas vezes por dia o volumoso é distribuído e sim estar sempre disponível para as vacas quando elas vêm para a área de alimentação (WIKTORSSON et al., 2003). No estudo de Olofsson et al. (2001) em fazendas comerciais, foi observado que a distribuição de volumoso influenciou o número de vacas na fila de ordenha. Esses autores observaram que a distribuição de volumoso apenas uma ou duas vezes por dia e períodos sem volumoso disponível, diminuiu o número de visitas à estação de ordenha.

No SOR a alimentação é menor durante o início da noite e começo de manhã o que sugere que vacas preferem comer durante o dia e descansar e ruminar durante a noite (WAGNER-STORCH; PALMER, 2003). Estudos de Melin et al. (2006) revelaram que a motivação para alimentação desencadeia os efeitos da posição social. Melin et al. (2005) não encontraram diferença significativa entre paridades para número de refeições por dia, mas vacas primíparas tiveram refeições mais longas que vacas multíparas. As vacas primíparas tiveram mais visitas a estação de alimentação por refeição que vacas multíparas. No trabalho de Bach et al. (2006), o tempo total de alimentação foi numericamente mais longo quando as vacas primíparas foram estabuladas com vacas multíparas. Porém as primíparas quando alojadas isoladamente fizeram uma refeição a mais por dia do que quando alojadas com vacas multíparas. Mais que 50% dos comedouros, quando as primíparas foram agrupadas com multíparas, estavam ocupados por primíparas, após o fornecimento da alimentação, sugerindo que essas vacas não eram intimidadas por vacas multíparas.

Resultados sugerem que o tempo de repouso após a ordenha de vacas ordenhadas em SOR pode ser controlado por fornecimento de alimentos frescos, bem como pela aproximação da dieta na área de alimentação mais, frequentemente, ao longo do dia (DeVRIES et al., 2011). A disponibilidade de alimentos é importante, pois a falta de alimentação durante partes do dia vai aumentar o comportamento sincronizado de descanso e ingestivo entre as vacas. Este, por sua vez, resulta em mais filas na sala de espera, mais longo e mais variação no intervalo de ordenha, bem como uma maior necessidade de buscar as vacas para a ordenha (FORSBERG, 2008; SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008).

2.4.3 Comportamento de Ordenha

A competição para acessar a EO poderia fazer algumas vacas gastar mais tempo esperando em frente a esta, resultando em baixa frequência de ordenha (HELMREICH et al., 2014). Pirlo et al. (2005) observaram que as vacas primíparas tiveram uma frequência de ordenha mais alta que as multíparas. Além disso, a competição para o acesso a EO pode fazer com que algumas vacas gastem mais tempo esperando na área de espera, resultando em uma baixa frequência de ordenha (HELMREICH et al., 2014). Vacas com mais baixos valores de dominância gastam mais tempo esperando em frente ao sistema de ordenha (KETELAAR-LAUWERE et al., 1996)

Vários estudos relataram que as atividades das vacas em SOR como alimentação e ordenha é bem distribuída durante todo o dia. Wagner-Storch e Palmer (2003) observaram uma maior atividade no robô das 08:00 às 13:00 hs e das 15:00 às 19:00 hs. Durante as 24 horas do dia, o menor número de ordenhas foi observado de manhã cedo e o pico mais alto foi observado poucas horas depois (PIRLO et al., 2005). Este pico coincide com o horário de alimentação com dieta parcialmente misturada (DPM) e com as buscas de vacas atrasadas para ordenha. Uma variação durante o dia entre vacas de alto e baixo ranking social que visitam a unidade ordenhando foi observada, onde as vacas de baixo ranking foram ordenhadas mais, frequentemente, durante a noite (KETELLAR; LAUWERE et al., 1996). Esses autores observaram que o valor de dominância das vacas não afeta o número total de visitas na EO, mas afeta o padrão de visitas em alguns casos. Em geral, vacas com valores de dominância mais altos visitam mais a EO durante o dia, entre 12:00 e 18:00 h e vacas com baixos valores de dominância visitam a EO entre 0:00 e 6:00 h. Vacas com baixos valores de dominância social adaptam suas visitas à EO e passagem por portões para alimentação em relação as vacas com valores mais elevados de dominância, visitando mais essas áreas do estábulo em momentos de silêncio (KETELAAR; LAUWERE et al., 1996).

Foi observado que as vacas com dominância mais alta tiveram diferença significativa na forma da curva de lactação quando comparada as de baixa dominância (DANIELSSON, 2012). Essa diferença na curva de lactação pode ser explicada por um intervalo de ordenha mais curto, ou seja, foram ordenhadas mais vezes por dia. Além disso, as vacas de alto valor na dominância social comem mais frequentemente, apesar delas não tem maior consumo no total.

3 HIPÓTESES E OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESES

- A condutividade elétrica apresenta relação com a produção e com os componentes do leite, patógenos maiores e menores e com outros indicadores primários e secundários e eletrônicos utilizados para o diagnóstico de infecções intramamárias.
- A frequência de ordenha interfere na produção e qualidade do leite, bem-estar animal e pode ser influenciada por outros fatores.
- Existe relação da profundidade do úbere com a limpeza dos tetos e saúde da glândula mamária.
- O comportamento e a ordem de lactação influenciam o número diário de ordenhas e o consumo de concentrado.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a condutividade elétrica, conformação do úbere, frequência de ordenha e bem estar animal e o comportamento de vacas da raça Holandesa em ordenha robótica.

3.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a CE como indicador de infecção intramamária, determinar os pontos de corte da mesma e comparar a sua precisão com outros métodos para o diagnóstico de mastite;
- Avaliar o impacto da frequência de ordenha sobre a produção e a qualidade do leite e bem-estar animal e investigar os principais fatores que podem interferir na mesma.
- Relacionar a profundidade do úbere com a limpeza e contaminação de tetos e saúde da glândula mamária.
- Avaliar o comportamento animal conforme a ordem de lactação em SOR.

4 MATERIAL E MÉTODOS – GERAL

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS

O trabalho foi conduzido em uma propriedade situada no município de Castro, Paraná, localizada nas coordenadas geográficas de 24°47'10'' de latitude sul e 49°50'57'' de longitude oeste e clima Cfb (subtropical úmido mesotérmico) de acordo com a classificação de Köppen, no período de março a julho de 2014. Em todas as avaliações foram utilizadas vacas primíparas e multíparas da raça Holandesa em vários estágios e ordens de lactação, as quais foram ordenhadas no sistema de ordenha voluntária, o *Voluntary Milking System* (VMSTM, DeLaval, Tumba, Suécia), submetidas ao sistema de tráfego *Feed First*TM (DeLaval VMSTM), em duas estações de ordenha (EO) robotizadas (robôs).

4.2 INSTALAÇÕES: LIMPEZA E MANEJO

As vacas foram alojadas em confinamento do tipo *free stall* para 160 vacas, medindo 85,0 x 22,58 m (Figura 1), dividido em área de descanso com 137 camas (três linhas de cama com colchão) medindo 1,20 x 2,50 m, pista de alimentação com dieta parcialmente misturada (para 104 vacas) com acesso lateral ao confinamento para a carreta misturadora (Figura 2), área de alimentação com concentrado (5 boxes), sala de espera (medindo 9 x 2,40 m), unidade de ordenha (2 robôs), área de separação com nove canzis para animais em tratamento, em cio ou vacas pós-parto (colostrato) e centro de manejo para exames reprodutivos (Figura 2).

O acesso entre as áreas era feito através de portões de não retorno, na estação de alimentação e área de descanso, em combinação com portões automáticos, na pista de alimentação e saída dos robôs, que selecionavam e redirecionavam as vacas após a identificação das mesmas através de um colar com *transponder*. O portão antes do robô (pista de alimentação) direcionava os animais para três áreas dependendo do volume de leite no úbere e do tempo desde a última ordenha: sala de espera, estação de alimentação e retorno a própria pista de alimentação. Já o portão após o robô (saída do robô) direciona os animais para a pista de alimentação ou para a área de separação.

O piso do confinamento era de concreto sólido e emborrachado, com limpeza pré-programada realizada por três *scrapers* (DeLaval, Tumba, Suécia), de duas em duas horas do corredor externo as camas e sala de espera e contínua dos corredores entre as fileiras de camas e da pista de alimentação com volumoso. As camas eram limpas e desinfetadas (Despadac®,

Hertape Calier, Juatuba, MG), diariamente, e após eram forradas com uma camada fina de maravalha não esterilizada. No confinamento estavam instalados vinte e quatro ventiladores distribuídos em cinco fileiras, a cada quinze metros, com quatro ventiladores cada cobrindo todas as áreas do confinamento.

Figura 1 – Planta com vista superior do barracão com todas as instalações do sistema

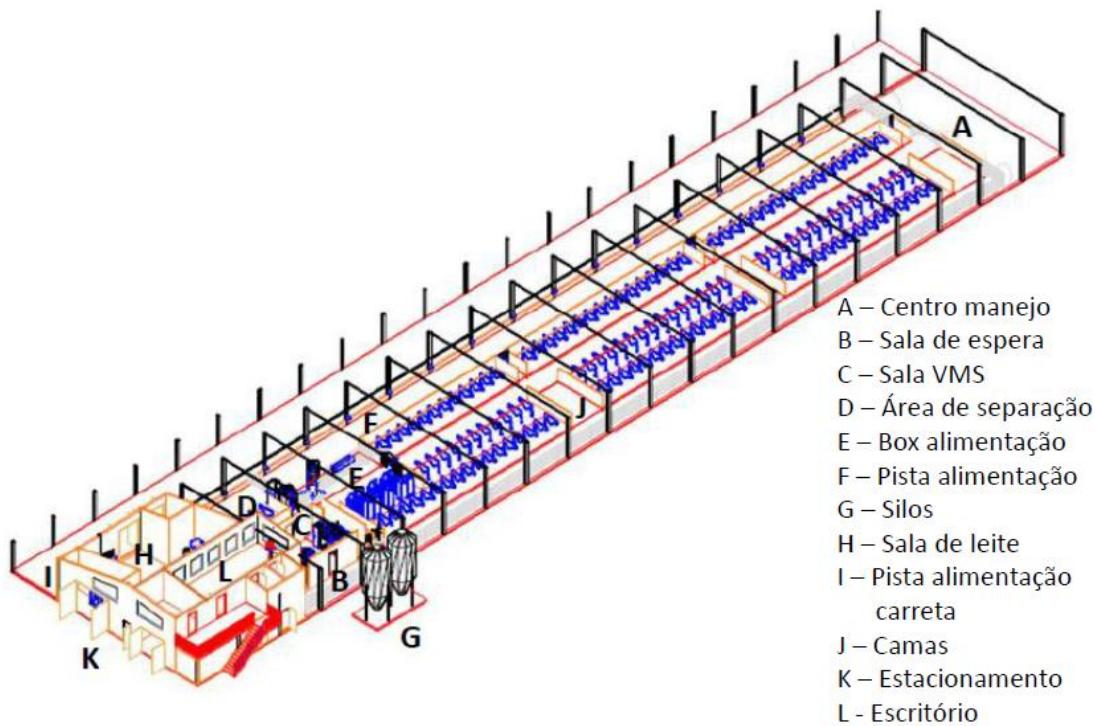
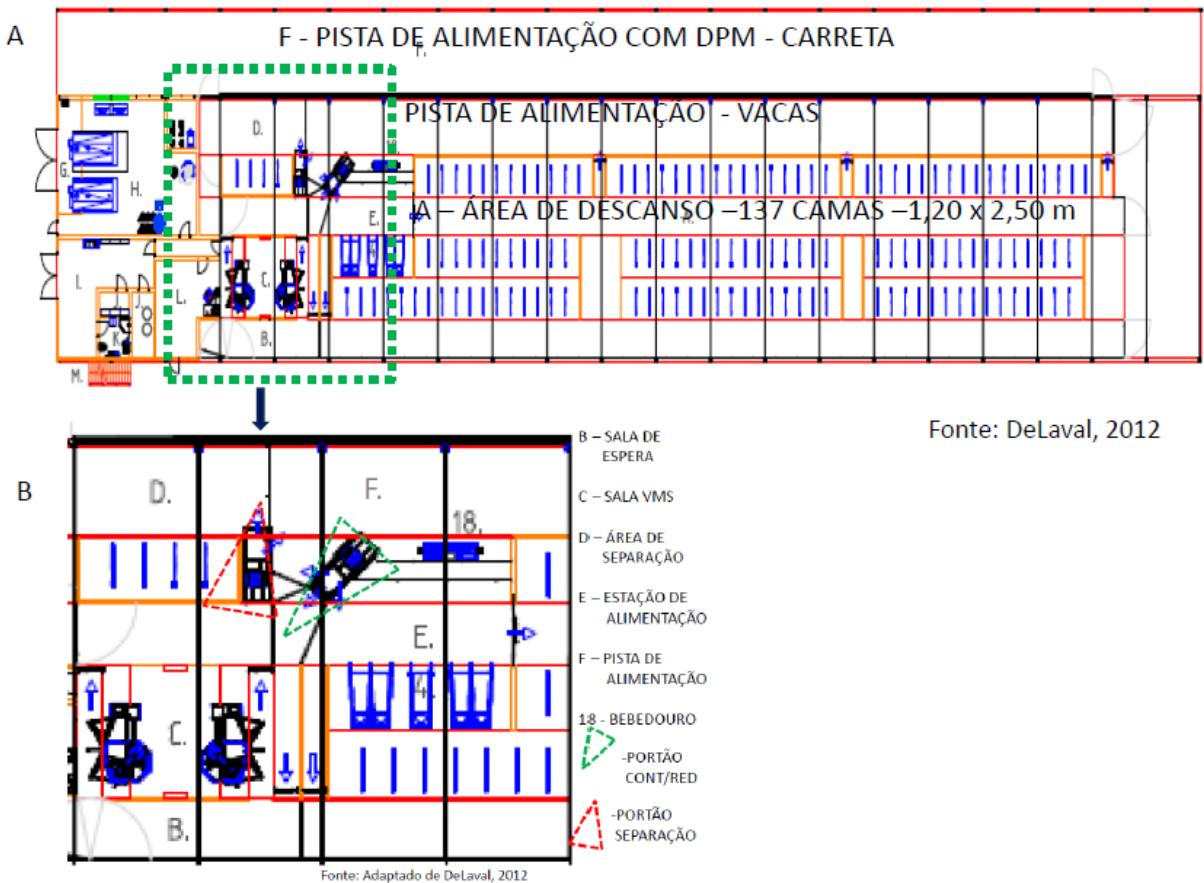


Figura 2 – Planta baixa com a divisão do confinamento em áreas (A) e corte detalhado da área do VMS (B).



4.3 DIETA E MANEJO E ALIMENTAR

A dieta base (Tabela 1) era fornecida, na pista de alimentação, duas vezes ao dia (05:30 e 13:30 h) com carreta misturadora modelo horizontal *mixer* (modelo HM8SC™, DeLaval, Tumba, Suécia), equipada com balança eletrônica, aclopada, tracionada e movida por trator e, aproximada cinco vezes ao dia (09:00, 12:00, 16:00, 18:00 e 21:00 h).

O concentrado (B3B Elite, Cooperativa Castrolanda, Castro, PR) era oferecido em cinco boxes individuais (*Feed station FSC400™*, DeLaval, Tumba, Suécia) fixados na estação de alimentação, com acesso restrito ou seletivo nesta área e na unidade de ordenha (1,5 kg/ordenha) perfazendo no máximo doze kg/vaca/dia (Tabela 1), conforme o DEL como segue: 4 kg do parto até 5 dias após o parto; 6 kg de 6 a 10 dias; 6 a 8 kg de 11 a 15 dias; 8 a 10 kg de 16 a 20 dias; 10 a 12 kg de 21 a 110 dias e 7 a 12 kg de 111 dias de lactação até a secagem. Dos 100 a 200 dias de lactação a cada 14 dias era aplicado somatotropina bovina (Lactotropin®, Elanco, São Paulo, SP) e partir dos 200 dias era aplicada a cada 12 dias (Boostin®, MSD, São Paulo, SP), somente nos animais com produção de leite inferior ao seu potencial produtivo.

Tabela 1 – Quantidade de cada ingrediente estimada e composição química da dieta com base na matéria seca (MS) e matéria natural (MN)

Ítem	Dieta fornecida		
	MN (kg/dia)	MS (kg/dia)	% MS
Ingredientes DPM¹			
Silagem de milho	25	8,75	35,0
Silagem de azevém	05	2,80	56,0
Silagem de aveia	03	1,05	30,0
Feno de alfafa	0,8	0,72	90,0
Farelo de soja	1,5	1,33	88,7
Gordura protegida	0,16	0,15	98,0
Tamponante	0,30	0,30	99,5
Núcleo mineral	0,08	0,08	99,3
Protenose de milho	1,50	1,35	89,7
Concentrado comercial			
Ração Elite ²	11	9,80	89,1
Composição química dieta³ (%)			
MS	48,33	26,32	54,5
PB	8,44	15,49	
FDA	9,87	18,12	
FDN	18,97	34,84	
FDNfe	13,01	23,90	
Amido	15,72	28,72	
CNF ⁴	21,27	39,05	
EL _L Mcal/kg	0,83	1,53	
Cálcio	0,51	0,93	
Fósforo	0,25	0,46	
Potássio	0,71	1,31	
Sódio	0,22	0,40	
Cloro	0,24	0,44	

¹DPM: Dieta parcialmente misturada.

²Ração Elite, Cooperativa Castrolanda, Castro, PR. Composição na MS (%): PB 18; FB 3,54; FDA 5,23; Cinza 7,73; EL_L 1,83 Mcal/kg; Cálcio 1,24; Fósforo 0,45; Potássio 0,42 e Sódio 0,43.

³Composição estimada através do software AMTS.Cattle.ProTM, versão 2.0 (Agricultural Modeling and Training Systems, New York. USA), a partir da análise bromatológica dos alimentos.

⁴CNF: Carboidratos não fibrosos = 100- (PB+FDN+EE+MM).

4.4 MANEJO DE ORDENHA

O acesso as EO (robôs) era feito com base no horário e quantidade de leite no úbere (estimado pelo software de gerenciamento), da seguinte forma: primíparas com 1 a 30 dias de lactação – a cada 4h ou 7 kg de leite, de 31 a 280 dias de lactação – 7 h ou 8 kg de leite e + 281 dias de lactação – 9 h ou 7 kg de leite; multíparas com 1 a 30 dias de lactação – 5 h ou 8 kg de leite, de 31 dias até 30 dias antes da secagem – 6 h ou 9 kg leite e últimos 30 dias de lactação – 8 h ou 8 kg de leite. As buscas as vacas que estavam atrasadas (mais de 13:30 h da ordenha anterior) eram realizadas conforme a quantidade de vacas que se encontravam nesta condição.

As vacas foram ordenhadas em duas unidades de ordenha robotizadas, dotadas de um braço robótico para limpeza, colocação das teteiras e realização de pré e pós *dipping*, o qual

possui uma câmera óptica e dois *laser* para localização dos tetos. Antes da limpeza era feito o pré *dipping* com *spray* a base de iodo (Della ProTM, DeLaval, Tumba, Suécia). A limpeza dos tetos era feita por um copo especial (quinta teteira) manipulado pelo braço mecânico através de retrolavagem (injeção e retirada de água) e enxugados com ar, o qual também retirava e descartava o leite da extremidade das cisternas dos tetos (primeiros jatos). A colocação das teteiras também era feita pelo braço robótico, de forma individual, sendo que a colocação iniciava-se pelos quartos mamários posteriores. A extração das teteiras era automática com variação de fluxo de leite inferior a 0,30 a 0,43 kg/minuto durante sete segundos. Após a ordenha o braço mecânico fazia o pós *dipping* com o mesmo desinfetante à base de iodo do pré *dipping* e as teteiras eram lavadas com água morna e desinfetadas com vapor de água quente (140° C) entre as ordenhas. As teteiras estavam reguladas com vácuo de 42 kPa e razão de pulsação de 35:65.

O acesso a área de espera era limitado a no máximo oito vacas ao mesmo tempo, sendo que as vacas com mais de quatro horas além da programação normal tinham acesso livre mesmo que tivessem oito vacas nessa área. As linhas de leite das unidades de ordenha eram lavadas automaticamente três vezes ao dia (às 05:00, 13:00 e 21:00 h), com detergente alcalino (Della ActionTM, DeLaval, Tumba, Suécia) e após com detergente ácido (Della AcidTM, DeLaval, Tumba, Suécia). O piso dos boxes de ordenha era lavado automaticamente a cada quatro vacas.

4.5 REGISTROS DE DADOS

A produção de leite, CE, cor e fluxo do leite para detecção de mastite foram avaliados eletronicamente de forma individual, durante cada ordenha, através de sensor acoplado a linha de leite de cada teteira (Milk meter MM25BCTM - DeLaval, Tumba, Suécia). Estes dados, assim como outros, foram processados através de programa para gerenciamento técnico de propriedades leiteiras (DelProTM, DeLaval, Tumba, Suécia) e armazenados em computador.

4.6 ANÁLISES LABORATORIAIS

As amostras para análise da composição do leite (gordura e proteína) e da CCS foram acondicionadas em frascos-padrão para coleta contendo o conservante Bronopol®, (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol), sendo encaminhadas ao Laboratório do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR) da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos

da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba - PR, para análise através das metodologias por absorção infravermelha em equipamento Bentley 2000TM (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA) e citometria de fluxo em equipamento Somacount 500TM (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA).

A determinação dos níveis de sódio (Espectrometria de absorção atômica) e cloretos (Titulometria) foi efetuada pelo Laboratório Físico Químico da Fundação ABC, Castro, PR. As culturas do leite e dos tetos (*swab*) foram realizadas pelo laboratório Labvet, em Carambeí, PR, conforme metodologia do *National Mastitis Council* (2004). As análises de sangue para determinação dos níveis séricos de cortisol (Quimioluminescência) foram realizadas no Laboratório Tecsa - Tecnologia em Sanidade Animal, Belo Horizonte, MG, através do equipamento Immulite 1000TM (Siemens Medical Solutions Diagnostics, NJ, USA). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, protocolo 1.64.13.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Nas análises estatísticas foram utilizados procedimentos univariados e multivariados do pacote estatístico SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC) e a metodologia de *Receiver Operating Characteristic Curve* (curva ROC) através do *MedCalc Statistical Software*, versão 15.6.1, 2015.

REFERÊNCIAS

- ABENI, F. et al. Milk quality and automatic milking: fat globule size, natural creaming, and lipolysis. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, p. 3519–29, 2005a.
- _____. Welfare assessment based on metabolic and endocrine aspects in primiparous cows milked in a parlor or with an automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3542–3552, 2005b.
- BACH, A. et al. Performance and feeding behavior of primiparous cows loose housed alone or together with multiparous cows. **Journal of dairy science**, v. 89, p. 337–342, 2006.
- _____. Effect of amount of concentrate offered in automatic milking systems on milking frequency, feeding behavior, and milk production of dairy cattle consuming high amounts of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5049-5055, 2007.
- BADE, R. D.; REINEMANN, D. J.; THOMPSON, P. D. Robot versus human pre-milking teat preparation. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETIN PROC. p. 184-185, 2008. New Orleans, Louisiana. In: National Mastitis Council. 2008, Madison, Wisconsin.
- BARKEMA, H. W. et al. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 411–419, 1998.
- BARTH, K.; WORSTORFF, H. Influence of different milking intervals on electrical conductivity before alveolar milk ejection in cows. **Milchwissenschaft**, v. 55, n. 7, p. 363-365, 2000.
- BERGLUND, I.; PETTERSSON, G.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Automatic milking: effects on somatic cell count and teat end-quality. **Livestock Production Science**, v. 78, p. 115–124, 2002.
- BORDERAS, T. F. et al. Effect of lameness on dairy cows' visits to automatic milking systems. **Canadian Journal Animal Science**, v. 88, p. 1-8, 2008.
- BREEN, J. E.; GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2551–2561, 2009.
- BRUCKMAIER, R. M. et al. Changes of physicochemical indicators during mastitis and the effects of milk ejection on their sensitivity. **Journal of Dairy Research**, v. 71, p. 316-321, 2004a.
- _____; ONTSOUKA, C. E.; BLUM, J. W. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. **Vet. Med. – Czech**, v. 49, p. 283–290, 2004b.

- CARLSTRÖM, C. **Genetic variation of in-line recorded milkability traits and associations with udder conformation and health in swedish dairy cattle.** 2014. 55 p. Tese (Doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2014.
- CASTRO, A. et al. Estimating efficiency in automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 929-936, 2012.
- CERQUEIRA, J. L. et al. Alguns indicadores de avaliação de bem-estar em vacas leiteiras – revisão. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, p. 5-19, 2012.
- COOK, N. B. Hygiene scoring card. University of Wisconsin Food Animal Production Medicine, 2002. Disponível em: <www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/4hygiene/hygiene.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2014.
- _____. The cow comfort link to milk quality. In: NMC REGIONAL MEETING, 2004. Bloomington, MN. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2004. Madison, Wisconsin.
- _____. The influence of barn design on dairy cow hygiene, lameness and udder health. In: ANNUAL CONFERENCE AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONERS, 35, 2002. Madison, Wisconsin. Disponível em: <http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/publicats/proceeds/THE_INFLUENCE_OF_BARN_DESIGN_ON_DAIRY_COW_HYGIENE.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2014.
- DANIELSSON, T. **The effect of social rank on milking and feeding behaviour in automatic milking system for dairy cows**, 2012. Dissertação (Mestrado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala (SLU), 2012.
- DE MOL, R.M., OUWELTJES, W. Detection model for mastitis in cows milked in an automatic milking system. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 49, p. 71–82, 2001.
- DELAMAIRE, E; GUINARD-FLAMENT, J. Longer milking intervals alter mammary epithelial permeability and the Udder's ability to extract nutrients. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 6, p. 2007–2016, 2006a.
- _____; _____. Increasing milking intervals decreases the mammary blood flow and mammary uptake of nutrients in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3439–3446, 2006b.
- DEMING, J. A. et al. Associations of housing, management, milking activity, and standing and lying behavior of dairy cows milked in automatic systems. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 344–35, 2012.
- DeVRIES, T. J. et al. Measuring the feeding behavior of lactating dairy cows in early to peak lactation. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 10, p. 3354–3361, 2003.
- _____; et al. Association of standing and lying behavior patterns and incidence of intramammary infection in dairy cows milked with an automatic milking system. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 8, p. 3845–55, 2011.

