

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

HELEN CAROLINE GARCIA DAMASCENO

**RELAÇÃO DAS DIFERENTES ABORDAGENS DIAGNÓSTICAS DA MASTITE
SUBCLÍNICA COM A COMPOSIÇÃO E ATRIBUTOS FÍSICOS DO LEITE**

LAGES/SC

2025

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

DAMASCENO, HELEN CAROLINE GARCIA
RELAÇÃO DAS DIFERENTES ABORDAGENS
DIAGNÓSTICAS DA MASTITE SUBCLÍNICA COM A
COMPOSIÇÃO E ATRIBUTOS FÍSICOS DO LEITE / HELEN
CAROLINE GARCIA DAMASCENO. -- 2025.
65 p.

Orientador: ANDRÉ THALER NETO
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2025.

1. Mastite subclínica. 2. Contagem Diferencial de Células
Somáticas. 3. Qualidade do Leite. I. THALER NETO, ANDRÉ . II.
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.
III. Título.

HELEN CAROLINE GARCIA DAMASCENO

**RELAÇÃO DAS DIFERENTES ABORDAGENS DIAGNÓSTICAS DA MASTITE
SUBCLÍNICA COM A COMPOSIÇÃO E ATRIBUTOS FÍSICOS DO LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Produção Animal. Orientador: Prof. Dr. André Thaler Neto.

LAGES/SC

2025

HELEN CAROLINE GARCIA DAMASCENO

**RELAÇÃO DAS DIFERENTES ABORDAGENS DIAGNÓSTICAS DA MASTITE
SUBCLÍNICA COM A COMPOSIÇÃO E ATRIBUTOS FÍSICOS DO LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em ciência animal, da Universidade do estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

BANCA EXAMINADORA:

Orientador: _____

Prof. Dr. André Thaler Neto

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membro: _____

Profa. Dra. Clarice Gebara Muraro Serrate Cordeiro

Universidade Federal de Goiás - UFG

Membro: _____

Profa. Dra. Vivian Fisher

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Lages, 28 de novembro de 2025.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sido meu sustento fiel em cada fase desta jornada, pela força nos momentos de exaustão e pela clareza que me manteve firme no propósito.

Aos meus pais, Adenilson e Edilce, meu alicerce. Esta conquista é o reflexo direto do amor, do carinho e dos valores que vocês me ensinaram. Não existem palavras que consigam dimensionar minha gratidão. Tudo o que sou, e tudo que conquistei, começou em vocês. Aos meus irmãos, Edson e Ana Julia, por estarem presentes com seu apoio e incentivo, minha mais profunda gratidão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. André Thaler Neto, cuja generosidade e sabedoria transcendem a academia. Mestre, sou imensamente grata por ter me recebido de braços abertos, por acreditar em meu potencial e, sobretudo, pela paciência e compreensão que tornaram esta jornada mais leve. Cada ensinamento seu foi uma semente de conhecimento e confiança. Sinto-me profundamente privilegiada por ter trilhado este caminho sob sua orientação, que me inspirou não apenas a ser uma pesquisadora melhor, mas também um ser humano mais atento.

À minha companheira de jornada, Edinara, uma verdadeira bênção nesta trajetória. Seu misto raro de força e leveza, sua amizade e colaboração, das madrugadas nas coletas aos desafios das análises, foram o combustível que me impulsionou. Minha eterna gratidão.

Este trabalho se tornou realidade graças a uma vasta rede de apoio. Aos bolsistas Eduardo, Carina e Ana Maria, pela dedicação essencial; aos produtores Rafael e Cristiane, por abrirem as portas de suas propriedades com tanto carinho; e à família que encontrei em Braço do Norte, Alexandre, Andreia, Angelica e Ana, por me oferecerem um lar com conforto físico e, principalmente, emocional. Minha gratidão eterna aos seres iluminados que são.

Agradeço também aos meus amigos, alicerces da alma: a Felipe Reis, por ser um farol de inteligência, e a Charles e Abmaela, meus maiores e mais entusiasmados torcedores.

Por fim, expresso minha gratidão à Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), ao PPGCA, e à FAPESC pelo indispensável apoio financeiro; aos laboratórios LQL-UFG e APCBRH pela excelência técnica; aos membros da banca examinadora por suas valiosas contribuições e a todas as pessoas que, de alguma forma, fizeram parte desta história.

Muito Obrigada!

RESUMO

A mastite subclínica representa um desafio contínuo para a pecuária leiteira sendo a Contagem de Células Somáticas (CCS) seu principal indicador embora de natureza essencialmente quantitativa. O presente estudo teve como objetivo comparar o impacto funcional de diferentes abordagens diagnósticas denominadas California Mastitis Test (CMT), Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC) e duas classificações baseadas nos Grupos de Saúde do Úbere denominadas GSU-Bobbo e GSU-Schwarz sobre a composição, perfil de ácidos graxos, perfil celular (CCPL) e propriedades físico-químicas do leite. Foram analisadas 494 amostras de 103 vacas. Os resultados demonstraram que as abordagens que integram a Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD), notadamente os modelos GSU, possuem maior resolução para detectar alterações funcionais. O teor de lactose emergiu como o biomarcador mais responsivo apresentando redução significativa nos grupos com perfis inflamatórios agudo (Mastítica) e crônico. Em contraste os teores percentuais de gordura e proteína não foram afetados nas avaliações eletrônicas (DMSC e GSU) sugerindo um efeito de concentração pela perda de volume de leite contudo o método CMT detectou redução significativa no teor de gordura nos quartos positivos. O grupo Suscetível no modelo de Bobbo caracterizou-se pela maior média de produção de leite superando os grupos sadios e mastíticos. Quanto ao perfil de ácidos graxos observou-se predominante estabilidade exceto por uma redução nos saturados detectada especificamente no modelo GSU-Bobbo. A fase crônica (GSU-Schwarz e DMSC) comprometeu severamente a acidez titulável e o equilíbrio iônico. A análise multivariada ratificou esses achados ao extrair três dimensões biológicas que explicaram 63,98% da variância total onde o Fator 1 evidenciou o efeito de concentração e diluição por meio da relação inversa entre volume e sólidos, o Fator 2 referente à Senescência e Perfil Imunitário associou a contagem celular de polimorfonucleares e linfócitos (CCPL) ao avanço da ordem de parto e dias em lactação e o Fator 3 demonstrou que a estabilidade térmica e a integridade epitelial representam uma dimensão específica da qualidade físico-química. Conclui-se que a incorporação da CCSD oferece um panorama fisiopatológico mais acurado consolidando os modelos GSU como ferramentas estratégicas para um manejo de precisão focado na preservação da integridade funcional e longevidade da glândula mamária.

Palavras-chave Mastite subclínica, Contagem de Células Somáticas, Contagem Diferencial de Células Somáticas, CCPL, Qualidade do Leite, Análise Fatorial.

ABSTRACT

Subclinical mastitis represents a continuous challenge for the dairy industry and Somatic Cell Count (SCC) is its primary indicator despite its quantitative nature. This study aimed to compare the functional impact of different diagnostic approaches including California Mastitis Test (CMT), Subclinical Mastitis Dynamics (DMSC), and two classifications based on Udder Health Groups named GSU-Bobbo and GSU-Schwarz on milk composition, fatty acid profile, cellular profile (CCPL), and physico-chemical properties. A total of 494 samples from 103 cows were analyzed. Results demonstrated that approaches integrating Differential Somatic Cell Count (DSCC), notably the GSU models, provide higher resolution for detecting functional changes. Lactose content emerged as the most responsive biomarker showing a significant reduction in groups with acute (Mastitic) and chronic inflammatory profiles. In contrast fat and protein percentages were unaffected in electronic evaluations (DMSC and GSU) suggesting a concentration effect due to milk volume loss although the CMT method detected a significant reduction in fat content in positive quarters. The Susceptible group in the Bobbo model was characterized by the highest average milk production exceeding both healthy and mastitic groups. Stability predominated in the fatty acid profile except for a reduction in saturated fatty acids detected in the GSU-Bobbo model. The chronic phase (GSU-Schwarz and DMSC) severely compromised titratable acidity and ionic balance. Multivariate analysis ratified these findings by extracting three biological dimensions accounting for 63.98% of the total variance where Factor 1 evidenced the concentration and dilution effect through the inverse relationship between volume and solids, Factor 2 related to Senescence and Immune Profile associated the cell count of polymorphonuclears and lymphocytes (CCPL) with advancing parity and days in milk, and Factor 3 demonstrated that thermal stability and epithelial integrity represent a specific dimension of physico-chemical quality. The study concludes that incorporating DSCC offers a more accurate pathophysiological overview and consolidates GSU models as strategic tools for precision management focused on preserving functional integrity and longevity of the mammary gland.

Keywords Subclinical mastitis, Somatic Cell Count, Differential Somatic Cell Count, CCPL, Milk Quality, Factor Analysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Número de observações (N), média, desvio padrão, valor mínimo e máximo para as variáveis de produção, composição e físico-químicas do leite das amostras analisadas.	39
Tabela 2 - Médias de mínimos quadrados ($\pm$ erro padrão) para as variáveis de produção, composição e propriedades físico-químicas do leite segundo o resultado do California Mastitis Test (CMT).	40
Tabela 3- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo as categorias da Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC).	42
Tabela 4- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Bobbo et al. (2020).	43
Tabela 5- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Schwarz et al. (2020b).	45
Tabela 6 - Médias de mínimos quadrados ($\pm$ erro padrão) para o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g de gordura) segundo o resultado do California Mastitis Test (CMT)	46
Tabela 7- Médias de mínimos quadrados ($\pm$ erro padrão) para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo as categorias da Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC).	47
Tabela 8- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g de leite) segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Schwarz et al. (2020b).	47
Tabela 9- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g de leite) segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Bobbo et al. (2020).	48
Tabela 10 - Matriz de cargas fatoriais (Rotated Factor Pattern) e percentual de variância.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos Graxos Livres
AGI	Ácidos Graxos Insaturados
AGMI	Ácidos Graxos Monoinsaturados
AGPI	Ácidos Graxos Poli-insaturados
AGS	Ácidos Graxos Saturados
APCs	Células Apresentadoras de Antígenos
APCBRH	Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa
C16:0	Ácido Palmítico
C18:0	Ácido Esteárico
C18:1	Ácido Oleico
CCS	Contagem de Células Somáticas
CCSD	Contagem Diferencial de Células Somáticas
CLA	Ácido Linoleico Conjugado
CMT	California Mastitis Test
CPPL	Contagem Celular de Polimorfonucleares e Linfócitos
°D	Graus Dornic
DEL	Dias em Lactação
DMSC	Dinâmica da Mastite Subclínica
ECS	Escore de Células Somáticas
ESD	Extrato Seco Desengordurado
ETA	Estabilidade ao Teste do Álcool
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
GSU	Grupos de Saúde do Úbere
IIM	Infecção Intramamária
IN	Instruções Normativas
LCE	Leite Corrigido para Energia
LPL	Lipoproteína Lipase
LQL	Laboratório de Qualidade do Leite
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NUL	Nitrogênio Ureico no Leite
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos

PMN	Neutrófilos Polimorfonucleares
PRRs	Receptores de Reconhecimento de Padrões
RBQL	Rede Brasileira de Qualidade do Leite
TLRs	Receptores do tipo Toll (Toll-like Receptors)
UFG	Universidade Federal de Goiás

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 MASTITE: CLASSIFICAÇÃO E IMPACTO ECONÔMICO	16
2.2 RESPOSTA IMUNE DA GLÂNDULA MAMÁRIA.....	18
2.3 FERRAMENTAS DIAGNÓSTICAS DA MASTITE SUBCLÍNICA	20
2.3.1 Contagem de Células Somáticas (CCS).....	20
2.3.2 Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD)	21
2.3.3 Contagem Celular de Polimorfonucleares e Linfócitos (CCPL).....	22
2.3.4 California Mastitis Test (CMT).....	23
2.4 IMPACTO DA MASTITE NA COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO- QUÍMICAS DO LEITE.....	24
2.4.1 Lactose.....	25
2.4.2 Proteínas.....	27
2.4.3 Gordura e Ácidos Graxos	27
2.4.4 Equilíbrio Mineral	29
2.4.5 Propriedades Físico-Químicas.	29
2.5 ABORDAGENS PARA A CLASSIFICAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA.....	31
2.5.1 Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC): Abordagem Clássica.....	31
2.5.2 Grupos de Saúde do Úbere (GSU): Abordagem Fisiopatológica.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1 LOCAL, ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	34
3.2 COLETA DE AMOSTRAS E DADOS DE PRODUÇÃO.....	34
3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS.....	35
3.3.1 Composição Centesimal e Perfil de Ácidos Graxos.....	35
3.3.2 CCS e Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD)	35
3.3.4 Análises Físico-Químicas	36
3.3.5 California Mastitis Test (CMT).....	36
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
4 RESULTADOS.....	38
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS E ESTATÍSTICA DESCRITIVA	38
4.2 IMPACTO DO RESULTADO DO <i>CALIFORNIA MASTITIS TEST</i> (CMT) NA COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE	40

4.3 IMPACTO DA DINÂMICA DA MASTITE SUBCLÍNICA (DMSC) NA COMPOSIÇÃO E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE	41
4.4 IMPACTO DOS GRUPOS DE SAÚDE DO ÚBERE (GSU - SCHWARZ) NA COMPOSIÇÃO E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE	43
4.5 IMPACTO DOS GRUPOS DE SAÚDE DO ÚBERE (GSU - BOBBO) NA COMPOSIÇÃO E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE	44
4.6 IMPACTO DAS ABORDAGENS DIAGNÓSTICAS NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE	46
4.7 ANÁLISE FATORIAL DAS VARIÁVEIS DE PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA	48
5 DISCUSSÃO	50
5.1 IMPACTO DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE A LACTOSE E AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE	50
5.2 EFEITO DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE OS TEORES DE PROTEÍNA E GORDURA DO LEITE	53
5.3 INFLUÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE	55
5.4 COMPARAÇÃO ENTRE AS ABORDAGENS DMSC E GSU NA AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO ÚBERE	56
5.5 CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DO GRUPO SUSCETÍVEL/SUSPEITA E SUA RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO LEITEIRA	58
5.6 IMPLICAÇÕES DOS DIFERENTES CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DOS MODELOS GSU NO DIAGNÓSTICO DA MASTITE	60
6 CONCLUSÃO	61
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

A Contagem de Células Somáticas (CCS) é uma ferramenta significativa na avaliação do nível de mastite subclínica no rebanho seja pelo leite de animais individuais ou de tanque permitindo a estimativa das perdas de produção leiteira e de derivados e servindo como indicativo da qualidade do leite (Müller 2002). Nesse cenário a qualidade do leite individual é definida não apenas pela magnitude quantitativa da CCS mas pela qualificação de sua população celular, o que permite distinguir o status sanitário da glândula mamária e seu estágio de senescência fisiológica. Contudo a redução da CCS ainda é um desafio à pecuária leiteira em quase todo o mundo e é um ponto crítico para a melhoria da qualidade do leite no seu sentido mais amplo (Thaler Neto et al. 2017).

Apesar de sua larga utilização e importância regulatória a CCS é em essência um indicador quantitativo da inflamação. Ela quantifica a magnitude da resposta imune mas não a qualifica de modo que um mesmo valor de CCS pode representar cenários fisiopatológicos distintos como uma infecção aguda recém-instalada dominada por uma resposta rápida de neutrófilos ou uma infecção crônica e persistente com uma população celular mais diversa (Schukken et al. 2003). Esta informação imprecisa pode limitar o diagnóstico e a tomada de decisões a campo mascarando a real dinâmica da saúde do úbere.

A partir dos dados de CCS em conjunto com a informação da composição e quantificação celular proposta pelo método de contagem diferencial de células somáticas (CCSD) podem ser definidos indicadores precoces da ocorrência de mastite subclínica auxiliando na distinção dos diferentes estágios da inflamação (Zecconi et al. 2018). Esta ferramenta pode proporcionar o emprego eficiente de antimicrobianos e uma redução na quantidade de amostras destinadas para análise microbiológica visto que esta é uma análise dispendiosa principalmente quando se trata de rebanhos numerosos (Zeconni et al. 2020).

A inflamação mamária pode causar alterações na composição do leite como a redução dos teores de caseína lactose e gordura que refletem diretamente em uma redução no rendimento industrial de derivados lácteos e na qualidade geral do produto (Santos & Fonseca 2019, Sharma et al. 2011). Além da magnitude da resposta imune o perfil das subpopulações celulares exerce impacto direto na estabilidade físico-química do leite, uma vez que o processo inflamatório e o envelhecimento funcional da glândula mamária alteram o equilíbrio iônico e a integridade da

secreção láctea. Stocco et al. (2020) publicaram o primeiro estudo a investigar o impacto direto da CCSD na composição do leite em nível de vaca individual encontrando uma associação com a redução nos teores de gordura proteína e caseína. No entanto o mesmo estudo reportou uma associação positiva e paradoxal entre a CCSD e a lactose e não avaliou o impacto em outras propriedades físico-químicas do leite indicando que a relação funcional entre o perfil celular inflamatório e a qualidade do leite ainda necessita de maior aprofundamento.

