

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE ZOOTECNIA**

RAPHAELLA DUARTE GIMNECKI

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS DO LEITE BOVINO UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS**

Porto Alegre

2024

RAPHAELLA DUARTE GIMNECKI

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS DO LEITE BOVINO UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do grau de Zootecnista, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof^a. Dra. Vivian Fischer

Coorientador: Dr. Alexandre Süsenbach de Abreu

Porto Alegre

2024

RAPHAELLA DUARTE GIMNECKI

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS DO LEITE BOVINO UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do grau de
Zootecnista, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Data de aprovação: 07/02/2024.

Prof^a. Dra. Vivian Fischer – Orientador

Méd. Vet. Dr. Alexandre Süsenbach de Abreu – Coorientador

Prof. Dr. André Cabrera Dalto – Membro da Banca

Méd. Vet. Dra. Maíra Balbinotti Zanela – Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

Dedico esse trabalho de conclusão de curso ao meu pai, que em 2018 abandonou sua vida totalmente estruturada no interior para se mudar para Porto Alegre e dar a mim e ao meu irmão oportunidade de fazer ensino superior. À minha mãe que mesmo a distância me acolheu nos meus momentos de fragilidade e vibrou com todas as minhas pequenas conquistas. Ao meu irmão que acompanhou de perto essa trajetória e foi muitas vezes meu porto seguro. À minha irmã, minha tia, meu tio e minha madrinha que me deram suporte, saibam que as orações de vocês me mantiveram forte ao longo dessa jornada.

Aos meus mestres, prof.^a Vivian Fischer, prof.^a Andrea Ribeiro, prof. Paulo Carvalho, prof. Henrique Poli e prof. Fernando Lobato saibam que vocês não formam apenas zootecnistas, formam também pessoas. Embora simples palavras aqui não mensurem a tamanha gratidão que tenho a vocês, saibam que muito possivelmente se não tivessem cruzado o meu caminho eu não teria concluído a graduação. Sou grata aos momentos que foram suporte a mim, me recebendo em suas salas e sendo ombros amigos aos meus desabafos.

A Suzana, minha fiel escudeira ao longo desses cinco anos, saiba que a tua luz me contagiou também. Não preciso descrever tudo que passamos juntas, mas tenho certeza de que seguiremos comemorando as vitórias que cada uma de nós terá no futuro, essa é a conclusão de apenas uma etapa de uma linda caminhada que trilhamos.

A todas as pessoas que me ajudaram de alguma maneira a chegar até aqui, meu muito obrigada. Que Deus mantenha a luz em suas vidas e que todo o bem que fizeram à mim, chegue em dobro até vocês!

RESUMO

Independentemente do sistema de produção adotado, é imperativo garantir a qualidade do leite. Para tanto, a avaliação da composição centesimal e a contagem de células somáticas são realizadas mensalmente por laboratórios de referência, devidamente credenciados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e à Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite (RBQL). No âmbito da produção, é crucial contar com respostas rápidas para respaldar as decisões internas na fazenda. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a acurácia e a variabilidade de análises qualitativas, como o Califórnia Mastite Teste, quantitativas diretas, utilizando o método de referência, e indiretas, através da espectroscopia por bioimpedância elétrica (EBE), para a determinação da composição centesimal e contagem de células somáticas no leite bovino. A coleta de amostras foi realizada em duas propriedades leiteiras em Braço do Norte (SC), equipadas com copos coletores de ordenha. Após as análises, os dados foram compilados e submetidos a análise de correlação linear simples para avaliar a associação entre os métodos, além de uma análise de regressão linear para verificar como os constituintes do leite são influenciados pelo aumento da CCS. Os resultados da análise de correlação entre os métodos foram inferiores aos encontrados na literatura, para CCS $r = -0,0174$, para gordura $0,2508$, para proteína $0,1312$, para lactose $0,3081$, para sólidos totais $0,2499$ e para nitrogênio ureico do leite $-0,1199$, indicando baixa associação entre os métodos. Os teores de gordura e proteína aumentaram com o incremento de Log_{10} de CCS, enquanto os teores de lactose e a produção de leite reduziram – no presente estudo cada vaca deixou de produzir $3,38 \text{ L/dia}$ com o incremento de CCS. O uso da bioimpedância com a atual calibração não é recomendado para determinação de CCS e composição centesimal do leite cru bovino.