- _____ et al. Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5730-5739, 2012.
- _____ ; DUFOUR, S.; SCHOLL, D. T. Relationship between feeding strategy, lying behavior patterns, and incidence of intramammary infection in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1987–1997, 2010.
- DOHMEN, W.; NEIJENHUIS, F.; HOGEVEEN, H. Relationship between udder health and hygiene on farms with an automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4019–4033, 2010.
- ELIAS, A. O. et al. Características físico-químicas e contagem de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus spp*. **Arquivo de ciências veterinárias e zoologia**, v. 8, n. 2, p. 165-170, 2005.
- ESLAMIZAD, M.; DEHGHAN-BANADAKY, M.; MORADI-SHAHRBABAK, M. Effects of 6 times daily milking during early versus full lactation of Holstein cows on milk production and blood metabolites. **Journal of Dairy Science**. v. 93 n. 9, p. 4054-4061, 2010.
- FORSBERG, A. M. **Factors affecting cow behaviour in a barn equipped with an automatic milking system**. 2008. Tese (doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala (SLU), 2008. p.48.
- GÁSPÁRDY, A. et al. Evaluation of the on-line electrical conductivity of milk in mastitic dairy cows. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 60, p. 145-155, 2012.
- GRANT, R. J.; ALBRIGHT, J. L. Effect of Animal Grouping on Feeding Behavior and Intake of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. E156–E163, 2001.
- GYGAX, L. et al. Cortisol concentration in automatic milking systems compared with auto-tandem milking parlors. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3447–3454, 2006.
- _____ et al. Comparison of functional aspects in two automatic milking systems and auto-tandem milking parlors. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4265-4274, 2007.
- HALE, S. A.; CAPUCO, A. V.; ERDMAN, R. A. Milk yield and mammary growth effects due to increased milking frequency during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2061–2071, 2003.
- HAMANN, J.; ZECCONI, A. Evaluation of the electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. **Bulletin of the IDF** (Belgium), v. 334, p. 5–22, 1998.
- HELMREICH, S. et al. Time-budget constraints for cows with high milking frequency on farms with automatic milking systems. **Livestock Science**, v. 167, p. 315–322, 2014.
- HILLERTON, J. E.; WALTON, A. W. Identification of subclinical mastitis with a hand-held electrical conductivity meter. **The Veterinary Record**, v. 128, n. 22, p. 513-515, 1991.
- HOGEVEEN, H. et al. Milking interval, milk production and milk flow-rate in an automatic milking system. **Livestock Production Science**, v. 72, p. 157–167, 2001.

- HOPSTER, H. et al. Stress Responses during milking; comparing conventional and automatic milking in primiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3206–3216, 2002.
- HOVINEN, M.; AISLA, A. M.; PYÖRÄLÄ, S. Accuracy and reliability of mastitis detection with electrical conductivity and milk colour measurement in automatic milking. **Acta Agriculturae Scandinavica - Section A**, v. 56, p. 121–127, 2006.
- _____; _____. Visual detection of technical success and effectiveness of teat cleaning in two automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3354–3362, 2005.
- _____; PYÖRÄLÄ, S. Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 547-562, 2011.
- ILIE, L. I.; TUDOR, L.; GALIS, A. M. The electrical conductivity of cattle milk and the possibility of mastitis diagnosis in Romania. **Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara**, v. 43, p. 220-227, 2010.
- IPEMA, A.H. Integration of robotic milking in dairy housing systems. Review of cow traffic and milking capacity aspects. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.17, p. 79-94, 1997.
- JACOBS, J. A.; SIEGFORD, J. M. Invited review: the impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 2227-2247, 2012.
- _____; ANANYEVA, K.; SIEGFORD, J. M. Dairy cow behavior affects the availability of an automatic milking system. **Journal of Dairy science**, v. 95, n. 4, p. 2186–2194, 2012.
- JAGO, J. G. et al. The effect of pre-milking teat-brushing on milk processing time in automated milking system. **Journal Dairy Research**, v. 73, p. 187–192, 2006.
- JANZEKOVIC, M.; BRUS, M.; MURSEC, B. Mastitis detection based on electric conductivity of milk. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v. 34, p. 39-46, 2009.
- KAIHLAHTI, J., SUOKANNAS, A.; RAUSSI, S. Observation of cow behaviour in an automatic milking system using web based video recording technology. **Biosystems Engineering**, v. 96, p. 91–97, 2007.
- KASIKCI, G. et al. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. **Turkey Journal Veterinary Animal Science**, v. 36, p. 49-55, 2012.
- KETELAAR-DE LAUWERE, C. C.; DEVIR, S.; METZ, J. H. M. The influence of social hierarchy on the time budget of cows and their visits to an automatic milking system. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, n. 2, p. 199–211, 1996.
- _____. et al. Behaviour of dairy cows under free or forced cow traffic in a simulated automatic milking system. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 56, p. 13–28, 1998.

KLAAS, I. C; ROUSING, T. Is lameness a welfare problem in dairy farms with automatic milking systems? **Animal Welfare**, v. 12, p. 599–603, 2003. Disponível em: <ftp://173.183.201.52/Inetpub/wwwroot/HoofHealth/refs/AW12_599.pdf>. Acesso em: 31 Out. 2014.

KLUNGEL, G. H.; SLAGHUIS, B. A.; HOGEVEEN, H. The effect of the introduction of automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1998-2003, 2000.

KNAPPSTEIN, K. et al. Effectiveness of automatic cleaning of udder and teats and effects of hygiene management: Report on effectiveness of cleaning procedures applied in different automatic milking systems. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS, p. 31, jan. 2004. Disponível em: <<http://www.automaticmilking.nl>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

_____ et al. Effectiveness of automatic cleaning of udder and teats and effects of hygiene management: Protocol for evaluation of teat cleaning systems. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS, p. 33, jun. 2002. Disponível em:<<http://www.automaticmilking.nl>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

KONING, K.; VAN DER VORST, Y.; MEIJERING, A. Automatic milking experience and development in Europe. In: MCLEAN, J.; SINCLAIR, M.; WEST, B. Proceedings from the first North American conference on robotic milking. Toronto, Canada, 2002, p. 20-22.

_____ ; SLAGHUIS, B.; VAN DER VORST, Y. Robotic milking and milk quality: Effects on bacterial counts, somatic cell counts, freezing points and free fatty acids. **Italian Journal Animal Science**, v. 2, p. 291–299, 2003.

LØVENDAHL, P.; CHAGUNDA, M. G. G. Covariance among milking frequency, milk yield, and milk composition from automatically milked cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 5381–5392, 2011.

MACUHOVA, J.; TANCIN, V.; BRUCKMAIER, R. M. Oxytocin release and milk removal after delayed or long-lasting teat cup attachment during automatic milking. **Livestock Production Science**, v. 87, p. 237–244, 2004.

MADSEN, J; WEISBJERG, M.R.; HVELPLUND, T. Concentrate composition for automatic milking systems: effect on milking frequency. **Livestock Science**, v. 127, n. 1, p. 45–50, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2009.08.005>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

MAGNUSSON, M. **Bacillus cereus in the housing environment of dairy cows. contamination routes, effect of teat cleaning, and measures to improve hygiene in the cubicles and alleys**. 2007. 42 p. Tese (Doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden, 2007.

MARKEY, C. Effect of cow traffic system on cow performance and AMS capacity, 2013. Disponível em: <http://stud.epsilon.slu.se/5632/7/markey_c_1300604.pdf>. Acesso em: 29 set. 2014.

MEDCALC STATISTICAL SOFTWARE. **MedCalc Software**, Mariakerke, Belgium, v. 15.6.1, 2015. Disponível em:< <https://www.medcalc.org>>.

MELIM, M. et al. Cow traffic in relation to social rank and motivation of cows in an automatic milking system with control gates and an open waiting area. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 96, p. 201-214, 2006.

_____; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.; WIKTORSSON, H. Feeding patterns and performance of cows in controlled cow traffic in automatic milking systems. **Journal of Dairy science**, v. 88, n. 11, p. 3913–3922, 2005.

_____; WIKTORSSON, H.; CHRISTIANSSON, A. Teat cleaning efficiency before milking in Delaval VMSTM versus conventional manual cleaning, using *Clostridium tyrobutyricum* spores as marker. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON ROBOTIC MILKING, 1., p. 1160-1163, 2002. Canada.

MIGLIORATI, L. et al. Influence of feeding flavouring-appetizing substances on activity of cows in an automatic milking system. **Italia Journal Animal Science**, v. 8 (Suppl. 2), p. 417–419, 2009.

MILLER, R. H. et al. Variation in distances among teats of Holstein cows: implications for automated milking. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1456–1462, 1995.

MOLLENHORST, H. et al. The relationship between milking interval and somatic cell count in automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 9, p. 4531–4537, 2011.

MOTTRAM, T. T. Requirements for teat inspection and cleaning in automatic milking systems. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 17, p. 63-77, 1997.

_____. et al. Evaluation of a novel chemical sensor system to detect clinical mastitis in bovine milk. **Biosensors Bioelectronics**, v. 22, p. 2689–2693, 2007.

NASCIF JÚNIOR, I. A.; NADER, A.; OLIVEIRA, J. A. Sensibilidade e especificidade do California Mastitis Test (CMT) e da condutividade elétrica do leite de vacas durante a lactação. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 2, p. 135-137, 2006.

NEIJENHUIS, F., HILLERTON, J. E. Effects of milking interval on teat condition and milking performance with whole-udder take off. Health of dairy cows milked by an automatic milking system. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS, p. 58, 2003. Disponível em: <<http://www.automaticmilking.nl/projectresults/reports/DeliverableD22.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2013.

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

_____. et al. Classification and longitudinal examination of callused teat-ends in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2795-2804, 2000.

- NIELEN, M. et al. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta-analysis of mastitis detection performance. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 606–614, 1992.
- NIELSEN, N. I. et al. Quarter health, milking interval, and sampling time during milking affect the concentration of milk constituents. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 9, p. 3186–3200, 2005.
- NMC. (National Mastitis Council). Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determinacion of milk quality. 4. ed. Verona, WI: The National Mastitis Council Inc., 2004.
- NORBERG, E. Electrical conductivity of milk as a phenotypic and genetic indicator of bovine mastitis: a review. **Livestock Production Science**, v. 96, p. 129–139, 2005.
- _____ et al. Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1099–1107, 2004.
- OLOFSSON, J. et al. Teknisk provning av DeLavals automatiska mjölkningssystem (VMS), 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22459864>>. Acesso em: 30 jul. 2014.
- PIRLO, G. et al. Automation in dairy cattle milking: experimental results and considerations. **Italian Journal Animal Science**, v. 4 (suppl. 3), p. 17–25, 2005.
- PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v. 34, p. 565–578, 2003. Disponível em: <http://www.vetres-archive.org/file/Vet.Res._0928-4249_2003_34_5/Vet.Res._0928-4249_2003_34_5_ART0005.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2013.
- RASMUSSEN, M. D. et al. Udder health of cows milked automatically. **Livestock Production Science**, v. 72, p. 147–156, 2001.
- _____ et al. Milk quality on Danish farms with automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2869–2878, 2002.
- _____ et al. Influence of Air Intake on the Concentration of Free Fatty Acids and Vacuum Fluctuations During Automatic Milking. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 4605–4605, 2006.
- RENEAU, J. K. et al. Association between hygiene scores and somatic cell scores in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, p. 1297–1301, 2005.
- RODENBURG, J. Robotic milkers: what, where...and how much!! ???. In: OHIO DAIRY MANAGEMENT CONFERENCE, p. 1–18, 2002. Columbus, Ohio. Disponível em: <<http://dairy.osu.edu/resource/Rodenburg%20paper2.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2012.

_____. The impact of robotic milking on milk quality, cow comfort and labor issues. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 51, 2012, St. Pete Beach, Florida. Disponível em: <<http://www.dairylogix.com/Document-0.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2013.

_____.; HOUSE, H. K. Field observations on barn layout and design for robotic milking of dairy cows. In: PROCEEDINGS FROM THE SIXTH INTL. DAIRY HOUSING CONFERENCE, Minneapolis, Minnesota, 2007.

_____.; WHEELER, B. Strategies for incorporating robotic milking in North American herd management. In: MCLEAN, J., SINCLAIR, M. & WEST, B. Proceedings from the first North American conference on robotic milking. Toronto, Canada, 2002.

RUEGG, P. L.; REINEMANN, D. J. Milk quality and mastitis test. **Bovine Practice**, v. 36, p. 41-54, 2002.

SANTOALHA, J. Inovação e tecnologia nas explorações leiteiras. In: PINHEIRO, C.; PINHEIRO, A. (Ed). Zootecnia de Precisão. Lisboa: Gazela Artes Gráficas Lda. 2009. p. 02-21. Disponível em: <http://rederuralajap.com/wp-content/uploads/group-documents/19/1326384503-Manual_Zootecnia_de_Precisao.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2012.

SANTOS, M. V. **Uso da condutividade elétrica do leite para detecção de mamite**, 2005. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/uso-da-condutividade-eletrica-do-leite-para-detectacao-de-mastite-26525n.aspx>>. Acesso em: 11 fev. 2013.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT OnlineDoc: version 9.2. Cary, NC, 1999.

SCHREINER, D. A.; RUEGG, P. L. Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2503–2511, 2002.

_____.; _____. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3460-3465, 2003.

SOBERON, F. et al. The effect of increased milking frequency during early lactation on milk and milk composition on commercial dairy farms. **Journal of Dairy Science**. v. 94, n. 9, p. 4398-4405, 2011.

SPERONI, M.; PIRLO, G.; LOLLI. S. Effect of automatic milking systems on milk yield in a hot environment. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 4687–4693, 2006.

SPRECHER, D. J.; HOSTETLER, D. E.; KANEENE, J. B. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. **Theriogenology**, v. 47, p. 1179-1187, 1997.

STEENEVELD, W. et al. Discriminating between true-positive and false-positive clinical mastitis alerts from automatic milking systems. **Journal Animal Science**, v. 93, p. 2559-2568, 2010.

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. M.; PETTERSON, G. Pros and cons of automatic milking in Europe. **Journal Animal Science**, v. 86 (Suppl. 1), p. 37-46, 2008.

UETAKE, K.; HURNIK, J.; JOHNSON, L. Behavioral pattern of dairy cows milked in a two-stall automatic milking system with a holding area. **Journal of animal science**, v. 75, p. 954–958, 1997.

VERCESI FILHO, A. E.; ZADRA, L. F.; VILAS BOAS, D. F. Estudo da condutividade elétrica como característica indicadora de mastite em rebanhos leiteiros. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 10, n. 1, 2013.

VIGUIER, C. et al. Mastitis detection: current trends and future perspective. **Trends in Biotechnology**, v. 27, n. 8, p. 486-493, 2009.

WAGNER-STORCH, A. M.; PALMER, R. W. Feeding behavior, milking behavior, and milk yields of cows milked in a parlor versus an automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1494–1502, 2003.

WALL, E. H; MCFADDEN, T. B. The milk yield response to frequent milking in early lactation of dairy cows is locally regulated. **Journal of Dairy Science**. v. 90, n. 2, p. 717-720, 2007.

WENZEL, C.; SCHÖNREITER-FISCHER, S.; UNSHELM, J. Studies on step-kick behavior and stress of cows during milking in an automatic milking system. **Livestock Production Science**, v. 83, p. 237–246, 2003.

WIKING, L. et al. Impact of milking frequencies on the level of free fatty acids in milk, fat globule size, and fatty acid composition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1004–1009, 2006.

WIKTORSSON, H. et al. Welfare status of dairy cows in barns with automatic milking. Relations between the environment and cow behaviour, physiologic, metabolic and performance parameters. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS, p. 40, march 2003. Disponível em: <<http://www.automaticmilking.nl>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

_____; SØRENSEN, J. **Implications of automatic milking on animal welfare**, 2004. Disponível em: <<http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=Yibi3IMyz-gC&oi=fnd&pg=PA371&dq=Implications+of+automatic+milking+on+animal+welfare&ots=5uEgs4NBRZ&sig=gliN1nuZuRvjM5D4iAJQspB1-D4>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

WOOLFORD, M. W.; WILLIAMSON, J. H.; HENDERSON, H. V. Changes in electrical conductivity and somatic cell count between milk fractions from quarters subclinically infected with particular mastitis pathogens. **Journal Dairy Research**, v. 65, p. 187–198, 1998.

ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A. Características físico-químicas do leite bovino, após o tratamento da mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* durante a lactação. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 13, 2005. 24p. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. Disponível em: <http://www.cppse.embrapa.br/servicos/publicacaogratis/boletim-de-pesquisa-desenvolvimento/boletim13.pdf/view>. Acesso em: 29 jul. 2014.

_____ et al. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 150-163, 2005.

ZECCONI, A. et al. Clinical mastitis detection by on-line measurements of milk yield, electrical conductivity and milking duration in commercial dairy farms. **Milchwissenschaft**, v. 59, n. 5/6, p. 240-244, 2004.

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. **Journal Animal Science**, v. 86 (Suppl. 1), p. 57–65, 2008.

CAPÍTULO II

ELECTRICAL CONDUCTIVITY AS A CLINICAL AND SUBCLINICAL MASTITIS DETECTOR IN ROBOTIC MILKING, AND ITS RELATIONSHIP WITH OTHER INDICATORS OF INTRAMAMMARY INFECTION¹

¹Artigo escrito de acordo com as normas da Preventive Veterinary Medicine

Electrical conductivity as a clinical and subclinical mastitis detector in robotic milking, and its relationship with other indicators of intramammary infection

Abstract

This study evaluated electrical conductivity (EC) in automatic milking systems (AMS) as an indicator of intramammary infection (IMI), and its relationship with milk composition and pathogens. One of the aims was to determine cut-off points for subclinical mastitis (SM) and clinical mastitis (CM), and compare the accuracy of EC with the California Mastitis Test (CMT) and somatic cell count (SCC). Seventy-two Holstein cows confined in free stalls and milked via robotic milking system were used in the study. Data were collected from one mammary quarter per cow, referring to one the day per month for four months. Prior to data collection, the cows were divided into 4 groups based on EC; ≤ 4.6 , $4.7\text{--}5.5$, $5.6\text{--}6.4$, and ≥ 6.5 milliSiemens/cm (mS/cm). Inter-quarter ratios (IQR) were calculated by dividing the value derived from the mammary quarter with the highest EC by the average of the 2 mammary quarters with the lowest EC. The CMT was conducted prior to milking, and samples were collected from mammary quarters yielding a positive CMT, for microbiological culture. Two composite samples of milk were collected from each mammary quarter, one to determine ions levels and one for the analysis of solids and SCC. Cows were deemed to be subclinically infected if they yielded a positive microbiological culture but exhibited no symptoms of mastitis, and clinically infected if they exhibited symptoms of mastitis and a positive microbiological culture. EC was strongly positively associated with Na^+ , chloride, SCC, major pathogens, and mastitis detection index (MDI), and negatively associated with lactose content. The best EC cut-off points for CM and SM were ≥ 5.9 mS/cm and 5.3 mS/cm respectively. IQRs ≥ 1.15 and 1.12 were estimated as the best cut-off points for CM and SM respectively. Based on the área unde curve (AUC), the EC, SCC, and CMT yielded similar accuracy with regard to the diagnosis of CM and SM. The major pathogens were associated with CM and a mean EC of 6.35 mS/cm. EC data were strongly associated with the presence of major pathogens, and the lactose and ion content of milk. Milk from mammary quarters with an EC ≥ 5.90 mS/cm or an IQR ≥ 1.15 can be considered indicative of CM. The CMT and SCC can be used to complement the diagnosis of mastitis in cows milked via AMS in cases of elevated EC.

Keywords: Electrical conductivity; automatic milking system; mastitis; dairy cows.

Abbreviations

AMS: automatic milking system

AUC: area under the curve

BHI: brain heart infusion

CM: clinical mastitis

CMT: California Mastitis Test

CNS: coagulase-negative staphylococci

DIM: days in milk

EC: electrical conductivity

IQR: inter-quarter ratio

MDI: mastitis detection index

IMI: intramammary infection

mS: milliSiemens

ROC: receiver operating characteristic

SCC: somatic cell count

SCS: somatic cell score

SE: sensitivity, defined by the proportion of diseased animals correctly diagnosed

SM: subclinical mastitis

SP: specificity, defined by the percentage of correctly identified healthy animals

#AUC: difference between the areas under the curve

Introduction

The recent increase in automated milking has resulted in the development of various technical processes for the analysis of milk components, such as the use of the electrical conductivity (EC) of the milk as an indirect but rapidly determinable method for diagnosing intramammary infection (IMI). In this context, EC is determined via a conductivimeter that assesses the capacity of a solution to conduct an electrical current between two electrodes, and is measured in milliSiemens per centimeter (mS/cm) (Norberg, 2005). The principle is based on the measurement of the concentrations of sodium (Na^+), potassium (K^+), and other free ions in the milk (particularly chloride), which are directly proportional to EC (Gáspárdy et al., 2012). In the event of inflammation, such entities can cross the blood barrier and may then thereafter adversely affect the lumen of the alveoli of the udder. This process occurs due to

increased vascular permeability, the destruction of cell junctions, and the induction of an ion pumping system caused by the inflammatory process (Zafalon et al., 2005).

In automatic milking systems (AMS), human employees are replaced by an automatic mastitis detection system consisting of sensors that measure the properties of the milk including EC, color, and yield, and apply an algorithm that can transform that data into ‘alerts’ (Mollenhorst et al., 2012). EC is the most commonly utilized parameter for the detection of abnormalities in the milk of automatically milked cows (Rasmussen et al., 2002), and is measured via electrodes placed on the milk line which then generate indicators of IMI via software that analyzes a combination of EC and other variables.

The accurate and early diagnosis of IMI is critical to its control, and the timely diagnosis of clinical mastitis (CM) is a critical aspect of AMS. According to Gáspárdy et al. (2012) EC can be influenced by various factors including variation between cows, herds, and breeds, lactation stage, milking intervals, the fat content in milk, the types and intake of feed, milk temperature, milking time, collected milk fraction, deposits of fat, minerals, and dirt on the electrodes of the sensors, and the pathogenicity of the causative microorganism of CM. Zafalon et al. (2005) reported that the diagnostic tests available for detecting subclinical mastitis (SM) yielded differential results due to differences in the host-response to infection, the microorganism responsible, and how the affected mammary quarter was affected. Norberg et al. (2005) reported that infections caused by different bacterial species can affect EC evaluation differently. Woolford et al. (1998) reported that the EC varies with the causative microorganisms of mastitis and decreased with the course of milking.

Milk color analysis has been used in AMS to detect indications of infection-related mastitis, where the presence of a yellow color or blood in the milk can be highly indicative of mastitis (Viguier et al., 2009). However, fat may also influence the color of milk, therefore some color sensors cannot detect SM (Hovinen et al., 2006). In AMS, EC is normally used in

conjunction with the analysis of milk production rate, flow rate, temperature, and color (de Mol and Ouweltjes, 2001). A combination of various alerts (SCC, EC, milk color, and planned production) may facilitate greater sensitivity in the detection of mastitis (Steenneveld et al., 2010), resulting in more accurate assessment of the health of the mammary glands of herds, and the quality of the dairy products derived from them.

The accuracy of the indicators of IMI can be assessed via sensitivity (SE), which is the proportion of diseased animals that are correctly diagnosed, and specificity (SP), which corresponds to the percentage of correctly identified healthy animals. According to Hovinen and Pyörälä (2011), a method for automatic detection of abnormal milk should have an SE greater than 70% and an SP greater than 99%. The accuracy of the detection of mastitis in AMS is highly dependent on the algorithms used, and the combination of methods used (Hovinen et al., 2006).

Ilie et al. (2010) reported that in the mammary quarters of 50 cows in lactation classified as healthy, subclinical, and clinically infected, the averages of the absolute EC were 4.53 mS/cm ($n = 21$), 5.42 mS/cm ($n = 115$), and 6.31 mS/cm ($n = 52$) respectively. A common approach for identifying mammary quarters with mastitis utilizes the inter-quarter ratio (IQR) to compare the mammary quarters of the animal (Norberg et al., 2004). Comparison between mammary quarters is preferred rather than the absolute EC (Nielen et al., 1992; Norberg et al., 2004). Mammary quarters with EC 15% greater than the average EC of the two mammary quarters with the lowest EC have a high possibility of being infected (Woolford et al., 1998).

With regard to the detection of mastitis, EC can yield false positives and false negatives, thus there is a need for other indirect methods which can be used to aid diagnosis of both subclinical and clinical mastitis. AMS are associated with a relatively large percentage of false positive alerts (Steenneveld et al., 2010), because the measurement of EC in milk may

not be sensitive enough to reliably detect IMI, especially SM (Hamann and Zecconi, 1998; Bruckmaier et al., 2004a).

The combination of EC and other indicators such as somatic cell count (SCC) and the California Mastitis Test (CMT) needs to be better evaluated, because increased milk EC is directly proportional to increased inflammation of the udder. High EC can also be associated with changes in the composition and production of milk. In severe cases of CM, the mammary alveoli are damaged and lose their anatomical integrity. In such cases the blood-milk barrier is breached, and extracellular components such as chloride, sodium, hydrogen, potassium, hydroxide ions, and blood are mixed with the milk (Zhao and Lacasse, 2008). Other changes in EC and milk lactose reflect damage to the epithelium of the udder and the blood-milk barrier. Lactose may be reduced by 5–20%, the major milk protein casein may be reduced by 6–18%, and total solids may be reduced by 3–12% (Elias et al., 2005). Thus, the association between indicators such as SCC, CMT, EC, pH, chloride content, and lactose can be used in the detection of inflammation (Pyörälä, 2003).

SM is commonly diagnosed by SCC, or subjectively by the CMT. In breeding programs of dairy cattle, EC can be used as an indicator of mastitis resistance, rather than SCC (Norberg et al., 2004), because according to Janzekovic et al. (2009) there is a positive correlation between SCC and EC. Increases in the EC of milk are directly proportional to increases in the severity of infection of the udder and SCC (Vercesi Fillho et al., 2013). Nascif Júnior et al. (2006) reported that the CMT had the highest SE (100%) between tests, and EC had greater SP (86.98%). These authors suggested that the physiological changes that occur at the beginning and end of the lactation period may significantly interfere with the interpretation of EC and the results of the CMT. This problem can be minimized by the use of both tests, since they are based on different types of inflammatory responses.

As AMS have recently been introduced in Brazil, there is a need for EC and its relationship with the constituents of milk, and other diagnostic methods, to be evaluated under the specific milk production conditions in the country. The main aims of such research should be optimizing the detection of IMI, monitoring milk quality, and determining the prevalence of pathogens causing mastitis and their impact on EC.

The current study aimed to evaluate EC as an indicator of SM and CM in AMS, and the relationships between EC and ion concentrations, SCC, milk composition and production, and mastitis-causing organisms. It also aimed to determine EC cut-off points for the different forms of mastitis, and compare the accuracy of EC for the diagnosis of mastitis with that of other methods such as SCC and the CMT.

Material and methods

Experiment site and experimental groups

The experiment was conducted on a farm with an AMS located in Castro, Parana State, Southern Brazil ($24^{\circ} 47' 10''$ south latitude, $49^{\circ} 50' 57''$ west longitude, and 988 meters above sea level) from March 2014 to June 2014. During this period, data were collected from 72 Holstein cows, both primiparous and multiparous, housed in free stall and milked automatically. Data were collected from one mammary quarter per cow, one day per month for four months, 18 cows were evaluated each month. The cows were divided into four groups based on the EC of the assessed mammary quarter (EC: ≤ 4.6 , $4.7\text{--}5.5$, $5.6\text{--}6.4$, and ≥ 6.5 mS/cm), stage of lactation and parity.

The choices of cows and mammary quarters were based on data from the previous milking, including lactation order, days in milk (DIM), EC, and mastitis detection index (MDITM), which were registered in the management software (DelProTM, DeLaval, Tumba, Sweden) of the voluntary milking system (VMSTM, DeLaval, Tumba, Sweden). To decrease

the effect of the cow, from the mammary quarters not assessed, at least one mammary quarter should present EC different to the group for which the cow was classified. At the time of the evaluations, cows had an average of 2.1 ± 1.1 lactations, had 138.2 ± 99.3 days in milk, were milked 2.3 ± 0.7 times a day, and produced 32.0 ± 12.4 kg of milk per day.