Diante disso o presente estudo teve como objetivo avançar neste conhecimento avaliando o impacto funcional de diferentes abordagens diagnósticas da mastite subclínica sobre o desempenho produtivo, o perfil imunitário (CCPL) e um amplo espectro de atributos da qualidade do leite. Para isso foram comparados quatro métodos, o teste de campo California Mastitis Test (CMT), a abordagem epidemiológica da DMSC e duas classificações fisiopatológicas baseadas nos Grupos de Saúde do Úbere, modelos GSU-Bobbo e GSU-Schwarz, que integram CCS e CCSD. A pesquisa parte da hipótese de que as abordagens que incorporam a CCSD apresentam maior resolução para distinguir diferentes cenários fisiopatológicos permitindo identificar impactos específicos na produtividade e nas propriedades físico-químicas do leite que permanecem indistintos nos métodos baseados apenas na magnitude da CCS total.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MASTITE: CLASSIFICAÇÃO E IMPACTO ECONÔMICO

A mastite, uma complexa inflamação da glândula mamária, constitui o principal desafio sanitário e econômico da pecuária leiteira. Esta injúria é reconhecida globalmente como a doença de maior impacto na cadeia de laticínios, com perdas anuais que, já há alguns anos, ultrapassavam os US\$ 2 bilhões apenas nos Estados Unidos (Petrovski *et al.*, 2006). No contexto brasileiro, estudos recentes demonstram que rebanhos com alta prevalência de mastite subclínica podem ter uma redução na receita líquida de até R\$ 1.876,00 por vaca ao ano (Gonçalves *et al.*, 2023).

A maior parte do prejuízo não provém dos custos diretos e visíveis, como medicamentos, que são mais facilmente percebidos pelos produtores. A literatura consolidada aponta que 70%

a 80% do impacto econômico total é atribuído às perdas indiretas e silenciosas, sendo a redução na produção de leite o componente de maior peso (Petrovski *et al.*, 2006). Um único caso de mastite clínica, por exemplo, pode resultar em perdas de produção que superam os 400 kg de leite por lactação (Shim *et al.*, 2004), ilustrando como os prejuízos subclínicos e de produção superam em muito os gastos com tratamento. A magnitude dessa perda foi quantificada em rebanhos brasileiros por Gonçalves *et al.* (2018), que demonstraram que o aumento de um ponto no escore de células somáticas (ECS) pode levar a perdas de até 1,37 kg de leite por dia por vaca. A esses custos somam-se ainda o descarte precoce de animais e penalizações por qualidade, consolidando o impacto devastador da doença na rentabilidade do rebanho.

A patologia é classificada conforme a interação entre o agente etiológico, o animal hospedeiro e o ambiente, bem como a manifestação dos sinais clínicos. Distingue-se, assim, entre mastite clínica, aquela com alterações visíveis no leite e/ou no úbere, de subclínica com sintomatologia ausente e, entre as formas contagiosa, que é transmitida durante a ordenha e ambiental, que pode ser adquirida entre as ordenhas (Silva e Primieri, 2020).

Dentre suas formas, a mastite subclínica se destaca como a mais prevalente e economicamente devastadora. Sua natureza insidiosa, sem sinais clínicos aparentes, mascara perdas contínuas e silenciosas na produção, que podem chegar a 25%. Além da redução de volume, a mastite subclínica compromete severamente a qualidade do leite. O processo inflamatório desencadeia uma cascata de alterações bioquímicas deletérias. A elevação da permeabilidade da barreira hemato-mamária permite o influxo de enzimas proteolíticas do sangue, como a plasmina, que degrada a fração de caseína, essencial para a coagulação do leite e rendimento de queijo (Barbano *et al.*, 2006).

Estudos demonstram que elevações na CCS de 100.000 para 400.000 células/mL podem reduzir o rendimento de queijo em até 1,5% (Santos; Fonseca, 2019). Adicionalmente, a ativação de lipases endógenas e bacterianas acelera a hidrólise da gordura, liberando ácidos graxos livres que causam rancidez e sabores indesejáveis, comprometendo a vida de prateleira e a aceitação sensorial dos produtos lácteos (Ma *et al.*, 2000).

De fato, a correlação negativa entre a CCS e a qualidade do leite é um fenômeno consolidado, com estudos recentes em rebanhos brasileiros confirmando que vacas com alta CCS apresentam consistentemente um leite de pior qualidade composicional e funcional, independentemente de outros fatores como a estação do ano (Danieli *et al.*, 2025).

2.2 RESPOSTA IMUNE DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A defesa da glândula mamária contra infecções é mediada por um sistema complexo que integra barreiras físicas, componentes solúveis e uma resposta celular altamente coordenada.

A primeira linha de defesa é constituída por um conjunto de barreiras inatas não-inflamatórias, composta pelo canal do teto e seu esfíncter, que impedem fisicamente a ascensão de microrganismos pela tonicidade muscular, que assegura a oclusão do canal entre as ordenhas. Este canal é revestido por queratina, uma barreira bioativa complexa, composta por uma rede de citoqueratinas e lipídios, incluindo ácidos graxos de cadeia longa com atividade antimicrobiana intrínseca. Sua função é dupla, impedir a migração bacteriana por obstrução física e neutralizar patógenos por meio da adsorção de suas superfícies e subsequente disrupção de suas membranas celulares, induzindo a lise (Cobirka *et al.*, 2020).

A disfunção desta barreira estrutural representa o principal fator de risco para o desenvolvimento de infecções intra-mamárias. A condição patológica mais relevante neste contexto é a hiperqueratose do óstio do teto, uma proliferação excessiva e desorganizada do estrato córneo em resposta a estresses mecânicos da ordenha. Fisiopatologicamente, a hiperqueratose compromete a defesa do teto de três maneiras: pela má oclusão do canal pós-ordenha; pelo aumento da topografia rugosa da pele, criando fissuras que servem como nichos ecológicos para a persistência e multiplicação de microrganismos; e pela redução na eficácia dos procedimentos de desinfecção, pois os patógenos ficam protegidos fisicamente dentro dessas fissuras (Pantoja *et al.*, 2020). Essa perda de integridade da barreira física é, portanto, considerada um fator de risco chave que facilita a colonização da extremidade do teto por patógenos. Contudo, a natureza e a especificidade dessa colonização microbiana são complexas e nem sempre linear. Uma pesquisa recente conduzida no Brasil, por exemplo, não encontrou associação estatisticamente significativa entre a hiperqueratose e os principais patógenos contagiosos da mastite. No entanto, o mesmo estudo observou uma tendência de maior frequência de microrganismos ambientais em tetos hiperqueratóticos, sugerindo que a condição modula preferencialmente a ecologia microbiana do canal do teto, favorecendo certos grupos de microrganismos em detrimento de outros, reforçando a importância das práticas de manejo para minimizar tanto a hiperqueratose quanto os riscos de mastite associados (Cardozo *et al.*, 2025).

Uma vez que os patógenos superam essa primeira barreira física e penetram na cisterna do teto, eles encontram a segunda linha de defesa do sistema imune. Mesmo em um úbere saudável e com o teto íntegro, a glândula mamária não é estéril e abriga uma comunidade microbiana diversa em estado de equilíbrio, ou eubiose composta predominantemente por gêneros como *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium* (Oikonomou *et al.*, 2020).

A manutenção deste equilíbrio é garantida pela vigilância imune basal, realizada por uma população residente de células somáticas, na qual os macrófagos prevalecem. Atuando como sentinelas, estas células fagocitam detritos e bactérias oportunistas, mantendo a homeostase tecidual sem desencadear uma inflamação deletéria (Sordillo, 2018). A superação das barreiras iniciais pelos microrganismos dispara a resposta imune inata inflamatória, onde as próprias células epiteliais mamárias e os macrófagos residentes atuam como o primeiro alarme, pois possuem receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os *Toll-Like Receptors* (TLRs), que reconhecem estruturas moleculares conservadas nos patógenos (PAMPs). Essa interação PAMP-PRR desencadeia uma cascata de sinalização que resulta na liberação de citocinas e quimiocinas, como a Interleucina-8, funcionando como um chamado de emergência para o sistema imune (Sordillo, 2018; Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). A principal consequência deste alarme é o recrutamento massivo de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) da corrente sanguínea para o lúmen alveolar. Atraídos por quimiotaxia, os PMN são a principal célula da inflamação aguda, cuja função é fagocitar e destruir os invasores de forma rápida e potente. Sua predominância na contagem celular indica uma infecção ativa (Schwarz *et al.*, 2011). Contudo, essa defesa tem um custo. A atividade fagocítica dos PMN envolve a liberação massiva de espécies reativas de oxigênio e enzimas proteolíticas que, conforme reforçado por Neves *et al.* (2025), degradam a matriz proteica do leite. Embora eficazes contra os patógenos, esses compostos causam dano colateral ao epitélio secretor, contribuindo para a redução da síntese de componentes e consequentes perdas de produção.

A eficácia da resposta imune inata é determinante para a resolução da infecção. Um recrutamento neutrofilico rápido e eficiente pode eliminar o patógeno e restaurar a homeostase tecidual. Contudo, a persistência da infecção, seja pela virulência do agente ou por uma resposta inata insuficiente, desencadeia a ativação da imunidade adaptativa, que provê uma defesa mais específica e com geração de memória. A transição para esta fase implica uma mudança no perfil da população celular inflamatória. Os macrófagos, além de sua função fagocítica, passam a atuar como Células Apresentadoras de Antígenos (APCs) processando os patógenos e apresentando fragmentos aos linfócitos T. Estes, por sua vez, regulam a resposta, auxiliando

os linfócitos B a se diferenciarem em plasmócitos e produzirem anticorpos específicos. Este processo não só combate a infecção presente, mas também gera memória imunológica, permitindo uma resposta mais rápida e eficaz em futuras exposições ao mesmo patógeno (Chase *et al.*, 2022; Zeconi; Calvino, 2003). É nesta fase crônica que a proporção de linfócitos e macrófagos na contagem celular tende a aumentar.

Vale ressaltar que a eficácia dessa resposta imune está intimamente ligada ao status metabólico do animal. Vacas de alta produção leiteira frequentemente enfrentam um balanço energético negativo, especialmente no início da lactação. Esse estresse metabólico pode comprometer a funcionalidade dos leucócitos, resultando em uma imunossupressão temporária. Nesse cenário, o sistema imune pode não ser capaz de montar uma resposta massiva imediata (alta CCS), mas mantém um estado de vigilância ou inflamação de baixo grau, caracterizado por alterações sutis nas proporções celulares antes que a infecção clínica se estabeleça (Sordillo, 2016).

2.3 FERRAMENTAS DIAGNÓSTICAS DA MASTITE SUBCLÍNICA

As metodologias laboratoriais para o diagnóstico da mastite subclínica evoluíram significativamente com a aplicação da citometria de fluxo. O princípio desta tecnologia baseia-se na análise individual de células em suspensão que, ao passarem por um feixe de laser, geram sinais de dispersão de luz e de fluorescência. A dispersão da luz está relacionada às características estruturais da célula, como tamanho e complexidade interna, enquanto a fluorescência, emitida por corantes específicos que se ligam a componentes como o DNA, permite a identificação e quantificação precisa das populações celulares (Adan *et al.*, 2017). Esta capacidade de analisar milhares de células por segundo confere alta precisão e repetibilidade aos resultados, eliminando a subjetividade e a variação associadas a métodos manuais (Pelvan; Unluturk, 2015).

2.3.1 Contagem de Células Somáticas (CCS)

A aplicação mais consolidada da citometria de fluxo na indústria de laticínios é a Contagem de Células Somáticas (CCS). É um método laboratorial de referência global para o

diagnóstico e monitoramento da mastite subclínica, sendo um componente central nos programas de pagamento por qualidade do leite (Santos & Fonseca, 2019).

Esta técnica quantifica com alta precisão o número total de células presentes no leite, que incluem leucócitos (neutrófilos, macrófagos, linfócitos) e células epiteliais de descamação do tecido mamário (Alhussien; Dang, 2018). Um aumento na CCS acima do limiar internacionalmente consolidado de 200.000 células/mL é o indicador clássico de resposta inflamatória na glândula mamária, geralmente associada a uma infecção intramamária (Schukken *et al.*, 2003).

Embora seja uma ferramenta robusta para medir a intensidade da inflamação, a principal limitação da CCS é sua natureza puramente quantitativa. Um mesmo valor de CCS pode representar cenários fisiopatológicos completamente distintos, tanto uma infecção aguda por um patógeno virulento, com um influxo massivo e recente de neutrófilos, como uma infecção crônica e de baixa intensidade, onde predominam macrófagos e linfócitos. Essa falta de informação qualitativa impede a compreensão detalhada sobre a natureza e o estágio da patologia, limitando a tomada de decisões mais precisas sobre o manejo e o tratamento (Bisutti *et al.*, 2022).

2.3.2 Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD)

Para superar as limitações da CCS, a mesma tecnologia de citometria de fluxo foi aprimorada para realizar a Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD). Embora o conceito de diferenciar os tipos celulares no leite seja conhecido há décadas (Paape *et al.*, 1979), sua automação para uso em larga escala é uma inovação recente.

Equipamentos modernos, como o Fossomatic™ 7 DC, utilizam um método de coloração dupla que permite não apenas contar as células, mas também classificá-las em subpopulações com base em suas características morfológicas. Este processo determina a proporção relativa de neutrófilos (PMN), linfócitos e macrófagos, oferecendo um retrato qualitativo da resposta imune (Damm *et al.*, 2017).

Esta informação refinada permite uma interpretação mais acurada do estado imune da glândula. A predominância de PMN (>60-70%), por exemplo, é a assinatura de uma inflamação

aguda ativa (Schwarz *et al.*, 2011), enquanto uma maior proporção de linfócitos e macrófagos pode sinalizar uma infecção crônica ou a fase de resolução da inflamação (Zecconi; Calvino, 2003). A CCSD é, portanto, capaz de identificar reações inflamatórias incipientes mesmo em amostras com baixa CCS e de distinguir diferentes estágios de infecção, representando maior acurácia no monitoramento da saúde do úbere (Wall *et al.*, 2018).

2.3.3 Contagem Celular de Polimorfonucleares e Linfócitos (CCPL)

A variável denominada CCPL representa o somatório das populações de polimorfonucleares e linfócitos presentes no leite sendo obtida por meio da tecnologia de citometria de fluxo. Enquanto a CCS total quantifica a magnitude da resposta inflamatória de forma genérica a CCPL permite qualificar o perfil imunitário da glândula mamária ao isolar as células responsáveis pela defesa ativa e pela memória imunológica (Damm *et al.* 2017).

Biologicamente a dinâmica da CCPL é influenciada pelo status fisiológico e pela senescência da glândula mamária. Com o avanço da ordem de parto e o aumento dos dias em lactação ocorre um desgaste natural das estruturas de vedação do teto e uma alteração na vigilância imune basal o que exige um recrutamento diferenciado de leucócitos para manter a homeostase do úbere (Schwarz *et al.* 2021). De acordo com Danieli *et al.* 2025 essa alteração no perfil celular associada ao envelhecimento funcional pode impactar os atributos físico químicos do leite mesmo na ausência de sintomas clínicos de infecção.

Portanto a inclusão da CCPL como parâmetro analítico busca preencher a lacuna deixada pela contagem quantitativa permitindo identificar como a idade da vaca e o estágio da lactação interagem com o sistema de defesa celular. Essa qualificação é fundamental para o manejo de precisão visto que o aumento da CCPL em animais multíparas sinaliza uma glândula sob maior estresse funcional e com menor resiliência imunológica diante de desafios ambientais.

2.3.4 California Mastitis Test (CMT)

O *California Mastitis Test* (CMT), desenvolvido por Schalm e Noorlander (1957), é o teste de campo mais difundido para a detecção rápida da mastite subclínica. Seu princípio baseia-se na reação de aglutinação de um detergente com o DNA das células somáticas presentes no leite. O rompimento das membranas celulares libera o DNA, que forma um gel cuja viscosidade é proporcional à celularidade, fornecendo assim uma estimativa qualitativa da CCS (Ruegg; Reinemann, 2002). Embora qualitativos, os escores do CMT (traços, 1+, 2+, 3+) possuem uma correlação estabelecida com faixas de CCS, o que permite uma inferência sobre a intensidade da inflamação ao pé da vaca (Constable *et al.*, 2017).

Apesar de sua praticidade e baixo custo, o CMT possui limitações importantes. Sua acurácia diagnóstica é variável, sendo influenciada por fatores como o estágio de lactação e a subjetividade do avaliador (Kandeel *et al.*, 2019). É crucial notar que a validação de sua sensibilidade e especificidade deve ser feita em comparação ao padrão-ouro para o diagnóstico da doença, que é a presença de infecção intramamária (IIM) confirmada por cultura microbiológica. Estudos que seguiram este rigor metodológico demonstram a variabilidade do teste.