Palavras-chave: Citometria de fluxo. Espectroscopia por bioimpedância elétrica. Leite cru

ABSTRACT

Regardless of the adopted production system, ensuring the quality of milk is imperative. Therefore, monthly evaluations of the centesimal composition and somatic cell count are conducted by accredited laboratories affiliated with the Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply (MAPA) and the Brazilian Milk Quality Control Network (RBQL). In the production context, it is crucial to have swift responses to support internal farm decisions. In this context, this study aimed to assess the accuracy and variability of qualitative analyses, such as the California Mastitis Test, direct quantitative methods using the reference method, and indirect methods using electrical bioimpedance spectroscopy (EBE) for determining the centesimal composition and somatic cell count in bovine milk. Sample collection took place on two dairy farms in Braço do Norte (SC), equipped with milking collection cups. After analysis, the data were compiled and subjected to simple linear correlation analysis to assess the association between the methods, along with linear regression analysis to investigate how milk constituents are influenced by increasing somatic cell count (SCC). The correlation analysis results between the methods were lower than those found in the literature, with SCC at $r = -0.0174$, fat at 0.2508, protein at 0.1312, lactose at 0.3081, total solids at 0.2499, and milk urea nitrogen at -0.1199, indicating a low association between the methods. Fat and protein levels increased with the Log₁₀ increase in SCC, while lactose levels and milk production decreased – in this study, each cow ceased to produce 3.38 L/day with the SCC increase. The use of bioimpedance with the current calibration is not recommended for determining SCC and the centesimal composition of raw bovine milk.

Keywords: Flow cytometry. Electrical bioimpedance spectroscopy. Raw milk.

LISTA DE TABELAS

1. Distribuição das raças das amostras de leite coletadas.....	21
2. Distribuição dos animais conforme a respectiva produção de leite.....	21
3. Distribuição da ordem de parto das vacas utilizadas no presente estudo.	22
4. Distribuição do DEL dos animais utilizados no estudo.....	22
5. Nível de CCS dos animais amostrados no estudo.	23
6. Distribuição dos scores de CMT nas amostras de leite.	24
7. Correlação entre as análises de CCS e CMT.....	25
8. Apresentação do r e P-value de todas as variáveis analisadas.....	25
9. Distribuição dos teores de sólidos totais, gordura, proteína, lactose e NUL.....	27
10. Resultados da análise de regressão linear simples do efeito da CCS (transformada por log10) sobre a produção de leite e as concentrações dos componentes lácteos avaliados segundo o método de referência.	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Produção nacional de leite	10
2.2 Legislações que regem a produção de leite no Brasil	10
2.3 Células somáticas no leite	11
2.4 Mastite em bovinos leiteiros	12
2.5 Relação equipamento de ordenha e a vaca leiteira.....	15
2.6 Métodos para identificação de mastite	15
2.6.1 Métodos qualitativos	15
2.6.2 Métodos quantitativos	16
2.7 Métodos oficiais da Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite (RBQL)	16
2.8 Métodos alternativos não oficiais para análise do leite	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Coleta de amostras	18
3.2 Análises quantitativas diretas e indiretas e qualitativa indireta da CCS e composição centesimal do leite.....	19
3.3 Análise estatística.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Análises descritivas.....	20
4.1.1 Estratificação das amostras utilizadas	20
4.2 Análises realizadas pelo LAB-REF e EBE e suas correlações.....	22
5 CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2023, o Brasil consolidou sua posição como o terceiro maior produtor global de leite, alcançando uma produção anual superior a 34 bilhões de litros, conforme dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Esse cenário é liderado por estados como Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Goiás, que juntos representam aproximadamente 70% da produção nacional (Hott, Andrade e De Magalhães Junior, 2023).