Records and data collection

EC, milk production, and milk flow data were obtained electronically during milking, using sensors embedded in the milk line. The MDITM, composed of the EC, presence of blood in milk, milk yield, and milking interval was calculated by the management system. These data were processed by DelProTM and digitally stored. The IQR was calculated by dividing the EC of the mammary quarter with the highest reading by the mean of the two mammary quarters with the lowest EC. EC data, SCC, percentages of protein, fat, and lactose, and the concentrations of Na⁺ and chloride were measured in one mammary quarter selected per cow.

Sample collection and laboratory tests

Two composite milk samples (early, middle, and end of milking) were collected manually from the mammary quarter selected, one for determining milk composition (% of fat, protein, lactose, and SCC) and the other for ion concentration analysis (Na⁺ and chloride). A single sample of milk was collected from all mammary glands that exhibited EC > 4.6 mS/cm before milking, and a CMT score higher than positive a cross (P+) in mammary quarters with EC below 4.6 mS/cm, for microbial culture. The CMT was conducted before milk collection for microbiological culture, discarding the first stripping.

Samples for the analysis of milk composition (fat, protein, and lactose) and SCC were collected in standard bottles containing the preservative bronopol (2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol), and analyzed by the Dairy Herd Analysis Program (PARL) laboratory of the Parana

Association of Holstein Cattle Breeders (APCBRH) in Curitiba, Paraná State. The methods used for analysis of milk composition were infrared absorption as determined by a Bentley 2000TM instrument (Bentley Instruments Inc., Chasca, MN, USA) in accordance with the International Dairy Federation (IDF) 141 C, and for SCC were used flow cytometry performed with a Somacount 500TM instrument (Bentley Chasca Instruments Inc., MN, USA) in accordance with the ISO 13366-2/IDF 148-2 protocol for raw milk.

For the determination of chloride and Na+, milk samples were stored in a styrofoam box with ice and delivered to the laboratory on the same day of collection. The determination of chloride was conducted via the titration method (Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 845-846) and Na⁺ was determined via the atomic absorption spectrometry method (Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 399-401) at the Physical Chemistry Laboratory of the ABC Foundation, Castro, Paraná State, in accordance with the methodology of the Association of Official Analytical Chemists (Method 973.53).

Microbiological culturing was performed by the Labvet laboratory in Carambeí, Paraná State, in accordance with the norms established by the National Mastitis Council (2004) for the sampling and microbiological testing of milk. The milk for microbiological analysis was collected in sterile bottles. Before collection, the first stripplings were discarded. Sterilization of the end of the teat was achieved via cotton soaked in alcohol (70%). The bottles were identified by a number, which was recorded in a spreadsheet with the number of the cow and the corresponding mammary quarter. The numbered bottles were stored in a box with ice. The boxes were delivered to the laboratory on the same day of collection, and microbiological culturing was initiated the next day.

For each sample, 10 µL was streaked onto a sterilized blood agar plate with a calibrated loop, then incubated for 24–72 hours at 36° C. Gram-positive and Gram-negative bacteria were distinguished via 3% potassium hydroxide. The Gram staining method was used

to ascertain colony morphology and identify the microorganisms. The identification of Gram-positive cocci was based on colony morphology, the catalase test, coagulase, hemolysis patterns, the esculin reaction, sodium hippurate, and growth in brain heart infusion (BHI) broth. The identification of Gram-negative pathogens was based on features of the colonies and lactose reaction, citrate utilization, motility development, oxidase reaction, and the triple sugar iron slant reaction.

Statistical analysis

The mammary quarters were considered healthy if they elicited an EC of less than 4.6 mS/cm and a negative CMT or negative bacteriological examination, subclinically infected when they yielded a positive culture for pathogens but did not exhibit CM symptoms, and clinically infected when they exhibited CM symptoms and yielded a positive microbiological culture. The results of bacteriological testing for major and minor pathogens were coded as 0 or 1 for no growth and growth respectively. The relationships between ion concentrations, SCC, and milk composition and production as determined via indirect methods (EC, SCC, and MDITTM), and the results of direct bacterial testing in cases of mastitis were assessed via multivariate analysis (factor analysis). These analyses were conducted via the SAS statistical package (version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) using FACTOR procedures with PROMAX rotation, and the data were standardized using the STANDARD procedure of that same statistical package. The SCC data were converted to a somatic cell score (SCS) via a logarithmic scale ($SCS = \log_2 (SCC / 100) + 3$).

The cut-off point, SE, and SP of the EC and IQR, and comparisons between the indirect IMI diagnosis methods (using the bacterial culture variables for SM, and clinical symptoms for CM) were estimated using receiver operating characteristic (ROC) curves via the MedCalc statistical software (version 15.6.1, MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

These analyses were based on the area under the curve (AUC) and the difference between the areas under the curve (\neq AUC) when the indirect methods were compared pairwise. The ability of EC to reflect the health of each mammary quarter was expressed as SE and SP. The study was approved by the Ethics Committee on Animal Experiments of the Santa Catarina State University, in accordance with protocol number 1.64.13.

Results

Descriptive statistics

Mean values and the dispersion of milk yield and composition indicators (fat, protein, lactose, sodium and chloride), and the parameters used to assess the health of the mammary gland (EC, SCC, SCS, CMT, IQR, and MDI) are shown in Table 1.

Table 1

Descriptive analysis of milk yield and composition, and indicators of the health of the mammary glands of 72 cows.

Variable	Unit	Mean	SD ^a	Minimum	Maximum
Milk yield	Kg/day	32.00	12.40	7.80	68.31
EC ^b	mS/cm	5.60	0.98	4.20	8.10
Fat	%	3.00	1.13	1.53	6.80
Protein	%	3.36	0.37	2.64	4.24
Lactose	%	4.28	0.66	2.73	5.17
Chloride	%	0.25	0.07	0.13	0.55
Sodium	%	0.08	0.06	0.02	0.34
SCS ^c	Log2	4.31	3.50	-1.06	9.57
Milk flow	Kg/min	1.70	0.67	0.48	3.07
CMT	Score	1.72	1.68	0.00	4.00
IQR ^d	Score	1.14	0.12	1.01	1.60
MDI ^e	Score	1.52	0.53	1.00	2.80

^aSD - Standard deviation.

^bEC – Electrical conductivity

^cSCS - Somatic cell score = log 2 (somatic cell count / 100) + 3.

^dIQR - Inter-quarter ratio = mammary quarter with the highest EC divided by the mean of the two quarters with the lowest EC.

^eMDI - Mastitis detection index (EC, presence of blood in the milk, milk yield, and milking interval)

Analysis of the relationships between variables

In factor analysis, the three main factors involving the variables of milk yield and composition, milk flow, and mastitis indicators, and the results of microbiological analysis for major and minor pathogens explained 64.7% of the variability in the data (Table 2).

Table 2

Factor loadings, communalities, percentages of variance in milk production, composition, and flow, mastitis indicators, and the prevalence of pathogens.

Variables	Factors ^a			Communalities
	1	2	3	
EC (mS/cm)	0.9280	0.1318	0.0672	84.9
SCS	0.8461	-0.0157	0.1836	75.6
Chloride (%)	0.8452	0.0038	-0.0795	71.9
MDI	0.8336	-0.0406	-0.0293	70.6
Sodium (%)	0.7645	0.0886	-0.2248	62.4
Major pathogens	0.5788	-0.0156	-0.4461	53.1
Lactose (%)	-0.8427	0.0957	-0.1867	78.1
Yield milk (kg/day)	-0.0872	0.8422	0.1353	74.0
Milk flow (kg/min)	0.1423	0.6091	-0.0349	37.1
Fat (%)	-0.0465	-0.7134	0.0076	50.3
Minor pathogens	-0.0014	0.1033	0.8523	72.6
Protein (%)	0.1228	-0.4317	0.4643	45.8
% Variance	39.1	15.2	10.4	

^aFactors formed by factor analysis; EC - electrical conductivity, SCS - somatic cell score, MDI - mastitis detection index.

Factor 1 (F1) explains 39.1% of the variation in the factorial analysis (Fig. 1 and Table 2), and was formed by methods for diagnosing mastitis (EC, ECS, and MDITTM), major pathogens, and concentrations of chloride, Na⁺, and lactose. All indirect indicators of udder health were strongly associated with the presence of major pathogens and levels of sodium and chloride. Lactose content was inversely associated with diagnostic methods (EC, SCS, and MDI), and consequently with IMI (Fig. 1).

Factor 2 (F2) explained 15.2% of the total variation (Fig. 1 and Table 2), and was associated with indicators of milk yield, composition, and flow. There was a positive

relationship between milk yield and milk flow, and an inverse relationship between milk yield and levels of fat and protein.

Factor 3 (F3) (Table 2) is comprised of milk protein and minor pathogens, which were positively related. As shown in Fig. 1, milk yield, composition, and flow were not associated with IMI diagnosis methods, the presence of major or minor pathogens, or the concentrations of ions or lactose.

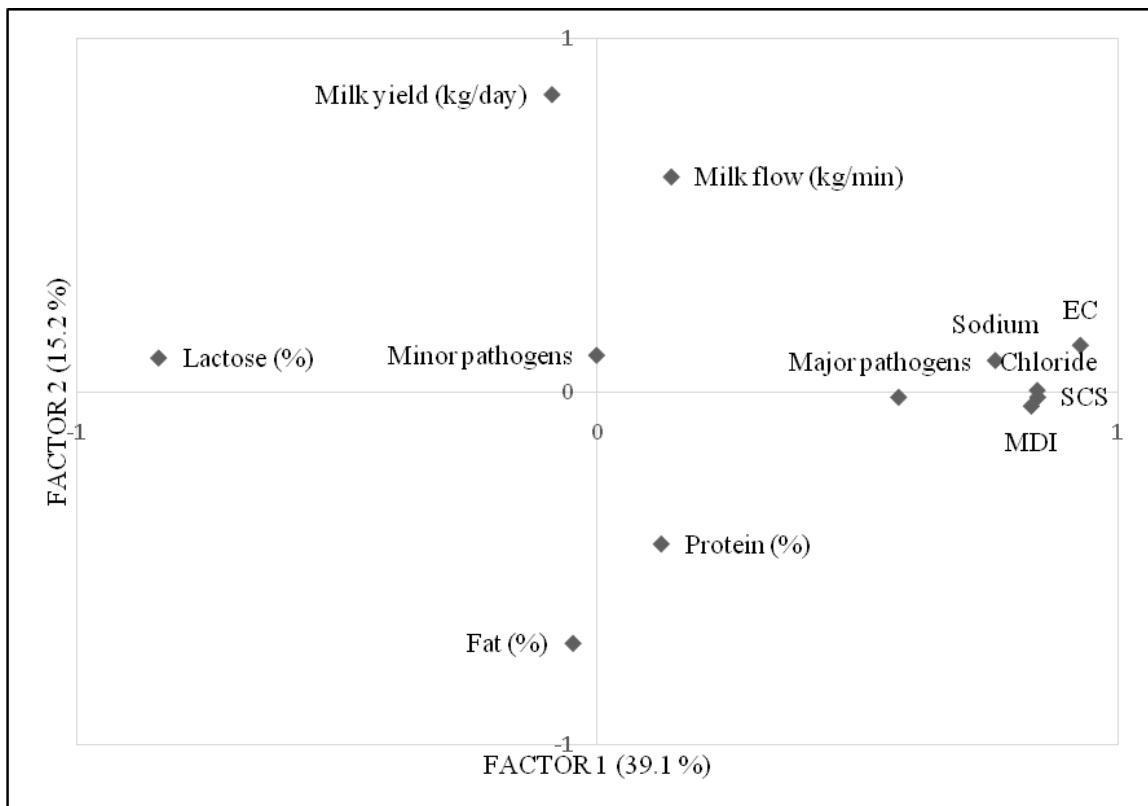


Fig. 1. Dispersion of factor loadings, and connections between factors 1 and 2 in the factor analysis and milk yield, composition, and flow, electrical conductivity (EC), mastitis detection index (MDI), somatic cell score (SCS), and the presence of major and minor pathogens (72 cows).

Cut-off points, SE, and SP of EC in subclinical and clinical mastitis

For each possible EC cut-off point for CM and SM, SE and SP were estimated (see Fig. 2 and 3 respectively). The cut-off points for EC as an indicator of CM and SM were estimated from points > 5.8 and 5.2 mS/cm respectively in the AUC. For IQR, the cut-off points were estimated to be > 1.15 and 1.12 for CM and SM respectively.

The best cut-off point for CM was estimated to be EC > 5.8 mS/cm, with an SE of 90.5%, an SP of 84.3% (Fig. 2), and an AUC of 0.917 ($P < 0.0001$; Table 3), indicating that EC had a high capacity to discriminate affected mammary quarters in this form of mastitis, using this cut-off point. An IQR > 1.15 was the best cut-off point for CM, with an SE of 76.2% and an SP of 76.5%, and an AUC of 0.820 ($P < 0.0001$; Table 3), indicating that IQR had a good capacity to discriminate mammary quarters with CM using this cut-off point.

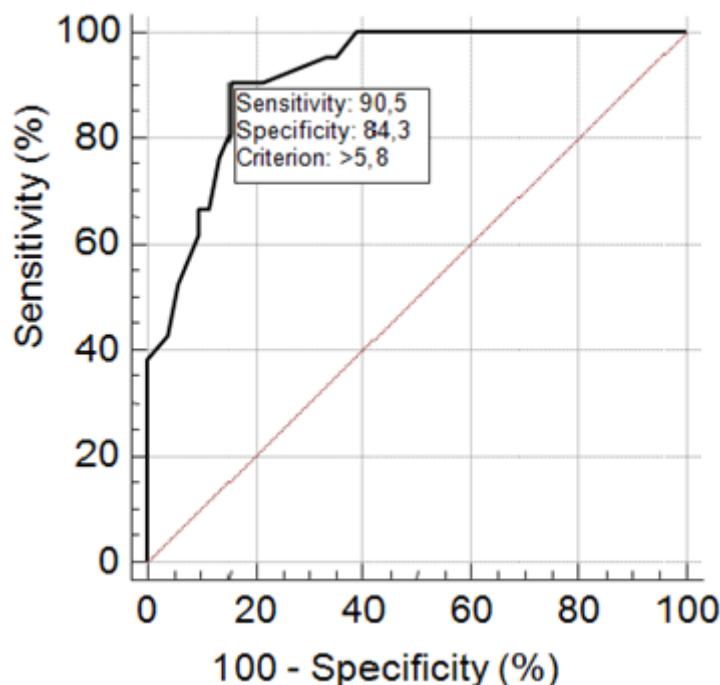


Fig. 2. Area under the curve, cut-off point (criterion), sensitivity, and specificity of electrical conductivity as an indicator of clinical mastitis of 72 cows.

The optimal EC cut-off point for SM was estimated to be > 5.2 mS/cm, with an SE of 91.9% and SP of 68.5% (Fig. 3), and an AUC equal to 0.873 ($P < 0.0001$), representing good accuracy (Table 3). With an SE of 73.0% and SP of 82.9%, an IQR > 1.12 was the best cut-off point estimated for SM, with an AUC equal to 0.848 ($P < 0.0001$), also representing good accuracy (Table 3).

Table 3

Number of positive (Pos) and negative (Neg) cases, area under the ROC curve (AUC), standard error (StE), P values, cut-off point, sensitivity (SE), specificity (SP), and limits for clinical and subclinical mastitis of electrical conductivity (mS/cm) and inter-quarter ratio (IQR).

Mastitis	Pos	Neg	AUC	StE	P-value	Cut-off	SE	SP	Limits ^a
Absolute EC									
Clinical	21	51	0.917	0.031	< 0.0001	5.8	90.5	84.3	≥ 5.9
Subclinical	37	35	0.873	0.040	< 0.0001	5.2	91.9	68.5	$\geq 5.3 - \leq 5.8$
Relative EC – IQR									
Clinical	21	51	0.820	0.051	< 0.0001	>1.15	76.2	76.5	≥ 1.16
Subclinical	37	35	0.848	0.047	< 0.0001	>1.12	73.0	82.9	$\geq 1.13 - \leq 1.15$

^aLimits for mammary quarters with clinical and subclinical mastitis.

Table 3 shows the results for the cut-off points and limits estimated for the EC of milk indicating CM and SM, in which EC ≥ 5.9 mS/cm may be considered indicative of CM, and EC between 5.3 and 5.8 mS/cm may be considered indicative of SM. On the other hand, milk with an EC ≤ 5.2 mS/cm can be considered normal. As shown in Table 3, with regard to mammary quarters, an IQR ≥ 1.16 can be considered indicative of CM, and an IQR between 1.13 and 1.15 can be considered indicative of SM. Milk with an IQR ≤ 1.12 can be considered indicative of a healthy state.

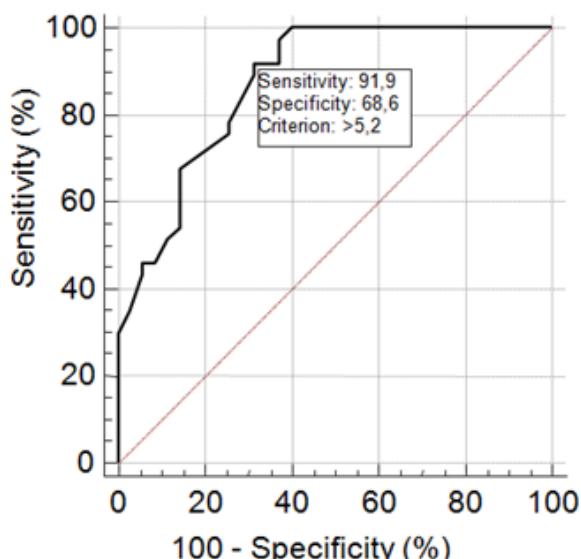


Fig. 3. Area under the curve, cut-off point (criterion), sensitivity and specificity of electrical conductivity as an indicator of subclinical mastitis of 72 cows.

Comparisons of EC with other mastitis indicators

The ROC curve allows the comparison of two or more tests. The investigation of secondary methods of detection of IMI (EC, CMT, and SCS) revealed significant differences between the results when the methods were assessed by determining the AUC and when they were assessed via the \neq AUC when compared pairwise (Table 4). Thus, it was possible to quantify and compare the accuracy of diagnostic tests (proportional to the AUC and \neq AUC) in the aforementioned cases of CM and SM based on the EC measured in the AMS milk line.

Table 4

Comparisons between pairs of ROC curves for the EC, CMT, and SCS variables, considering the AUC, standard error (StE), and \neq AUC, and significance levels for the diagnosis of CM and SM.

Variable	Pos ^a	Neg ^b	AUC	StE	CMT			SCS		
					\neq AUC	StE	P-value	\neq AUC	StE	P-Value
Clinical mastitis										
EC			0.917	0.031	0.036	0.031	0.245	0.000	0.059	1.000
CMT	21	51	0.954	0.023	-	-	-	0.036	0.041	0.371
SCS			0.917	0.049	-	-	-	-	-	-
Subclinical mastitis										
EC			0.873	0.040	0.0266	0.041	0.517	0.0015	0.042	0.970
CMT	37	35	0.846	0.046	-	-	-	0.0282	0.040	0.480
SCS			0.875		0.040	-	-	-	-	-

^aPos – positive cases

^bNeg – negative cases

As shown in Fig. 4 and Table 4, the AUC for CMT, SCS, and EC were similar (0.954, 0.917, and 0.917 respectively) when they were evaluated as CM indicators, and the \neq AUC (EC x CMT, EC x SCS, and CMT x SCS) were not significant ($P = 0.245$, 1.00, and 0.371, respectively).

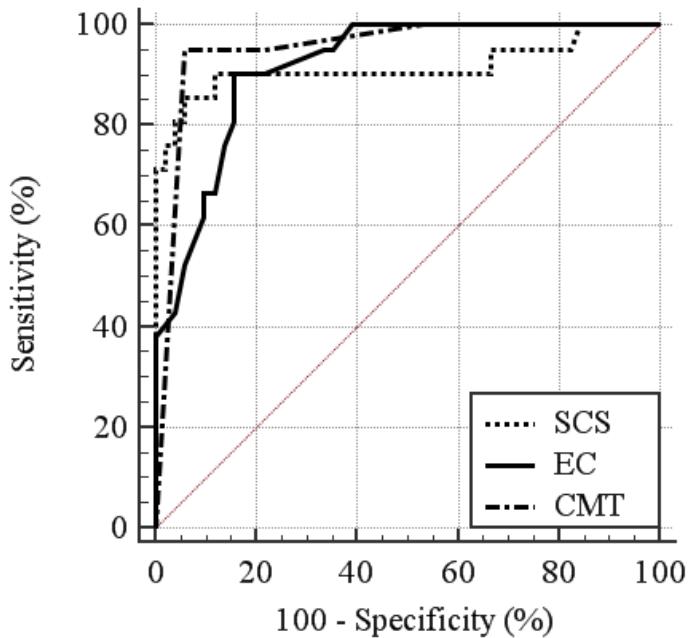


Fig. 4. Comparison of ROC curves for the diagnosis of clinical mastitis based on electrical conductivity, the California Mastitis Test, and somatic cell score of 72 cows.

For SM, the ROC curves (Fig. 5) behaved similarly to those for CM, *i.e.*, the AUC for SCS, the CMT, and EC were similar (0.875, 0.846, and 0.873, respectively), and comparison of the \neq AUC (EC x CMT, EC x SCS, and CMT x SCS) also showed no significant differences ($P = 0.517$, 0.970, and 0.480, respectively) (Table 4).

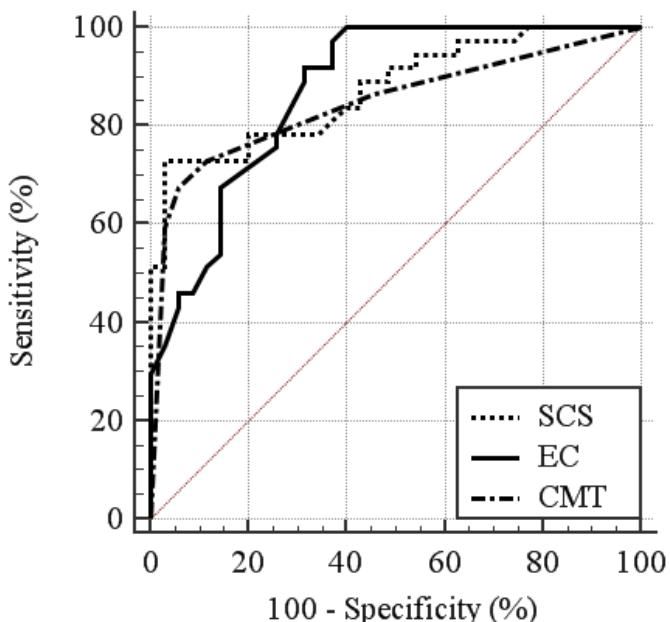


Fig. 5. Comparison of ROC curves for the diagnosis of subclinical mastitis based on electrical conductivity, the California Mastitis Test, and somatic cell score of 72 cows.

EC and the prevalence of pathogenic agents of bovine mastitis

The results of microbiological culture are shown in Table 5. In 59.2% of the samples collected there was bacterial growth. In 74.2% of these cases, major pathogens were implicated, and in the remaining 25.8% minor pathogens were implicated, with associated EC means of 6.35 and 5.83 mS/cm respectively. *Bacillus* spp. was the most prevalent of the major pathogens, accounting for 22.6% of the total infected quarters, with an associated mean EC of 5.93 mS/cm.

Table 5

Results of microbiological culturing of milk from 52 mammary quarters with major and minor pathogens, and cases where there was no growth (NG), and their median EC.

Pathogens isolated	Number of mammary quarters	% Total mammary quarters	% Total mammary quarters infected	EC median (mS/cm)	Standard Devation
Major pathogens:					
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	7.69	12.90	6.30	0.38
<i>Bacillus</i> spp.	7	13.46	22.58	5.93	0.96
<i>Escherichia coli</i>	2	3.85	6.45	7.55	0.35
<i>Streptococcus bovis</i>	1	1.92	3.23	5.30	0.00
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	7.69	12.90	6.60	1.06
<i>Streptococcus uberis</i>	1	1.92	3.23	6.20	0.00
<i>Streptococcus</i> spp.	4	7.69	12.90	6.60	0.55
Minor pathogens:					
CNS ^a	5	9.62	16.13	6.10	0.84
<i>Corynebacterium bovis</i>	3	5.77	9.68	5.40	0.45
NG	21	40.80			

^aCNS - Coagulase-negative staphylococci.

With regard to minor pathogens, there was a high prevalence of coagulase-negative staphylococci (CNS), which were detected in 16.13% of the total number of infected quarters and were associated with a mean EC of 6.10 mS/cm. *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Streptococcus* spp. were associated with higher average EC; 7.55, 6.60, and 6.60 mS/cm respectively.

Discussion

As most of the cows included in the experiment had SM ($n = 37$) or CM ($n = 21$), the mean fat, and particularly lactose contents (Table 1) were below the averages for normal milk described by Philpot and Nickerson (2002), and concentrations of chloride ions and sodium were close to the values ascribed to milk with a high SCC. Mean EC values were above those of normal milk reported in previous studies such as Vercesi Filho et al. (2013) and Norberg et al. (2004).

In the factor analysis the first factor (F1) showed positive and relatively high EC ratios, and inflammatory processes were indicated by the variables Na^+ and chloride (Fig. 1), reflecting the passage of these ions from the bloodstream into the milk. Lower lactose levels corresponded with worse milk quality and more severe IMI. Therefore, there was an impairment of lactose content due to damage to the mammary gland tissues, leading to reduced synthesis of enzymes in the secretory cells, reducing the biosynthesis of lactose (Pyörälä, 2003). The relevant enzymes and ions are released as a result of an immune response by the animal against infection and chemical changes in cell membranes (Mottram et al., 2007). Results reported by Zhao and Lacasse (2008) in an investigation of the damage caused by mastitis in the mammary gland clearly indicate that the presence of microorganisms is associated with tissue damage. Bruckmaier et al. (2004b) evaluated the changes that occur in mastitic milk, and reported that the concentrations of fat, sodium, and chloride were significantly higher ($P < 0.05$), whereas the lactose content was significantly lower ($P < 0.05$) than that of milk derived from healthy mammary quarters.

In cases of alerts due to elevated EC, bacteriological culture is advisable to confirm mastitis, and according to Hovinen et al. (2006) it is not good to rely solely on CM detection methods, particularly in potential cases of SM. Beyond microbiological culture, other indirect methods such as MDITM and SCS were associated with IMI and can be used to detect and

monitor mastitis, thus serving as auxiliary tests to confirm the diagnosis of IMI in cases of alerts due to high EC. With regard to F2, it is possible that higher production and/or volume of milk in the udder resulted in higher internal pressure, and consequently a greater milk flow, and milk fat and protein contents were lower due to the higher milk yield. (Fig. 1).

With regard to the EC cut-off points for CM ($> 5.8 \text{ mS/cm}$) and SM ($> 5.2 \text{ mS/cm}$), that for CM yielded greater accuracy and SP (AUC = 0.917 and 84.3% respectively) than that for SM (AUC = 0.873 and 68.5%, respectively). The SE for CM and SM were similar (90.5 and 91.9% respectively). In a study reported by Elizalde et al. (2009), the best EC results based on AUC were associated with SCC greater than 500,000/mL of milk, with a reported AUC of 0.82, and SE and SP of 78.0% and 79.1% respectively. The higher AUC and SE associated with CM as compared to SM can be attributed to the increased passage of chloride and Na^+ from the bloodstream into the milk due to an inflammatory response. The specificity of this study was lower than that reported by other authors (Mottram et al., 2007; Steeneveld et al., 2010; Hovinen and Pyörälä, 2011), due to the configuration of the management software for mastitis alerts, the inflammatory response and the fact that milking robotic have were only recently introduced on this farm.