Middleton *et al.* (2004), ao avaliarem a capacidade do CMT em detectar uma IIM confirmada por cultura, encontraram valores de sensibilidade e especificidade de 50% e 73%, respectivamente. De forma semelhante, Sargeant *et al.* (2001) relataram uma sensibilidade de 66,7% para a detecção de patógenos maiores, mas com uma especificidade de apenas 54,8%. Essa variabilidade demonstra que, embora o CMT seja uma excelente ferramenta de triagem e manejo diário, ele não substitui a precisão dos métodos laboratoriais, como a CCS e a cultura, para um diagnóstico definitivo ou para a pesquisa detalhada das dinâmicas inflamatórias.

Embora a cultura microbiológica seja considerada o método padrão-ouro para a identificação do agente etiológico, a ocorrência de resultados negativos em amostras de leite de vacas com sinais de mastite subclínica (como CCS elevada ou CMT positivo) é um fenômeno frequente e bem documentado (Pereira *et al.*, 2024). Essa condição, conhecida como mastite com cultura negativa, representa um desafio diagnóstico, pois a resposta inflamatória do hospedeiro é evidente, mas o agente causador não é isolado em cultura.

Estudos práticos demonstram a alta prevalência deste cenário. Em uma pesquisa com um rebanho comercial brasileiro, por exemplo, Damasceno *et al.* (2022) observaram que 63,4% dos casos de mastite clínica não apresentaram crescimento bacteriano, evidenciando a magnitude do desafio. Diversos fatores podem explicar a ocorrência de cultura negativa, incluindo a eliminação do patógeno pelo sistema imune da vaca antes da coleta, a presença de agentes de difícil cultivo em meios laboratoriais padrão como *Mycoplasma* spp., a liberação intermitente de bactérias no leite, ou o uso prévio de antimicrobianos que inibem o crescimento *in vitro* (Langoni *et al.*, 2017; Carvalho-Sombra *et al.*, 2021). Independentemente da causa, a presença de uma resposta inflamatória detectável indica que houve um insulto à glândula mamária, o que pode resultar em alterações funcionais e de composição do leite.

2.4 IMPACTO DA MASTITE NA COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

O leite bovino é um biofluido complexo, cuja composição média é de aproximadamente 87% de água, 4,6% de lactose, 4% de gordura, 3,3% de proteína e 0,7% de minerais. Contudo, esta composição não é estática, variando em função de fatores genéticos, como espécie e raça, fatores individuais, idade e estágio de lactação e ambientais, com destaque para a nutrição (Walstra *et al.*, 2006). A qualidade do leite cru, embora um conceito subjetivo, é objetivamente regulamentada no Brasil pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) por meio das Instruções Normativas (IN) 76 e 77 de 2018, onde são estabelecidos os padrões para a produção, coleta e armazenamento, e definem limites máximos para indicadores cruciais de qualidade e sanidade.

As normativas determinam, com base em critérios técnicos e econômicos, que a Contagem Padrão em Placa (CPP) deve ser de, no máximo, 300.000 UFC/mL, e a Contagem de Células Somáticas (CCS) deve ter um limite máximo de 500.000 CS/mL. Estes limites visam garantir a segurança e a saúde pública, além de assegurar a qualidade e o rendimento industrial na produção de derivados, pois balizam a qualidade e a segurança do leite cru no Brasil, servindo como um incentivo para a melhoria contínua da produção em toda a cadeia produtiva (Brasil, 2018).

Nesse contexto, a mastite subclínica emerge como o principal desafio à qualidade do leite, pois a inflamação da glândula mamária desencadeia uma cascata de alterações

bioquímicas que afetam todos os seus componentes. A elevação da CCS, principal indicador da mastite, está diretamente associada a mudanças deletérias na composição, como a redução dos teores de caseína, lactose e gordura, e o aumento de componentes indesejáveis, como íons de cloro e enzimas proteolíticas. Essas alterações não apenas diminuem o valor nutricional do leite, mas também comprometem seu rendimento industrial e estabilidade, tornando a análise de seus componentes uma ferramenta essencial para o diagnóstico e monitoramento da saúde do úbere (Danieli *et al.*, 2025; Batavani *et al.*, 2007).

2.4.1 Lactose

É o principal carboidrato e regulador osmótico do leite, sendo um dos componentes mais sensíveis à inflamação mamária. Durante a mastite subclínica, sua concentração tende a diminuir consistentemente por múltiplos fatores, o dano direto às células epiteliais secretoras, que reduz sua capacidade de síntese; pelo desvio da glicose, seu precursor, para suprir a alta demanda energética do sistema imune ativado; e pela possível utilização da lactose como substrato metabólico pelos próprios patógenos invasores (Costa *et al.*, 2019; Kul *et al.*, 2019). Essa redução nos teores de lactose, além do impacto nutricional, é o principal gatilho para o desequilíbrio iônico observado no leite de vacas com mastite.

A redução da lactose é explicada primordialmente pela perda da integridade do epitélio mamário. Em condições normais, as células alveolares são unidas firmemente pelas junções oclusivas (*tight junctions*), que formam uma barreira impermeável entre o sangue e o leite. Durante a mastite bovina, a inflamação induz a ruptura dessas junções, criando uma via paracelular. Como a lactose não é encontrada no sangue, esse gradiente de concentração faz com que ela se difunda do lúmen alveolar para a corrente sanguínea, sendo excretada na urina, enquanto componentes sanguíneos invadem o leite (Zhao & Lacasse, 2008; Wellnitz & Bruckmaier, 2012).

Além da perda física por vazamento, a biossíntese de lactose é ativamente suprimida. A ativação do sistema imune no úbere demanda uma quantidade massiva de energia. Leucócitos ativados, especialmente os neutrófilos, aumentam drasticamente sua captação de glicose para realizar a fagocitose e a produção de espécies reativas de oxigênio. Isso gera uma competição direta pelo substrato: a glicose que seria utilizada no complexo de Golgi para a síntese de lactose é desviada para sustentar o metabolismo das células de defesa (Kvidera *et al.*, 2017). Esse

fenômeno explica por que a queda na lactose é tão aguda e correlacionada com o aumento da CCS.

A relação inversamente proporcional entre a lactose e a CCS qualifica este açúcar como um importante e específico biomarcador da saúde da glândula mamária.

Essa qualificação é reforçada internacionalmente por Antanaitis *et al.* (2021), que validaram a lactose como uma ferramenta diagnóstica robusta ao demonstrarem uma forte correlação negativa ($r = -0,471$) com a CCS. Segundo os autores, a redução da lactose atua como um indicador precoce, refletindo não apenas a menor síntese, mas também a perda da homeostase da glândula e o aumento da permeabilidade das junções oclusivas. No cenário nacional, esta associação tem sido consistentemente demonstrada em uma série de estudos. Inicialmente, a análise de mais de 46.000 controles leiteiros individuais de vacas Holandês e Jersey revelou que o aumento da CCS era o principal fator associado à queda no teor de lactose (4,19%), sendo esta variação independente de outros fatores produtivos como raça, volume de produção ou teores de gordura e proteína (Alessio *et al.*, 2016).

A robustez da lactose como indicador foi subsequentemente validada em diferentes escalas e contextos. Em nível de rebanho, a análise de amostras de leite de tanque confirmou que a lactose mantinha correlação negativa não apenas com a CCS, mas também com a Contagem Padrão em Placas (CPP), reforçando seu papel como indicador geral da qualidade do leite (Alessio *et al.*, 2021). A importância da lactose também foi evidenciada em estudos que avaliaram o extrato seco desengordurado (ESD), onde a baixa lactose foi um dos principais fatores para a não conformidade do leite segundo os padrões regulatórios (Arruda Junior *et al.*, 2019). Mais recentemente, a pesquisa de Danieli *et al.* (2025) corroborou que, independentemente da estação do ano, vacas com alta CCS consistentemente apresentam um leite com menor teor de lactose e pior qualidade composicional.

Portanto, a queda no teor de lactose emerge como uma resposta mais direta à inflamação e ao aumento da permeabilidade da barreira hemato-mamária, e não a diluições ou variações composicionais genéricas.

2.4.2 Proteínas

O efeito da mastite sobre as proteínas do leite é paradoxal. Embora o teor de proteína total possa permanecer estável ou até aumentar, ocorre uma drástica alteração em seu perfil qualitativo, com redução significativa na síntese de caseínas (α S1, α S2, β e κ -caseína) e aumento compensatório de proteínas séricas de baixo valor tecnológico. Este desequilíbrio, somado à degradação enzimática da caseína, compromete diretamente a coagulação e o rendimento industrial na fabricação de queijos (Li *et al.*, 2014). Este fenômeno foi demonstrado por Mattiello *et al.*, (2018), que constataram que o leite cru com baixa CCS (<500.000 cél./mL) apresentou rendimento simples de 8,49 litros de leite/kg de queijo, contra 8,94 litros de leite/kg de queijo para o leite de alta CCS (≥ 500.000 cél./mL), o que representa uma redução de aproximadamente 5,3% no rendimento.

O mecanismo por trás desse paradoxo foi elucidado em rebanhos brasileiros. Em nível de animal individual, a acentuada queda de volume no leite de vacas com alta CCS gera um efeito de concentração que, somado ao influxo de proteínas séricas, eleva o teor percentual de proteína. Fica assim demonstrada a dissociação entre o teor percentual de proteína e a sua qualidade funcional, que efetivamente determina o rendimento industrial (Danieli *et al.*, 2025). O mesmo fenômeno foi observado em nível de rebanho, onde Arruda Junior *et al.* (2019) constataram que tanques de resfriamento com alta CCS também apresentavam, paradoxalmente, maior teor percentual de proteína.

2.4.3 Gordura e Ácidos Graxos

A fração lipídica do leite destaca-se como seu componente mais energético e de maior variabilidade, atuando como um vetor crucial para vitaminas lipossolúveis e como fonte de uma rica matriz de ácidos graxos (AG). Este perfil influencia decisivamente o valor nutricional do produto e suas propriedades tecnológicas.

O perfil lipídico do leite bovino é complexo, sendo formado por ácidos graxos sintetizados de novo na glândula mamária, predominantemente de cadeia curta e média (C4 a C14), ácidos graxos de cadeia longa (C16 e maiores) provenientes da dieta e da mobilização de reservas corporais, e aqueles modificados pela bio-hidrogenação no rúmen (Bauman & Grinari,

2003; Jensen, 2002). A regulação deste perfil é flexível e pode ser modulada pela nutrição. O fornecimento de fontes de lipídios insaturados na dieta, como óleos vegetais, é uma estratégia conhecida por alterar o processo de bio-hidrogenação ruminal e, consequentemente, a proporção de ácidos graxos transferidos para o leite. Como revisado por Almeida *et al.* (2021), essa modulação pode ser usada para reduzir a concentração de AG saturados e aumentar a de compostos de interesse para a saúde humana, como o ácido oleico e o linoleico conjugado (CLA). A compreensão dessa regulação nutricional é fundamental, pois qualquer fator endógeno que interfira no metabolismo, como a inflamação, também irá desregular o perfil final de AG do leite.

A saúde da glândula mamária exerce influência direta sobre este perfil lipídico. Durante um quadro de mastite, mesmo subclínica, ocorrem dois processos principais que alteram a composição dos ácidos graxos: a redução da atividade de síntese e, mais criticamente, o aumento da lipólise (Santos; Fonseca, 2019). A lipólise é a quebra enzimática dos triglicerídeos, que libera Ácidos Graxos Livres (AGL) no leite. Este processo é intensificado pela enzima Lipoproteína Lipase (LPL), cuja atividade aumenta drasticamente durante a inflamação, tanto pela sua passagem do plasma para o leite através da barreira hemato-mamária danificada quanto pela sua liberação por leucócitos infiltrados (Azevedo *et al.*, 2009). O acúmulo de AGL é altamente indesejável, pois causa defeitos sensoriais, como o sabor de ranço, e compromete a estabilidade oxidativa e a vida de prateleira dos produtos lácteos (Ogola *et al.*, 2007).

Além do aumento da lipólise, pesquisas recentes de alta resolução confirmaram que a mastite subclínica também pode suprimir diretamente a capacidade de síntese de gordura da glândula mamária. Em um estudo detalhado em nível de quarto mamário, Pegolo *et al.* (2023) demonstraram que a infecção intramamária inibe a lipogênese de novo. Isso foi quantificado por uma redução de 14% na proporção de ácidos graxos de cadeia curta (C4:0-C6:0), sintetizados na própria glândula, e um aumento compensatório na proporção de ácidos graxos de cadeia longa ($\geq$ C18), que são oriundos da dieta e da mobilização de reservas corporais. Essa mudança no perfil, de uma gordura mais saturada e de cadeia curta para uma mais insaturada e de cadeia longa, tem implicações diretas tanto no valor nutricional quanto nas propriedades tecnológicas do leite, como a estabilidade de produtos processados.

Tradicionalmente, a correlação entre a CCS e o aumento de AGL tem sido o principal indicador deste problema. Contudo, a CCS oferece apenas uma visão quantitativa do grau de inflamação. É neste contexto que a Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD) emerge como uma ferramenta de diagnóstico superior. Essa hipótese é corroborada por estudos

como o de Stocco *et al.* (2020), que observaram uma relação direta entre o aumento da proporção de neutrófilos e a elevação dos AGL. Mais recentemente, Pegolo *et al.* (2023) reforçaram essa conexão, associando as alterações no perfil lipídico diretamente com o aumento na proporção de neutrófilos (PMN). Portanto, é plausível postular que a CCSD, ao quantificar a população de PMN, principal fonte de enzimas lipolíticas e um indicador da inflamação que suprime a síntese de gordura, seja um preditor mais acurado e precoce das alterações na gordura do leite do que a CCS isoladamente, conectando diretamente a resposta imune celular ao metabolismo lipídico da glândula mamária.

2.4.4 Equilíbrio Mineral

O leite e o plasma sanguíneo são mantidos em equilíbrio osmótico. A queda na concentração de lactose no leite durante a mastite rompe esse equilíbrio, e para compensar a pressão osmótica, a barreira hemato-mamária inflamada permite um influxo de íons do sangue. Consequentemente, as concentrações de sódio (Na^+) e, principalmente, de cloreto (Cl^-), aumentam significativamente no leite de vacas com mastite. Esse aumento de cloretos é tão característico que, além de alterar o sabor do leite, serve como base fisiológica para testes de condutividade elétrica no diagnóstico da mastite (Ogola; Shitandi; Nanua, 2007).

Simultaneamente, observa-se uma redução nos teores de potássio (K^+) e de cálcio (Ca^{2+}) ionizado. A perda de cálcio é particularmente prejudicial para a indústria, pois ele é fundamental para a integridade e estabilidade das micelas de caseína, e sua redução contribui para a diminuição do rendimento queijeiro (Danieli *et al.*, 2025). A análise detalhada desses minerais, portanto, não apenas indica a presença de inflamação, mas também quantifica o grau de disfunção da barreira hemato-mamária.

2.4.5 Propriedades Físico-Químicas.

O desequilíbrio composicional causado pela mastite afeta diretamente as propriedades funcionais e a estabilidade do leite, parâmetros cruciais para a indústria. Dentre eles, a estabilidade ao álcool, a acidez titulável e o pH são os mais relevantes, pois ditam a aptidão do leite para o processamento térmico.

A estabilidade ao teste do álcool (ETA) é utilizada como um indicador rápido da estabilidade térmica. O princípio do teste baseia-se na capacidade do etanol atuar como um agente desidratante que reduz a constante dielétrica da mistura, diminuindo a barreira de hidratação das micelas de caseína (Vidal & Netto, 2018). Um leite instável ao álcool representa um alto risco tecnológico, indicando propensão à coagulação das proteínas durante tratamentos térmicos severos, o que pode causar sedimentação e incrustações em equipamentos de leite UHT e de produção de leite em pó.

Contudo, é amplamente documentado que o leite pode se tornar instável por razões não microbiológicas, fenômeno conhecido como Leite Instável Não Ácido (LINA). A compreensão deste fenômeno evoluiu recentemente. Enquanto hipóteses anteriores focavam no desequilíbrio salino geral, Neves *et al.* (2025) demonstraram que a concentração de cálcio iônico (Ca^{2+}) é o fator determinante. O aumento do cálcio livre reduz a repulsão eletrostática entre as micelas de caseína, favorecendo sua agregação na presença de etanol, mesmo em faixas de pH consideradas normais. Além disso, a inflamação da glândula mamária (alta CCS) exacerba esse quadro ao elevar os níveis de sódio e cloro e promover proteólise, comprometendo a integridade micelar (Neves *et al.*, 2025; Scheid, 2024).