Apesar da expressividade na produção, a qualidade do leite torna-se uma questão crucial, dado sua natureza perecível. Nesse contexto, o país implementou Instruções Normativas (IN) para regular e padronizar a produção leiteira. A IN 76 define os regulamentos técnicos de identidade e as características de qualidade do leite cru refrigerado, pasteurizado e do leite pasteurizado tipo A, enquanto a IN 77 estabelece critérios para garantir a segurança do consumidor, abrangendo desde a gestão da propriedade rural até o controle sanitário para mastite, brucelose e tuberculose. Complementando, a IN 78 define como devem ser coletadas as amostras mensais de qualidade do leite.

Para assegurar a conformidade com a legislação, torna-se obrigatória a análise mensal da qualidade do leite, com amostras coletadas do tanque de expansão da propriedade. Essa análise, realizada em laboratórios credenciados pelo MAPA e pela Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite (RBQL), abrange parâmetros essenciais como teor de gordura, proteína, sólidos totais, nitrogênio ureico, Contagem Padrão em Placas (CPP) e Contagem de Células Somáticas (CCS), com limites máximos estabelecidos em 500.000 células/ml para CCS e 300.000 UFC/ml para CPP.

A preocupação com a elevada CCS no Brasil persiste, evidenciada pelo aumento médio nacional de 381.730 células/ml em 2013 para 451.360 células/ml em 2021, indicando desafios contínuos na melhoria da qualidade do leite (MAPA, SINDILEITE, 2022).

No âmbito do diagnóstico rápido de mastite a nível de fazenda, desenvolveram-se métodos como o California Mastite Teste (CMT) e o Wisconsin Mastite Teste (WMT) na década de 1950, proporcionando detecção rápida e econômica, embora desafios como falsos-positivos tenham sido identificados. A evolução desses métodos, conforme destacado por Huang e Kusaba (2022), ainda enfrenta variações nos resultados ao longo da progressão da mastite.

Diante desse contexto, a presente pesquisa explora métodos quantitativos indiretos para estimativa da CCS, como a espectroscopia por bioimpedância elétrica (EBE). Onde a nível de propriedade rural e assistência técnica está pode ser uma ferramenta a ser utilizada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção nacional de leite

Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 2023 (BRASIL, [2023?]), o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, contando com mais de 34 bilhões de litros anualmente, sendo que a atividade leiteira está presente em 98% dos municípios do país e é predominantemente formada por pequenos e médios produtores, gerando em torno de 4 milhões de empregos. Segundo Hott, Andrade e De Magalhães Junior (2023), os estados com maior produção de leite no ano de 2021 em ordem de importância são Minas Gerais (MG) com 27,22% da produção nacional, Paraná (PR) com 12,51%, Rio Grande do Sul (RS) com 12,42%, Santa Catarina (SC) com 8,96% e Goiás (GO) com 8,84%. Estes cinco estados juntos representam 69,95% da produção nacional de leite.

Entretanto, no Brasil, há uma amplitude de sistemas de produção de bovinos e quando diz respeito à pecuária leiteira os níveis tecnológicos entre os produtores têm grandes amplitudes, segundo uma pesquisa feita pelo Milkpoint (2012), a maioria dos produtores, 44,6%, utiliza o sistema de pastejo para a criação de seus animais, enquanto semiconfinado representa considerável participação sendo 39,2% dos produtores, logo, apenas 16,3% são animais totalmente confinados.