Milk with $\text{EC} \leq 5.2 \text{ mS/cm}$ can be considered normal. Vercesi Fillho et al. (2013) reported a average and standard deviation for normal milk of $4.799 \pm 0.543 \text{ mS/cm}$. Nielen et al. (1992) and Hamann and Zecconi (1998) reported average of EC values of milk from healthy cows, subclinically infected cows, and clinically infected cows of 5.3 ± 0.03 , 5.75 ± 0.04 , and $6.73 \pm 0.06 \text{ mS/cm}$ respectively. Norberg et al. (2004) reported a healthy average EC value of milk from healthy mammary quarters of 4.87 mS/cm , and for milk from cows with SM and CM they reported EC averages of 5.37 and 6.44 mS/cm respectively.

Based on data from this study, milk from mammary quarters with no EC of ≤ 5.2 , $\geq 5.3 - \leq 5.8$, and $\geq 5.9 \text{ mS/cm}$ can be considered indicative of no mastitis, SM, and CM

respectively. These parameters are of potential importance for the configuration of management software for the issuance of alerts of mastitis based on EC.

Milk with IQRs ≥ 1.16 and $\geq 1.13 - \leq 1.15$ may be considered indicative of CM and SM respectively, and an $IQR \leq 1.12$ indicative of normal milk. Woolford et al. (1998) reported that milk from mammary quarters with EC 15% greater than the mean reading of the two mammary quarters with the lowest EC, or an IQR greater than 1.15, had a high probability of being infected. According to Hovinen et al. (2006), milk with an IQR of 1.15 generates considerably more alerts than milk with an IQR of 1.20.

EC, SCC, and the CMT yielded similar accuracies with regard to the AUC in cases of CM (Fig.4) and SM (Fig. 5). In accordance with Zhu et al. (2010), considering the AUC, the accuracy of these methods for CM can be classified high ($AUC > 0.90$) and for SM it can be classified as moderate ($AUC > 0.80$ and < 0.90). In pair-wise comparisons based on the ΔAUC , there were no statistically significant differences detected for CM or SM. Davis and Reinemann (2002) reported correlations between CMT, SCS, and EC, though the actual coefficients were low. Kasikic et al. (2012) reported that EC yielded results similar to CMT and SCC in the detection of SM, and additionally, increased reliability when it was used in conjunction with other diagnostic methods.

On the other hand, Kamphuis et al. (2008) reported a low correlation coefficient between EC and SCC, which may be due to the diversity of the physiological mechanisms evoked when bacteria enter the udder; because EC is related to the degree of destruction of the blood-milk barrier due to entry of these bacteria into the udder (Nielen et al., 1992), and SCC is strongly related to the influx of polymorphonuclear leukocytes from the blood into the udder to control mastitis-causing bacteria. In a study utilizing an experimental model of mastitis, Bruckmaier et al. (2004a) reported that the EC of milk began to increase after no increase in SCC was detected, but before clinical signs appeared. This explains, in some

cases, the higher accuracy of the SCC for the detection of mastitis compared with other methods. Bruckmaier et al. (2004b) have also reported that the EC was higher in milk from infected quarters, and added that the mean EC of milk with a mean SCS of > 6.0 was 6.06 mS/cm, while that of milk with a mean SCS of between 5.6 and 6.0 was 5.84 mS/cm. These results demonstrate that the CM detection performance of EC was improved when it was utilized in conjunction with SCC (Kamphuis et al., 2008).

When EC is the sole method used for the detection of potential mastitis, false positives and false negatives may occur. This problem can be ameliorated via the concurrent use of CMT. According to several studies, the measurement of milk EC is an inadequate method for detecting SM (Nielen et al., 1992; Hamann and Zecconi, 1998; Bruckmaier et al., 2004a; Norberg et al., 2004; Hovinen et al., 2006) and CM (Hamann and Zecconi, 1998), and abnormal milk in general. Janzekovic et al. (2009) reported a statistical difference ($P < 0.01$) between the results of the CMT and EC. According to these authors, this suggests that the two methods can complement each other in doubtful cases. After plotting ROC curves to evaluate cut-off points for CM, Fosgate et al. (2013) reported that the accuracy of EC did not differ significantly from that of the CMT.

Therefore, both the CMT and the SCC can be used as complementary methods to confirm CM in cases of alerts due to elevated EC. Because the sensitivity of EC is deficient in some situations, the diagnosis of CM can be confirmed via the concurrent use of SCC and the CMT, and additionally it may also be necessary to perform microbiological culturing to obtain a definitive diagnosis. Finally, in cases of alerts of potential CM, confirmation is required via CMT data, which has been used routinely to confirm mastitis in farms that use robotic milking.

There was a high prevalence of environmental pathogens (61.29%), especially *Bacillus* spp. (22.58%), *S. dysgalactiae*, and *Streptococcus* spp. (both with a prevalence of

12.9%) (Table 5), demonstrating the importance of cleaning and disinfecting teats before milking, and regularly cleaning aisles and cubicles, to prevent environmentally contracted mastitis. Hillerton and Walton (1991) reported that IMI due to *Streptococcus uberis* was detected in 50% of the total number of infected cases identified, and was associated with a slight increase in milk EC two milkings before the appearance of visible signs of mastitis.

The major pathogens identified in the current study were associated with a mean milk EC of 6.35 mS/cm, above the cut-off point for CM observed in this study (≥ 5.9 mS/cm). The most prevalent minor pathogens identified were *Corynebacterium bovis* and CNS, which were associated with a mean EC of 5.40 and 6.10 mS/cm respectively, and can be considered potential agents of SM and CM respectively. Some authors have reported that the SE and SP of EC were higher in cases involving major pathogens than those involving minor pathogens, due to differences in the inflammatory response relating to an increase in inflammatory markers (Elizalde et al., 2009). Pyörälä (2003) reported that mammary quarters infected with *S. aureus* and *Streptococcus agalactiae* have EC values lower than those of quarters infected with environmental streptococci. In a study reported by Woolford et al. (1998), the SE of EC was higher for major pathogens such as *S. aureus* and *S. uberis* than for CNS. In this study, considering the cut-off points for CM and SM, only *C. bovis* and *Streptococcus bovis* can be considered SM agents.

Conclusions

The EC showed a strong relationship with the presence of major pathogens that cause mastitis, and the lactose and ion (Na^+ and chloride) content of milk. Milk with an EC ≥ 5.9 or $\geq 5.3 \leq 5.8$ mS/cm can be considered indicative of CM and SM, respectively, and milk with an EC of ≤ 5.2 mS/cm can be considered indicative of a healthy state. Milk from mammary quarters with an IQR ≥ 1.16 can be considered indicative of CM. These cut-offs are important

for setting the parameters of management software responsible for the issuance of mastitis alerts based on EC. EC, SCC, and the CMT have similar accuracy with regard to the diagnosis of SM and CM, thus SCC and the CMT should be used to complement the diagnosis of mastitis based on EC alerts issued by the management software associated with AMS, due to the low SP of EC.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The collection and analysis of data of this study was partly funded by Foundation for Research and Innovation of the State of Santa Catarina (FAPESC).

References

- Bruckmaier, R.M., Ontsouka, C.E., Blum, J.W., 2004. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. *Vet. Med. - Czech* 49, 283–290.
- Bruckmaier, R.M., Weiss, D., Wiedemann, M., Schmitz, S., Wendl, G., 2004. Changes of physicochemical indicators during mastitis and the effects of milk ejection on their sensitivity. *J. Dairy Res.* 71, 316–321. doi:10.1017/S0022029904000366.
- Davis, M.A., Reinemann, D.J., 2002. Milk performance and udder health of cows milked robotically and conventionally. *Soc. Eng. Agri. Food, Bio. Syst.* 300, 1 – 8.
- de Mol, R.M., Ouweltjes, W., 2001. Detection model for mastitis in cows milked in an automatic milking system. *Prev. Vet. Med.* 49, 71–82.

- Elias, A., Victoria, C., Silva, A.V. da, Langoni, H., 2005. Características físico-químicas e contagem de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus* spp. Arq. Ciênc. Vet. Zool. ... 8, 165–169.
- Elizalde, E.F., Signorini, M.L., Canavesio, V.R., Cuatrín, A., Tarabla, H.D., Calvinho, L.F., 2009. Medición de la conductividad eléctrica en leche como método do diagnóstico de mastitis subclínica bovina. Rev. FAVE - Ciências Veterinárias 8 (1), 15–28.
- Fosgate, G.T., Petzer, I.M., Karzis, J., 2013. Sensitivity and specificity of a hand-held milk electrical conductivity meter compared to the California mastitis test for mastitis in dairy cattle. Vet. J. (London, England : 1997) 196, 98–102. doi:10.1016/j.tvjl.2012.07.026.
- Gáspárdy, A., Ismach, G., Bajcsy, A.C., Veress, G., Márkus, S., Komlósi, I., 2012. Evaluation of the on-line electrical conductivity of milk in mastitic dairy cows. Acta Vet. Hung. 60, 145–155. doi:10.1556/AVet.2012.012.
- Hamann, J., Zecconi, A., 1998. Evaluation of the electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. Bull. -FIL-IDF (Belgium) 334, 5 – 22.
- Hovinen, M., Aisla, A.-M., Pyörälä, S., 2006. Accuracy and reliability of mastitis detection with electrical conductivity and milk colour measurement in automatic milking. Acta Agri. Scand. Sect. A - Anim. Sci. 56, 121–127. doi:10.1080/09064700701216888.
- Hovinen, M., Pyörälä, S., 2011. Invited review: udder health of dairy cows in automatic milking. J. Dairy Sci. 94, 547–562. doi:10.3168/jds.2010-3556.
- Ilie, L.I., Tudor, L., Galiş, A.M., 2010. The electrical conductivity of cattle milk and the possibility of mastitis diagnosis in romania. Luc. Stiint. Med. Vet. XLIII, 220–227.

Instituto Adolfo Lutz, 2008. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4th ed. (1th ed. digital). Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, pp. 1020.
http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=20, (acessed 28.12.2014).

International Dairy federation - IDF, 1996. Whole milk determination of milk fat, protein and lactose content. Guide fir the operation of mid-infra-red instruments (IDF Standard 141 B). IDF, Brussels, Belgium, pp. 12.

International Dairy federation - IDF, 2006. ISO 13366- 2/International Dairy Federation (IDF) 148-2 – Milk – Enumeration of somatic cells – Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. IDF, Brussels, Belgium, pp. 15.

Janzekovic, M., Brus, M., Mursec, B., Vinis, P., Stajnko, D., Cubs, F., 2009. Mastitis detection based on electric conductivity of milk. J. Achiev. Mat. Manuf. Eng. 34, 39–46.

Kamphuis, C., Sherlock, R., Jago, J., Mein, G., Hogeveen, H., 2008. Automatic detection of clinical mastitis is improved by in-line monitoring of somatic cell count. J. Dairy Sci. 91, 4560–4570. doi:10.3168/jds.2008-1160.

Kasikic, G., Cetin, O., Bingol, E.B., Gunduz, M.C., 2012. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. Turkish J. Vet. Anim. Sci. 36, 49–55. doi:10.3906/vet-1103-4.

Medcalc Statistical Software, 2015. MedCalc Software, v. 15.6.1, Mariakerke, Belgium.
<https://www.medcalc.org> (acessed 15.06.2015).

- Mollenhorst, H., Rijkaart, L.J., Hogeveen, H., 2012. Mastitis alert preferences of farmers milking with automatic milking systems. *J. Dairy Sci.* 95, 2523–2530. doi:10.3168/jds.2011-4993
- Mottram, T., Rudnitskaya, A., Legin, A., Fitzpatrick, J.L., Eckersall, P.D., 2007. Evaluation of a novel chemical sensor system to detect clinical mastitis in bovine milk. *Biosen.Bioelectron.* 22, 2689–2693. doi:10.1016/j.bios.2006.11.006.
- National Mastitis Council, 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determinacion of milk quality. 4th ed. The National Mastitis Council Inc., Verona, WI, pp. 47.
- Nascif Júnior, I., Filho, A.N., OLIVEIRA, J., 2006. Sensibilidade e especificidade do califórnia mastitis test (CMT) e da condutividade elétrica do leite de vacas durante a lactação. *Ars Vet.* 22, 135–137.
- Nielen, M., Deluyker, H., Schukken, Y.H., Brand, A., 1992. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. *J. Dairy Sci.* 75, 606–614. doi:10.3168/jds.S0022-0302(92)77798-4.
- Norberg, E., Hogeveen, H., Korsgaard, I.R., Friggens, N.C., Sloth, K.H.M.N., Løvendahl, P., 2004. Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status. *J. Dairy Sci.* 87, 1099–1107. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73256-7.
- Pyörälä, S., 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet. Res.* 34, 565–578. doi:10.1051/vetres:2003026.
- Rasmussen, M.D., Bjerring, M., Justesen, P., Jepsen, L., 2002. Milk quality on Danish farms with automatic milking systems. *J. Dairy Sci.* 85, 2869–2878. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74374-9.

- SAS Institute, 1999. SAS/STAT OnlineDoc, 9.2, Cary, NC.
- Steeneveld, W., van der Gaag, L.C., Ouweltjes, W., Mollenhorst, H., Hogeweegen, H., 2010. Discriminating between true-positive and false-positive clinical mastitis alerts from automatic milking systems. *J. Dairy Sci.* 93, 2559–2568. doi:10.3168/jds.2009-3020.
- Vercesi Fillho, A.E., Zadra, L.F., Boas, D.F.V., 2013. Estudo da condutividade elétrica como característica indicadora de mastite em rebanhos leiteiros. *Pesqui. Tecnol.* 10, 1 – 7.
- Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., O’Kennedy, R., 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol.* 27, 486–493. doi:10.1016/j.tibtech.2009.05.004.
- Woolford, M.W., Williamson, J.H., Henderson, H. V, 1998. Changes in electrical conductivity and somatic cell count between milk fractions from quarters subclinically infected with particular mastitis pathogens. *J. Dairy Res.* 65, 187–98.
- Zafalon, L., Filho, A., Oliveira, J.V. de, Resende, F.D. de, 2005. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina1. *Pesq. Vet. Bras* 25, 159–163.
- Zhao, X., Lacasse, P., 2008. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J. Anim. Sci.* 86, 57–65. doi:10.2527/jas.2007-0302.
- Zhu, W., Zeng, N., Wang, N., 2010. Sensitivity , Specificity , Accuracy , Associated Confidence Interval and ROC Analysis with Practical SAS ® Implementations K & L consulting services , Inc , Fort Washington , PA Octagon Research Solutions , Wayne. NESUG Heal. Care Life Sci. 1–9.

CAPÍTULO III

**FREQUÊNCIA DE ORDENHA, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE E BEM
ESTAR ANIMAL EM ORDENHA ROBÓTICA²**

²Artigo escrito de acordo com as normas da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

Frequência de ordenha, produção e composição do leite e bem-estar animal em ordenha robótica

Resumo – Objetivou-se avaliar o impacto da frequência de ordenha sobre a produção e a composição do leite e bem-estar animal. O experimento foi realizado de março a junho de 2014, em Castro, PR, com vacas confinadas e ordenhadas automaticamente. Os dados para a formação dos grupos experimentais (1,0-1,9; 2,1-2,9 e +3,0 ordenhas/dia) foram obtidos do software de gerenciamento, exceto os teores de proteína e gordura. Foram realizados dois experimentos: um para avaliar a frequência de ordenha e outro para avaliar o bem-estar. Os escores de condição corporal, de locomoção e de hiperqueratose e o cortisol sérico foram avaliados para determinação do bem-estar. A frequência de ordenha reduziu durante a lactação motivada pela redução no consumo de concentrado e na produção de leite e foi menor em vacas com pior locomoção, porém, não afetou o nível de cortisol e não alterou as condições dos tetos. Com aumento da frequência de ordenha, o fluxo de leite reduziu e a duração da ordenha aumentou. Conclui-se que a frequência de ordenha é influenciada pelo consumo de concentrado, locomoção, produção de leite e estágio de lactação e interfere no fluxo e composição do leite e na duração da ordenha, não influenciando o bem-estar animal.

Termos para indexação: Vacas em lactação; sistema voluntário de ordenha; produção de leite; cortisol.

Milking frequency, milk yield, milk composition and animal welfare in robotic milking

Abstract – This study aimed to assess the impact of milking frequency on yield and milk composition and animal welfare. The experiment was carried out from March to June 2014, in Castro, PR, with cows milked automatically and confined. Data for the formation of the experimental groups (1.0-1.9; 2.1-2.9 and +3.0 milking /day) were assessed of management software, except milk fat content and protein. The body scores, mobility and hyperkeratosis and serum cortisol concentration were assessed for to determine animal welfare. The milking frequency reduced during lactation due to the reduction in the concentrate intake and the milk yield and was lower in cows with poor mobility, but did not affected the cortisol level and did not altered the conditions of the teats. With the increased milking frequency decreased milk flow and increased the milking duration. It is concluded that the milking frequency is influenced by concentrate intake, locomotion, milk yield and lactation stage and interferes in the milk flow and composition and milking duration, not influencing animal welfare.

Index terms: Dairy cows; voluntary milking system; milk yield; cortisol.

Introdução

A crescente falta de mão de obra e o desejo dos produtores de leite em melhorar aspectos como qualidade de vida, manejo e profissionalização da atividade leiteira têm levado a mudanças constantes e modernização de sistemas convencionais de ordenha e mais, recentemente, a adoção de sistema de ordenha robotizada (SOR). Dentre as vantagens do SOR incluem redução de mão de obra e ordenhas mais frequentes sem elevação de custos com trabalho extra. O número de ordenhas diárias depende de vários fatores, como da configuração do sistema de ordenha, número de máquinas, taxa de ocupação da máquina, tamanho de rebanho e sistema de tráfego das vacas (de Koning et al., 2002). O processo de ordenha no SOR difere da ordenha convencional na frequência, no intervalo e na distribuição diária da ordenha e nas configurações do equipamento de ordenha, procedimentos para limpeza e desinfecção dos tetos. O SOR é muito mais do que a ordenha, é um sistema de gestão em que se deve considerar a ordenha, qualidade do leite, alimentação, tráfego e comportamento das vacas, pastejo e bem estar animal (BEA) (Svennersten-Sjaunja & Pettersson, 2008).

Um dos grandes problemas da ordenha robotizada são os longos intervalos de ordenha e, principalmente, a variação do intervalo entre ordenhas, bem como os intervalos muito curtos. Longos intervalos podem levar a menor produção de leite devido à diminuição do fluxo de sangue mamário, que por sua vez regula negativamente a capacidade do úbere para extrair nutrientes do sangue (Delamaire & Guinard-Flament, 2006). Por outro lado, intervalos muito curtos (< 8 h) podem ser problemáticos devido aos tetos não terem tempo suficiente para se recuperar (Neijenhuis et al., 2001), o que poderá aumentar os riscos de saúde do úbere a longo prazo. Embora a maioria dos intervalos de ordenha no SOR variar entre 7 a 9 horas, uma variação considerável do intervalo dentro do mesmo rebanho tem sido reportada (Hogeweegen et al., 2001; Abeni et al., 2005a; Gygax et al., 2007).

O aumento na frequência de ordenhas no início da lactação, juntamente com outras técnicas como o uso de hormônio (somatotropina bovina), tem sido utilizado como alternativa para aumentar a produção de leite e reduzir os custos fixos em rebanhos com elevado mérito genético para produção. Segundo Wall & Macfadden (2007) o estímulo comprovadamente local (glândula mamária), promovido pelo aumento da frequência de ordenha no início da lactação, resulta em aumento na produção de leite. Uma análise preliminar do grupo de pesquisa de Svennersten-Sjaunja & Pettersson (2008) indicou que a maior frequência de ordenha em SOR pode aumentar a produção de leite durante toda a lactação em cerca de 13% (multíparas) a 17% (primíparas), desde que o aumento da frequência seja mantido durante a lactação inteira. Esses autores concluíram que, provavelmente, o aumento da frequência de ordenha no início da lactação influencia a dinâmica celular (proliferação de células secretoras de leite e redução da apoptose celular) dentro da glândula mamária durante a lactação.

Concentrados com uma melhor palatabilidade, através da adição de aromatizantes e substâncias palatabilizantes, têm mostrado serem capazes de atrair as vacas e aumentar as suas visitas ao robô (Migliorati et al., 2009). O fornecimento mais frequente da dieta parcialmente misturada (DPM) também pode aumentar as visitas à unidade de ordenha (Rodenburg & Wheeler, 2002).

A crescente preocupação com o BEA requer uma avaliação do impacto do SOR na saúde da vaca como um todo. A saúde e o conforto da vaca são fatores determinantes para mais visitas a estação de ordenha (EO) e no comportamento das vacas, tornando-se fundamental para o sucesso da ordenha robotizada (Rodenburg, 2012). Segundo Klaas et al. (2003) a laminitis influencia significativamente a frequência de ordenha, ou seja, as vacas saudáveis são mais propensas a ter uma frequência de ordenha maior. No que diz respeito aos aspectos psico-fisiológicos, o processo de ordenha representa uma fonte de fatores que podem ser estressantes para vacas primíparas incluindo a mudança de ambiente e a introdução em um

novo sistema, o que pode alterar os valores de cortisol (Abeni et al., 2005b). Um estudo que compararam níveis de estresse em vacas ordenhadas em SOR versus ordenha convencional encontrou níveis semelhante de tensão (Hopster et al., 2002), o qual relatou que entre ordenhas as concentrações plasmáticas de cortisol no leite refletiram uma alta tensão no SOR.

Como o SOR representa um investimento considerável, é importante que o retorno econômico seja maximizado. Portanto, a qualidade e a quantidade de leite produzido ao longo do ano, por unidade de ordenha é um fator fundamental em termos de retorno econômico, o que depende do número de ordenhas por dia e da quantidade de leite obtida por cada EO. Para maximizar o número de ordenhas, o produtor pode optar por aumentar o número de vacas ou a adoção de práticas de manejo que aumente o número de visitas ao robô ou ambas. A frequência de ordenha e a média de intervalo de ordenha são fatores decisivos para conseguir uma taxa de ocupação ótima da EO e, consequentemente, uma maior produção de leite.

Assim, objetiva-se avaliar o impacto da frequência de ordenha sobre e a produção e a qualidade do leite e bem-estar animal ao longo da lactação e investigar os principais fatores que podem interferir sobre a mesma.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no período de março a junho de 2014, em Castro, PR, sendo utilizadas vacas primíparas e multíparas da raça Holandesa confinadas em um sistema tipo *free stall* e ordenhadas em sistema de ordenha robotizada. Neste período, os dados referentes à semana de realização do controle leiteiro oficial foram considerados, mensalmente.

As vacas foram alimentadas com DPM, com base na matéria seca, composta por silagem de milho (52,93%), silagem de azevém (16,94%), silagem de aveia (6,35 %), feno de alfafa (4,36%), protenose de milho (8,17%), farelo de soja (8,05%), gordura protegida (0,91%), tamponante (1,81%) e núcleo mineral (0,48%) e processada em carreta misturadora

com balança eletrônica e fornecida duas vezes ao dia (05:30 e 13:30 h). O suplemento concentrado (18% PB e 80% NDT) foi oferecido na unidade de ordenha (1,5 kg/ordenha), em cinco boxes individuais (*Feed station FSC400™*, DeLaval, Tumba, Suécia) fixados na estação de alimentação, com acesso seletivo, através de portão localizado antes da EO, sendo a quantidade diária de concentrado configurada de acordo com o DEL e a produção de leite, conforme segue: 4 kg do parto até 5 dias pós parto; 6 kg de 6 a 10 dias; 6 a 8 kg de 11 a 15 dias; 8 a 10 kg de 16 a 20 dias; 10 a 12 kg de 21 a 110 dias e 7 a 12 kg de 111 dias de lactação até a secagem.

O acesso às EO era feito com base no horário e/ou quantidade de leite no úbere (estimado pelo *software* de gerenciamento), da seguinte forma: primíparas com 1 a 30 dias de lactação – a cada 4h ou 7 kg de leite, de 31 a 280 dias de lactação – 7 h ou 8 kg de leite e + 281 dias de lactação – 9 h ou 7 kg de leite; multíparas com 1 a 30 dias de lactação – 5 h ou 8 kg de leite, de 31 dias até 30 dias antes da secagem prevista – 6 h ou 9 kg leite e últimos 30 dias de lactação – 8 h ou 8 kg de leite. As buscas às vacas que estavam atrasadas eram realizadas a partir de 13:30 h da ordenha anterior. A partir dos 100 dias de lactação era aplicada somatotropina bovina, somente nos animais com produção de leite inferior ao seu potencial produtivo, sendo utilizado dos 100 a 200 dias de lactação Lactotropin® (Elanco, São Paulo, SP) a cada 14 dias e a partir dos 200 dias Boostin® (MSD, São Paulo, SP) a cada 12 dias.

Mensalmente, para a realização do controle leiteiro oficial foi coletada uma amostra simples de leite (uma ordenha da manhã/mês) de todos os quartos mamários em conjunto através do coletor automático de amostras (*Shuttle*, DeLaval, Tumba, Suécia). Estas amostras eram acondicionadas em frascos-padrão para coleta contendo o conservante Bronopol®, sendo encaminhadas ao Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), Curitiba, PR, para análise de gordura e proteína através de

metodologia por absorção infravermelha em equipamento Bentley 2000TM (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA), seguindo as recomendações da *International Dairy Federation* (IDF) 141 C. A produção de leite foi convertida em leite corrigido para energia e proteína (ECM) através da equação (Tyrrell & Reid, 1965):

$$\text{ECM} = (0.327 * \text{PL}) + (12.95 * \% \text{G} * \text{PL}/100) + (7.65 * \% \text{P} * \text{PL}/100), \text{ onde}$$

PL = produção de leite em kg/dia, G = percentagem de gordura e P= percentagem de proteína.

Foram realizados dois estudos, um para avaliar a influência da frequência de ordenha sobre a produção e a qualidade do leite e outro para avaliar o BEA. No primeiro estudo, os dados de entre 7 a 305 dias em lactação (DEL) foram tabulados e analisados em três grupos conforme a média semanal do número diário de ordenhas (1,0 a 1,9; 2,1 a 2,9 e +3,0) registrados pelo *software* de gerenciamento (DelProTM, DeLaval, Tumba, Suécia). Dados de ordem de lactação, DEL, número de ordenhas diárias, duração da ordenha, produção, fluxo de leite e consumo de concentrado foram obtidos do *software* DelProTM. Os dados sobre a composição do leite foram obtidos do controle leiteiro oficial. No momento das avaliações, as vacas utilizadas neste estudo eram ordenhadas, em média, $2,34 \pm 0,39$ vezes ao dia, apresentavam $1,72 \pm 1,04$ partos e DEL de $124,25 \pm 77,95$ dias e produziam $35,78 \pm 7,99$ kg de leite/dia.

Para o segundo experimento que avaliou os efeitos da frequência de ordenha e produção de leite sobre o BEA, foram escolhidas, aleatoriamente, em cada um dos quatro períodos de coleta de dados, cinco vacas de cada grupo de frequências médias diárias de ordenhas (1,0 a 1,9; 2,1 a 2,9 e +3,0), agrupadas por ordem de lactação, DEL e produção de leite ($n=60$). Não houve coleta repetida da mesma vaca dentro do mesmo grupo experimental. Vacas com menos de quatro tetos funcionais, doentes e com grande dificuldade de locomoção foram descartadas desta avaliação. Além dos dados citados, anteriormente, foram

considerados o número de passagens pelo portão antes do VMS (*Voluntary Milking System*).