Na rotina das propriedades leiteiras, essa instabilidade térmica, muitas vezes dissociada da acidez (LINA), é detectada visualmente pelo teste do Alizarol (álcool 72% ou 76%). A precipitação ou formação de grumos na raquete, mesmo em leite com pH normal, leva ao descarte do leite e gera prejuízos ao produtor, embora a causa primária possa ser o desequilíbrio mineral induzido pela inflamação e não a acidez bacteriana (Fischer *et al.*, 2012).

A relação entre pH e acidez titulável ($^{\circ}$ Dornic) no leite de vacas com mastite é paradoxal e exige uma interpretação fisiológica. Enquanto a contaminação bacteriana acidifica o leite, por fermentação da lactose, a mastite provoca o efeito oposto, o aumento do pH e redução da acidez titulável. Esse fenômeno ocorre não apenas pelo influxo de bicarbonato do sangue devido à maior permeabilidade vascular, mas também pela redução da acidez aparente do leite.

Conforme explicado por Vidal e Netto (2018), a acidez do leite fresco é constituída fundamentalmente por caseínas, fosfatos, citratos e albuminas. Como a mastite lesiona o epitélio secretor, ocorre a diminuição da síntese desses componentes ácidos naturais, resultando em menores valores de graus Dornic (Arruda Junior *et al.*, 2019). Portanto, a baixa acidez observada em rebanhos com alta prevalência de mastite não indica necessariamente melhor qualidade, mas sim um reflexo direto do comprometimento da saúde da glândula mamária.

2.5 ABORDAGENS PARA A CLASSIFICAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA

O monitoramento da saúde do úbere depende da compreensão da dinâmica da mastite subclínica. Para isso, duas abordagens principais são utilizadas: a avaliação temporal da CCS, conhecida como Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC), e a classificação pontual baseada na combinação de CCS e CCSD, que define os Grupos de Saúde do Úbere (GSU).

2.5.1 Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC): Abordagem Clássica

A abordagem clássica da DMSC, proposta por Schukken e Kremer (1996), avalia a transição do status de saúde de uma vaca entre dois controles leiteiros mensais consecutivos. Utilizando o limiar de 200.000 células/mL, as vacas são classificadas em quatro categorias: Sadia, Nova Infecção, Crônica e Curada. Este método é essencial para o manejo epidemiológico, permitindo o cálculo de indicadores como incidência e prevalência.

Regras para a transição entre as categorias baseiam-se na contagem do mês anterior e atual (Quadro 1).

Quadro 1 - Definição das categorias da Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC)

Categoria	CCS Mês Anterior	CCS Mês Atual	Status
Sadia	≤ 200.000	≤ 200.000	Ausência de infecção
Nova Infecção	≤ 200.000	> 200.000	Início do processo inflamatório
Crônica	> 200.000	> 200.000	Infecção persistente
Curada	> 200.000	≤ 200.000	Recuperação da saúde

Fonte: Adaptado de Schukken e Kremer (1996).

A utilidade desta abordagem foi demonstrada por Cardozo *et al.* (2015) em um estudo com rebanhos no sul do Brasil, onde a DMSC foi utilizada para determinar que o risco de novas infecções era maior no início da lactação, enquanto o risco de casos crônicos aumentava significativamente com o avançar da lactação e com o número de partos. Sua principal limitação, contudo, é a natureza puramente quantitativa, que classifica como "sadias" ou "curadas" todas as vacas com CCS abaixo do limiar, sem diferenciar os processos inflamatórios incipientes que já podem estar ocorrendo (Souza *et al.*, 2011).

2.5.2 Grupos de Saúde do Úbere (GSU): Abordagem Fisiopatológica

Para superar a limitação da DMSC, foram desenvolvidos os Grupos de Saúde do Úbere (GSU), um modelo diagnóstico multidimensional que integra a CCS e a CCSD em uma única amostra de leite.

A classificação nestes grupos fundamenta-se na combinação dos níveis de CCS e CCSD, permitindo a interpretação fisiopatológica apresentada no Quadro 2.

Quadro 2 - Classificação dos Grupos de Saúde do Úbere (GSU)

Grupo de Saúde	Valores de CCS	Valores de CCSD	Interpretação Fisiológica
Saudável	Baixo	Baixo	Úbere sadio, sem inflamação
Suscetível/ Suspeita	Baixo	Alto	Inflamação incipiente / Resposta imune inicial
Mastítica	Alto	Alto	Mastite ativa (Recrutamento de neutrófilos)
Crônica/ Persistente	Alto	Baixo	Fase de latência ou recuperação lenta

Fonte: Adaptado de Schwarz *et al.* (2020) e Bobbo *et al.* (2020).

Essa abordagem permite mergulhar na fisiopatologia celular, distinguindo vacas verdadeiramente sadias daquelas que já apresentam uma resposta inflamatória inicial, mesmo com baixa CCS. Atualmente, dois modelos principais são utilizados na literatura:

1. O modelo de Bobbo/Zecconi: Proposto por Zecconi *et al.* (2019) e aplicado por Bobbo *et al.* (2020) utiliza limiares de CCSD que são ajustados conforme os Dias em Lactação (DEL) do animal. Foram estabelecidos os seguintes pontos de corte para a soma de neutrófilos e linfócitos: 66,3% (≤ 100 DEL), 69,2% (101-200 DEL) e 69,3% (> 200 DEL). A lógica por trás deste ajuste é considerar as variações fisiológicas na resposta imune que ocorrem ao longo da lactação, aumentando a especificidade do diagnóstico.
2. O modelo de Schwarz: Proposto e validado por Schwarz *et al.* (2020a, 2020b), este modelo adota um limiar único e fixo de 65% para a CCSD, independentemente do DEL. Essa abordagem simplifica a aplicação a campo e prioriza a precocidade diagnóstica, visando maximizar a detecção de vacas em risco, especialmente em estágios iniciais de infecção.

Quadro 3 - Limiares de corte da CCSD aplicados nos modelos de classificação

Modelo	Critério de Corte	Detalhe do Limiar para CCSD
GSU Schwarz	- Fixo	 > 65% (independente do estágio de lactação)
GSU - Bobbo	Ajustado (por DEL)	DEL ≤ 100 dias: 66,3% DEL 101 a 200 dias: 69,2% DEL > 200 dias: 69,3%

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Com base nesses modelos, as vacas são classificadas em quatro estados principais: Saudável (CCS e CCSD baixas), Suscetível/Suspeita (CCS baixa, mas CCSD alta), Mastítica (CCS e CCSD altas) e Crônica/Persistente (CCS alta, mas CCSD baixa). O grande avanço deste sistema é, portanto, a identificação do estado Suscetível, que revela uma inflamação incipiente antes que a CCS ultrapasse o limiar tradicional. A aplicação deste modelo dinâmico transcende a simples classificação, permitindo formular hipóteses precisas sobre as consequências funcionais de cada estado inflamatório. A capacidade desta abordagem de refinar o diagnóstico foi demonstrada por Lima (2025), que, ao analisar a mesma população de estudo do presente trabalho, reportou que entre 39% e 51% das vacas consideradas Sadias pela metodologia DMSC foram, na verdade, enquadradas nas categorias Suscetível ou Suspeita quando avaliadas pelos modelos GSU. Esta constatação serviu de base para o presente estudo, que buscou investigar se essa distinção diagnóstica, baseada no perfil celular, já se traduz em alterações mensuráveis nos componentes e atributos físico-químicos do leite.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL, ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi conduzido em em Santa Catarina, Brasil, durante um período de oito meses (maio a dezembro de 2024) em duas propriedades leiteiras comerciais situadas nos municípios de Braço do Norte (Latitude 28°13'56.9"S longitude 49°07'20.9"W) – Propriedade 1 e Orleans (Latitude 28°19'36.2"S 49°14'05.5"W longitude 49°14'05.5"W) – Propriedade 2. Foram incluídas no delineamento 103 vacas em lactação das raças Holandesa, Jersey e suas cruzas, totalizando 494 amostras ao longo do período experimental.

As propriedades apresentavam sistemas de produção distintos. A primeira utilizava um sistema a pasto, com gramíneas perenes de verão (*Cynodon* spp.) e anuais de inverno (Aveia e Azevém), com acesso a sombreamento natural. A segunda adotava o sistema de semi-confinamento, com os animais alojados em instalação do tipo *Compost Barn*. Em ambos os locais, a dieta era suplementada com silagem de milho e concentrado comercial. A rotina de ordenha era padronizada, realizada em sala do tipo espinha de peixe, e incluía descarte dos primeiros jatos, desinfecção inicial de tetos, com solução de pré-*dipping*, secagem com papel toalha individual e desinfecção pós-ordenha (pós-*dipping*).

3.2 COLETA DE AMOSTRAS E DADOS DE PRODUÇÃO

As coletas foram realizadas mensalmente em todas as vacas em lactação, com um intervalo médio de 32 dias. Animais com sinais clínicos de mastite no dia da coleta foram excluídos da amostragem. A produção de leite individual de cada vaca (kg) foi registrada em cada coleta por meio de medidores acoplados à linha de ordenha (Milk Meter®).

Para cada animal, foi obtida uma amostra de leite composta, representativa da ordenha da tarde e da manhã seguinte. As amostras foram homogeneizadas e imediatamente divididas em alíquotas para as diferentes análises laboratoriais.

3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

3.3.1 Composição Centesimal e Perfil de Ácidos Graxos

Uma alíquota de 40 mL de leite, conservada com Bronopol, foi encaminhada ao laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), membro da Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL).

As análises de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram realizadas por espectroscopia no infravermelho médio (FTIR) e citometria de fluxo, respectivamente.

O perfil de ácidos graxos também foi determinado pela técnica de espectrometria no infravermelho médio, conforme o método de referência ISO 9622:2013. O equipamento utiliza equações de calibração para prever a concentração dos principais ácidos graxos e grupos de ácidos graxos a partir do espectro do leite. Os resultados foram expressos em gramas por 100 gramas de leite (g/100g).

3.3.2 CCS e Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD)

Uma segunda alíquota de 40 mL de leite, também conservada com Bronopol, foi enviada ao Laboratório de Qualidade do Leite da Universidade Federal de Goiás (LQL-UFG), pertencente à Rede Brasileira de Qualidade do Leite. Neste laboratório, as amostras foram novamente analisadas quanto à composição centesimal e CCS, e adicionalmente, foi realizada a Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD).

As análises foram conduzidas utilizando o equipamento CombiFoss 7 DC (FOSS, Hillerød, Dinamarca), que integra as tecnologias de espectroscopia no infravermelho (FTIR) e citometria de fluxo. A CCS foi determinada pela contagem de eventos fluorescentes após a coloração do DNA nuclear das células com brometo de etídio. A CCSD, por sua vez, foi obtida através da diferenciação das populações celulares (neutrófilos, linfócitos e macrófagos) com base em suas características de dispersão de luz e fluorescência, conforme metodologia detalhada por Damm *et al.* (2017). Os resultados de CCS e CCSD obtidos neste laboratório

(LQL-UFG) foram utilizados como a fonte oficial de dados para a formação das categorias de saúde do úbere (DMSC e GSU) e para todas as análises estatísticas subsequentes.

A partir da Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD), obteve-se a variável CCPL, que representa a soma das populações de polimorfonucleares e linfócitos. Este parâmetro permite qualificar a resposta imune da glândula mamária, distinguindo o perfil celular predominante em diferentes estágios de lactação e ordens de parto.

3.3.4 Análises Físico-Químicas

As análises de estabilidade, acidez e pH foram conduzidas em alíquotas de leite fresco, sem conservantes. Os procedimentos analíticos basearam-se nos princípios físico-químicos descritos por Vidal e Netto (2018), seguindo os protocolos operacionais padronizados por Hauser *et al.* (2023).

A estabilidade ao álcool (ETA) foi determinada utilizando uma série de soluções alcoólicas com gradiente de concentração, variando de 56% a 94% (v/v), com incrementos de 2%. Para cada amostra, foram misturados volumes iguais de leite e da solução alcoólica correspondente, sendo a ETA definida como a maior concentração de etanol que a amostra suportou sem apresentar precipitação visível.

A acidez titulável foi mensurada pelo método titulométrico (Dornic), no qual 10 mL de leite foram titulados com solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,111 N) e fenolftaleína como indicador até o ponto de viragem. O resultado foi expresso em graus Dornic (°D). O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado por potenciometria, utilizando um pHmetro de bancada digital (Kasvi, modelo K39-0014PA), previamente calibrado.

3.3.5 California Mastitis Test (CMT)

Durante o procedimento de amostragem mensal, foi realizado o diagnóstico de mastite subclínica por meio do California Mastitis Test (CMT) em todos os quartos mamários de todas as vacas em lactação. O teste foi conduzido imediatamente após a desinfecção dos tetos e o

descarte dos três primeiros jatos de leite. Para a realização do teste, foram adicionados 2 mL de leite de cada quarto mamário na cavidade correspondente da raquete específica, seguido da adição de 2 mL de reagente CMT comercial (Tadabras®, Santa Rosa/RS, Brasil). Após a homogeneização da mistura por meio de movimentos circulares suaves, a reação foi avaliada visualmente para classificação da viscosidade.

Os resultados foram expressos em escores. Escore zero (negativo), para ausência de reação; traços, para leve viscosidade; uma cruz (+), para reação leve a moderada; duas cruzes (++), para viscosidade moderada; e três cruzes (+++) para reação com viscosidade intensa (Constable *et al.*, 2017). Para as análises estatísticas subsequentes, os dados foram agrupados em duas categorias principais: CMT Negativo (incluindo escores zero e traços) e CMT Positivo (incluindo escores de uma, duas e três cruzes).

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram tabulados e organizados em um banco de dados. A produção de leite foi avaliada tanto em volume (kg/dia) quanto corrigida para energia (LCE), de acordo com a equação de Tyrrell & Reid (1965): $LCE (kg/dia) = (0,327 \times kg \text{ de leite}) + (12,95 \times kg \text{ de gordura}) + (7,2 \times kg \text{ de proteína})$, sendo os quilos de gordura e proteína calculados a partir da produção de leite e dos respectivos percentuais de cada componente. Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software SAS® (Statistical Analysis System, Versão 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva dos dados para todas as variáveis contínuas (composição, físico-químicos, ácidos graxos) através do procedimento MEANS, para obtenção de médias, desvios-padrão, valores mínimos e máximos.

A verificação dos pressupostos de normalidade dos resíduos foi realizada para todas as variáveis dependentes, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov utilizando o procedimento UNIVARIATE

Para avaliar o efeito das diferentes categorias de saúde do úbere sobre a composição do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais), o perfil de ácidos graxos e os atributos físico-químicos (pH, acidez e estabilidade ao álcool), os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo utilizando o procedimento MIXED, com a vaca

como efeito aleatório. A estrutura de covariância para as medidas repetidas foi definida como autorregressiva de primeira ordem (AR(1)), selecionada por ser a mais adequada para dados longitudinais com intervalos de coleta aproximadamente regulares. A seleção desta estrutura foi devida ao menor valor para o critério de informação de Akaike (AIC).

O modelo estatístico incluiu a categoria de saúde do úbere como efeito fixo principal, sendo realizadas análises em separado para cada sistema de classificação (DMSC, GSU conforme os modelos de Bobbo *et al.* (2020) e Schwarz *et al.* (2020b), e para o resultado de CMT. O modelo incluiu ainda os efeitos das classes de dias em lactação (0 a 100; 101 a 200; 201 a 300 e maior que 300), da ordem de parto (1,2 ou ≥ 3), da estação do ano, da propriedade e do grupamento genético (Holandês, Jersey e cruzamento Holandês X Jersey) aninhado dentro de propriedade. As médias dos mínimos quadrados, ajustadas pelo modelo, foram comparadas duas a duas pelo teste de Tukey-Kramer, sendo consideradas significativas as diferenças quando $P < 0,05$ e tendência quando entre 0,05 e 0,10.

Adicionalmente, foi realizada uma análise multivariada exploratória (Análise Fatorial) utilizando o Procedimento FACTOR, com rotação Promax, para identificar o agrupamento das variáveis de qualidade do leite (composição, físico-químicas e CCPL) e produtivas (volume e ordem de parto). Foram considerados para interpretação dos fatores as variáveis com carga fatorial superior a 0,40.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS E ESTATÍSTICA DESCRITIVA

Durante o período experimental, foram obtidas 494 observações referentes a 103 vacas. Após a aplicação dos critérios para as classificações de saúde do úbere e a exclusão de dados faltantes, o banco de dados final para as análises consistiu em um número de amostras que variou de 260 a 280, dependendo da variável analisada (Tabela 1).