Apesar desta variação de tecnologias entre os produtores, o leite é um alimento completo, mas extremamente perecível. Sendo assim, a fim de regulamentar e padronizar a produção de leite no país foi lançada uma série de Instruções Normativas (IN) dentre as quais podemos citar IN 51/2002, IN 62/2011, IN 07/2016 e IN 31/2018 estas estabelecem a identidade e qualidade do leite cru refrigerado, do pasteurizado e do tipo A. Entretanto, em 2018, o MAPA publicou novas IN que definem os novos padrões para o leite comercializado no país, portanto, atualmente as IN 76 e 77 regem a produção de leite no Brasil.

2.2 Legislações que regem a produção de leite no Brasil

A IN 76 descreve as características e a qualidade do produto na indústria e lista quais as análises devem ser realizadas no leite, principalmente em laticínios. A IN 77 define os critérios para garantir as boas práticas de produção, sendo que estas vão desde a gestão da propriedade rural, instalações, equipamentos, treinamento e capacitação dos colaboradores e controle

sanitário para monitoramento de mastite, brucelose e tuberculose. Por último, a IN 78 estabelece critérios a serem seguidos nas provas de produção.

Contudo, a alta CCS ainda é motivo de preocupação no Brasil, visto que segundo dados do MAPA (SINDILEITE, 2022) a média geométrica nacional de 2013 foi de 381.730 células/ml enquanto em 2021 subiu para 451.360 células/ml, isso significa que não estamos avançando com o passar do tempo na melhoria da qualidade do leite.

2.3 Células somáticas no leite

As células somáticas no leite possuem origem epitelial, correspondem de 2% a 25%, e de defesa, que são em torno de 75% a 98% em casos de mastite. As epiteliais são do próprio úbere que descama naturalmente ao longo da lactação do animal, enquanto as de defesa são basicamente leucócitos, estes migram para o úbere quando há alguma agressão, como em casos de mastite (VIANA et al., 2010). A contagem de células somáticas (CCS) é uma medida um tanto quanto abrangente e não faz diferenciação entre as células, visto que dentre as células possíveis, podemos citar linfócitos, macrófagos e polimorfonucleados (PMN) como os neutrófilos, sendo que cada um desses desempenha um papel diferente dentro da glândula mamária.

Os linfócitos regulam a indução e supressão das respostas imunes; os macrófagos são células fagocíticas ativas e capazes de ingerir bactérias, restos celulares e componentes acumulados no leite (SORDILLO, SHAFER-WEAVER e DEROSA, 1997). Portanto, reconhecem patógenos e invasores e dão início a uma resposta imune e assim recrutam rapidamente os PMN para a glândula mamária, sendo a principal tarefa destes a defesa contra bactérias invasoras no início de um processo inflamatório agudo. Logo, conclui-se que o perfil celular difere entre o leite normal e mastítico. As proporções de PMN podem chegar a 95% no leite de vacas com mastite, e, quando não há infecções e a CCS é baixa, a população de macrófagos e linfócitos é predominante (PILLA et al., 2012).

Portanto, a CCS não apenas impacta na qualidade do leite, mas também na eficiência da produção, visto que ocorrem perdas de produção de leite, as quais podem chegar a 1,0 a 2,5 kg de leite/dia durante as duas primeiras semanas de infecção, e a perda total em kg de leite pode chegar de 110 a 552 kg durante toda a lactação (RAJALA-SCHULTZ et al., 1999). Na indústria podem ocorrer alterações na atividade enzimática no leite e no tempo de coagulação, dificultando e alterando o rendimento e a qualidade dos derivados lácteos, pois a alta CCS pode

influenciar a composição centesimal do leite (MONTANHINI, MORAES e MONTANHINI NETO, 2013).

Dentre as principais alterações estão a correlação positiva da CCS com gordura, ou seja, quanto maior a CCS maior o teor de gordura, isso se deve ao fato de que muitas vezes animais com mastite tendem a ter sua produção de leite reduzida gerando a concentração deste componente (MONTANHINI, MORAES e MONTANHINI NETO, 2013).