Neste estudo foram consideradas as médias de sete dias para todas as variáveis, exceto teores de proteína e gordura (uma ordenha/mês). As vacas foram ordenhadas $2,50 \pm 0,59$ vezes ao dia, apresentavam $1,75 \pm 0,79$ partos e DEL de $131,78 \pm 90,67$ dias e produziam $37,02 \pm 6,94$ kg de leite/dia, em média.

No estudo sobre BEA foram feitas avaliações como escore da condição corporal (ECC), escore de locomoção (ELM), escore de ponta de teto (EPT) após a ordenha e coleta de sangue da veia coccígea, entre às 8 a 9 horas da manhã, para determinação do nível plasmático de cortisol. Os frascos com sangue foram mantidos refrigerados em caixa de isopor com gelo e hermeticamente fechada até a entrega ao laboratório (Veterinária Preventiva, Curitiba, PR), no mesmo dia da coleta, que encaminhou para o Laboratório Tecsa - Tecnologia em Sanidade Animal, Belo Horizonte, MG, após congelar a -21°C .

Na avaliação do ECC foi utilizada metodologia adaptada de Ferguson et al. (1994), variando de 1 (muito magra) a 5 (excessivamente gorda). A metodologia descrita por Thomsen et al. (2008) foi utilizada para avaliar o ELM, numa escala de 1 (locomoção normal) a 5 (claudicação severa). A avaliação do EPT foi feita conforme a metodologia desenvolvida por Neijenhuis et al. (2000) com escores variando de 1 (estremidade do teto sem anel) a 4 (extremidade do teto com bastante anel rugoso). Na determinação do cortisol plasmático foi utilizada a metodologia de quimioluminescência em equipamento Immulite 1000TM (Siemens Medical Solutions Diagnostics, NJ, USA). Antes do começo do estudo, todos os protocolos foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Santa Catarina, conforme protocolo 1.64.13.

Os dados referentes ao BEA foram avaliados através de técnicas de análise multivariada (análise fatorial e de agrupamento), utilizando-se o pacote estatístico SAS (versão 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC). Os dados foram previamente padronizados pelo

procedimento padrão (PROC STANDARD). A análise fatorial foi realizada para avaliar a relação entre as variáveis, enquanto que a análise de agrupamento visou confirmar as relações expressas pelas médias, o que possibilita ter noção da magnitude da interferência de cada variável. Na análise fatorial as variáveis foram selecionadas por meio da sua comunalidade para compor os fatores e analisados pelo procedimento fator (PROC FACTOR), com rotação Promax.

Na análise de agrupamento foram utilizados os procedimentos FASTCLUS e CLUSTER para a formação dos grupos, considerando o método de Ward com base na distância euclidiana. O procedimento DISCRIM utilizando o método STEPDISC foi utilizado para selecionar as variáveis que compõem o modelo final. Pela análise discriminante, as variáveis mais importantes na diferenciação dos grupos foram passagem pelo portão antes do VMS, duração de ordenha, consumo de concentrado/dia, ECM, ELM, fluxo de leite, ECC e cortisol. A comparação entre os grupos formados foi realizada por análise de variância multivariada (MANOVA), utilizando PROC GLM, com médias de grupos comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, ao nível de significância de 5%.

No primeiro estudo, a partir dos dados de todas as vacas foram geradas curvas para as variáveis de produção e composição do leite, consumo de concentrado e características de ordenha em função do estágio de lactação, por técnica de regressão não linear, utilizando-se o procedimento NLIN do pacote estatístico SAS, sendo utilizada a função de Wood (1967) através da equação:

$$M = At^b e^{-ct}, \text{ onde:}$$

M é a média no tempo (instante) t; a é a constante associada com a média da variável no início da lactação; b é a constante relacionada à taxa média de ascensão ou declínio até atingir a produção máxima; c é uma constante referente à taxa média de declínio ou ascensão após atingir o pico; e é a base dos logaritmos neperianos.

Resultados

Conforme a comparação gráfica, tendo como base a Curva de Wood (Figuras 1 e 2), no início da lactação as vacas foram ordenhadas em média 2,64 vezes/dia. Essa frequência de ordenha foi reduzindo ao longo da lactação, chegando a média de 2,31 ordenhas/dia ao final da mesma, sendo a queda mais acentuada até o pico de lactação. A curva da produção de leite por ordenha variou de 13,32 kg no início da lactação a 15,48 kg no pico de lactação, o qual ocorreu aos 3,5 meses, atingindo 13,36 kg ao final da lactação (Figura 1 – A).

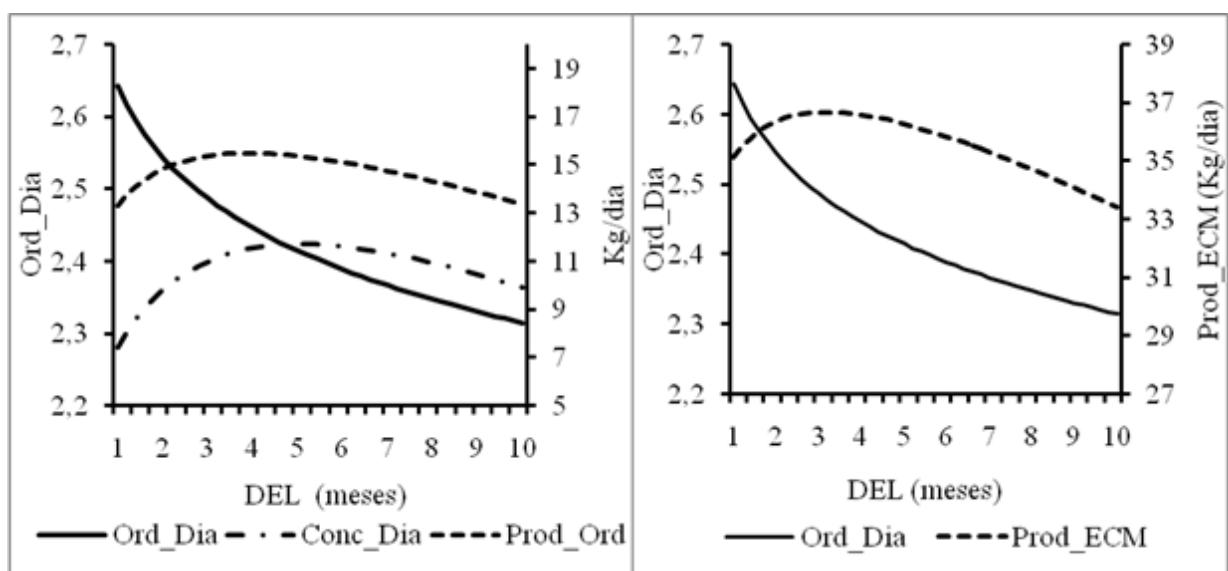


Figura 1. Comparação da frequência de ordenha (Ord_Dia) com a produção de leite por ordenha (Prod_Ord), consumo de concentrado por dia (Conc_Dia), em A, e produção de leite corrigida para gordura e proteína (Prod_ECM), em B, conforme o DEL em meses.

O consumo médio de concentrado/dia variou de 7,43 kg no início da lactação a 11,70 kg aos 5 meses de lactação (Figura 1 – A). A produção ECM (Figura 1 – B) oscilou de 35,10 kg/dia no início da lactação a 36,68 kg/dia aos 3,5 meses de lactação, sendo que ao final da lactação foi de 33,43 kg/dia. Portanto, as curvas de produção de leite por ordenha e ECM apresentaram comportamentos semelhantes, as quais foram reduzindo ao longo da lactação, juntamente com a frequência de ordenha.

A composição do leite oscilou durante a lactação, principalmente o teor de gordura (Figura 2 – A), o qual oscilou de, aproximadamente, 3,60% no início a 3,90% ao final da

lactação, sendo que ocorreu uma queda do início até o pico de produção de leite (3,17%) e a partir desse ponto se eleva até o final da lactação à medida que a produção de leite e a frequência de ordenha reduziram. O teor de proteína no leite aumentou durante a lactação de, aproximadamente, 3,00% no início a 3,46% ao final da lactação.

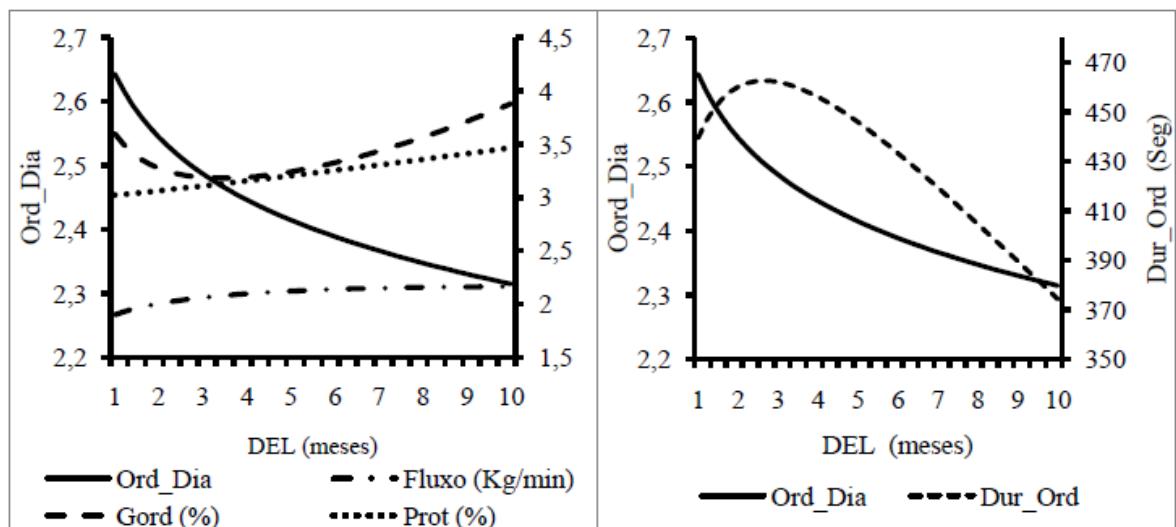


Figura 2. Comparação da frequência de ordenha (Ord_dia) com a composição e fluxo de leite (A) e duração da ordenha (B) conforme o DEL em meses.

O fluxo de leite aumentou ao longo da lactação, principalmente, a partir do pico de produção de leite, a medida que a frequência de ordenha reduziu (Figura 2 – A), variando de 1,89 no início da lactação a 2,16 kg de leite/minuto ao final da mesma. A duração da ordenha aumentou do início da lactação (439 segundos) até o pico de produção (462 segundos) e a partir daí foi reduzindo ao longo da lactação para 374 segundos ao final da mesma (Figura 2 – B).

Na análise fatorial realizada com os dados de BEA ($n=60$), os quatro primeiros fatores, abrangendo variáveis de produção, consumo de concentrado, características da ordenha e bem-estar animal explicaram 69,5% da variabilidade acumulada dos dados (Tabela 1).

Tabela 1. Cargas fatoriais, comunalidades e percentual de variância referentes a produção de leite, características da ordenha, passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado, DEL e métodos para avaliar o bem-estar de 60 vacas em lactação.

Variáveis	Fatores ⁽¹⁾				Comunalidades
	1	2	3	4	
Passagens pelo portão	0,9041	-0,1443	0,0182	-0,1016	81,8
Número de ordenha/dia	0,8839	-0,1150	0,0092	0,2838	80,1
Concentrado (Kg MN/dia)	0,5976	0,3082	0,2480	-0,0270	51,9
DEL	-0,1657	0,8254	-0,0804	0,1971	68,6
ECC ⁽²⁾	0,1871	0,7116	0,0341	-0,0867	60,2
ECM ⁽³⁾	0,5326	-0,6205	-0,1042	0,0063	59,4
EPTM ⁽⁴⁾	0,2102	0,1736	0,8779	-0,0292	78,4
Duração da ordenha (s)	-0,2574	-0,3574	0,6677	0,0543	75,2
Cortisol (nmol/l)	0,1898	0,1677	-0,0504	0,8967	82,0
ELM ⁽⁵⁾	-0,3892	-0,1778	0,1433	0,5252	58,8
% Variância	26,7	18,4	12,8	11,6	

⁽¹⁾ Fatores: 1 – Comportamento, 2 – Estágio de lactação, 3 – Lesões de tetos e 4 – Estresse, formados pela análise fatorial. ⁽²⁾ ECC: Escore da condição corporal. ⁽³⁾ ECM: Produção de leite corrigido para gordura e proteína. ⁽⁴⁾ EPTM: Escore de ponta de teto médio. ⁽⁵⁾ ELM: Escore de locomoção.

O fator 1 (F1) envolveu variáveis sobre o comportamento de ordenha e explicou 26,7% da variação da análise fatorial, no qual é possível observar uma forte relação entre o número de ordenha/dia com o número de passagens pelo portão antes do VMS e em menor grau com o consumo de concentrado. Ainda é possível inferir que a frequência de ordenha está relacionada a ECM e inversamente relacionada com o escore de locomoção. O fator 2 (F2) explicou 18,4% da variação da análise fatorial e relacionou o aumento do ECC e a redução da ECM com o aumento do DEL. Neste fator também é possível observar que a duração de ordenha reduziu com o aumento do DEL. O fator 3 (F3) relacionou o aumento das lesões de ponta de tetos com o tempo de duração de ordenha e explicou 12,8% da variação. Por último, o fator 4 (F4), que explicou 11,6% da variação, associou o escore de locomoção com cortisol sérico.

A partir da análise de agrupamento foram formados três grupos (Tabela 2), demonstrando a influência da passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado e o escore de locomoção (ELM) sobre o aumento da frequência de ordenha. O grupo 3 se diferenciou por apresentar maiores número de ordenha e passagens pelo portão antes do VMS/dia e menor ELM. Os grupos 2 e 3 se assemelharam devido ao maior consumo de

concentrado, maior ECC e menor duração de ordenha. Os grupos 1 e 3 se assemelharam pela maior produção (ECM), menor DEL e fluxo de leite. O grupo 1 se diferenciou por apresentar vacas com menor consumo de concentrado e ECC e maior duração de ordenha. Os grupos 1 e 2 se caracterizam por apresentar maior ELM e menor número de ordenhas/dia e passagens pelo portão antes do VMS. O grupo 2 se diferenciou por apresentar vacas com maior DEL e fluxo de leite. Não houve diferença entre grupos em relação ao cortisol sérico e EPTM.

Tabela 2. Análise de agrupamentos referente a produção de leite, características da ordenha, passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado, DEL e métodos para avaliar o bem estar, valor de P e número de observações por grupo⁽¹⁾.

Variável	Unidade	Grupos ⁽²⁾			P > F
		1	2	3	
DEL	Dias	61,39 ^b	199,58 ^a	112,16 ^b	<0,0001
Ordenhas/dia	Número	1,91 ^b	2,19 ^b	2,90 ^a	<0,0001
Duração da ordenha	Segundos	566,81 ^a	394,21 ^b	423,33 ^b	<0,0001
Consumo de concentrado	Kg MN/dia	8,53 ^b	10,98 ^a	11,34 ^a	0,0004
Passagens portão antes VMS	Número	5,40 ^b	7,15 ^b	13,77 ^a	<0,0001
ECM ⁽³⁾	Kg/dia	35,22 ^{ab}	33,39 ^b	39,83 ^a	0,0003
ECC ⁽⁴⁾	1 a 5	2,35 ^b	2,77 ^a	2,68 ^a	0,0005
ELM ⁽⁵⁾	1 a 5	3,00 ^a	2,15 ^a	1,45 ^b	0,0002
Cortisol	nmol/l	17,65	28,96	20,69	0,2901
EPTM ⁽⁶⁾	1 a 4	2,45	2,23	2,43	0,7241
Fluxo de leite	Kg leite/minuto	2,03 ^b	2,40 ^a	2,05 ^b	0,0310
Observações	Número	10	19	31	

⁽¹⁾Médias na mesma linha, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ⁽²⁾Grupos formados pela análise de agrupamentos. ⁽³⁾ECM: Produção corrigida pela energia e proteína. ⁽⁴⁾ECC: Escore da condição corporal. ⁽⁵⁾ELM: Escore de locomoção. ⁽⁶⁾EPTM: escore de ponta de teto médio.

Discussão

Considerando os dados de todas as vacas (n=390) dispostos na Figura 1, a frequência de ordenha reduziu ao longo da lactação motivada pela redução no consumo de concentrado e na produção de leite, sendo que o intervalo de ordenha é dependente do nível de produção de leite (Hogeweene et al., 2001). A média de ordenhas/dia foi de 2,34 no presente estudo, mais baixa do que a reportada em outros estudos, tais como 2,7 ordenhas/dia observadas por Castro et al. (2012) e 2,5 ordenhas/dia por Gygax et al. (2007). As vacas neste estudo tinham uma frequência de ordenha mais elevada no início da lactação do que vacas no final da lactação. A

configuração do *software* de gerenciamento para o fornecimento de mais concentrado e a maior permissão de ordenha no início da lactação podem ter contribuído para o pico de produção de leite ter ocorrido aos 3,5 meses de lactação e para mudança da frequência de ordenha. Além disso, o uso de somatotropina bovina pode explicar o pico de produção nessa fase da lactação e a baixa variação da produção de leite (elevada persistência de lactação).

O teor de gordura oscilou durante a lactação, influenciado pela produção de leite e pelo consumo de concentrado e aumentou conforme a redução do número de ordenhas/dia (Figura 2 – A), de modo que o estágio de lactação e intervalo de ordenha tiveram um efeito substancial sobre a composição do leite. Principalmente no teor de gordura que aumentou com estágio de lactação e com o aumento do intervalo de ordenha. Bruckmaier et al. (2001) observaram que o teor de gordura aumentou com o DEL e diminuiu com aumento do intervalo de ordenha. O teor de proteína aumentou com a redução da frequência de ordenha e da produção de leite durante a lactação.

O fluxo de leite aumentou durante a lactação devido a pouca variação da produção de leite e a redução do número de ordenhas diárias ao longo da mesma (Figura 2 – A). Um longo intervalo de ordenha tem um grande efeito no aumento da produção e no fluxo de leite, o qual em vacas de alta produção não depende da produção (Hogeweegen et al., 2001), ou seja, o fluxo de leite é mais baixo em intervalo de ordenha menor independente da produção de leite. A duração da ordenha acompanhou a curva de produção de leite e reduziu juntamente com a frequência de ordenha diária e o com o aumento do fluxo de leite (Figura 2 – B). O fluxo diminui com o aumento da frequência de ordenha (Hogeweegen et al., 2001), sugerindo que intervalos de ordenha mais longos podem conduzir a menor tempo de ordenha com melhor utilização da capacidade do robô.

Em relação à avaliação do BEA, conforme o fator referente ao comportamento (F1) da análise factorial (Tabela 1), a frequência de ordenha depende do número de passagens pelo

portão antes do VMS que depende da necessidade do consumo de concentrado, ou seja, quanto maior o consumo de concentrado maior a atividade da vaca e maior o número de ordenhas diárias. Melin et al. (2006) reconheceram que a alimentação é a principal razão pela qual as vacas visitam a unidade de ordenha. Essas variáveis contribuíram para o aumento da ECM e dependem do escore de locomoção mais baixo (Tabela 2). No fator sobre o estágio de lactação (F2) as vacas com DEL mais alto produziram menos leite e tiveram maior ECC e menor duração de ordenha. Melin et al. (2005), em SOR, não encontraram diferença no ECC em vacas com intervalo de ordenha de 4 e 8 horas, sendo que nas duas rotinas de ordenha ganharam condição corporal ao final do estudo. No fator referente as condições da extremidade dos tetos (F3) é possível observar que quanto maior é a duração da ordenha piores as condições dos tetos. O sobre o estresse, o fator F4 permite inferir que quanto piores as condições de locomoção (ELM) maior é o estresse do animal. A avaliação da frequência de visitas ao SOR (redução de visitas) poderá ajudar na detecção precoce de problema de locomoção, enquanto que o cortisol do leite pode ser usado como um indicador de sintomas dolorosos, tais como claudicação (Gellrich et al. 2015).

A Tabela 2 (análise de agrupamento) permite concluir que quanto maior o consumo de concentrado maior a frequência de ordenha, número de passagens pelo portão antes do VMS e escore da condição corporal e menor o escore de locomoção. As vacas no SOR tiveram um ECC mais baixo no início de lactação (42 dias) e a recuperação foi mais lenta, a partir do meio da lactação (154 dias) não foram detectadas diferenças (Abeni et al, 2005b). Bach e colaboradores (2007) relataram decréscimo de visitas a EO e maior taxa de busca para vacas com alto escore de locomoção (escore ≥ 3 numa escala de 1 a 5) em relação a vacas com baixo escore de locomoção. Para Klaas et al. (2003) a laminitide está mais associada com o manejo e a concepção da instalação e não ao tipo de sistema de ordenha. Vacas com menor DEL tiveram maior produção de leite e duração de ordenha e menor fluxo de leite.

Neste trabalho os níveis médios de cortisol sérico para os grupos de vacas com médias de 1,91, 2,19, 2,90 ordenhas/dia foram de 17,65, 28,96 e 20,69 nmol/l, respectivamente, o que revela estresse conforme valores basais de 14 nmol/l propostos por Foslund et al. (2010). Wiktorsson et al. (2003) relataram que, em ordenha robótica, durante o descanso os valores de cortisol foram 12 e 17 nmol/l para vacas de baixa e alta hierarquia social, respectivamente. O SOR pode causar elevação do cortisol de vacas ordenhadas automaticamente indicando estresse crônico (Abeni et al., 2005b).

Tanto na análise fatorial (Tabela 1) como na análise de agrupamentos (Tabela 2) a frequência de ordenha dependeu da necessidade do consumo de concentrado que interferiu no número de passagens pelo portão antes do VMS, o que influenciou a produção de leite. Também, nas duas análises as vacas com DEL mais baixo produziram mais leite que vacas com DEL alto. Com relação ao BEA, os resultados das duas análises foram semelhantes, ou seja, vacas com menor claudicação tiveram maior número de ordenhas/dia, consumo de concentrado e produção de leite. A frequência de ordenha não foi um fator estressante para as vacas e não alterou as condições dos tetos. As condições dos tetos foram alteradas pela duração da ordenha. Estudos anteriores sugeriram que a ordenha no SOR levou a uma piora na saúde dos tetos em relação a ordenha convencional (Rasmussen et al., 2001). Os autores acima citados associaram o decréscimo na saúde do úbere com a deterioração das condições do esfíncter do teto. Gygax et al. (2006) ao avaliar o estresse de vacas ordenhados no SOR e em ordenha convencional não observaram estresse biologicamente relevante.

Conclusões

1. A elevação do DEL e a redução da frequência de ordenha aumenta o ECC, a composição e o fluxo de leite/minuto e diminui a produção de leite, a duração da ordenha e o consumo de concentrado.

2. O consumo de concentrado, DEL, a produção do leite e o escore de locomoção influenciam a frequência de ordenha.
3. O escore de locomoção influencia a concentração de cortisol sérico e a atividade da vaca e, consequentemente, o consumo de concentrado e a produção de leite.
4. A frequência de ordenha não é um fator estressante, não afetando as condições da ponta dos tetos e a concentração de cortisol sanguíneo.

Referências

- ABENI, F.; CALAMARI, L.; CALZA, F.; SPERONI, M.; BRETONI, G.; PIRLO, G. Welfare assessment based on metabolic and endocrine aspects in primiparous cows milked in a parlor or with an automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3542–3552, 2005b.
- ABENI, F.; DEGANO, L.; CALZA, F.; GIANGIACOMO, R.; PIRLO, G. Milk quality and automatic milking: fat globule size, natural creaming, and lipolysis. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.10, p.3519–29, 2005a.
- BACH, A.; IGLESIAS, C.; CALSAMIGLIA, S.; DEVANT, M. Effect of amount of concentrate offered in automatic milking systems on milking frequency, feeding behavior, and milk production of dairy cattle consuming high amounts of corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5049-5055, 2007.
- BRUCKMAIER, R. M.; MACUHOVA, J.; MEYER, H. H. D. Specific aspects of milk ejection in robotic milking: a review. **Livestock Production Science**, v.72, p.169–176, 2001.
- CASTRO, A.; PEREIRA, J. M.; AMIAMA, C.; BUENO, J. Estimating efficiency in automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.929-936, 2012.
- DELAMAIRE, E.; GUINARD-FLAMENT, J. Longer milking intervals alter mammary epithelial permeability and the Udder's ability to extract nutrients. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.6, p.2007–2016, 2006.
- FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.2695-2703, 1994.
- FORSLUND, K. B.; LJUNGVALL, O. A.; JONES, B. V. Low cortisol levels in blood from dairy cows with ketosis: a field study. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.52, p.1-6, 2010.
- GELLRICH, K.; SIGL, T.; MEYER, H. H. D.; WIEDEMANN, S. Cortisol levels in skimmed milk during the first 22 weeks of lactation and response to short-term metabolic stress and lameness in dairy cows. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.31, p.1-7, 2015.

GYGAX, L.; NEUFFER, I.; KAUFMANN, C.; HAUSER, R.; WECHSLER, B. Cortisol concentration in automatic milking systems compared with auto-tandem milking parlors. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3447–3454, 2006.

GYGAX, L.; NEUFFER, I.; KAUFMANN, C.; R.; WECHSLER, B. Comparison of functional aspects in two automatic milking systems and auto-tandem milking parlors. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4265-4274, 2007.

HOGEVEN, H.; OUWELTJES, W.; DE KONING, C.J.A.M.; STELWAGEN, W. Milking interval, milk production and milk flow-rate in an automatic milking system. **Livestock Production Science**, v.72, p.157–167, 2001.

HOPSTER, H.; BRUCKMAIER, R. M.; VAN DER WERF, J. T. N.; KORTE, S. M.; MACUHOVA, J.; KORTE-BOUWS, G.; VAN REENEN, C. G. Stress Responses during milking; comparing conventional and automatic milking in primiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.3206–3216, 2002.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION – IDF. **Whole milk determination of milk fat, protein and lactose content.** Guide for the operation of mid-infra-red instruments (IDF Standard 141 B). IDF, Brussels, Belgium, 1996, pp. 12.

KLAAS, I. C.; ROUSING, T.; FOSSING, C.; HINDHEDE, J.; SØRENSEN, J. T. Is lameness a welfare problem in dairy farms with automatic milking systems? **Animal Welfare**, v.12, p. 599-603, 2003.

KONING, K.; VAN DER VORST, Y.; MEIJERING, A. Automatic milking experience and development in Europe. In: MCLEAN, J.; SINCLAIR, M.; WEST, B. Proceedings from the first North American conference on robotic milking. Toronto: Canada, 2002. p. 20-22.

MELIM, M.; HERMANS, G.G. N.; PETTERSON, G.; WIKTORSSON, H. Cow traffic in relation to social rank and motivation of cows in an automatic milking system with control gates and an open waiting area. **Applied Animal Behaviour Science**, v.96, p.201-214, 2006.

MELIN, M.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.; WIKTORSSON, H. Feeding patterns and performance of cows in controlled cow traffic in automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.3913–3922, 2005.

MIGLIORATI, L., SPERONI, M., STELLETTA, C., PIRLO, G. Influence of feeding flavouring-appetizing substances on activity of cows in an automatic milking system. **Italia Journal Animal Science**, v.8 (Suppl. 2), p.417–419, 2009.

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

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

RASMUSSEN, M. D.; BLOM, J. Y.; NIELSEN, L. A. H.; JUSTESEN, P. Udder health of cows milked automatically. **Livestock Production Science**, v.72, p.147–156, 2001.