As médias gerais para produção de leite e para a produção de leite corrigida para energia (LCE) foram de 23,02 kg/dia e 26,97 kg/dia, respectivamente. A Contagem de Células Somáticas (CCS) apresentou alta variabilidade (desvio padrão de 779.023 células/mL), com média geral de 469.853 células/mL. A porcentagem de Células Somáticas Diferenciais (CCSD) variou de 25,10 a 90,60%, com média geral de 70,39%, confirmando a presença de animais

com diferentes status de saúde do úbere. Os demais componentes de composição, como lactose, proteína e gordura, apresentaram valores médios e variações consistentes com o esperado para rebanhos das raças Holandesa e Jersey. A Contagem Celular de Polimorfonucleares e Linfócitos (CCPL) apresentou média de $370,37 \times 10^3/\text{células/mL}$. A inclusão deste parâmetro como variável explicativa na estrutura multivariada justifica-se pela sua importância na qualificação da resposta imune e por permitir a identificação de variações biológicas associadas ao status fisiológico e à senescência da glândula mamária (Tabela 1).

Tabela 1- Número de observações (N), média, desvio padrão, valor mínimo e máximo para as variáveis de produção, composição e físico-químicas do leite das amostras analisadas.

Variável	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Leite (kg/dia)	275	23,02	6,18	11,00	43,50
LCE (kg/dia) ¹	272	26,97	7,18	11,92	56,77
Gordura (%)	278	4,29	0,79	2,41	6,49
Proteína (%)	276	3,59	0,42	2,63	5,02
Lactose (%)	280	4,44	0,23	3,56	5,02
Sólidos Totais (%)	279	13,29	1,13	10,38	16,85
ESD (%) ²	280	8,99	0,47	7,71	10,79
CCS (x 1000/mL) ³	280	469,85	779,02	52,00	7936,00
CCSD (%) ⁴	280	70,39	13,39	25,10	90,60
CPPL (x 1000/mL)	280	370,37	676,85	14,30	7063,04
NUL (mg/dL) ⁵	280	15,40	6,92	2,53	34,81
Caseína (%)	278	2,83	0,35	2,01	4,07
Acidez (°D)	269	15,25	1,98	10,76	23,81
Álcool (%)	272	71,40	7,73	52,00	86,00
pH	262	6,66	0,11	6,30	6,93

¹ LCE = Leite Corrigido para Energia. ² ESD = Extrato Seco Desengordurado. ³ CCS = Contagem de Células Somáticas. ⁴ CCSD = Contagem Diferencial de Células Somáticas. ⁵ CCPL = Contagem Celular de Polimorfonucleares e Linfócitos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.2 IMPACTO DO RESULTADO DO *CALIFORNIA MASTITIS TEST* (CMT) NA COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

A avaliação do impacto do resultado do *California Mastitis Test* (CMT), classificando as amostras em Negativo (NEG) e Positivo (POS), revelou um efeito estatisticamente significativo sobre o teor de gordura do leite ($P = 0,0331$) (Tabela 2), sendo que as amostras de quartos com resultado NEG apresentaram um teor de gordura (4,43%) significativamente superior ao de quartos com resultado POS (4,26%).

Embora não tenham atingido o nível de significância de 5%, observou-se uma clara tendência de redução nos teores de lactose ($p = 0,0958$), caseína ($p = 0,0766$) e extrato seco desengordurado (ESD) ($Pp = 0,0631$) em quartos com resultado POS em comparação aos quartos NEG. Para a proteína total, não foi observada diferença estatística ($p > 0,10$). Da mesma forma, não foi detectado efeito do CMT sobre a produção de leite ou leite corrigido para energia (LCE) ($p > 0,70$).

Nas propriedades físico-químicas, a estabilidade ao álcool foi o único atributo que demonstrou um efeito significativo ($p = 0,0050$). Amostras de quartos com resultado POS (74,38%) foram significativamente mais estáveis ao teste do álcool em comparação com as de quartos NEG (71,85%). Não foi detectado efeito do CMT sobre a acidez titulável e o pH ($P > 0,75$).

Tabela 2 - Médias de mínimos quadrados ($\pm$ erro padrão) para produção, composição e propriedades físico-químicas do leite segundo o resultado do *California Mastitis Test* (CMT).

<i>California Mastitis Test</i> (CMT).			
Variável	CMT Negativo	CMT Positivo	Valor de P
N	118	112	
Leite (kg/dia)	24,69 $\pm$ 0,98	24,88 $\pm$ 0,98	0,7380
LCE (kg/dia) ¹	28,59 $\pm$ 1,02	28,41 $\pm$ 1,03	0,7788
Gordura (%)	4,43 $\pm$ 0,14	4,26 $\pm$ 0,14	0,0331
Proteína (%)	3,59 $\pm$ 0,07	3,55 $\pm$ 0,07	0,1704
Lactose (%)	4,51 $\pm$ 0,04	4,47 $\pm$ 0,04	0,0958
Caseína (%)	2,83 $\pm$ 0,06	2,79 $\pm$ 0,06	0,0766

ESD (%)	9,02 ± 0,09	8,95 ± 0,09	0,0631
Acidez (°D)	15,84 ± 0,34	15,89 ± 0,34	0,8382
Álcool (%) ²	71,85 ± 1,31	74,38 ± 1,32	0,0050
pH	6,66 ± 0,02	6,66 ± 0,02	0,7861
ECS	3,79 ± 0,27	4,51 ± 0,27	<0,0001
CCSD (%)	68,22 ± 2,21	74,69 ± 2,63	0,0002

¹ LCE = Leite Corrigido para Energia; ESD = Extrato Seco Desengordurado.² concentração máxima de álcool que o leite suportou sem coagular, sendo um indicador de estabilidade. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.3 IMPACTO DA DINÂMICA DA MASTITE SUBCLÍNICA (DMSC) NA COMPOSIÇÃO E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

A análise baseada na Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC) evidenciou que o *status* de infecção exerceu influência significativa sobre componentes específicos da composição e das propriedades físico-químicas do leite, embora não tenha alterado os parâmetros produtivos (Tabela 3).

No que tange à produção, não foram observadas diferenças estatísticas entre as categorias avaliadas, tanto para o volume de leite ($P = 0,4395$) quanto para a produção de leite corrigida para energia (LCE) ($P = 0,6715$). As médias de produção oscilaram entre 23,44 kg/dia e 24,46 kg/dia, indicando que a classificação pela dinâmica da CCS, nesta amostragem, não estratificou os animais por nível de desempenho produtivo.

Em contrapartida, a composição do leite foi afetada pelo status de saúde do úbere. O teor de lactose apresentou variação significativa ($P = 0,0005$), comportando-se como um indicador sensível à inflamação. Os grupos isentos de infecção ativa no momento da coleta, Sadia (4,56%) e Cura (4,54%), exibiram as maiores médias, diferindo estatisticamente dos grupos desafiados por infecção, Nova Infecção (4,50%) e Crônica (4,45%), que apresentaram redução neste constituinte. Padrão semelhante foi observado para o Extrato Seco Desengordurado (ESD) ($P = 0,0349$), no qual o grupo Crônica (8,86%) apresentou valor estatisticamente inferior ao grupo Sadia (9,04%). As demais variáveis composicionais, gordura, proteína e caseína, não sofreram influência estatística das categorias da DMSC ($P > 0,05$).

Nas propriedades físico-químicas, a acidez titulável foi o único parâmetro significativamente impactado ($P = 0,0208$). A análise discriminou dois comportamentos

distintos: os grupos Sadia e Cura apresentaram valores de acidez superiores (15,80°D e 16,17°D, respectivamente) em comparação aos grupos com infecção ativa, Nova Infecção (15,18°D) e Crônica (15,22°D), que manifestaram valores reduzidos. Não houve evidência de alteração significativa para o pH ($P = 0,1227$) ou para a estabilidade ao álcool ($P = 0,5783$) em função da dinâmica da mastite.

Tabela 3- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo as categorias da Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC).

Categoria da Dinâmica da Mastite Subclínica					
Variável	Sadia	Nova Infecção	Cura	Crônica	Valor de P
N	108	47	26	99	
Leite (kg/dia)	24,30 $\pm$ 0,92	23,44 $\pm$ 1,00	24,46 $\pm$ 1,14	23,71 $\pm$ 0,97	0,4395
LCE (kg/dia)	27,59 $\pm$ 1,01	26,63 $\pm$ 1,09	27,52 $\pm$ 1,24	27,06 $\pm$ 1,08	0,6715
Gordura (%)	4,25 $\pm$ 0,13	4,24 $\pm$ 0,14	4,12 $\pm$ 0,16	4,21 $\pm$ 0,14	0,7274
Proteína (%)	3,52 $\pm$ 0,06	3,56 $\pm$ 0,06	3,51 $\pm$ 0,07	3,52 $\pm$ 0,07	0,5678
Lactose (%)	4,56 $\pm$ 0,03	4,50 $\pm$ 0,04b	4,54 $\pm$ 0,0a	4,45 $\pm$ 0,04b	0,0005
Caseína (%)	2,78 $\pm$ 0,05	2,81 $\pm$ 0,05	2,75 $\pm$ 0,06	2,77 $\pm$ 0,06a	0,2972
ESD (%)	9,04 $\pm$ 0,08	8,99 $\pm$ 0,09ab	8,95 $\pm$ 0,10ab	8,86 $\pm$ 0,09b	0,0349
Acidez (°D)	15,80 $\pm$ 0,30	15,18 $\pm$ 0,35b	16,17 $\pm$ 0,42	15,22 $\pm$ 0,33b	0,0208
pH	6,63 $\pm$ 0,02	6,64 $\pm$ 0,02	6,62 $\pm$ 0,03	6,67 $\pm$ 0,02	0,1227
Álcool (%)	71,78 $\pm$ 1,16	72,79 $\pm$ 1,31	72,46 $\pm$ 1,55	73,35 $\pm$ 1,24	0,5783
ECS	3,10 $\pm$ 0,15b	5,17 $\pm$ 0,17a	3,34 $\pm$ 0,20b	5,40 $\pm$ 0,17a	< 0,0001
CCSD	64,15 $\pm$ 2,37d	76,13 $\pm$ 2,57b	69,68 $\pm$ 2,92c	77,28 $\pm$ 2,57a	< 0,0001

Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

ESD = Extrato Seco Desengordurado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.4 IMPACTO DOS GRUPOS DE SAÚDE DO ÚBERE (GSU - SCHWARZ) NA COMPOSIÇÃO E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

A categorização da saúde do úbere proposta pelo modelo GSU-Schwarz evidenciou alterações específicas nos atributos de qualidade do leite (Tabela 4). Entre os componentes composicionais, a lactose foi a única variável significativamente impactada ($P = 0,0009$). O grupo Mastítica apresentou a menor concentração média (4,46%), diferindo estatisticamente do grupo Saudável (4,57%) e corroborando o efeito deletério da inflamação aguda sobre a síntese osmótica. Para os demais parâmetros de produção e composição centesimal, volume de leite, LCE, gordura, proteína, caseína e Extrato Seco Desengordurado (ESD), o modelo não detectou variações significativas entre os grupos ($P > 0,05$).

No tocante às propriedades físico-químicas, o modelo demonstrou alta sensibilidade para discriminar oscilações na acidez titulável ($P = 0,0003$). Observou-se uma depressão acentuada neste parâmetro no grupo Crônica, que registrou média de 13,92°D, valor estatisticamente inferior a todos os demais grupos avaliados.

Adicionalmente, a análise do pH revelou um comportamento particular: embora o teste global de efeitos fixos não tenha atingido o nível de significância tradicional ($P = 0,1090$), a comparação de médias par a par indicou uma distinção biológica relevante. O leite das vacas do grupo Crônica apresentou-se mais alcalino (pH 6,70) em comparação aos grupos Saudável e Suspeita (ambos com pH 6,63). A estabilidade ao álcool, por sua vez, manteve-se inalterada independentemente da classificação sanitária ($P = 0,4969$).

Tabela 4- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para produção, composição e propriedades físico-químicas do leite segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Bobbo *et al.* (2020).

Impacto dos Grupos de Saúde do Úbere GSU – Bobbo.					
Variável	Saudável	Suscetível	Mastítica	Crônica	valor de P
N	77	57	121	25	
Leite (kg/dia)	23,52 $\pm$ 0,95	25,21 $\pm$ 0,98	23,39 $\pm$ 0,92	23,71 $\pm$ 1,16	0,0495
LCE (kg/dia)	26,97 $\pm$ 1,03	28,39 $\pm$ 1,07	26,70 $\pm$ 0,99	27,18 $\pm$ 1,29b	0,1992
Gordura (%)	4,27 $\pm$ 0,13	4,15 $\pm$ 0,14	4,24 $\pm$ 0,13	4,31 $\pm$ 0,16	0,5556

Proteína (%)	3,50±0,06	3,53±0,06	3,54±0,06	3,54±0,07	0,8126
Lactose (%)	4,55±0,04a	4,55±0,04a	4,46±0,04b	4,52±0,04a	<0,0001
Caseína (%)	2,76±0,05	2,76±0,05	2,79±0,05	2,81±0,06	0,5976
ESD (%) ²	9,02±0,09	8,98±0,09	8,93±0,08	8,99±0,10	0,3503
Acidez (°D)	16,3±0,19b	16,33 ±0,23b	16,51±0,22b	15,82 ±0,417a	0,0009
pH	6,63±0,02	6,63±0,02	6,65±0,02	6,67±0,03	0,2673
Álcool (%)	71,78±1,24	72,28±1,27	72,77±1,15	74,16±1,60	0,4321
ECS	3,00±0,15d	3,31±0,16c	5,42±0,15a	4,55±0,20b	<0,0001
CCSD	57,41±1,59c	75,79±1,66a	78,23±1,53a	61,18±2,05b	<0,0001

Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$). ¹

ESD = Extrato Seco Desengordurado. ² O P-valor geral foi $P=0,2318$; contudo, a comparação par a par entre Mastítica e Sadia foi significativa ($P=0,0458$). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.5 IMPACTO DOS GRUPOS DE SAÚDE DO ÚBERE (GSU - BOBBO) NA COMPOSIÇÃO E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

A classificação da saúde do úbere pelo modelo GSU-Bobbo revelou impacto significativo sobre indicadores de produção e qualidade do leite (Tabela 4). Na produção, houve diferença estatística ($P = 0,0495$), com as vacas do grupo Suscetível apresentando a maior média (25,21 kg/dia), superior aos grupos Mastítica e Sadia. Para a produção corrigida (LCE), não houve efeito significativo ($P = 0,1992$).

Quanto à composição, o teor de lactose destacou-se pela alta significância estatística ($P < 0,0001$). O grupo Mastítica apresentou a menor média (4,46%), diferenciando-se dos grupos Saudável e Suscetível (ambos com 4,55%), o que reflete o comprometimento da síntese deste componente na fase aguda. Não foram detectadas diferenças para gordura, proteína, caseína ou ESD ($P > 0,05$).

Tabela 5- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Schwarz *et al.* (2020b).

Impacto dos Grupos de Saúde do Úbere					
GSU – Schwarz.					
Variável	Saudável	Suspeita	Mastítica	Crônica	valor de P
N	61	73	131	15	
Leite (kg/dia)	23,76 $\pm$ 0,99	24,69 $\pm$ 0,97	23,55 $\pm$ 0,93	23,39 $\pm$ 1,32	0,3522
LCE (kg/dia) ¹	26,97 $\pm$ 1,07	28,13 $\pm$ 1,04	26,97 $\pm$ 0,99	26,20 $\pm$ 1,48	0,3549
Gordura (%)	4,19 $\pm$ 0,14	4,25 $\pm$ 0,14	4,26 $\pm$ 0,13	4,10 $\pm$ 0,19	0,6947
Proteína (%)	3,48 $\pm$ 0,06	3,54 $\pm$ 0,06	3,55 $\pm$ 0,06	3,48 $\pm$ 0,08	0,1676
Lactose (%)	4,57 $\pm$ 0,04	4,54 $\pm$ 0,04ab	4,46 $\pm$ 0,04b	4,51 $\pm$ 0,05	0,0009
Caseína (%)	2,74 $\pm$ 0,05	2,78 $\pm$ 0,05	2,80 $\pm$ 0,05	2,74 $\pm$ 0,06	0,2647
ESD (%) ²	9,03 $\pm$ 0,09a	8,98 $\pm$ 0,09a	8,95 $\pm$ 0,08a	8,89 $\pm$ 0,11	0,3185
Acidez (°D)	15,70 $\pm$ 0,33ab	16,03 $\pm$ 0,32a	15,36 $\pm$ 0,29b	13,92 $\pm$ 0,49	0,0003
pH ³	6,63 $\pm$ 0,02b	6,63 $\pm$ 0,02b	6,65 $\pm$ 0,02ab	6,70 $\pm$ 0,03	0,1090
Álcool (%)	72,26 $\pm$ 1,28a	71,75 $\pm$ 1,24a	72,87 $\pm$ 1,15a	74,37 $\pm$ 1,90a	0,4969
ECS	2,96 $\pm$ 0,16d	3,31 $\pm$ 0,16c	5,38 $\pm$ 0,15a	4,51 $\pm$ 0,24b	<0,0001
CCSD	54,35 $\pm$ 1,49c	75,01 $\pm$ 1,44b	79,01 $\pm$ 1,34a	55,20 $\pm$ 2,22c	<0,0001

Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$). P-valores entre 0,05 e 0,10 são considerados tendência. ¹ LCE = Leite Corrigido para Energia. ² ESD = Extrato Seco Desengordurado. ³ Para o pH, embora o P-valor geral tenha indicado apenas uma tendência ($P=0,1057$), a comparação par a par revelou que o grupo Crônica foi significativamente diferente dos grupos Saudável e Suspeita. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Nas propriedades físico-químicas, a acidez titulável foi influenciada pelas categorias do modelo ($P = 0,0009$). Observou-se que o grupo Mastítica apresentou a maior acidez (16,51 °D), enquanto o grupo Crônica apresentou a menor média (15,82 °D), diferindo estatisticamente entre si. Já o pH ($P = 0,2673$) e a estabilidade ao álcool ($P = 0,4321$) não foram afetados pelas categorias do modelo Bobbo.