Entretanto, os valores de lactose e caseína foram reduzidos conforme houve o aumento de CCS. No caso da lactose, se explica pela perda deste componente da glândula mamária para o sangue, devido aos seguintes fatores a) rupturas nas “*tight junctions*” ou junções firmes, as quais alteram a permeabilidade da membrana basal das células que separam o sangue do leite, b) utilização da lactose pelos microrganismos como substrato, c) danos as células secretoras devido à inflamação e infecção. Quanto à caseína, ocorre a diminuição da produção devido aos danos causados às células sintetizadoras.

Para as proteínas, o valor total não se altera, visto que as proteínas do soro sanguíneo entram para a glândula mamária, entretanto, ocorre a redução de caseína. Além disso, ocorre aumento da concentração de cloretos e sódio, reduzindo os teores de cálcio e potássio. Acredita-se que o aumento percentual da gordura no leite mascare os efeitos da diminuição dos outros componentes como proteína e lactose, entretanto, em processos industriais a diminuição de sólidos totais gera perdas a indústria (LIMA et al., 2016).

2.4 Mastite em bovinos leiteiros

No início das pesquisas relacionadas ao tema, Murphy (1947) definiu um processo de três fases para o desenvolvimento de uma mastite. Em primeiro lugar ocorre a invasão de um organismo com ou sem estabelecimento de inflamação; no segundo momento ocorre a infecção, ou seja, o estabelecimento do microrganismo na glândula mamária, e em terceiro ocorre a inflamação.

Essa enfermidade se apresenta de duas maneiras, a clínica onde há manifestação de apatia, febre, queda na ingestão de matéria seca, presença de grumos no leite e/ou aspecto anormal e edemas no úbere dos animais. Já a subclínica, não ocorrem sintomas visuais, portanto é a mais complexa de ser identificada, mas gera perdas em qualidade nos produtos lácteos para a indústria, queda no volume de leite produzido pelo animal e pode gerar até mesmo impacto na reprodução, visto que afeta a fertilidade das vacas. Estudos mostram que a prevalência de

infecções subclínicas varia de 26% em rebanhos de alta produção a 46% em rebanho de baixa produção (RUEGG, 2003).

Segundo a revisão de Keane (2019), estudos apontam que, apesar da principal causa ser a invasão e colonização da glândula mamária por patógenos, pelo menos 27,3% das vacas acometidas por mastite tem cultura do leite negativa (OLIVEIRA, HULLAND e RUEGG, 2013). Da mesma forma, 25% dos casos de mastite clínica não apresentaram cultura ou patógenos significativos em seus resultados e 30% das vacas com mastite subclínica foram relatadas como negativas para cultura (OLIVEIRA, HULLAND 2013; RUEGG, 2003; OIKONOMOU et al., 2014). Os resultados negativos para cultura podem ser explicado por a) patógenos não identificados pelas placas de cultivo como algas ou fungos, b) mastite causada por dano físico, c) excreção de microrganismo baixa e por isso não houve crescimento.

Entretanto, estes estudos que relatam diversas porcentagens de cultura negativa em casos de mastite subclínica e clínica, avaliaram apenas por placas com crescimento exclusivo de bactérias, ou seja, há um gargalo, visto que há fungos e algas causadoras de mastite que não foram identificadas nos estudos supracitados. Sartori, Santos e Marin (2014) coletaram 428 amostras de leite nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, destas amostras em 55 foi possível identificar seis espécies de *Candida*, ou seja, 12,8% das amostras estavam contaminadas por agentes fúngicos.

Por isso, outros fatores têm influência nesta doença. Hu et al., (2022) demonstraram que vacas alimentadas com altos proporções de concentrados a longo prazo desenvolveram distúrbios digestivos, como a acidose ruminal subaguda (SARA), levando a uma resposta inflamatória na glândula mamária, com aumento dos níveis de CCS e amiloide sérico A (AAS), os quais são dois importantes indicadores de mastite. Vacas com SARA têm aumento de lipopolissacarídeos (LPS), os quais migram do rúmen para a glândula mamária por meio da corrente sanguínea, o que induz à inflamação e ativam a resposta imune inata. Esse distúrbio digestivo não afeta apenas a glândula mamária, mas todo o metabolismo do animal, visto que ocorrem alterações no histopatológicas nos tecidos intestinais, aumentando a permeabilidade do rúmen e da barreira intestinal e subsequentes danos ao fígado.