RODENBURG, J. The impact of robotic milking on milk quality, cow comfort and labor issues. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING., 51. St. Pete Beach: Florida, 2012. p. 1-13. Disponível em: < <http://www.dairylogix.com/Document-0.pdf> >. Acesso em: 23 jan. 2013.

RODENBURG, J.; WHEELER, B. Strategies for incorporating robotic milking in North American herd management. In: MCLEAN, J., SINCLAIR, M. & WEST, B. Proceedings from the first North American conference on robotic milking. Toronto: Canada, 2002. p.18-32.

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. M.; PETTERSON, G. Pros and cons of automatic milking in Europe. **Journal of Animal Science**, v.86 (Suppl. 1), p.37-46, 2008.

THOMSEN, P. T.; MUNKSGAARD, L.; TOGERSEN, F. A. Evaluation of a lameness scoring system for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.119-126, 2008.

TYRRELL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the energy value of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, v.48, p.1215-1223, 1965.

WALL, E. H; MCFADDEN, T. B. The milk yield response to frequent milking in early lactation of dairy cows is locally regulated. **Journal of Dairy Science**. v.90, p.717-720, 2007.

WIKTORSSON, H.; PETTERSSON, G.; OLOFSSON, J.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.; MELIN. M. Welfare status of dairy cows in barns with automatic milking. Relations between the environment and cow behaviour, physiologic, metabolic and performance parameters. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS. Uppsala: Sweden, march 2003. p.1-46. Disponível em:<<http://www.automaticmilking.nl>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

WOOD, P. D. P. Algebraic of the lactation curve in cattle. **Nature**, n.216, p.164-165, 1967.

CAPÍTULO IV

INFLUÊNCIA DA PROFUNDIDADE DO ÚBERE NA LIMPEZA DOS TETOS E SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM ORDENHA ROBÓTICA³

³Artigo escrito de acordo com as normas do manual para elaboração de tese da UDESC

Influência da profundidade do úbere na limpeza dos tetos e saúde da glândula mamária em ordenha robótica

RESUMO

O trabalho visou avaliar a influência da profundidade do úbere sobre a limpeza de tetos e saúde da glândula mamária. Experimento foi desenvolvido em um rebanho comercial no período de março a junho de 2014, em Castro, PR. Foram utilizadas 20 vacas da raça Holandesa confinadas em *free stall* e ordenhadas em sistema de ordenha voluntária. As vacas foram divididas em 4 blocos com cinco animais cada (2 primíparas e 3 multíparas) com base na profundidade do úbere (úbere profundo, normal, pequeno e raso) e estágio de lactação. Os dados, registrados eletronicamente foram coletados mensalmente, por quatro meses, referente à semana do controle leiteiro oficial. Para avaliar a efetividade da limpeza dos tetos, foram feitos *swab* de dois tetos contralaterais (anterior direito e posterior esquerdo) antes e após a limpeza automática e, uma vez, ao redor dos outros tetos foram esfregadas toalhas umedecidas. Uma amostra simples de leite foi coletada por vaca para determinar a contagem de células somáticas (CCS). Na análise multivariada foi observada relação da profundidade do úbere com a limpeza de tetos avaliada através do escore de limpeza de tetos com toalhas umedecidas (ELTT). Os úberes levemente acima do jarrete (normal) apresentaram menor CCS e contagem bacteriana total (CBT). Os úberes rasos apresentaram maior diferença no ELTT. As vacas com úbere profundo e raso apresentam menor efetividade na limpeza de tetos e saúde da glândula mamária. Vacas com úbere normal (um pouco acima do jarrete) apresentaram conformação e sanidade da glândula mamária e contaminação de tetos mais adequada à ordenha robótica.

Palavras chave: Ordenha robótica. Produção de leite. Limpeza de tetos. Profundidade de úbere.

ABSTRACT

The study evaluated the influence of the depth of the udder on cleaning teats and health of the mammary gland. The experiment was developed in a commercial herd in the period from March to June 2014, in Castro, PR. Twenty Holstein cows confined in free stall and milked in a voluntary milking system were used. The cows were divided into 4 blocks with five animals (2 primiparous and multiparous 3) based on the depth of the udder (udder depth, normal, small and shallow) and stage of lactation. The data, recorded electronically were collected monthly for four months, referring to the week of the official production milk control. To evaluate the effectiveness of cleaning teats, were made swab in two contralateral teats (right front quarter and left rear) before and after the automatic cleaning and once around the other teats were scrubbed towels moistened. A single sample of milk was collected per cow to determine the somatic cell count (SCC). In the multivariate analysis was observed relation of the udder depth with the teat cleaning evaluated through the teat cleaning with moistened towels score (TCTS). Udders slightly above the hocks (normal) had lower SCC and total bacterial count (TBC). Shallow udders showed greater difference in TCTS. Cows with deep and shallow udders have less effectiveness in cleaning teats and health of the mammary gland. Cows with normal udder (just above the hock) presented mammary gland conformation and health and contamination of teats most appropriate for robotic milking.

Keywords: Milking robotics. Milk production. Teats cleaning. Udder depth.

INTRODUÇÃO

A introdução do sistema de ordenha robotizada (SOR) é acompanhada de mudanças nas instalações, método de limpeza de tetos, agrupamento das vacas, manejo dos dejetos, melhoramento genético e gerenciamento de rebanho. A uniformidade da conformação do úbere é uma característica importante para um bom funcionamento da ordenha robótica, tendo sido definidos critérios de seleção pelos fabricantes de SOR, os quais excluem vacas com dimensões de úbere e tetos inadequadas ao sistema. As dimensões mais importantes são a distância do úbere em relação ao piso e tamanho e posição dos tetos. No SOR, as dimensões do úbere e dos tetos para cada vaca podem ser armazenadas em um banco de dados para facilitar o acoplamento do conjunto de ordenha pelo sistema.

Embora a seleção para úberes mais adequados para a ordenha convencional venha sendo feita, ainda ocorre muita variação relacionada à variabilidade genética e a aspectos fisiológicos como idade, estágio de lactação e outros fatores (MILLER et al., 1995), fazendo com que algumas vacas apresentem comportamento ou aspectos da conformação de úbere inadequados para integrar o SOR. Posições e formas incorretas de tetos e lesões, bem como a morfologia do úbere (grande e profundo) facilitam a transmissão, penetração e multiplicação bacteriana (JANZEKOVIC et al., 2009). Ainda em vacas com úberes profundos ou muito grandes e/ou com tetos muito fechados poderá haver dificuldade na colocação das teteiras (CARLSTRÖM, 2014).

No SOR, a tradicional linha de ordenha, na qual as vacas infectadas são ordenhadas por último é substituída pela limpeza dos insufladores com vapor de água quente entre vacas tornando fundamental o manejo de todo o sistema para evitar que o equipamento seja responsável pela transmissão de infecções intramamárias (IIM) entre vacas (HOVINEN; PYÖRÄLÄ, 2011). Segundo esses autores, a contaminação cruzada dos tetos, na mesma vaca, é inibida, porém, a transferência de bactérias entre vacas pode acontecer através da unidade de ordenha.

Como durante a ordenha os patógenos podem entrar no canal do teto, a higiene tem um efeito fundamental na saúde da glândula mamária. Bactérias e sujidades localizadas no esfíncter dos tetos têm acesso direto ao canal do teto contaminando a glândula mamária e o leite. No SOR, tetos sujos antes da ordenha são um fator de risco para o aumento de novos casos de IIM e aumento da contagem de células somáticas (CCS) no rebanho (DOHMHEN et al., 2010). Knappstein et al. (2004) e Hovinen et al. (2005) observaram grandes diferenças na limpeza antes e depois da higienização dos tetos, as quais são decorrentes de diferentes

sistemas de higienização dos tetos utilizados no SOR. Comum a todos é a inexistência de controle da efetividade na limpeza dos tetos. Knappstein et al. (2004) observaram diferenças significativas na eficiência de limpeza dos tetos das diferentes marcas de SOR ao mensurar a contagem bacteriana total (CBT).

O escore de limpeza do úbere e tetos fornece um indicador útil do desafio ambiental sobre a sanidade da glândula mamária e é fundamental para a segurança alimentar e programas de garantia da qualidade do leite. Vários fatores contribuem para as rotas de contaminação dos tetos por bactérias dentro do estábulo como alimentos contaminados, material das camas e uso de raspadores mecânicos (MAGNUSSON, 2007). O escore de limpeza dos tetos é uma ferramenta útil para recomendar práticas de manejo para monitorar a limpeza e a higiene das instalações visando reduzir as IIM e a redução da CCS.

Para superar os problemas acima expostos, além de melhorar o manejo de higiene mantendo altos padrões de limpeza nas camas e piso dos corredores (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2008), pesquisas detalhadas e experiências práticas sobre limpeza de tetos e conformação de úbere poderão revelar quais as características exteriores dos animais o SOR requer para uma maior produtividade e qualidade do produto final. Aliado a isso existem poucos trabalhos reportando o impacto da profundidade do úbere na limpeza de tetos e sanidade da glândula mamária neste sistema.

O objetivo de trabalho foi relacionar a profundidade do úbere com a limpeza e contaminação de tetos e saúde da glândula mamária.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em uma propriedade com SOR localizada em Castro, Estado do Paraná, Sul do Brasil ($24^{\circ}47'10''$ de latitude sul e $49^{\circ}50'57''$ de longitude oeste e 988 m de altitude), no período de março a junho de 2014. Nesse período foram colhidos dados de 20 vacas da raça Holandesa, oito primíparas e doze multíparas, confinadas em *free stall* e ordenhadas automaticamente, as quais foram distribuídas em quatro blocos de cinco animais (2 primíparas e 3 multíparas) de acordo com a profundidade do úbere em relação ao jarrete (1 - úbere profundo, 2 - normal, 3 - pequeno e 4 - raso) e dias em lactação (DEL). Informações de paridade e DEL para a formação dos blocos foram obtidos do software de gerenciamento (DelProTM, DeLaval, Tumba, Suécia) do sistema de ordenha voluntária, o *Voluntary Milking System* (VMSTM, DeLaval, Tumba, Suécia). A profundidade do piso do úbere em relação ao jarrete foi avaliada antes da ordenha, conforme metodologia descrita por Klaas et al. (2005),

sendo úbere raso aquele com piso acima da metade da distância entre o nível do jarrete e a prega do flanco; pequeno aquele acima do jarrete e abaixo da metade da distância entre a prega do flanco e o jarrete; normal aquele com altura ao nível do jarrete e profundo abaixo do nível do jarrete. Durante a coleta de dados três vacas foram substituídas, sendo uma devido a deslocamento de abomasso, uma por morte e a outra foi descartada devido a alta CCS. No início das avaliações as vacas apresentavam em média $1,7 \pm 0,65$ partos, estavam com DEL de $131,6 \pm 63,42$ dias, foram ordenhadas $2,4 \pm 0,44$ vezes ao dia e produziam $38,8 \pm 9,69$ kg de leite/dia.

Na coleta de dados foram consideradas as médias de sete dias para as variáveis produção de leite e número de ordenhas diárias registradas pelo *software* de gerenciamento DelProTM e colhidos mensalmente, por quatro meses, na semana da realização do controle leiteiro oficial. Os dados referentes à CCS do leite foram obtidos a partir de relatórios do controle leiteiro oficial.

Para avaliar a eficácia na limpeza dos tetos foram coletados *swab* de dois tetos contralaterais (anterior direito e posterior esquerdo) antes (parte anterior do teto) e após a limpeza automática dos tetos (parte lateral externa do teto). Antes e após a limpeza dos tetos também foi avaliado o escore de limpeza dos tetos com toalhas umedecidas (ELTT), esfregando as toalhas (HIGICOW®, RuralBan, Nova Friburgo, RJ, Brasil), uma vez ao redor de dois tetos contralaterais (anterior esquerdo e posterior direito), da base para a extremidade dos mesmos. Após a amostragem, as toalhas foram secadas à temperatura ambiente e classificadas visualmente, por um avaliador, através de escore 0 (sem sujidade visível) a 4 (extremamente suja), sendo consideradas para tal a área suja da toalha e a espessura da sujidade, conforme descrito por Hovinen (2009).

Uma amostra de leite da ordenha da manhã foi coletada de todos os quartos mamários em conjunto, através do coletor automático de amostras (Shuttle, DeLaval, Tumba, Suécia), em frascos-padrão para coleta com conservante Bronopol®, (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol), sendo encaminhadas ao Laboratório do Programa de Análises de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR) da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba, PR, Brasil, para determinação dos teores de proteína e gordura e CCS através das metodologias por absorção infravermelha em equipamento Bentley 2000TM (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA), seguindo as recomendações da *International Dairy Federation* (IDF) 141 C e citometria de fluxo em equipamento Somacount 500TM (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA) conforme o protocolo para leite cru ISO 13366-2/IDF 148-2, respectivamente.

Para a coleta de *swab* foram utilizados frascos plásticos com tampa rosqueada com meio de transporte e hastes de plástico com algodão estéril, as quais foram friccionadas na superfície dos tetos, com movimentos rotativos, antes da limpeza dos tetos pelo braço robótico e 30 segundos após a limpeza. Em seguida, os *swab* foram colocados em tubos com 10 mL de meio de transporte composto por 0,07% de lecitina de soja purex, 0,5% extrato de carne, 0,5% cloreto de sódio, 1% proteose peptone e 0,5% *Tween* 80. Os frascos numerados foram mantidos refrigerados em caixa de coleta (com gelo reciclável) até o envio da análise, na manhã seguinte. A metodologia utilizada para colheita de *swab* e CBT da pele dos tetos em unidades formadoras de colônias/mL (ufc/mL) seguiu as normas estabelecidas pelo *National Mastitis Council* (2004) e foi realizada no laboratório Labvet, Carambeí, PR, Brasil.

Os dados foram avaliados através de técnicas de análise multivariada (análise fatorial e de agrupamento), utilizando-se o pacote estatístico SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC) e, foram previamente padronizados pelo procedimento padrão (PROC STANDARD). Os dados de CCS foram transformados em escore de células somáticas ($ECS = \log_2(CCS / 100) + 3$) (RIBAS 2002) e as contagens bacterianas resultantes dos *swab*, expressas em ufc/mL foram transformadas em logaritmo na base 10. As variáveis ELTT e CBT antes e depois da limpeza e a diferença entre ambas (limpeza depois menos a limpeza antes) foram obtidas através da média dos dois tetos contralaterais avaliados antes e depois da limpeza.

A análise fatorial foi utilizada para avaliar a relação entre as variáveis, visando reduzir o conjunto original de variáveis em um número menor de fatores, compondo cada fator pelas variáveis mais relacionadas entre si. A análise fatorial foi realizada pelo procedimento FACTOR, na qual para verificar a adequacidade do modelo utilizou-se a medida de adequação da amostra de Kaiser-Meyer-Olkin. As variáveis foram selecionadas para compor cada fator, pelas suas comunidades que representam as proporções da variação das variáveis originais que são explicadas pelo fator comum. O número de fatores foi definido pelo autovalor, sendo considerados todos os fatores com autovalores superiores a um. As cargas fatoriais foram consideradas significativas a partir de 0,4 e foi utilizada a rotação Promax, a qual é uma rotação oblíqua que considera a relação entre os fatores.

A análise de agrupamento foi utilizada como complemento da análise fatorial, visando melhorar a compreensão dessas relações através da formação de grupos que apresentam similaridade dentro de si mesmo e diferenças entre os grupos. Foi utilizado o método hierárquico de Ward baseado na distância euclidiana para estimar as médias padronizadas dos grupos, sendo posteriormente transformadas nas médias originais para cada grupo. A análise de agrupamento foi confirmada pela análise canônica (PROC CANDISC) que demonstra

graficamente a distância entre os grupos e pela análise discriminante (PROC DISCRIM), através do método STPEDISC, para selecionar as variáveis responsáveis pela diferenciação dos grupos. As médias padronizadas dos três grupos formados foram comparadas, visando identificar a diferença entre os grupos, utilizando-se a análise de variância multivariada (MANOVA), pelo PROC GLM, com médias de grupos comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, ao nível de significância de 5%.

Antes do começo do estudo, todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Santa Catarina, conforme protocolo 1.64.13.

RESULTADOS

Os valores médios e a dispersão dos indicadores de profundidade de úbere, produção de leite, número de ordenhas diárias, saúde da glândula mamária (ECS) e eficácia de limpeza de tetos constam da Tabela 1.

Tabela 1. Análise descritiva dos dados das vacas incluídas neste estudo (n=20).

Variável	Unidade	Média	DP ⁽¹⁾	Mínimo	Máximo
Profundidade úbere	Escore	2,50	1,12	1,00	4,00
Ordenha dia	Número	2,36	0,37	1,7	3,71
Produção leite	Kg/dia	36,24	8,21	19,36	57,78
ECS ⁽²⁾	Log ²	2,46	2,14	-1,64	6,98
ELTT antes ⁽³⁾	Escore	2,48	0,51	1,50	3,50
ELTT depois ⁽⁴⁾	Escore	1,31	0,55	0,00	2,50
Diferença de ELTT ⁽⁵⁾	Escore	1,17	0,47	0,00	2,00
CBT antes ⁽⁶⁾	Log ₁₀ ufc/mL	2,32	0,52	0,85	3,26
CBT depois ⁽⁷⁾	Log ₁₀ ufc/mL	1,93	0,63	0,70	3,11
Diferença da CBT ⁽⁸⁾	Log ₁₀ ufc/mL	0,39	0,64	-1,10	1,38

⁽¹⁾DP – Desvio padrão.

⁽²⁾ECS – Escore de células somáticas = log2 (CCS/100) + 3 (RIBAS, 2002).

⁽³⁾ELTT antes - escore de limpeza de tetos com toalha umedecida antes da limpeza: média de dois tetos contralaterais.

⁽⁴⁾ELTT depois - escore de limpeza de tetos com toalha umedecida após a limpeza: média de dois tetos contralaterais.

⁽⁵⁾Diferença de ELTT - diferença da limpeza dos tetos avaliada com toalhas umedecidas antes e após a limpeza: média de dois tetos contralaterais.

⁽⁶⁾CBT antes – contagem bacteriana total da superfície do teto antes da limpeza: média de dois tetos contralateral.

⁽⁷⁾CBT depois – contagem bacteriana total da superfície do teto após a limpeza: média de dois tetos contralateral.

⁽⁸⁾Diferença da CBT – diferença da contagem bacteriana total dos tetos avaliada com *swab* antes e após a limpeza: média de dois tetos contralaterais.

Na análise fatorial (Tabela 2) os quatro primeiros fatores, abrangendo variáveis de profundidade do úbere, produção de leite, número de ordenhas diárias, saúde da glândula mamária e indicadores de limpeza dos tetos antes e após a higienização pelo braço robótico explicaram 78,1% da variabilidade acumulada dos dados. O fator 1 (F1) é representado pela

pela relação positiva entre produção de leite e número de ordenhas diárias, as quais estão inversamente relacionadas com a profundidade de úbere e a diferença do ELTT ou seja, vacas mais produtivas apresentam maior numero de ordenhas diárias e, consequentemente tem úbere mais profundo e menor efetividade de limpeza dos tetos. O fator 2 (F2), que corresponde a efetividade da limpeza dos tetos com toalhas umedecidas, apresentou relação positiva entre a sujidade dos tetos antes e após a limpeza, sendo que tetos mais sujos antes apresentam menor efetividade de limpeza. O fator 3 (F3), denominado de contaminação dos tetos, pois relacionou, positivamente, a CBT da superfície dos tetos antes com a efetividade de higienização da superfície dos tetos depois da higienização. Por último, o fator 4 (F4), corresponde a saúde da glândula mamária e associou, inversamente, a profundidade do úbere com o ECS, ou seja, vacas com úbere mais profundo apresenta maior ECS.

Tabela 2. Cargas fatoriais, comunidades e percentual de variância da profundidade de úbere, produção de leite, ordenhas diárias e indicadores de efetividade de limpeza dos tetos e saúde da glândula mamária.

Variáveis	Fatores ⁽¹⁾				Comunidades
	1	2	3	4	
Ordenha dia (número)	0,8843	-0,0308	-0,0270	-0,2047	74,8
Produção leite (kg/dia)	0,8722	0,0558	0,0063	-0,0424	74,3
Profundidade úbere	-0,6358	0,0129	0,0096	-0,4194	70,3
ELTT antes ⁽²⁾	0,1942	0,8823	0,0436	0,0801	78,6
Diferença de ELTT ⁽³⁾	-0,2825	0,7322	-0,0516	-0,1722	73,6
Diferença da CBT (ufc/mL) ⁽⁴⁾	-0,0439	-0,1320	0,8355	-0,1151	71,8
CBT antes (ufc/mL) ⁽⁵⁾	0,0171	0,1435	0,8120	0,0983	69,6
ECS (\log^2) ⁽⁶⁾	-0,1248	-0,0179	-0,0126	0,9620	89,2
% Variância	28,5	17,9	16,9	11,8	

⁽¹⁾Fatores: 1 – Produção de leite, 2 – Efetividade da limpeza física, 3 – Efetividade da limpeza automática e 4 – Saúde da glândula mamária, formados pela análise fatorial,

⁽²⁾ELTT antes - escore de limpeza de tetos com toalha umedecida antes da limpeza: média de dois tetos contralaterais.

⁽³⁾Diferença de ELTT - diferença da limpeza dos tetos avaliada com toalhas umedecidas antes e após a limpeza: média de dois tetos contralaterais.

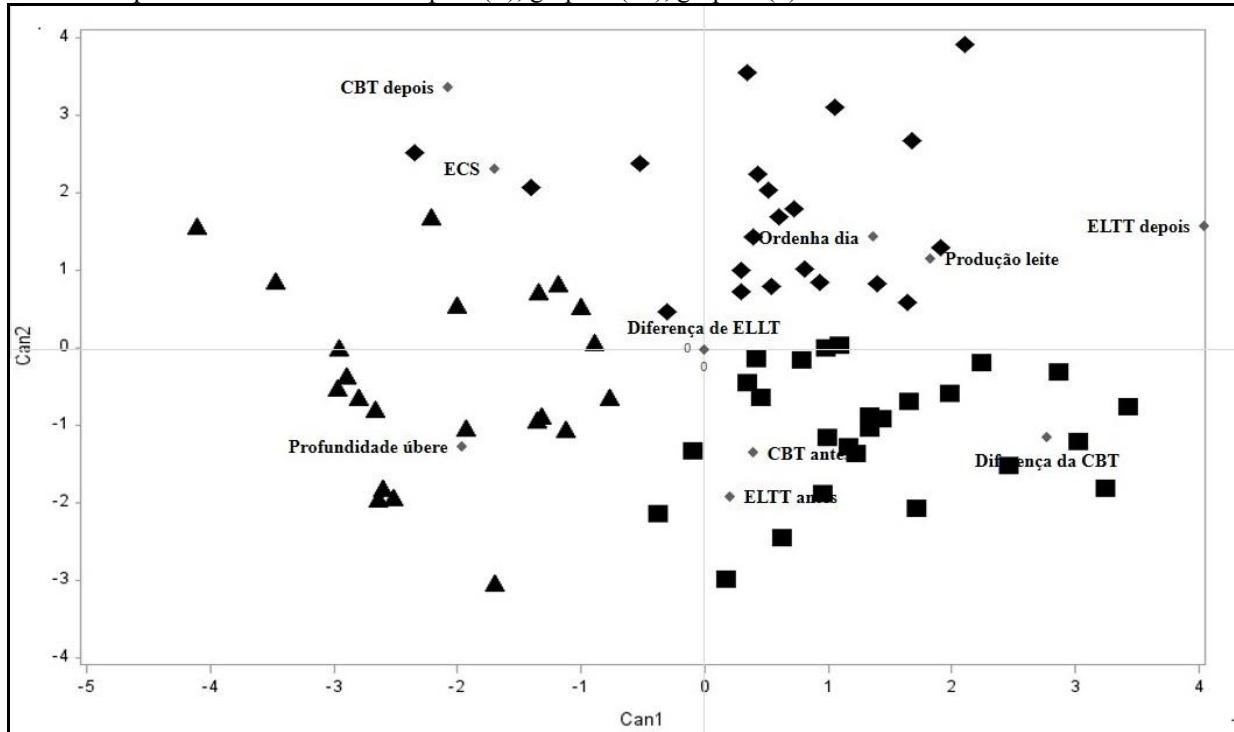
⁽⁴⁾Diferença da CBT – diferença da contagem bacteriana total dos tetos avaliada com *swab* antes e após a limpeza: média de dois tetos contralaterais.

⁽⁵⁾CBT antes – contagem bacteriana total dos tetos antes da limpeza: média de dois tetos contralaterais.

⁽⁶⁾ECS - escore de células somáticas = \log_2 (CCS/100) + 3 (RIBAS, 2002)

A análise canônica conseguiu capturar a diferença entre os grupos formados pela análise de agrupamento e tem a finalidade de demonstrar graficamente as distâncias utilizadas na separação dos grupos (Figura 1). O grupo 1 diferiu do 2 nas variáveis profundidade do úbere, produção de leite, número de ordenhas diárias, ECS, ELTT depois, CBT depois e diferença de CBT. Os grupos 1 e 2 diferenciam-se do grupo 3 em função das variáveis profundidade do úbere, produção de leite, número de ordenhas diárias, ECS, ELTT antes, ELTT depois, CBT antes, CBT depois e diferença de CBT.

Figura 1. Representação gráfica obtida através da análise canônica das características de cada grupo de vacas conforme a profundidade de úbere. Grupo 1 (■); grupo 2 (▲); grupo 3 (◆).



Dentro da análise de agrupamento foi realizada a análise discriminante, pelo método STEPDISC, a qual é responsável por selecionar as variáveis que compuseram o modelo final ($P < 0,0001$) e foram determinantes na diferenciação dos grupos, ou seja: profundidade de úbere, número de ordenhas/dia, produção de leite, ECS, ELTT depois, CBT depois e diferença da CBT. Foram formados três grupos, sendo que o grupo 1 é representado em média, por vacas com profundidade de úbere normal, número de ordenhas diárias, produção de leite e diferença do ELTT intermediárias, menor ECS e CBT depois da limpeza e maior diferença da CBT, demonstrando que vacas com profundidade de úbere normal apresentam melhor efetividade de limpeza e higienização do tertos e melhor saúde de glândula mamária. O grupo 2 apresentou vacas com úbere profundo (escore 1,55), produção de leite, número de ordenhas diárias e ECS maior, porém menor efetividade de limpeza e higienização dos tetos. Portanto, o aumento da profundidade de úbere tem influência negativa sobre a efetividade de limpeza e higienização dos tetos, bem como na saúde de glândula mamária em SOR. O grupo 3 foi caracterizado por vacas com profundidade de úbere rasa e pequeno, produção de leite, número de ordenhas diárias e ELTT antes e depois da higienização menores e maior diferença no ELTT, indicando que este grupo tem melhor efetividade de limpeza dos tetos.

Tabela 3. Análise de agrupamentos referente à profundidade de úbere, produção de leite, ordenhas dia, escore de células somáticas, indicadores de limpeza dos tetos e número de observações por grupo⁽¹⁾.