4.6 IMPACTO DAS ABORDAGENS DIAGNÓSTICAS NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE

A avaliação do impacto das diferentes abordagens diagnósticas (CMT, DMSC, GSU-Bobbo e GSU-Schwarz) sobre o perfil de ácidos graxos do leite indicou, predominantemente, uma ausência de alterações estatísticas significativas para a maioria dos parâmetros avaliados ($P > 0,05$). Contudo, uma exceção relevante foi observada na classificação pelo modelo GSU-Bobbo (Tabela 9). Nesta abordagem, detectou-se um efeito significativo sobre a concentração de Ácidos Graxos Saturados (AGS) ($P = 0,0331$). A comparação de médias revelou que o grupo Sadia apresentou a maior concentração de saturados (2,70 g/100g de leite), diferindo estatisticamente do grupo Mastítica (2,48 g/100g de leite), que exibiu o menor valor. Os grupos Suscetível e Crônica apresentaram valores intermediários e não diferiram dos extremos.

Para as demais abordagens diagnósticas (CMT, DMSC e GSU-Schwarz), bem como para os ácidos graxos classificados por origem de síntese (*de novo*, misto e pré-formado) em todos os modelos, as análises não evidenciaram variações significativas entre os grupos de saúde do úbere, sugerindo uma estabilidade relativa do perfil lipídico frente aos critérios estabelecidos por estas classificações (Tabelas 6, 7 e 8).

Tabela 6 - Médias de mínimos quadrados ($\pm$ erro padrão) para o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g de gordura) segundo o resultado do *California Mastitis Test* (CMT)

Grupo de Ácidos Graxos	Impacto do <i>California Mastitis Test</i> - CMT		
	CMT Negativo	CMT Positivo	Valor- P
Por Saturação			
AGS (Saturados)	2.52 $\pm$ 0.08	2.49 $\pm$ 0.10	0.7061
AGMI (Monoinsaturados)	0.87 $\pm$ 0.03	0.85 $\pm$ 0.04	0.6406
AGPI (Poli-insaturados)	0.13 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01	0.9926
Por Origem de Síntese			
<i>De Novo</i>	0.96 $\pm$ 0.04	0.95 $\pm$ 0.05	0.8118
Misto	1.28 $\pm$ 0.04	1.26 $\pm$ 0.05	0.6558
Pré-formado	1.23 $\pm$ 0.05	1.21 $\pm$ 0.06	0.7061

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P > 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 7- Médias de mínimos quadrados ($\pm$ erro padrão) para as variáveis de composição e propriedades físico-químicas do leite segundo as categorias da Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC).

Impacto da Dinâmica da Mastite Subclínica - DMSC.					
Grupo de Ácidos Graxos	Sadia	Nova Infecção	Crônica	Cura	Valor-P
Por Saturação					
AGS (Saturados)	2,65 $\pm$ 0,10	2,61 $\pm$ 0,12	2,44 $\pm$ 0,11	2,70 $\pm$ 0,13	0,2341
AGMI (Monoinsaturados)	0,89 $\pm$ 0,03	0,88 $\pm$ 0,04	0,87 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04	0,8723
AGPI (Poli-insaturados)	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,1105
Por Origem de Síntese					
<i>De Novo</i>	1,01 $\pm$ 0,05	1,04 $\pm$ 0,06	0,97 $\pm$ 0,05	1,07 $\pm$ 0,07	0,1293
Misto	1,31 $\pm$ 0,06	1,26 $\pm$ 0,06	1,26 $\pm$ 0,05	1,37 $\pm$ 0,07	0,3240
Pré-formado	1,32 $\pm$ 0,07	1,26 $\pm$ 0,07	1,22 $\pm$ 0,06	1,33 $\pm$ 0,08	0,4892

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P > 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 8- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g de leite) segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Schwarz *et al.* (2020b).

Impacto dos Grupos de Saúde do Úbere GSU – Schwarz.					
Grupo de Ácidos Graxos	Saudável	Suspeita	Crônica	Mastítica	Valor-P ¹
Por Saturação					
AGS (Saturados)	2,65 $\pm$ 0,12	2,65 $\pm$ 0,10	2,71 $\pm$ 0,19	2,49 $\pm$ 0,10	0,2234
AGMI (Monoinsaturados)	0,88 $\pm$ 0,04	0,89 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,07	0,88 $\pm$ 0,03	0,8723
AGPI (Poli-insaturados)	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,5999
Por Origem de Síntese					
<i>De Novo</i>	0,99 $\pm$ 0,05	1,01 $\pm$ 0,04	1,03 $\pm$ 0,09	0,97 $\pm$ 0,05	0,6951
Misto	1,33 $\pm$ 0,06	1,33 $\pm$ 0,05	1,32 $\pm$ 0,09	1,27 $\pm$ 0,05	0,4356
Pré-formado	1,28 $\pm$ 0,06	1,27 $\pm$ 0,05	1,26 $\pm$ 0,10	1,23 $\pm$ 0,05	0,6824

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P > 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 9- Médias de mínimos quadrados $\pm$ erro padrão para o perfil de ácidos graxos do leite (g/100g de leite) segundo os Grupos de Saúde do Úbere (GSU) conforme o modelo de Bobbo et al. (2020).

Impacto dos Grupos de Saúde do Úbere GSU – Bobbo.					
Grupo de Ácidos Graxos	Sadia	Suscetível	Mastítica	Crônica	Valor-P
Por Saturação					
AGS (Saturados)	2,70 $\pm$ 0,11 a	2,62 $\pm$ 0,11ab	2,48 $\pm$ 0,10 b	2,78 $\pm$ 0,15 a	0,0331
AGMI (Monoinsaturados)	0,89 $\pm$ 0,04	0,89 $\pm$ 0,04	0,87 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,05	0,9261
AGPI (Poli-insaturados)	0,13 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,7242
Por Origem de Síntese					
<i>De Novo</i>	0,99 $\pm$ 0,05	1,01 $\pm$ 0,04	0,97 $\pm$ 0,05	1,03 $\pm$ 0,09	0,6951
Misto	1,35 $\pm$ 0,05	1,32 $\pm$ 0,05	1,26 $\pm$ 0,05	1,37 $\pm$ 0,07	0,1267
Pré-formado	1,30 $\pm$ 0,06	1,26 $\pm$ 0,05	1,22 $\pm$ 0,05	1,34 $\pm$ 0,08	0,1585

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer ($P > 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.7 ANÁLISE FATORIAL DAS VARIÁVEIS DE PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

A análise fatorial pelo método dos componentes principais, integrando a contagem celular de polimorfonucleares e linfócitos (CCPL), extraiu três fatores que explicaram 63,98% da variância total dos dados (Tabela 10).

O Fator 1 (Composição e Volume) explicou 31,24% da variância total. Este fator isolou o efeito de concentração/diluição, apresentando altas cargas positivas para proteína (0,860) e gordura (0,770) em oposição à carga negativa da produção de leite (-0,765).

O Fator 2 (Senescência e Perfil de Defesa) explicou 20,34% da variância e agrupou a CCPL (0,699) com os dias em lactação (0,628) e a ordem de parto (0,568), além de apresentar uma relação negativa com o teor de lactose e com a acidez do leite. Este agrupamento evidencia que o perfil das células de defesa é fortemente influenciado pelo envelhecimento fisiológico da

glândula e pelo estágio produtivo, sugerindo que animais com maior tempo de vida útil apresentam um recrutamento celular diferenciado em resposta ao desgaste funcional do tecido mamário.

O Fator 3 (Estabilidade e Integridade Física) explicou 12,40% da variância, correlacionando a estabilidade ao álcool (0,830) e o teor de lactose (0,460) em oposição à acidez titulável (-0,735). Esse resultado confirma que a integridade funcional do epitélio mamário e o equilíbrio de solutos ditam a aptidão tecnológica do leite, independentemente do volume de produção.

Tabela 10 - Matriz de cargas fatoriais (Rotated Factor Pattern) e percentual de variância.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Comunalidades
Proteína (%)	0,860	-0,005	-0,167	0,799
Gordura (%)	0,770	-0,137	-0,097	0,627
Produção de leite (kg/dia)	-0,765	0,027	0,051	0,597
CCPL	0,298	0,699	0,126	0,580
Ordem de Parto	0,580	0,568	-0,502	0,703
Dias em lactação (DEL)	0,628	0,628	0,290	0,522
Estabilidade ao álcool	-0,118	0,156	0,830	0,715
Lactose (%)	-0,293	-0,500	0,460	0,650
Acidez (°D)	0,190	-0,735	-0,084	0,560
%Variância Explicada	31,24%	20,34%	12,40%	Total: 63,98%

Cargas em negrito indicam valores > 0,40 (relevantes para o fator).

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o impacto funcional da mastite subclínica sobre um amplo espectro de atributos da qualidade do leite, englobando sua composição centesimal (proteína, caseína, gordura, lactose e ESD), seu perfil detalhado de ácidos graxos e suas propriedades físico-químicas (acidez, pH e estabilidade ao álcool). Para tanto, comparou-se a acuidade de quatro abordagens diagnósticas na detecção de alterações nestes atributos, uma avaliação semiquantitativa à campo (*California Mastitis Test*; CMT), uma abordagem epidemiológica fundamentada na variação temporal da CCS, Dinâmica da Mastite Subclínica (DMSC) e Grupos de Saúde do Úbere (GSU/Bobbo; GSU/Schwarz), duas classificações fisiopatológicas baseadas no perfil celular instantâneo, as quais integram a Contagem de Células Somáticas (CCS) e a Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD).

De forma geral, os resultados evidenciam que as abordagens fundamentadas na CCSD (modelos GSU) oferecem uma resolução analítica superior para a estratificação do impacto funcional da mastite. Enquanto a DMSC e o CMT limitaram-se a detectar alterações em marcadores clássicos inflamatórios (lactose e acidez), os modelos GSU, notadamente a classificação de Bobbo, foram capazes de discriminar perdas significativas no volume de produção leiteira e alterações sutis no perfil lipídico (ácidos graxos saturados), nuances que não foram captadas pelas metodologias baseadas exclusivamente na magnitude quantitativa ou temporal da CCS global.

5.1 IMPACTO DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE A LACTOSE E AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE

Dentre todos os componentes avaliados o teor de lactose consolidou-se como o biomarcador mais consistente e responsivo ao impacto funcional da mastite subclínica. As abordagens DMSC e modelos GSU (Bobbo e Schwarz) evidenciaram um efeito estatístico robusto ($P \leq 0,0009$) no qual os grupos submetidos a maior desafio inflamatório notadamente as categorias Crônica na DMSC e Mastítica nos GSU apresentaram as depressões mais acentuadas na concentração deste dissacarídeo (Tabelas 3, 4 e 5).

A solidez da lactose como indicador da saúde do úbere transcende sua correlação estatística alicerçando-se em seu papel fisiológico central. Conforme revisado por Costa et al. (2019) a lactose atua como o principal regulador osmótico do leite sendo sua síntese um processo energeticamente oneroso que depende estritamente do aporte de glicose ao epitélio mamário. Durante processos inflamatórios a demanda energética do sistema imune ativado compete por essa glicose suprimindo a via de síntese da lactose. Por essa razão o declínio na sua concentração é reconhecido como um dos sinalizadores funcionais mais precoces da disfunção epitelial (Grossi et al. 2020).

Em contrapartida a análise pelo CMT revelou apenas uma tendência de redução no teor de lactose ($P = 0,0958$ Tabela 2). A ausência de significância estatística plena ressalta as limitações intrínsecas desta ferramenta de triagem. Por ser um método semiquantitativo que aglutina animais com vasta amplitude de celularidade em uma única categoria positiva é provável que o efeito deletério sobre a síntese de lactose seja diluído pela heterogeneidade do grupo tornando-se estatisticamente perceptível apenas em limiares de dano tecidual que o teste de campo não é capaz de estratificar com a mesma precisão dos modelos quantitativos.

Um diferencial relevante deste estudo foi demonstrar que o perfil celular da inflamação parece modular a magnitude desse impacto. Nos modelos GSU o grupo Mastítica (caracterizado por alta CCS e alta CCSD indicativo de recrutamento neutrofílico ativo) apresentou consistentemente os menores teores de lactose. Esse comportamento corrobora os achados de Antanaitis et al. (2021) que observaram quedas mais severas na lactose (para níveis de 4,25% a 4,30%) em infecções por patógenos maiores típicos de respostas agudas intensas. Isso sugere que a inflamação aguda impõe um bloqueio imediato e severo à função sintética da glândula. Tal observação refina a compreensão trazida por Stocco et al. (2020) que relataram associação linear positiva entre CCSD e lactose a abordagem categorizada do presente estudo permitiu isolar o efeito da fase aguda revelando seu caráter funcionalmente deletério que pode ser mascarado em análises lineares globais.

Além da lactose as propriedades físico-químicas relacionadas ao equilíbrio iônico especificamente a acidez titulável mostraram-se indicadores sensíveis à mastite subclínica. Os resultados evidenciaram um decréscimo claro na acidez em resposta à infecção. Nos modelos fisiopatológicos (GSU) o grupo Crônica foi isoladamente o mais afetado registrando os menores valores de graus Dornic. Na abordagem temporal (DMSC) tanto a fase de Nova Infecção quanto a Crônica apresentaram reduções significativas. Esse fenômeno é multifatorial

resultando tanto do aumento da permeabilidade da barreira intramamária que permite o influxo de componentes sanguíneos alcalinizantes (Alhussien e Dang 2018) quanto do comprometimento da acidez aparente do leite.

Conforme elucidado por Vidal e Netto (2018) a acidez titulável do leite fresco é constituída majoritariamente por grupos ácidos de caseínas fosfatos e citratos e não apenas por ácido láctico. Considerando que a mastite crônica lesiona o tecido secretor e prejudica a síntese de caseína ocorre uma diminuição concomitante desses componentes resultando em menores valores de acidez titulável mesmo na ausência de alterações drásticas no pH o qual apresentou apenas variações discretas e restritas a comparações específicas no modelo de Schwarz.

Este acentuado declínio na acidez observado de forma drástica no grupo Crônica corrobora a fisiopatologia clássica da mastite de longa duração. A redução dos graus Dornic neste grupo reflete a severa perda de integridade do epitélio mamário que resulta na diminuição da síntese de componentes ácidos naturais e no concomitante influxo de componentes sanguíneos alcalinizantes. Portanto mesmo que a estabilidade térmica ao álcool não tenha sido estatisticamente afetada nesta amostragem ($P > 0,05$) a baixa acidez confirma que o modelo GSU é eficaz em isolar animais com comprometimento funcional avançado da glândula. Neves et al. (2025) demonstraram que a estabilidade é regida pelo equilíbrio do cálcio iônico e pela repulsão eletrostática das micelas. Portanto os resultados sugerem que o perfil inflamatório crônico (alta CCS e baixa CCSD) promove um desequilíbrio iônico basal que embora possa não precipitar instabilidade imediata em todos os casos valida os modelos GSU como ferramentas potenciais para prever lotes de leite com maior susceptibilidade a problemas tecnológicos.

Essa dinâmica de integridade ganha suporte estatístico na análise fatorial (Tabela 10) na qual a estabilidade ao álcool (0,830) e a lactose (0,460) agruparam se no Fator 3 em oposição à acidez titulável. No entanto a inclusão da contagem celular de polimorfonucleares e linfócitos (CCPL) na estrutura fatorial revelou que o perfil celular atua como um modulador do equilíbrio de solutos vinculado ao status fisiológico do animal. No Fator 2 observou se uma forte associação entre a CCPL (0,699) o avanço da ordem de parto e os dias em lactação. Biologicamente esse resultado indica que a senescência da glândula mamária caracterizada pelo desgaste funcional ao longo das lactações promove uma alteração na proporção das células de defesa e no equilíbrio iônico. Este fenômeno contribui para a redução da acidez titulável e da lactose evidenciando que a qualidade físico-química do leite é influenciada pelo

envelhecimento fisiológico do tecido mamário e pelo perfil celular residual e não exclusivamente por processos inflamatórios agudos.