Variáveis	Unidade	Grupos ⁽²⁾			P > F
		1	2	3	
Profundidade úbere	Escore	2,61 a	3,15 a	1,55 b	<0,0001
Ordenha dia	Número	2,38 b	2,09 c	2,66 a	<0,0001
Produção leite	Kg/dia	35,94 b	31,06 c	42,57 a	<0,0001
ECS ⁽³⁾	Log ²	1,46 b	2,83 a	3,39 a	=0,0029
ELTT antes ⁽⁴⁾	Escore	2,66 a	2,28 b	2,45 ab	=0,0159
ELTT depois ⁽⁵⁾	Escore	1,52 a	0,83 b	1,59 a	<0,0001
Diferença de ELLT ⁽⁶⁾	Escore	1,15 b	1,44 a	0,86 c	<0,0001
CBT antes ⁽⁷⁾	Log ₁₀ ufc/mL	2,37	2,30	2,28	=0,8203
CBT depois ⁽⁸⁾	Log ₁₀ ufc/mL	1,42 b	2,16 a	2,33 a	<0,0001
Diferença da CBT ⁽⁹⁾	Log ₁₀ ufc/mL	0,71 a	-0,07 b	-0,19 b	<0,0001
Número de observações		31	27	22	

⁽¹⁾ Médias na mesma linha, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

⁽²⁾ Grupos formados pela análise de agrupamento (1 – úbere intermediário/normal, 2 – úbere raso e 3 – úbere profundo).

⁽³⁾ ECS – Escore de células somáticas = log₂ (CCS/100) + 3 (RIBAS, 2002).

⁽⁴⁾ ELTT antes - escore de limpeza de tetos com toalha umedecida antes da limpeza: média de dois tetos contralateral.

⁽⁵⁾ ELTT depois - escore de limpeza de tetos com toalha umedecida após a limpeza: média de dois tetos contralateral.

⁽⁶⁾ Diferença de ELTT - diferença da limpeza dos tetos avaliada com toalhas umedecidas antes e após a limpeza: média de dois tetos contralateral

⁽⁷⁾ CBT antes – contagem bacteriana total da superfície do teto antes da limpeza: média de dois tetos contralateral.

⁽⁸⁾ CBT depois – contagem bacteriana total da superfície do teto após a limpeza: média de dois tetos contralateral.

⁽⁹⁾ Diferença da CBT – diferença da contagem bacteriana total dos tetos avaliada com *swab* antes e após a limpeza: média de dois tetos contralateral.

DISCUSSÃO

Considerando a metodologia descrita por Hovinen (2009), antes da limpeza pelo braço robótico os tetos estavam, em média, levemente sujos (ELTT 2,48) e depois da limpeza levemente limpos (ELTT 1,31) (Tabela 1). Essa diferença do ELTT antes e depois (1,17) permite concluir que a efetividade na limpeza dos tetos depende da limpeza dos mesmos quando as vacas chegam à estação de ordenha. Como o ELTT é um indicador da limpeza física dos tetos a CBT é fundamental para avaliar não só limpeza física como a contaminação da superfície dos mesmos. Foi observada uma redução na média da CBT sobre a superfície dos tetos depois da limpeza (\log_{10} ufc/mL = 1,93) em relação à contagem antes da limpeza (\log_{10} ufc/mL = 2,32). A CBT após a limpeza ficou dentro do limite (\log_{10} ufc/mL < 2) descrito por Knappstein et al. (2002) para classificar os tetos como limpos. No estudo de Knappstein et al. (2004) a CBT inicial dos tetos antes da limpeza foi significativa para a efetividade da limpeza. Segundo esses autores, a contagem bacteriana dos tetos em alguns rebanhos aumentou após a limpeza, particularmente, nos casos de baixa contaminação antes da limpeza e falha do dispositivo de limpeza.

De acordo com o F1 (Tabela 2) e a análise de agrupamento (Figura 1 e Tabela 3) quanto mais profundo o úbere maior a produção de leite e, consequentemente, maior a número de ordenhas diárias e pior a saúde da glândula mamária. Os úberes profundos tiveram uma menor efetividade na limpeza dos tetos avaliada através da diferença da ELTT (Tabela 2), ou seja, quanto mais profundo o úbere menor a efetividade na limpeza física dos tetos. Portanto, a profundidade do úbere, além de interferir na produção e qualidade do leite, interferiu também na remoção da sujidade dos tetos. Como úberes profundos dificultam a limpeza física dos tetos e interferem na saúde da glândula, em SOR, deve ser dada maior importância na seleção de vacas com conformação de úbere mais adequado ao sistema como descrito a seguir.

O grupo composto por vacas com úberes, em média, com profundidade intermediária/normal (Grupo 1, Tabela 3) tenderam a ter produção de leite e número de ordenhas diárias próximo da média do rebanho (35,94 kg/dia e 2,36, respectivamente) deste estudo (Tabela 1), menor ECS e maior efetividade na limpeza dos tetos avaliada via *swab* (Tabela 3). Portanto, vacas com úberes intermediários (profundidade um pouco acima do jarrete) apresentaram produção de leite, saúde da glândula mamária e contaminação dos tetos mais adequada ao SOR. As vacas com úberes menos profundos (pequeno e raso) (Grupo 2, Tabela 3) produziram menos leite e com qualidade inferior quando comparadas com as vacas com úbere com profundidade intermediária (normal) (Grupo 1) apesar de apresentar maior efetividade da limpeza dos tetos avaliada através do ELTT, porém, apresentaram CBT da superfície dos tetos e saúde da glândula mamária igual às vacas com úberes profundos (Grupo 3). Úberes mais profundos apresentaram maior sujidade dos tetos antes da limpeza (Grupos 1 e 3) e menor efetividade na limpeza dos mesmos avaliada via ELTT (Grupo 3). No estudo de DeVries et al. (2012), as vacas com úberes mais profundos apresentaram tetos mais sujos devido à proximidade com o piso, além disso, esses autores observaram que devido a maior produção de leite permanecem mais tempo em pé para se alimentar expondo o úbere ao esterco dos corredores e área de alimentação.

Tanto a limpeza depois da higienização pelo braço robótico como a efetividade da limpeza dos tetos avaliadas via *swab* e com toalhas umedecidas, dependem do escore de sujidades antes da limpeza (Tabela 2), ou seja, demonstraram a importância do ambiente da vaca para a qualidade higiênica da ordenha em SOR. A contaminação inicial dos tetos tem influência significativa na efetividade na limpeza dos tetos independente da marca de SOR (DOHmen et al., 2010). Para aumentar a limpeza dos tetos antes da entrada na estação de ordenha, a gestão da higiene das camas e piso dos corredores precisa ser eficiente, pois o

dispositivo de limpeza não remove toda a sujidade dos tetos. Para superar esse problema, a gestão da higiene deve ser melhorada, não apenas com foco na higiene dos tetos, mas também a manutenção de elevados padrões de higiene nas camas e piso dos corredores (SVENNERSTEN-SJAUNJA; PETTERSSON, 2013).

Na Tabela 3 é possível observar que os tetos com maior CBT apresentaram maior CCS (Grupos 2 e 3). A higiene pobre dos tetos é associada com uma alta incidência de mastite clínica (BREEN et al., 2009) e elevação da CCS (SCHREINER; RUEGG, 2003; DOHMHEN et al., 2010). Em um estudo com 1.093 vacas em 8 fazendas foram observadas relações significativas entre CCS e o escore de higiene da vaca composto por higiene do úbere, pernas e pés (RENEAU et al., 2005). Dohmen et al. (2010) também relacionaram positivamente a média anual de CCS com a proporção de vacas com tetos, úbere, coxas e pernas sujas antes da ordenha. A higiene da vaca também foi associada ao tempo em que a mesma fica deitada ou em pé e com a limpeza do ambiente (DE VRIES, 2012).

Considerando os aspectos de funcionalidade e sanidade da glândula mamária, a conformação de úbere mais adequada ao SOR coincide com a classificação para tipo utilizada no Brasil (extremos biológicos de 1 a 9), onde a profundidade de úbere ideal (piso) se localiza logo acima do jarrete (escore 5). Segundo Carlström (2014) existe alta herdabilidade e correlações genéticas entre as características de conformação de úbere e posicionamento dos tetos medidos pelo SOR e as avaliadas na classificação para tipo. Assim, seria possível utilizar informações das coordenadas dos tetos e úbere para substituir ou serem utilizadas como um complemento as classificações para avaliação genética de conformação do úbere e colocação dos tetos.

Na avaliação visual e/ou bacteriológica, a limpeza dos tetos no SOR é menos efetiva que a limpeza manual (KNAPPSTEIN et al., 2004). Um dos problemas potenciais no SOR é a incapacidade de distinguir entre um teto sujo ou limpo (JACOBS; SIEGFORD, 2012). Como o processo é padronizado não pode ser ajustado conforme a sujidade, não existindo dispositivo disponível para distinguir entre tetos sujos e limpos ou para monitorar a efetividade da limpeza (HOVINEN, 2009). Para evitar novos casos de IIM e/ou a alta CCS, além da limpeza das camas e corredores, a qualidade microbiológica da água utilizada na estação de ordenha, em especial na limpeza dos tetos, deve ser monitorada periodicamente e se necessário tratada. Ênfase dever ser dada também no *pré dipping* quanto à eficácia dos produtos utilizados, tempo e forma de aplicação. Relações positivas foram observadas entre a porcentagem média anual de novos casos com alta CCS e a proporção de vacas com tetos

sujos antes da ordenha, proporção de ordenhas onde os tetos não foram cobertos com o *spray* de desinfecção e a proporção de vacas com um úbere e coxas sujas (DOHMEN et al., 2010).

CONCLUSÕES

A limpeza final dos tetos depende da limpeza inicial e, consequentemente, da higiene das instalações. A limpeza física dos tetos não é um bom indicador da qualidade microbiológica da mesma. Em sistemas de ordenha robotizada, vacas com úbere profundo apresentam menor efetividade de limpeza de tetos e saúde da glândula mamária. Vacas com úbere com profundidade um pouco acima do jarrete apresentaram produção de leite na média do rebanho, úbere mais saudável e tetos menos contaminados, apresentando conformação do úbere mais adequada ao SOR.

REFERÊNCIAS

- BREEN, J. E.; GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. **Journal Dairy Science**, v. 92, p. 2551–2561, 2009.
- CARLSTRÖM, C. **Genetic variation of in-line recorded milkability traits and associations with udder conformation and health in swedish dairy cattle**. 2014. 55 p. Tese (Doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2014.
- DeVRIES, T. J. et al. Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. **Journal Dairy Science**, v. 95, p. 5730-5739, 2012.
- DOHMEN, W.; NEIJENHUIS, F.; HOGEVEEN, H. Relationship between udder health and hygiene on farms with an automatic milking system. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 4019–4033, 2010.
- HOVINEN, M. **Udder health of dairy cows in automatic milking**. 2009. 94p. Dissertação (Acadêmica) – Faculty of Veterinary medicine/University of Helsinki, Helsinki, 2009.
- HOVINEN, M.; AISLA, A. M.; PYÖRÄLÄ, S. Visual detection of technical success and effectiveness of teat cleaning in two automatic milking systems. **Journal Dairy Science**, v. 88, p. 3354–3362, 2005.
- HOVINEN, M.; PYÖRÄLÄ, S. Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. **Journal Dairy Science**, v. 94, p. 547-562, 2011.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION – IDF. ISO 13366- 2/International Dairy Federation (IDF) 148-2 – Milk – Enumeration of somatic cells – Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. IDF, Brussels, Belgium, pp. 15, 2006.

JACOBS, J. A.; SIEGFORD, J. M. Invited review: the impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. **Journal Dairy Science**, v. 95, p. 2227-2247, 2012.

JANZEKOVIC, M.; BRUS, M.; MURSEC, B. Mastitis detection based on electric conductivity of milk. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v. 34, p. 39-46, 2009.

KLAAS, I. C. et al. Cow related risk factors for milk leakage. **Journal Dairy Science**, v. 88, p. 128-136, 2005.

KNAPPSTEIN, K. et al. Effectiveness of automatic cleaning of udder and teats and effects of hygiene management: Protocol for evaluation of teat cleaning systems. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS, p. 33, jun. 2002. Disponível em:<<http://www.automaticmilking.nl>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

KNAPPSTEIN, K. et al. Effectiveness of automatic cleaning of udder and teats and effects of hygiene management: Report on effectiveness of cleaning procedures applied in different automatic milking systems. In: REPORT EU PROJECT IMPLICATIONS OF THE INTRODUCTION OF AUTOMATIC MILKING ON DAIRY FARMS, p. 31, jan. 2004. Disponível em:<<http://www.automaticmilking.nl>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

MAGNUSSON, M. *Bacillus cereus in the housing environment of dairy cows. contamination routes, effect of teat cleaning, and measures to improve hygiene in the cubicles and alleys*. 2007. 42 p. Tese (Doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden, 2007.

MILLER, R. H. et al. Variation in distances among teats of Holstein cows: implications for automated milking. **Journal Dairy Science**, v. 78, p.1456–1462, 1995.

MOTTRAM, T. T. Requirements for teat inspection and cleaning in automatic milking systems. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 17, p. 63-77, 1997.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determinacion of milk qualiry. 4. ed. Verona, WI: The National Mastitis Council Inc., 2004.

RENEAU, J. K. et al. Association between hygiene scores and somatic cell scores in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, p.1297–1301, 2005.

RIBAS, N. P.; PAULA, M. C.; ANDRADE, U. V. C. Somatic cell corent and somatic cell score in bulk milk samples. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DE LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2, 2002. São Paulo. Anais...São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p.55.

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

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. M.; PETTERSON, G. Pros and cons of automatic milking in Europe. **Journal Animal Science**, v. 86 (Suppl. 1), p. 37-46, 2008.

CAPÍTULO V
COMPORTAMENTO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA EM ORDENHA
ROBÓTICA⁴

⁴ Artigo escrito de acordo com as normas da revista Archives of Veterinary Science

COMPORTAMENTO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA EM ORDENHA

ROBÓTICA

(Behaviour of holstein cows in robotic milking)

RESUMO: Objetivou-se avaliar o comportamento ingestivo de concentrado e de ordenha conforme a ordem de parto de vacas em lactação no sistema de ordenha robotizada (SOR). O experimento foi realizado de março a junho de 2014, em Castro, PR, com vacas da raça Holandesa, alojadas em confinamento do tipo *free stall*, ordenhadas automaticamente e classificadas conforme a ordem de lactação (1, 2 e +3 lactações). Os dados foram extraídos da base de dados do software de gerenciamento da propriedade, sendo consideradas as atividades de um dia por mês (24 h), por quatro meses, após a realização do controle leiteiro oficial. Os dados foram analisados por técnicas de análise multivariada (análise fatorial, canônica e de agrupamento), utilizando-se os procedimentos FACTOR, CANDIS, FASTCLUS, CLUSTER e GLM do pacote computacional SAS. O comportamento ingestivo de concentrado influenciou toda a atividade das vacas no SOR, sendo um fator fundamental para o desempenho dos animais neste sistema. A paridade não influenciou o comportamento na ordenha, somente o comportamento ingestivo, possivelmente, devido à dominância social das vacas multiparas. Porém as vacas mais produtivas apresentaram um comportamento ingestivo mais agressivo. Conclui-se que a ordem de parto influencia o comportamento ingestivo de concentrado, porém, não interfere no comportamento de ordenha de vacas com maior paridade.

Palavras chave: Estação de ordenha; produção de leite; vacas em lactação; sistema voluntário de ordenha

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the ingestive behaviour of concentrate and milking according to parity of dairy cows in automatic milking system (AMS). The experiment was conducted from March to June 2014, in Castro, PR, with Holstein cows, housed in a free stall, milked automatically and classified according to the lactation order (1, 2 and +3 lactations). Data were extracted from the database of the property management software, considering the activities of one day a month (24 hours) for four months after the achievement of the official milk production control. The data were analyzed by multivariate analysis (factor analysis, canonical and cluster), using the FACTOR procedures, CANDIS, FASTCLUS, CLUSTER and GLM of the statistical package SAS. The ingestive behaviour of concentrate influenced the entire activity of the cows in the AMS, being a fundamental factor in the performance of animals in this system. Parity did not influence the milking behaviour, only the ingestive behaviour, possibly due to the social dominance of multiparous cows. However, the most yielding cows had a more aggressive ingestive behaviour. It was concluded that the parity influenced the ingestive behaviour of concentrate, but does not interfere in milking behaviour in cows with higher parity.

Keywords: Dairy cows; milk yield; milking station; voluntary milking system

INTRODUÇÃO

O Sistema de Ordenha Voluntária, em inglês *Voluntary Milking System* (VMS™, DeLaval, Tumba, Suécia), explora o ciclo natural do comportamento da vaca incluindo alimentação, descanso e ruminação e se baseia no fato de que cada vaca decide quando quer alimentar-se e isso poderá coincidir com o momento da ordenha. Portanto, no VMS™, o comportamento das vacas em acessar as estações de ordenha (EO) está baseado no princípio da necessidade do animal se alimentar (regulação fisiológica em nutrientes para atingir seu potencial genético) com concentrado através da passagem por portão de controle e direcionamento (PCD). Dependendo da quantidade de leite estimada no úbere ou do tempo decorrido da última ordenha é dada permissão de ordenha ou não, a qual é configurada no sistema de gerenciamento conforme os dias em lactação (DEL) e a ordem de lactação.

Os padrões de comportamento de vacas em lactação foram estudados, extensivamente, no sistema de confinamento tradicional, o qual pode ser dividido em várias atividades principais: ordenhando, comendo, bebendo, descansando, socializando nos corredores e em pé nas camas (Gomez e Cook, 2010). Após a introdução do sistema de ordenha robotizada (SOR) podem surgir vários problemas, tais como deterioração significativa na qualidade de leite e falta de padrão de comportamento das vacas em lactação (Broucek e Tongel 2015). Isso fez surgir demanda por mais estudos sobre o comportamento de vacas em lactação no SOR, onde a ordenha, produção e qualidade do leite, tipo de tráfego, comportamento e adaptação são elementos essenciais (Broucek e Tongel, 2015), pois as vacas precisam de uma adaptação intensiva para minimizar a perda de produção. Tem

sido sugerido que o fluxo de animais para o comedouro no SOR é diferente do sistema *free stall* convencional, sendo que o espaço de comedouro (largura) no SOR é menor do que a recomendação normal, ou seja, 0,61 m por vaca (Grant e Albright, 2001; Wagner Storch e Palmer, 2003).

Dominância social em animais domésticos torna-se especialmente importante quando os recursos, tais como alimentos e água, são escassos (Ketelaar-de Lauwere et al., 1996) ou limitados no espaço e tempo. Uma situação competitiva, que apresenta similaridade com o que ocorre nos alimentadores automáticos de concentrado, geralmente, é criada na entrada da EO. Ketelaar-de Lauwere et al. (1996) relataram que vacas com baixa dominância passaram mais tempo de espera em frente ao sistema de ordenha automático. Por outro lado, Melin et al. (2006), concluíram que vacas de baixa posição social passaram mais tempo na sala de espera e menos tempo na área de descanso do que vacas de alta posição social.

O monitoramento das atividades permite entender melhor o comportamento das vacas visando configurar todo o sistema de rotina do rebanho, considerando as interações sociais, equipamentos e instalações como forma de melhorar o manejo, produção e bem-estar animal. Segundo Jacobs et al. (2012), a compreensão de como as interações entre vacas e o seu ambiente influenciam o movimento através do SOR torna-se imperativo para o sucesso do sistema. O comportamento social é considerado um fator de extrema importância em sistemas intensivos de produção de leite. Portanto, sobre esse sistema existem muitas perguntas, o que aumenta a demanda por mais estudos para entender o comportamento das vacas neste sistema de produção, visando melhor adaptação e, consequentemente, melhor desempenho produtivo.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o comportamento ingestivo e de ordenha em função da ordem de parto de vacas em lactação no SOR.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas vacas em lactação da raça Holandesa, primíparas e multíparas, confinadas e ordenhadas em sistema de ordenha voluntária, de uma propriedade localizada em Castro, PR ($24^{\circ}47'10''$ de latitude sul e $49^{\circ}50'57''$ de longitude oeste e 988 m de altitude), com DEL entre 5 a 305 dias, classificadas conforme a ordem de parto (1^a, 2^a e +3). Os dados foram coletados no período de março a junho de 2014, considerando as atividades de um dia por mês (24 h), após a realização do controle leiteiro oficial, os quais foram extraídos da base de dados do software de gerenciamento da propriedade.

As vacas foram alojadas em confinamento do tipo *free stall*, com capacidade para alojar 160 vacas, medindo 85,0 x 22,58 m, dividido em área de descanso com 137 camas (três linhas de cama com colchão – DeLaval, Tumba, Suécia) medindo 1,20 m de largura x 2,50 m de comprimento, pista de alimentação com dieta parcialmente misturada (DPM) para 104 vacas, simultaneamente, com acesso lateral ao confinamento para carreta misturadora, área de alimentação com concentrado (5 boxes), sala de espera (medindo 9 x 2,40 m), estação de ordenha (2 robôs), área de separação com nove canzis para animais em tratamento, em cio ou vacas pós-parto (colostro) e centro de manejo para exames reprodutivos (Figura 1). A lotação média no confinamento durante o período de coleta de dados foi de $125 \pm 9,32$ vacas.

O acesso entre as áreas era feito através de portões de não retorno (entre a estação de alimentação e área de descanso e entre esta e a pista de alimentação)

em combinação com portões automáticos (pista de alimentação e saída dos robôs) (Figura 1B) que selecionavam e redirecionavam as vacas após a identificação das mesmas através de um colar com *transponder*. O portão antes do robô (PCD) direcionava os animais para três áreas dependendo do volume estimado de leite no úbere e do tempo desde a última ordenha: sala de espera, estação de alimentação e retorno a própria pista de alimentação. O acesso as EO era feito com base no horário e/ou quantidade de leite no úbere (estimado pelo software de gerenciamento), da seguinte forma: primíparas com 1 a 30 dias de lactação – a cada 4h ou 7 kg de leite, de 31 a 280 dias de lactação – 7 h ou 8 kg de leite e + 281 dias de lactação – 9 h ou 7 kg de leite; multíparas com 1 a 30 dias de lactação – 5 h ou 8 kg de leite, de 31 dias até 30 dias antes da secagem – 6 h ou 9 kg leite e últimos 30 dias de lactação – 8 h ou 8 kg de leite. Se faltasse menos de 20 minutos para a ordenha a vaca, esta era redirecionada para a pista de alimentação (com DPM) e se faltasse mais de 20 minutos era redirecionada para a estação de alimentação (passagens pelo PCD sem ordenha) e daí para área de descanso e pista de alimentação através de portões de não retorno.

Um computador registrava automaticamente o número de passagens pelo PCD, o horário de entrada nas EO, a produção de leite, o número de ordenhas diárias, duração da ordenha e o consumo de concentrado nas EO e nos alimentadores automáticos. Os registros sobre a produção de leite, ordenhas diárias, duração e horário da ordenha, passagens pelo PCD e consumo de concentrado foram obtidos automaticamente a partir das visitas das vacas às EO, de medidores instalados na linha de leite, passagens pelo PCD e box alimentadores e extraídos do banco de dados. Os registros do banco de dados também foram utilizados para o cálculo da produção de leite por kg de concentrado. A duração da ordenha,

calculada pelo software DelPro™, considerou-se o período desde a identificação da vaca ao entrar na EO e até a extração da última teteira. O dia foi dividido em quatro períodos para avaliar a distribuição de visitas as unidades de ordenha automática ao longo do mesmo: 00:00 – 06:00, 06:00 - 12:00, 12:00 - 18:00 e das 18:00 às 00:00 horas.

As vacas foram alimentadas com DPM, com base na matéria seca, composta por silagem de milho (52,93%), silagem de azevém (16,94%), silagem de aveia (6,35 %), feno de alfafa (4,36%), protenose de milho (8,17%), farelo de soja (8,05%), gordura protegida (0,91%), tamponante (1,81%) e núcleo mineral (0,48%), sendo processada em carreta misturadora com balança eletrônica e fornecida duas vezes ao dia (05:30 e 13:30 h). O suplemento concentrado (18% PB e 80% NDT) foi oferecido nas unidades de ordenha (1,5 kg/ordenha) e em cinco boxes individuais fixados na estação de alimentação, com acesso seletivo, através de portão localizado antes da EO, sendo a quantidade diária de concentrado configurada de acordo com o DEL e a produção de leite, conforme segue: 4 kg do parto até 5 dias pós parto; 6 kg de 6 a 10 dias; 6 a 8 kg de 11 a 15 dias; 8 a 10 kg de 16 a 20 dias; 10 a 12 kg de 21 a 110 dias e 7 a 12 kg de 111 dias de lactação até a secagem.

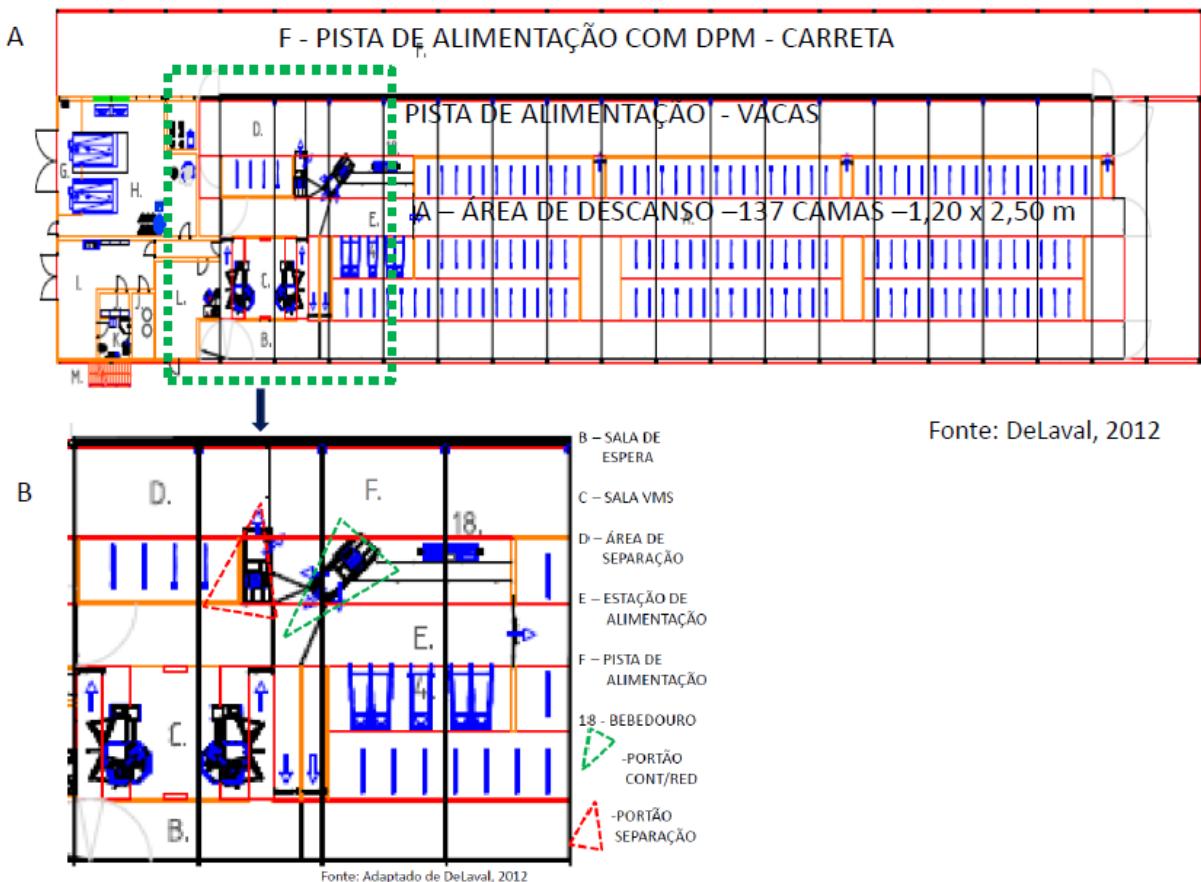


Figura 1 – Planta baixa com a divisão do confinamento em áreas (A) e corte detalhado da área do VMS (B).

Os dados foram avaliados através de técnicas de análise multivariada (análise factorial e de agrupamento), utilizando-se o pacote estatístico SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC), que foram previamente padronizados pelo procedimento padrão (PROC STANDARD). A análise factorial foi utilizada para avaliar a relação entre as variáveis, visando reduzir o conjunto original de variáveis em um número menor de fatores, compondo cada fator pelas variáveis mais relacionadas entre si. A análise factorial foi realizada pelo procedimento FACTOR, na qual para verificar a adequacidade do modelo utilizou-se a medida de adequação da amostra de Kaiser-Meyer-Olkin. As variáveis foram selecionadas para compor cada fator, pelas suas comunalidades que representam as proporções da variação das variáveis originais que são explicadas pelo fator comum. O número de fatores foi definido pelo

autovalor, sendo considerados todos os fatores com autovalores superiores a um. As cargas fatoriais foram consideradas significativas a partir de 0,4 e foi utilizada a rotação Promax, a qual é uma rotação oblíqua que considera a relação entre os fatores.

A análise de agrupamento foi utilizada como complemento da análise fatorial, visando melhorar a compreensão dessas relações através da formação de grupos que apresentam similaridade dentro de si mesmo e diferenças entre os grupos. Foi utilizado o método hierárquico de Ward baseado na distância euclidiana para estimar as médias padronizadas dos grupos, sendo posteriormente transformadas nas médias originais para cada grupo. A análise de agrupamento foi confirmada pela análise canônica (PROC CANDISC) que demonstra graficamente a distância entre os grupos e pela análise discriminante (PROC DISCRIM), através do método STPEDISSC, para selecionar as variáveis responsáveis pela diferenciação dos grupos. As médias padronizadas dos três grupos formados foram comparadas, visando identificar a diferença entre os grupos, utilizando-se a análise de variância multivariada (MANOVA), pelo PROC GLM, com médias de grupos comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, ao nível de significância de 5%.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, conforme protocolo 1.64.13.

RESULTADOS

Os valores médios e a dispersão dos indicadores sobre ordem de parto, DEL, produção de leite, características de ordenha, atividade e consumo de concentrado constam da Tabela 1.

Tabela 1 – Análise descritiva das variáveis de produção de leite, comportamento de ordenha e ingestivo (425 observações).

Variável	Unidade	Média	DP ¹	Mínimo	Máximo
Ordem de parto	Número	1,70	1,02	1,00	6,00
DEL ²	Dias	123,00	79,13	5,00	306,00
Ordenha/dia	Número	2,47	0,69	1,00	4,00
Produção de leite	kg/dia	35,27	10,53	9,00	69,67
Consumo concentrado	kg/MN/dia	10,44	2,68	1,50	15,00
Leite/concentrado	kg/dia	3,65	1,58	1,04	12,90
Passagem PCD ³	Número	10,92	5,06	0	27,00
Ordenhas 00 - 06 h	Número	0,57	0,50	0	2,00
Ordenhas 06 - 12 h	Número	0,62	0,50	0	2,00
Ordenhas 12 - 18 h	Número	0,63	0,50	0	2,00
Ordenhas 18 - 24 h	Número	0,63	0,49	0	2,00
Duração da ordenha	Segundos	441,99	110,56	193,00	908,00
Passagem PCD s/ordenha	Número	8,46	4,77	0	24,00

¹DP – Desvio padrão.

²DEL – Dias em lactação.

³Passagem PCD – Número de passagens pelo portão de controle e direcionamento.

Na análise fatorial realizada com os dados sobre paridade e comportamento ingestivo de concentrado, os dois primeiros fatores, abrangendo variáveis de ordem de parto, consumo de concentrado, número de ordenhas/dia, produção de leite e atividade explicaram 65,7% da variabilidade acumulada dos dados (Tabela 2). O fator 1 (F1) representa a atividade diária das vacas, no qual é possível observar a relação positiva entre o consumo de concentrado com o número de ordenhas/dia, número de passagens pelo PCD e produção de leite. O fator 2 (F2) demonstra que o consumo de concentrado tem relação positiva com a ordem de parto. Vacas com maior número de lactações produzem mais leite, portanto realizam mais ordenhas/dia e, consequentemente consomem mais concentrado, em função da maior exigência nutricional para a produção que influencia na maior atividade diária.

Tabela 2 – Cargas fatoriais, comunalidade e percentual de variância referentes ao número de ordenhas/dia, ordem de parto, passagens pelo PCD e consumo de concentrado utilizados para avaliar o comportamento ingestivo de concentrado e a atividade de vacas em lactação.

Variáveis	Fatores ¹		Comunalidades
	1	2	
Número de ordenhas/dia	0,8843	-0,0886	75,3
Passagem PCD ²	0,7322	-0,0798	51,5
Produção de leite (kg)	0,6867	0,2601	62,1
Ordem de parto	-0,1898	0,8923	75,3
Consumo de concentrado (kg)	0,3148	0,6683	64,2
%Variância	43,7	22,0	

¹Fatores 1 – Atividade e 2 – Consumo de concentrado, formados através da análise fatorial.

²Passagem PCD – Número de passagens pelo portão de controle e direcionamento.

A Tabela 3 contém a análise fatorial que permitem avaliar o comportamento de ordenha. Os três primeiros fatores abrangendo o comportamento de ordenha que é representado pela distribuição do número de ordenha durante o ritmo circadiano, produção de leite, consumo de concentrado e paridade explicaram 62,2% da variabilidade acumulada dos dados. O fator 1 (F1) corresponde ao comportamento de ordenha das vacas, relacionando positivamente vacas que são ordenhadas no período das 06 – 12 h com retorno a ordenha no período das 18 – 24 h e, consequentemente apresentam relação contrária as ordenhadas nos períodos 00 – 06 h e 12 – 18 h do dia. O fator 2 (F2) refere-se a produção diária de leite, o qual caracteriza-se pela relação positiva com consumo de concentrado e que realizam ordenhas nos períodos das 00 – 06 h e das 12 – 18 h do dia. O fator 3 (F3) apresenta a relação positivas entre as vacas que possuem maior ordem de parto com maior duração de ordenha e maior consumo de concentrado.

Tabela 3 – Cargas fatoriais, comunalidade e percentual de variância referentes a ordem de parto, produção de leite, características da ordenha e consumo de concentrado utilizados para avaliar comportamento de ordenha de vacas em lactação.

Variáveis	Fatores ¹			Comunalidades
	1	2	3	
Ordenhas 06 - 12 h	0,7759	-0,2819	0,0955	70,2
Ordenhas 12 - 18 h	0,7034	0,4392	-0,1472	68,2
Ordenhas 18 - 24 h	-0,8258	-0,0197	0,1390	66,9
Ordenha 00 – 06 h	-0,3172	0,7387	-0,2522	70,8
Produção de leite (kg)	0,2011	0,7513	0,2426	69,9
Consumo concentrado (kg)	-0,0176	0,5693	0,4838	58,1
Ordem de parto	-0,0231	0,0931	0,7037	50,5
Duração da ordenha (seg)	-0,1341	-0,0180	0,6593	42,6
%Variância	25,1	22,6	14,5	62,2

¹Fatores 1 – Horário de ordenha, 2 – Produção de leite e 3 – Duração da ordenha, formados pela análise fatorial.

A análise canônica conseguiu capturar a diferença entre os grupos formados pela análise de agrupamento e tem a finalidade de demonstrar graficamente as distâncias utilizadas na separação dos grupos (Figura 2). O grupo 1 diferiu do 2 nas variáveis produção de leite, número de ordenhas/dia, consumo de concentrado, passagem pelo PCD, produção de leite por concentrado consumido, ordenha das 00 – 06 h e das 18 – 24 h. O grupo 3 foi formado por um menor número de observações de animais com características variáveis, que diferem dos demais grupos, destacando-se vacas com menor ordem de parto, em início de lactação.

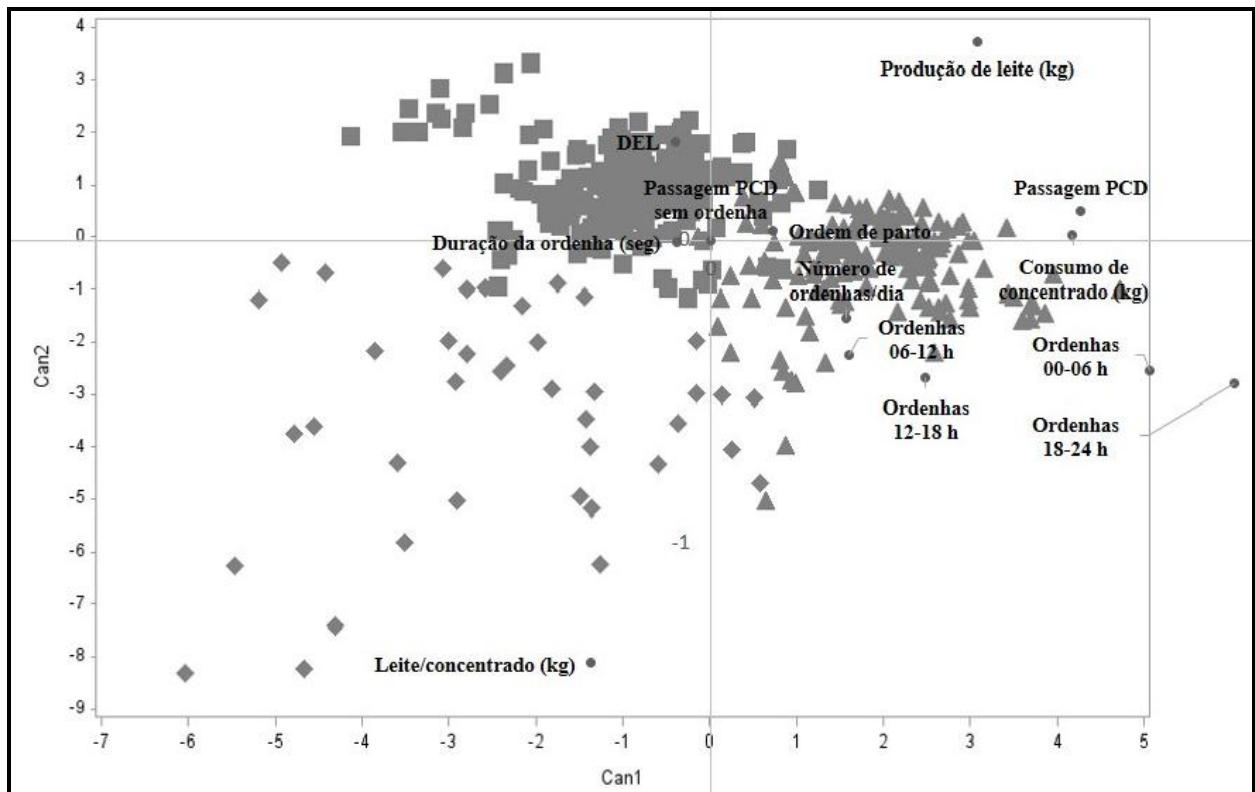


Figura 2 – Represetação gráfica obtida através da análise canônica das características de cada grupo de vacas conforme a ordem de lactação. Grupo 1 (■); grupo 2 (▲); grupo 3 (◆).

Dentro da análise de agrupamento foi realizada a análise discriminante, por meio do procedimento STEPDISC, a qual é responsável por selecionar as variáveis que compuseram o modelo final ($P < 0,0001$) e foram determinantes na diferenciação dos grupos, ou seja: consumo de concentrado, número de ordenhas/dia, produção de leite por concentrado consumido, passagem pelo PCD, produção de leite, ordenha das 00 – 06 h, 18 – 24 h e ordem de parto.

Na análise de agrupamento foram formados três grupos (Tabela 4). O grupo 2 é representado pelas vacas que apresentam maior número de partos, produção de leite, número de ordenhas/dia, consumo de concentrado/dia, passagem pelo PCD, passagem pelo PCD sem ordenha, DEL de aproximadamente 100 dias e ordenhadas das 06 – 12 h e das 18 – 24 h. Enquanto que o grupo 1 apresenta vacas com igual ordem de parto que o grupo 2, porém, com menor produção de leite,

número de ordenhas/dia, consumo de concentrado/dia, passagem pelo PCD, passagem pelo PCD sem ordenha, com DEL de aproximadamente 150 dias. O grupo 3, com menor número de vacas (46), é constituido em grande parte por vacas primíparas no início de lactação (50 dias), podendo ser consideradas vacas em fase de adaptação ao SOR, visto que apresentam menor passagem PCD, consumo de concentrado, porém maior eficiência alimentar, em função da maior relação produção de leite por quilograma de concentrado consumido.

Tabela 4 – Análise de agrupamentos referente a ordem de parto, produção de leite, características da ordenha, passagem pelo portão antes do VMS, consumo de concentrado, DEL, valor de P e número de observações por grupo⁽¹⁾.

Variáveis	Grupos ²			Valor de P
	1	2	3	
Ordem de parto	1,69 a	1,80 a	1,24 b	<0,0001
Produção de leite (kg)	30,54 b	43,22 a	30,00 b	<0,0001
Número de ordenhas/dia	2,02 c	3,12 a	2,27 b	<0,0001
Consumo de concentrado (kg)	10,56 b	11,71 a	4,84 c	<0,0001
Leite/concentrado (kg)	2,89 c	3,69 b	6,19 a	<0,0001
Passagem PCD ³	9,35 b	14,46 a	6,16 c	<0,0001
Ordenhas 00-06 h	0,40 b	0,86 a	0,35 b	<0,0001
Ordenhas 06-12 h	0,57	0,63	0,76	=0,0506
Ordenhas 12-18 h	0,61	0,63	0,63	=0,9300
Ordenhas 18-24 h	0,42 b	0,94 a	0,50 b	<0,0001
Duração da ordenha (seg)	441,78	438,40	455,54	=0,6511
Passagem PCD sem ordenha	7,33 b	11,34 a	3,89 c	<0,0001
DEL ⁴	149,66 a	106,71 b	53,70 c	<0,0001
Número de observações	218	161	46	

¹Médias na mesma linha, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

²Grupos formados pela análise de agrupamento.

³Passagem PCD – Número de passagens pelo portão de controle e direcionamento.

⁴DEL – Dias em lactação.

DISCUSSÃO

Como o rebanho utilizado neste estudo estava em expansão, sendo composto por 55,34% de primíparas, 29,00% de animais de segundo parto e somente 15,66% por vacas de três ou mais partos, a paridade média foi baixa (1,7), assim como o DEL (123 dias) (Tabela 1). A duração e a média de ordenhas/dias foram de 7,36 minutos e 2,47, respectivamente. A duração de ordenha ficou próxima da média de

7,51 reportada por Ipema (1997). O número de ordenhas/dia ficou dentro da média de 2,40 a 2,60 reportada por Castro et al. (2012), em caso de número elevado de vacas/robô.

A frequência de ordenha e a produção de leite dependeram da necessidade do consumo de concentrado e, consequentemente, do número de passagens pelo PCD, ou seja, quanto maior o consumo de concentrado maior a atividade da vaca e maior a produção e o número de ordenhas diárias (Tabela 2). Essas atividades foram influenciadas pelo consumo diário de concentrado e, indiretamente, pela paridade, demonstrando que vacas mais velhas consomem mais concentrado devido a maior produção de leite. Portanto, o comportamento ingestivo de concentrado influenciou toda a atividade das vacas no SOR, sendo um fator fundamental para o desempenho dos animais neste sistema, o qual foi influenciado pela maior exigência nutricional de vacas com maior número de partos, no pico de produção (100 dias), em função da maior produção de leite.

As vacas de maior produção de leite foram ordenhadas no ínicio do dia e a tarde, nos períodos das 00 – 06 h e das 12 - 18 h, sendo que esta preferência de horário não foi influenciada pela paridade (Tabela 3). Wagner-Storch e Palmer (2003) observaram uma maior atividade no robô das 08:00 às 13:00 h e das 15:00 às 19:00 h. Conforme Pirlo et al. (2005), durante às 24 horas do dia, o menor número de ordenhas foi observado de manhã cedo e o pico mais alto foi observado poucas horas depois. De acordo com Ketelaar-de Lauwere et al. (1996), vacas com valores de dominância mais altos visitaram mais a EO durante o dia, entre 12:00 e 18.00 h e vacas com baixos valores de dominância visitam a EO entre 0:00 e 6.00 h. As vacas que apresentaram maior produção de leite foram ordenhadas nos períodos das 00 - 06 h e das 12 – 18 h do dia, estimuladas pelo consumo de

concentrado, ou seja, as vacas são estimuladas a visitar a EO nesses horários devido a necessidade de se alimentar com concentrado. A paridade não interferiu no comportamento de ordenha, somente, na duração de ordenha e consumo de concentrado, possivelmente devido à dominância social das vacas multíparas.

As vacas com menor paridade (grupo 3) são as menos produtivas e apresentaram menor atividade (passagens pelo PCD) e menor tempo de lactação (Figura 2 e Tabela 4), o que pode estar relacionado ao fato de ser um rebanho em expansão com maior introdução de vacas jovens e no inicio de lactação, ou seja em fase de adaptação ao SOR. Além disso, apresentaram maior eficiência alimentar em relação ao consumo de concentrado. Ao contrário deste estudo, Pirlo et al. (2005) observaram que as vacas com menor paridade (primíparas) tiveram uma frequência de ordenha mais alta que as multíparas. O menor consumo de concentrado e passagens pelo PCD podem ser explicados pelo pouco tempo de treinamento no SOR (baixo DEL) e, possivelmente, devido ao baixo valor de dominância no ranking social. O desconhecimento do sistema e o baixo ranking dificultaram a adaptação de vacas de paridade mais baixa entre as vacas com paridade mais alta. Dados de outros estudos demonstram, claramente, que uma adaptação adequada é crucial para a boa produção de leite neste sistema (Weiss et al., 2005). Segundo Ketelaar-de Lauwere et al. (1996), vacas com baixos valores de dominância adaptaram as suas visitas às áreas de ordenha, alimentação e passagens pelo PCD, visitando essas áreas do confinamento em momentos de menor movimento. Bach et al. (2006) sugeriram que o ideal seria colocar as primíparas em lote separado, apesar de não melhorar a produção de leite, o número diário de ordenhas poderia aumentar. Como se observa no grupo 2 (Tabela 4), as vacas com maior produção de leite apresentaram maior consumo de concentrado, número de ordenhas/dia, passagens

pelo PCD e foram ordenhadas, preferencialmente, nos períodos das 00 – 06 h e das 18 – 24 h do dia, com uma terceira ordenha no outros dois períodos, provavelmente, no período das 12 – 18 h (Tabela 3). Portanto, as vacas mais produtivas apresentaram um comportamento ingestivo mais agressivo, sendo mais ativas e, em relação ao comportamento de ordenha, procuram ser ordenhadas no início e no final do dia. Outros estudos observaram que vacas com uma frequência de ordenha mais alta visitam a EO também à noite, interferindo, possivelmente, com o comportamento de descanso (Helmreich et al., 2014), visto que os rebanhos consistem de vacas com baixo e alto valor de dominância no ranking social e isto influencia os padrões de ordenha dependendo da posição social (Wiktorsson e Sørensen, 2004). Segundo Melin et al. (2006) a motivação para a alimentação pode desencadear efeitos na posição social. No estudo de Danielsson (2012) foi observado que as vacas com dominância mais alta tiveram diferença significativa na forma da curva de lactação, quando comparadas às de baixa dominância, explicada por um intervalo de ordenha mais curto, ou seja, foram ordenhadas mais vezes por dia. As vacas com maior DEL apresentaram menor produção de leite, número de ordenhas/dia e eficiência alimentar.

Tanto nas análises fatoriais (Tabelas 2 e 3) como na análise de agrupamentos (Tabela 4) a atividade das vacas dependeu da necessidade de consumo de concentrado que interferiu no número de passagens pelo PCD, o que influenciou a produção de leite. Portanto, o comportamento ingestivo de concentrado depende da ordem de parto, sendo que as vacas com maior produção apresentaram este comportamento mais exacerbado. Por outro lado, a ordem de parto não interferiu no comportamento de ordenha, principalmente em vacas com maior paridade. Além disso, o DEL influenciou o número de ordenhas e a eficiência alimentar.

CONCLUSÕES

A ordem de parto, no SOR, influencia o comportamento ingestivo de concentrado, sem interferir, diretamente, no comportamento de ordenha das vacas. O desconhecimento do sistema e o baixo *ranking* dificultaram a adaptação de vacas de menor paridade, o que sugere que as primíparas devem ser separadas em lote específico.

REFERÊNCIAS

BACH, A.; IGLESIAS, C.; DEVANT, M. et al. Performance and feeding behavior of primiparous cows loose housed alone or together with multiparous cows. **Journal of dairy science**, v. 89, p. 337–342, 2006.

BROUCEK, J.; TONGEL, P. Adaptability of dairy cows to robotic milking: a review. **Slovac Journal**, v. 48, p. 86 – 95, 2015.

CASTRO, A.; PEREIRA, J. M.; AMIAMA, C. et al. Estimating efficiency in automatic milking systems. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.929-936, 2012.

DANIELSSON, T. **The effect of social rank on milking and feeding behaviour in automatic milking system for dairy cows**, 2012. Upssala, 42f. Master's Thesis (Agriculture programme – Animal Science) - Swedish University of Agricultural Sciences. Disponível em:<
http://stud.epsilon.slu.se/4283/11/danielsson_t_120917.pdf> . Acesso em: 17 jan. 2015.

GOMEZ, A.; COOK, N. B. Time budgets of lactating dairy cattle in commercial freestall herds. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 12, p. 5772–5781, 2010.

GRANT, R. J.; ALBRIGHT, J. L. Effect of Animal Grouping on Feeding Behavior and Intake of Dairy Cattle. **Journal of dairy science**, v. 84, Suppl., p. E156 – 163, 2001.

HELMREICH, S.; HAUSER, R.; JUNGBLUTH, T. et al. Time-budget constraints for cows with high milking frequency on farms with automatic milking systems. **Livestock Science**, v. 167, p. 315–322, 2014.

IPEMA, A. H. Integration of robotic milking in dairy housing systems. Review of cow traffic and milking capacity aspects. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 17, p. 79 – 94, 1997.

JACOBS, J. A.; ANANYEVA, K.; SIEGFORD, J. M. Dairy cow behavior affects the availability of an automatic milking system. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 4, p. 2186–2194, 2012.

KETELAAR-DE LAUWERE, C. C.; DEVIR, S.; METZ, J. H. M. The influence of social hierarchy on the time budget of cows and their visits to an automatic milking system. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, n. 2, p. 199–211, 1996.

MELIN, M.; HERMANS, G. G. N.; PETTERSSON, G. et al. Cow traffic in relation to social rank and motivation of cows in an automatic milking system with control gates and an open waiting area. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 96, p. 201-214, 2006.

PIRLO, G.; ABENI, F.; CAPELLETTI, M. et al. Automation in dairy cattle milking : experimental results and considerations. **Italian Journal of Animal Science**, v. 4, n. supple 3, p. 17–25, 2005.

SAS Institute. SAS/STAT OnlineDoc, versão 9.3, Cary, NC, 1999.

WAGNER-STORCH, A. M.; PALMER, R. W. Feeding behavior, milking behavior, and milk yields of cows milked in a parlor versus an automatic milking system. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 4, p. 1494–1502, 2003.

WEISS, D.; MOESTL, E.; BRUCKMAIER, R. M. Physiological and behavioural effects of changeover from conventional to automatic milking in dairy cows with and without previous experience. **Veterinarni Medicina**, v. 50, n. 6, p. 253–261, 2005.

WIKTORSSON, H.; SØRENSEN, J. Implications of automatic milking on animal welfare, 2004. Disponível em: <<http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=Yibi3IMyz-gC&oi=fnd&pg=PA371&dq=Implications+of+automatic+milking+on+animal+welfare&ots=5uEgs4NBRZ&sig=gliN1nuZuRvjM5D4iAJQspBI-D4>>. Acesso em: 30/7/2014.

CAPÍTULO VI
CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO GERAL

6.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como o SOR foi introduzido, recentemente, no Brasil, este estudo investigou, de forma geral, vários aspectos associados à condutividade elétrica e a qualidade do leite, frequência de ordenha e bem-estar animal de vacas em lactação, conformação de úbere e limpeza de tetos e comportamento animal de acordo com a ordem de lactação, visando contribuir para o melhor desempenho e bem-estar dos animais e exploração do mesmo de forma mais adequada nas diferentes regiões produtoras do país. Outros aspectos, pontuais, listados a seguir, necessitam de avaliações mais apuradas:

1. Prevalência de patógenos causadores de mastite e sua influência na CE e formas de transmissão no SOR;
2. Incidência de hiperqueratose, causas e formas de recuperação;
3. Prevalência e causas de lesões de cascos em SOR;
4. Influência dos diferentes sistemas de tráfego sobre o estresse, comportamento e bem-estar animal;
5. Impacto da introdução do SOR sobre a qualidade do leite e;
6. Produção de leite, comportamento e bem-estar animal de primíparas em lotes isolados.

Portanto, num futuro próximo a pesquisa poderá ter uma importância decisiva para que o SOR possa ser adotado pelos produtores de forma segura, podendo, consequentemente, se tornar uma ferramenta importante para o crescimento da produção leiteira com qualidade de vida das pessoas e bem-estar dos animais.

Conforme observações deste estudo, alguns pontos precisam ser melhorados pelos fabricantes de SOR, sendo que alguns já foram apontados em outros estudos:

1. Métodos mais eficazes para a limpeza de tetos e avaliação automática da limpeza dos mesmos;
2. Métodos e técnicas para a detecção de mastite clínica e subclínica mais eficaz;
3. Melhorar a limpeza de partes do SOR que podem veicular bactérias causadoras de mastite entre vacas.

6.2 CONCLUSÃO GERAL

A CE apresentou forte relação com os teores de lactose e de íons no leite. Leite de quartos mamários com CE $\geq 5,9$ e $\geq 5,3$ a $\leq 5,8$ mS/cm podem ser considerados, respectivamente, com mastite clínica e subclínica, sendo os valores $\leq 5,2$ mS/cm considerados sadios.

O consumo de concentrado, DEL, a produção do leite e a o escore de locomoção influenciaram a frequência de ordenha, a qual não é um fator estressante e não afetou as condições da ponta dos tetos a concentração de cortisol sanguíneo.

Em sistemas de ordenha robotizada, vacas com piso do úbere um pouco acima do jarrete apresentaram produção de leite na média do rebanho, úbere mais saudável e tetos menos contaminados, sendo esta conformação de úbere mais adequada ao SOR.

A ordem de parto influenciou o comportamento ingestivo de concentrado, principalmente, em vacas com produção de leite mais alta, porém, não interferiu no comportamento de ordenha de vacas com maior paridade. O desconhecimento do sistema e o baixo ranking dificultaram a adaptação de vacas de menor paridade. Isso sugere que as primíparas devem ser separadas em lote específico.

As considerações, citadas acima, são importantes para configurar os *software* de gerenciamento para emissão de alertas de mastite a partir da CE, fornecimento de concentrado e permissão de ordenha e auxiliar na seleção de vacas com conformação de úbere e comportamento mais adequado ao SOR bem como no manejo e formação de lotes.