5.2 EFEITO DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE OS TEORES DE PROTEÍNA E GORDURA DO LEITE

Em contraste com as alterações evidentes observadas na lactose e no equilíbrio iônico, o comportamento dos sólidos totais apresentou nuances distintas conforme a ferramenta diagnóstica empregada. Nas abordagens fundamentadas na contagem celular eletrônica (DMSC e modelos GSU - Tabelas 3, 4 e 5), não foi observada diferença estatística significativa nos teores percentuais de gordura e proteína total, independentemente da categoria de saúde do úbere.

Este resultado, embora pareça contraintuitivo frente ao dano tecidual esperado, é frequentemente relatado na literatura e atribui-se ao efeito de concentração. A redução no volume de leite secretado, que acompanha a inflamação intramamária, ocorre simultaneamente à menor síntese de gordura e proteína, mantendo seus percentuais inalterados apesar da perda produtiva real de sólidos (BARBANO et al., 2006; DANIELI et al., 2025).

Uma exceção notável a esse padrão de estabilidade foi observada na avaliação pelo CMT (Tabela 2), onde o grupo Positivo apresentou redução significativa no teor de gordura ($P=0,0331$). Uma hipótese plausível para essa divergência reside no provável efeito de diluição decorrente dos distintos limiares de sensibilidade das ferramentas. Enquanto as categorias Mastítica e Crônica dos modelos eletrônicos englobam animais a partir de 200.000 células/mL, incluindo potencialmente uma parcela de inflamações leves a moderadas, a reação visual do CMT geralmente requer contagens celulares mais elevadas. Dessa forma, sugere-se que o grupo do CMT possa ter reunido predominantemente casos de maior severidade, favorecendo a detecção estatística da inibição da síntese de gordura, um efeito que pode ter sido atenuado nos modelos eletrônicos pela amplitude da faixa de contagem celular.

Já a ausência de efeito sobre a gordura nos modelos GSU, diferentemente dos achados de Stocco et al. (2020) que relataram redução linear com o aumento da CCSD, pode ser explicada pela interação com o volume produtivo. No presente estudo, o grupo Suscetível (modelo Bobbo), que apresentou a maior produção de leite (Tabela 4), também registrou

numericamente o menor teor de gordura. Esta relação inversa configura o clássico efeito de diluição (LOCK et al., 2025). É plausível inferir que, nesta amostragem, a alta capacidade produtiva das vacas no grupo Suscetível exacerbou a diluição, mascarando o impacto negativo direto da inflamação incipiente na lipogênese.

A comprovação matemática desse fenômeno de concentração foi estabelecida pelo Fator 1 da análise fatorial (Tabela 10), que explicou 31,24% da variância total. Observou-se uma forte associação positiva entre os teores percentuais de proteína (0,860) e gordura (0,770) em oposição direta à carga negativa do volume de leite produzido (-0,765). Biologicamente, esse resultado prova que a variação nos teores brutos de sólidos é regida primordialmente pelo balanço hídrico (diluição/concentração), o que mascara a redução na síntese real causada pela injúria inflamatória. Assim, a estrutura fatorial dos dados confirma que a estabilidade dos percentuais de gordura e proteína observada nas avaliações eletrônicas não deve ser interpretada como ausência de dano tecidual, mas como uma consequência do decréscimo volumétrico na produção.

Quanto à proteína, embora o teor total não tenha diferido estatisticamente em nenhum dos modelos, a literatura é robusta em demonstrar que a qualidade desta fração é comprometida pela mastite. Ocorre um prejuízo na síntese de caseína concomitante ao influxo de proteínas séricas de menor valor tecnológico (LI et al., 2014; URECH et al., 1999). Reforçando este ponto, Bisutti et al. (2022) associaram o aumento da CCSD à redução específica das frações de α -caseína e β -caseína. Embora o presente estudo não tenha detectado diferença estatística na caseína total, a estabilidade do teor proteico bruto não deve ser interpretada como ausência de dano, uma vez que o desequilíbrio entre caseínas e proteínas do soro impacta diretamente o rendimento industrial (MATTIELLO et al., 2018).

De forma análoga, a manutenção dos percentuais de gordura nos modelos GSU não exclui o impacto sobre a qualidade da fração lipídica. A resposta inflamatória sabidamente eleva a atividade de enzimas lipolíticas endógenas e bacterianas, intensificando a hidrólise de triglicerídeos e predispondo a defeitos sensoriais como o ranço (AZEVEDO et al., 2009; MA et al., 2000). Estes achados demonstram que avaliações baseadas unicamente nos teores brutos de macronutrientes são insuficientes para capturar a real dimensão das perdas qualitativas e tecnológicas impostas pela mastite subclínica.

5.3 INFLUÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE

A análise do perfil detalhado de ácidos graxos revelou um cenário de estabilidade para a maioria das abordagens diagnósticas, com uma exceção determinante. Enquanto os modelos CMT, DMSC e GSU-Schwarz não detectaram alterações significativas ($P > 0,05$), a classificação pelo modelo GSU-Bobbo (Tabela 9) evidenciou um efeito significativo sobre a fração de Ácidos Graxos Saturados (AGS) ($P = 0,0331$).

Neste modelo, o grupo Mastítica apresentou redução na concentração de AGS (2,48 g/100g) em comparação ao grupo Saudável (2,70 g/100g). Este achado estatístico sugere uma alteração qualitativa no perfil de saturação da gordura durante a fase aguda da inflamação. Embora a análise isolada por origem de síntese (*de novo*, misto e pré-formado) não tenha revelado diferenças estatísticas, a queda global nos saturados no grupo Mastítica indica um desequilíbrio na composição lipídica. Sabe-se que o processo inflamatório agudo desencadeia uma competição metabólica e estresse oxidativo, o que pode alterar a eficiência de incorporação ou a proporção entre frações saturadas e insaturadas, resultando no perfil observado, mesmo que não haja um bloqueio estatisticamente detectável em uma via de síntese isolada.

O fato de apenas o modelo GSU-Bobbo ter detectado essa diferença sugere que o ajuste dos limiares de CCSD pelo estágio de lactação (DEL), característica exclusiva deste método, pode ter isolado com maior precisão os animais em fase aguda real de infecção, onde o impacto metabólico é mais severo. Em contraste, a ausência de significância no modelo de Schwarz, que apresenta um limiar fixo, e na DMSC, uma abordagem temporal, pode indicar que, nessas classificações, a heterogeneidade intrínseca aos grupos, formados por animais em diferentes estágios inflamatórios ou de lactação, diluiu o efeito sobre o perfil lipídico.

Para as demais frações lipídicas (monoinsaturados, poli-insaturados) e para a classificação por origem de síntese, a ausência de diferenças estatísticas em todas as abordagens alinha-se à reconhecida complexidade do metabolismo lipídico em ruminantes. Conforme revisado por Lock *et al.* (2025), a variabilidade do perfil de ácidos graxos é fortemente modulada por fatores exógenos, como a composição da dieta basal e o nível de suplementação lipídica, os quais podem exercer uma influência preponderante capaz de mascarar os efeitos mais sutis da inflamação subclínica.

Portanto, os resultados deste estudo indicam que, embora a dieta seja o modulador primário do perfil lipídico, a mastite subclínica em sua fase aguda, diagnosticada refinadamente via CCSD ajustada, exerce um efeito específico sobre a concentração de ácidos graxos saturados, validando o conceito de que o desafio imunológico intenso é capaz de alterar a qualidade da fração lipídica.

Embora a proporção entre as frações de ácidos graxos tenha se mantido estável na maioria das comparações deste estudo, é fundamental discutir as implicações da alta celularidade sobre a estabilidade da gordura. Estudos recentes do grupo de Lourenço e Almeida (2024) reforçam que o perfil lipídico é um indicador sensível do metabolismo. No entanto, a alta contagem de neutrófilos (CCSD elevada) observada nos grupos mastíticos sugere um risco oculto, essas células liberam enzimas lipolíticas que aceleram a hidrólise dos triglicerídeos, gerando Ácidos Graxos Livres (AGL). Esse fenômeno é crítico, pois os AGL causam defeitos sensoriais (ranço) mesmo quando o perfil geral de saturação da gordura aparenta normalidade (Ma et al., 2000).

5.4 COMPARAÇÃO ENTRE AS ABORDAGENS DMSC E GSU NA AVALIAÇÃO DA SAÚDE DO ÚBERE

Uma das contribuições centrais deste estudo reside na comparação direta do impacto funcional das diferentes abordagens diagnósticas. A DMSC fundamentada na variação temporal da CCS e os modelos GSU que integram a CCS e a CCSD em uma análise transversal pontual constituem bases distintas para a avaliação da saúde mamária. Enquanto a DMSC oferece uma perspectiva epidemiológica da evolução do quadro clínico os modelos GSU proporcionam um panorama fisiológico instantâneo qualificando a natureza da resposta celular no exato momento da coleta.

A superioridade dos modelos GSU na detecção de nuances fisiológicas precoces foi um achado evidente. Conforme demonstrado por Lima 2025 nesta mesma população experimental uma proporção substancial de vacas entre 39% e 51% classificadas como sadias pela DMSC foram reclassificadas como Suscetíveis ou Suspeitas pelos modelos GSU. O presente estudo avança ao atribuir relevância funcional a essa distinção. Notadamente no modelo de Bobbo o grupo Suscetível não apenas se diferenciou pelo perfil celular mas isolou as vacas de maior

potencial produtivo conforme Tabela 4. Isso sugere que a elevação da CCSD mesmo com a CCS total abaixo do limiar de risco atua como uma sentinela para o estresse metabólico e inflamatório incipiente característico de animais de alta performance reforçando o valor preditivo desta categoria (SCHWARZ et al. 2021).

Adicionalmente a capacidade dos modelos GSU de discriminar os perfis Mastítica e Crônica com base na CCSD revelou consequências funcionais divergentes que permaneciam ocultas na análise tradicional. A abordagem DMSC ao reunir todas as vacas com CCS cronicamente elevada em uma única categoria não permite distinguir o estágio evolutivo ou a atividade da resposta inflamatória. Em contrapartida os modelos GSU estratificam esse grupo pelo tipo celular predominante. Os dados confirmaram que o perfil Mastítica caracterizado por alta CCS e alta CCSD associado à inflamação aguda e recrutamento neutrofilico correlacionou se intensamente com a depressão na síntese de lactose. Por outro lado o perfil Crônico indicativo de inflamação persistente mediada por macrófagos impactou de forma mais drástica o equilíbrio físico químico evidenciado pela acentuada redução na acidez titulável.

Dessa forma a incorporação da CCSD permite não apenas identificar a presença de inflamação mas também caracterizar o estágio da resposta imune e prever seu impacto específico na qualidade do leite a partir de uma única amostra. Ao agrupar perfis funcionais distintos sob o mesmo rótulo a DMSC carece dessa resolução fisiopatológica diluindo o verdadeiro impacto da mastite e mostrando se uma ferramenta menos informativa para a avaliação funcional da saúde do úbere em comparação à acuidade proporcionada pelos modelos GSU.

A superioridade dos modelos GSU no diagnóstico da saúde do úbere ganha robustez adicional ao ser interpretada sob a ótica da análise fatorial apresentada na Tabela 10. A estrutura fatorial permitiu distinguir a saúde imunitária interna da glândula do desgaste fisiológico do animal associado à idade. O Fator 2 agrupou a contagem celular de polimorfonucleares e linfócitos denominada CCPL com valor de 0,699 aos indicadores de senescência como os dias em lactação com 0,628 e a ordem de parto com 0,568. Essa associação sugere que vacas em estágios avançados de vida produtiva apresentam maior susceptibilidade a alterações na homeostase do úbere possivelmente devido à maior patência do canal do teto e à perda de eficiência das barreiras físicas conforme apontado por Cardozo et al. 2025. O fato de o perfil celular de defesa ter se mantido em um fator independente da integridade epitelial prova que a qualificação da resposta imune via CCPL oferece uma dimensão diagnóstica que a análise da

CCS total isoladamente não é capaz de estratificar. Conforme reforçado por Danieli et al. 2025 a qualidade final do leite é multidimensional e exige que o monitoramento da saúde do úbere considere as interações complexas entre o status imunológico da vaca e o desgaste funcional da glândula mamária.

5.5 CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DO GRUPO SUSCETÍVEL/SUSPEITA E SUA RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO LEITEIRA

A identificação de um subgrupo de vacas com CCS baixa (< 200.000 células/mL), porém com CCSD elevada denominado Suscetível no modelo de Bobbo *et al.* (2020) ou Suspeita no de Schwarz *et al.* (2020b) constitui um dos principais avanços diagnósticos proporcionados pela contagem diferencial. Neste estudo, um achado particularmente relevante foi observado na aplicação do modelo GSU-Bobbo, o grupo Suscetível apresentou a maior média de produção de leite, superando estatisticamente os grupos Mastítica e Saudável (Tabela 4). Este resultado suscita uma discussão aprofundada sobre a inter-relação entre desempenho produtivo, demanda metabólica e vigilância imunológica, sugerindo que este perfil celular isola animais em um estágio preliminar de desafio à homeostase da glândula.

A literatura sustenta que o perfil Suscetível reflete o início de um desafio infeccioso ou uma resposta imune de vigilância intensificada. Estudos com suporte microbiológico comprovam que a proporção de polimorfonucleares e, conseqüentemente, a CCSD se eleva na presença de patógenos antes que o volume total de células (CCS) ultrapasse os limiares de alarme. Fisiologicamente, a alta produção de leite impõe um estresse metabólico severo (balanço energético negativo) que pode aumentar a vulnerabilidade a infecções. A elevação isolada da CCSD seria, portanto, o reflexo da migração sentinela de neutrófilos em resposta a uma invasão bacteriana incipiente ou a um estresse tecidual, ocorrendo antes que o dano epitelial seja extenso o suficiente para elevar a CCS global.

O impacto produtivo deste estado inflamatório inicial é um ponto de divergência na literatura que merece análise. Em estudo de larga escala, Schwarz *et al.* (2020b) observaram que vacas com este perfil (CCS baixa/CCSD alta) apresentavam queda na produção em comparação às sadias, atribuindo o fato ao custo energético da resposta imune. O resultado contrastante do presente trabalho, onde o grupo Suscetível foi o mais produtivo, pode ser explicado pela especificidade metodológica do modelo GSU-Bobbo. É provável que o ajuste

dos limiares de CCSD pelos Dias em Lactação (DEL) tenha isolado um subgrupo de vacas de alto mérito genético no pico da lactação. Nestes animais, a capacidade de síntese láctea é tão elevada que, mesmo sob o custo energético de uma resposta imune inicial, sua produção absoluta mantém-se superior à média do rebanho.

Desta forma, a classificação Suscetível identifica um perfil de animal de alta performance produtiva associada à vulnerabilidade imunológica, vacas altamente produtivas, sob intenso desafio metabólico e no limiar de um desafio sanitário, com probabilidade elevada de progressão para mastite clínica ou subclínica clássica (alta CCS) caso não monitoradas. A detecção precoce deste grupo através da contagem diferencial possui valor estratégico inestimável, alinhando-se aos princípios de uma abordagem de Saúde Única e de medicina preventiva.

Essa constatação impõe uma mudança de paradigma, o grupo Suscetível não deve ser interpretado apenas como uma transição para a doença, mas como um marcador biológico da alta performance sob desafio. Fisiologicamente, vacas de elevada produção enfrentam um compromisso energético entre a síntese de leite e a vigilância imunológica. O aumento isolado da proporção de neutrófilos (CCSD), sem a elevação da CCS total, sinaliza que o sistema imune está em alerta máximo para proteger um úbere metabolicamente sobrecarregado. Portanto, a CCSD atua como uma ferramenta de precisão, identificando os animais de maior mérito genético que estão no limiar de sua capacidade fisiológica, exigindo suporte nutricional para evitar a perda da produtividade.

Como demonstrado por Zecconi *et al.* (2023), o uso de indicadores baseados na contagem diferencial no início da lactação amplia a acurácia diagnóstica para infecções intramamárias. Essa precisão viabiliza a aplicação de protocolos terapêuticos e de manejo mais racionais, com potencial para reduzir o uso profilático de antimicrobianos. Adicionalmente, a prevalência de animais nos diferentes grupos GSU serve como um termômetro da gestão da propriedade; rebanhos que conseguem manter vacas de alta produção sem que estas migrem do grupo Suscetível para o Mastítico demonstram excelência em medidas preventivas e conforto animal. Portanto, a análise da CCSD transcende o diagnóstico individual, consolidando-se como uma ferramenta de gestão para maximizar a sustentabilidade e a eficiência da produção leiteira.

5.6 IMPLICAÇÕES DOS DIFERENTES CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DOS MODELOS GSU NO DIAGNÓSTICO DA MASTITE

A comparação entre os modelos GSU propostos por Bobbo et al. (2020) e Schwarz et al. (2020b) revela que a escolha do critério de corte para a CCSD, seja ajustado por Dias em Lactação ou fixo, tem implicações diretas na interpretação dos resultados. O modelo de Bobbo, ao utilizar limiares que variam conforme o estágio da lactação, adota uma abordagem fisiologicamente ajustada. Essa estratégia considera as flutuações celulares naturais que ocorrem no início e final da lactação, o que pode explicar por que este modelo foi capaz de isolar, com clareza, o grupo Suscetível como um perfil caracterizado pela alta produção de leite, distinguindo o estresse metabólico da resposta inflamatória estabelecida.

Por outro lado, o modelo de Schwarz utiliza um limiar de CCSD fixo (65%), priorizando o rigor na detecção de desvios. O objetivo desta abordagem é identificar qualquer alteração na proporção celular, independentemente da fase produtiva. No presente estudo, essa característica do modelo Schwarz demonstrou robustez ao discriminar as consequências físico-químicas da inflamação, correlacionando-se fortemente com a perda de integridade da barreira funcional da glândula, evidenciada pela redução da acidez titulável no grupo Crônico.

Embora o presente estudo forneça importantes indicativos sobre o impacto funcional de diferentes métodos diagnósticos para a mastite subclínica, algumas limitações devem ser consideradas. O delineamento experimental, conduzido em duas propriedades comerciais com um número moderado de animais, pode limitar a generalização dos resultados para outros sistemas de produção com diferentes bases genéticas ou nutricionais. Além disso, a variabilidade na detecção de efeitos estatísticos entre as abordagens avaliadas, como observado no perfil de ácidos graxos, onde apenas o modelo GSU-Bobbo capturou alterações significativas na fração saturada, sugere que estudos futuros com maior poder estatístico e controle dietético rigoroso seriam necessários para validar a consistência dessas alterações metabólicas sutis. Ademais, embora a análise fatorial tenha explicado cerca de 62% da variância total dos dados, uma parcela da variabilidade ainda reside em fatores não mensurados neste estudo, como a natureza específica dos estímulos inflamatórios e o balanço energético individual detalhado.

6 CONCLUSÃO

A integração da Contagem Diferencial de Células Somáticas (CCSD) às ferramentas de diagnóstico, materializada nos modelos de Grupos de Saúde do Úbere (GSU), oferece uma resolução analítica superior às abordagens tradicionais baseadas apenas na CCS total (DMSC) ou em métodos semiquantitativos (CMT). Essa abordagem permitiu identificar nuances no desempenho, no perfil imunitário e na qualidade do leite que antes passavam despercebidas, sendo validada matematicamente pela análise multivariada.

A lactose consolida-se como o biomarcador mais sensível e precoce da saúde da glândula mamária. Sua redução consistente nos grupos com perfil inflamatório, independentemente do modelo diagnóstico, valida seu uso como indicador de disfunção da permeabilidade tecidual. A análise fatorial confirmou que essa integridade epitelial é severamente comprometida pelo avanço da ordem de parto, que se associou negativamente aos teores de lactose e à acidez titulável. Ademais, a estrutura fatorial revelou que a variável CCPL, correspondente à contagem celular de polimorfonucleares e linfócitos, constitui uma dimensão de qualidade independente, sendo influenciada pela senescência da glândula, o que reforça que vacas múltiparas apresentam um perfil de defesa celular diferenciado em resposta ao desgaste funcional do tecido mamário.

Em contrapartida, os teores percentuais de gordura e proteína total não diferiram estatisticamente nas abordagens eletrônicas. A estrutura fatorial dos dados comprovou que esse comportamento decorre de um efeito de concentração, no qual a redução no volume de leite produzido mascara a queda na síntese real de sólidos.

A principal contribuição deste trabalho foi demonstrar que as categorias Suscetível e Suspeita (CCS baixa e CCSD alta), identificadas exclusivamente pelos modelos GSU, já apresentam um perfil funcional distinto, marcado por maior produção e ativação imune inicial. Isso valida a CCSD como um indicador precoce de vulnerabilidade fisiológica, especialmente em animais de alto mérito genético no limiar de um desafio sanitário.

Por fim, a identificação dos distintos cenários inflamatórios permite mapear impactos específicos: enquanto o perfil Mastítico associa-se a perdas expressivas na síntese de lactose e redução de ácidos graxos saturados (modelo Bobbo), o perfil Crônico apresenta maior comprometimento do equilíbrio iônico e da acidez titulável. Portanto, a adoção da CCSD e do

monitoramento da CCPL não é apenas um refinamento numérico, mas uma estratégia fundamental para a compreensão das consequências fisiológicas da inflamação e do envelhecimento funcional. Conclui-se que o manejo de precisão deve considerar o perfil celular e o status fisiológico do animal, garantindo que a alta performance produtiva seja acompanhada pela preservação da integridade funcional e da longevidade da glândula mamária.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAN, A. *et al.* Flow cytometry: basic principles and applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 37, n. 2, p. 163-176, 2017.
- ALESSIO, D. R. M. *et al.* Análise multivariada do teor de lactose do leite de vacas Holandês e Jersey. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 4, suplemento 1, p. 2641-2652, 2016.
- ALESSIO, D. R. M. *et al.* Lactose and its relationship with other milk constituents, somatic cell count, and total bacterial count. **Livestock Science**, v. 252, p. 104675, 2021.
- ALHUSSIEN, M. N.; DANG, A. K. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: an overview. **Veterinary World**, v. 11, n. 5, p. 562-577, 2018.
- ALMEIDA, R. de *et al.* Suplementação de lipídios para vacas leiteiras. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; BARROS, L. A. (ed.). **Diagnóstico, tratamento e controle das doenças metabólicas e carenciais de vacas leiteiras**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2021. cap. 11, p. 136-146.
- ANTANAITIS, R. *et al.* Milk lactose as a biomarker of subclinical mastitis in dairy cows. **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1736, 2021.
- ARRUDA JUNIOR, L. C. *et al.* Variáveis relacionadas ao teor de extrato seco desengordurado em amostras de leite de tanques de resfriamento de estabelecimentos rurais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 40, n. 1, p. 203-216, 2019.
- AZEVEDO, F. D. *et al.* Lipoprotein lipase in bovine milk: relationship with lipid composition and partition of fatty acids between plasma and milk. **Journal of Dairy Research**, v. 76, n. 4, p. 439-445, 2009.
- BARBANO, D. M.; MA, Y.; SANTOS, M. V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 15–19, 2006.
- BATAVANI, R. A.; ASRI, S.; NAEBZADEH, H. The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 8, n. 3, p. 205-211, 2007.
- BAUMAN, D. E.; GRINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.

BISUTTI, V. *et al.* Impact of somatic cell count combined with differential somatic cell count on milk protein fractions in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 8, p. 6447-6459, 2022.

BOBBO, T.; PENASA, M.; CASSANDRO, M. Combining total and differential somatic cell count to better assess the association of udder health status with milk yield, composition and coagulation properties in cattle. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 697-703, 2020.

BRASIL. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 230, p. 10, 30 nov. 2018.

CARDOZO, L. L. *et al.* Relationship between hyperkeratosis, teat conformation traits, microbiological isolation, and somatic cell count in milk from dairy cows. **Dairy**, v. 6, n. 45, p. 1-14, 2025.

CARVALHO-SOMBRA, T. C. F. *et al.* Systemic inflammatory biomarkers and somatic cell count in dairy cows with subclinical mastitis. **Veterinary and Animal Science**, v. 11, p. 100165, 2021.

CHASE, C. C. L. *et al.* **A imunidade bovina**: uma abordagem prática da imunologia e da vacinologia. Espanha: Servet, 2022.

COBIRKA, M.; TANCIN, V.; SLÁMA, P. Epidemiology and classification of mastitis. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 2212, 2020.

CONSTABLE, P. D. *et al.* **Veterinary Medicine**: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 11. ed. St. Louis: Elsevier, 2017.

COSTA, A. *et al.* Invited review: milk lactose—current status and future challenges in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 7, p. 5883-5898, 2019.

DAMASCENO, Marcilene Daniel *et al.* Dinâmica e padrão de infecção dos casos de mastite subclínica e clínica em rebanho bovino mantido em Compost Barn, 2020 a 2022. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 26., 2022, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022. p. 44-48. (Documentos, 271).

DAMM, M. *et al.* Differential somatic cell count - A novel method for routine mastitis screening in the frame of dairy herd improvement testing programs. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4926-4940, 2017.

DANIELI, Beatriz *et al.* Cows with High SCC Exhibit Poorer Performance and Milk Quality, Regardless of the Season. **Dairy**, v. 6, n. 46, p. 1-12, 2025.

FISCHER, V. *et al.* Leite instável não ácido: um problema solucionável?. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 838-849, jul./set. 2012.

FONSECA, M. *et al.* Usefulness of differential somatic cell count for udder health monitoring: effect of intramammary infections, days in milk, quarter location, and parity on quarter-level differential somatic cell count and somatic cell score in apparently healthy dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 2024. In press. DOI: 10.3168/jds.2024-25401.

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

GONÇALVES, J. L. *et al.* Effect of bovine subclinical mastitis on milk production and economic performance of Brazilian dairy farms. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 60, p. e198857, 2023.

GROSSI, F. *et al.* Relationships between somatic cell count, differential somatic cell count, and milk composition in dairy cattle. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1779, 2020.

HAUSER, L. H. *et al.* **Manual de métodos e procedimentos para análises físico-químicas de leite e derivados**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2023. 114 p.

KANDEEL, S. *et al.* Evaluation of 3 esterase tests for the diagnosis of subclinical mastitis at dry-off and freshening in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1402-1416, 2019.

KUL, E. *et al.* The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. **Veterinarski Arhiv**, v. 89, n. 2, p. 143-154, 2019.

KVIDERA, S. K. *et al.* Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 2360-2374, 2017.

LANGONI, H. *et al.* Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, nov. 2017.

LI, N. *et al.* Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. **Dairy Science and Technology**, v. 94, n. 6, p. 517-538, 2014.

LIMA, E. S. de. **Diagnóstico da mastite subclínica em propriedades leiteiras: avaliação de diferentes abordagens à campo**. 2025. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2025.

LOCK, A. L. *et al.* Invited review: The role of fatty acids in dairy cow physiology and production. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 1, p. 1-32, 2025.

LOURENÇO, J. C. S. *et al.* 2-Hydroxy-4-(Methylthio)-Butanoate supplementation affects production, milk fatty acid profile, and blood metabolites of high-producing Holstein cows. **Dairy**, v. 5, n. 1, p. 66-82, 2024.

MA, Y. *et al.* Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 2, p. 264-274, 2000.

MATTIELLO, C. A. *et al.* Industrial yield, manufacturing efficiency and physical and chemical characteristics of colonial cheese produced from milk with two levels of somatic cells. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 6, p. 1916-1924, 2018.

MIDDLETON, J. R. *et al.* Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 3, p. 419-423, 2004.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL (SUL-LEITE), 2., 2002, Toledo. **Anais [...]**. Toledo, PR: [s. n.], 2002.

NEVES, T. F. F. *et al.* Milk stability: Physicochemical and performance parameters in highly technified Holstein and Jersey herds. **Food Science & Nutrition**, v. 13, p. e71095, 2025.

NIGUSSIE, H. Review on metabolic profiles of dairy cows and its relationship with fertility. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 14, n. 3, p. 77-87, 2018.

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

OIKONOMOU, G. *et al.* The farm-level metagenome of the bovine udder teat canal. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 3, p. 2574-2579, 2020.

OVIEDO-BOYSO, J. *et al.* Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **Journal of Infection**, v. 54, n. 4, p. 399-409, abr. 2007.

PAAPE, M. J. *et al.* Leukocytes-second line of defense against invading mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 135-153, 1979.

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

PEGOLO, S. *et al.* Associations between subclinical intramammary infection and milk fatty acid profile at the quarter level in Holstein cattle. **Animal**, v. 17, n. 10, p. 100978, 2023.

PELVAN, E.; ÜNLÜTÜRK, A. Manual microscopic and flow cytometric differential somatic cell counts in raw milk. **Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University**, v. 21, n. 2, p. 181-186, 2015.

PEREIRA, Marianna de Paula Martins *et al.* Mastite em vacas leiteiras: uma abordagem narrativa sobre controle, tratamento e boas práticas de manejo. **Revista DELOS**, Curitiba, v. 17, n. 59, p. 01-23, 2024.

PETROVSKI, K. R.; TRAJCEV, M.; BUNESKI, G. A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 77, n. 2, p. 52-60, 2006.

RUEGG, P. L.; REINEMANN, D. J. Milk quality and mastitis tests. **Bovine Practitioner**, v. 36, n. 1, p. 41-54, 2002.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 3. ed. Pirassununga: Fernando Oliveira, 2019.

SARGEANT, J. M. *et al.* Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 9, p. 2018-2024, 2001.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 130, p. 199-204, 1957.

SCHEID, Angélica Letícia. **Variáveis que afetam a estabilidade ao teste do álcool e acidez titulável: uma abordagem multivariada**. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2024.

SCHUKKEN, Y. H. *et al.* Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 579-596, 2003.

SCHUKKEN, Y. H.; KREMER, D. J. Monitoring udder health: objectives, material and methods. *In: Herd health and production management in dairy practice*. Wageningen: Wageningen Pers, 1996. p. 546-557.

SCHWARZ, D. *et al.* Associations between different udder health groups defined based on a combination of total and differential somatic cell count and the future udder health status of dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 192, p. 105374, 2021.

SCHWARZ, D. *et al.* Evaluation of the new differential somatic cell count parameter as a rapid and inexpensive supplementary tool for udder health management through regular milk recording. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 181, p. 105079, 2020a.

SCHWARZ, D. *et al.* Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 5033-5044, out. 2011.

SCHWARZ, D. *et al.* Investigation of dairy cow performance in different udder health groups defined based on a combination of somatic cell count and differential somatic cell count. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 183, p. 105123, 2020b.

SCHWARZ, D. *et al.* Usefulness of the total and differential somatic cell count based udder health group concept for evaluating herd management practices and udder health in dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 218, p. 105977, 2023.

SHARMA, N.; SINGH, N. K.; BHADWAL, M. S. Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 24, p. 429-438, 2011.

SHIM, E. H.; SHANKS, R. D.; MORIN, D. E. Milk loss and treatment costs associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 8, p. 2702-2708, 2004.

SILVA, L. H. B.; PRIMIERI, C. Mastite bovina: revisão bibliográfica. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 3, n. 2, p. 142-151, 2020.

SOUZA, G. N. *et al.* Diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows using somatic cell count. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 143-149, 2011.

SORDILLO, L. M. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4967-4982, 2016.

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

STOCCO, G. *et al.* Differential somatic cell count as a novel indicator of milk quality in dairy cows. **Animals**, v. 10, n. 5, p. 883, 1 maio 2020.

TYRRELL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the energy value of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, v. 48, n. 9, p. 1215-1223, 1965.

URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHÄLLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2402-2411, 1999.

VIDAL, A. M. C.; NETTO, A. S. (Org.). **Obtenção e processamento do leite e derivados**. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, 2018. 220 p.

WALL, S. K. *et al.* Differential somatic cell count in milk before, during, and after lipopolysaccharide-and lipoteichoic-acid-induced mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 5362-5373, 2018.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. 2. ed. [S. l.]: Taylor & Francis Group, 2006.

WELLNITZ, O.; BRUCKMAIER, R. M. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. **The Veterinary Journal**, v. 192, n. 2, p. 148-152, 2012.

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: Causes and control. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 13 Suppl, p. 57-65, 2008.

ZECCONI, A. *et al.* Factors Affecting the Patterns of Total Amount and Proportions of Leukocytes in Bovine Milk. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 992, 2020.

ZECCONI, A. *et al.* Early Milk Total and Differential Cell Counts as a Diagnostic Tool to Improve Antimicrobial Therapy Protocols. **Animals**, v. 13, n. 7, p. 1143, 2023.

ZECCONI, A. *et al.* Assessment of subclinical mastitis diagnostic accuracy by differential cell count in individual cow milk. **Italian Journal of Animal Science**, v. 18, n. 1, p. 460-465, 2019.

ZECCONI, A.; CALVINHO, L. F. Patogenia e resposta imune da glândula mamária. *In*: ESPINOSA, I. (ed.). **A qualidade do leite**. Piracicaba: FEALQ, 2003. p. 211-236.

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins, que a acadêmica **HELEN CAROLINE GARCIA DAMASCENO**, realizou todas as correções solicitadas pela banca de avaliação da DISSERTAÇÃO intitulada “**RELAÇÃO DAS DIFERENTES ABORDAGENS DIAGNÓSTICAS DA MASTITE SUBCLÍNICA COM A COMPOSIÇÃO E ATRIBUTOS FÍSICOS DO LEITE**” e que estas correções foram incluídas na versão final da referida DISSERTAÇÃO.

É o que nos cumpre declarar.

Lages, 26 de janeiro de 2026.

Documento assinado digitalmente
 **ANDRÉ THALER NETO**
Data: 26/01/2026 14:54:27-0300
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Prof. André Thaler Neto

ORIENTADOR