Outro fator que influencia a mastite é o ambiente. Segundo a revisão de Dahl e Mcfadden (2022), a variação no ambiente altera a CCS dentro de um rebanho. Variações sazonais de temperatura, umidade e até mesmo o fotoperíodo podem influenciar a carga microbiana e a exposição aos patógenos. Corroborando com o dado, Zeinhom et al. (2016, apud DAHL e MCFADDEN, 2022) avaliaram a CCS de um rebanho ao longo das estações em um ambiente subtropical sobre a produção e saúde da glândula mamária. A CCS aumentou

juntamente com o índice de temperatura e umidade, no entanto o aumento do binômio umidade-temperatura não é responsável exclusivamente por alteração de CCS, visto que a manutenção do ambiente da vaca é responsabilidade dos trabalhadores envolvidos na atividade. Caso o ambiente se mantenha controlado, ou seja, limpeza frequente das camas em caso de sistemas confinados, drenagem de piquetes em caso de sistemas a pasto, facilitará para que o escore de sujidade de úbere se mantenha adequado e assim, diminui-se o risco de que os patógenos entrem em contato com a glândula mamária, pois escores 1 e 2 apresentam baixo risco de ocorrência de mastite, enquanto escores mais altos como 3 e 4 estão relacionados com a ocorrência de mastite (MENDONÇA, 2008).

A mastite pode ser classificada em contagiosa ou ambiental (DA FONSECA et al., 2021). A contagiosa é causada por bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma* spp., as quais são transmitidas durante a ordenha, de vacas infectadas para vacas sadias pelas mãos do ordenhador, através de papel toalha ou panos utilizados para secagem dos tetos, além de o conjunto de teteiras ser reservatório destas bactérias. Já as ambientais, como o próprio nome já diz, são provenientes do ambiente onde as vacas ficam como a cama, solo, fezes e água contaminada. Há ainda mastites causadas por fungos, como *Candida* spp., que é contagiosa; por algas, como *Prototheca* spp., que é ambiental.

Entretanto, sabe-se que a fase da lactação favorece certos tipos de mastite. Por exemplo, a mastite clínica ambiental tem maior ocorrência no período de pós-parto devido ao fato de que o período de transição reduz a capacidade de resposta do sistema imune inato. Já a mastite subclínica de origem contagiosa tem maior risco quanto mais avançado for o estágio de lactação. E ainda, o número de partos está associado ao aumento da ocorrência de mastite clínica e subclínica, visto que os animais jovens possuem maior capacidade de resposta imune (DOS SANTOS e FONSECA, 2019).

A mastite contagiosa depende mais diretamente do momento da ordenha. Segundo a revisão de Ruegg (2017), a aplicação de um sistema de higiene completo, com utilização de *pré-dipping*, secagem dos tetos com papel toalha descartável, higienização das teteiras entre vacas e utilização de *pós-dipping*, reduziu em 44% a taxa de novas infecções.

No combate de mastite ambiental, as medidas profiláticas incluem alimentação pós ordenha, a higienização das instalações e drenagem das pastagens para assegurar que os animais cheguem na ordenha sem sujidades visíveis e logo, corredores de acesso bem drenados e piquetes com solo coberto por plantas em caso de sistemas pastoris, podem ser medidas uteis para diminuir a sujidade dos animais ao chegarem na ordenha. Já em confinamento, o manejo

das camas com cal e limpeza frequente das excretas são necessários para manter a higiene do úbere.

2.5 Relação equipamento de ordenha e a vaca leiteira

O sucesso da produção de leite depende de vários fatores como a nutrição, bem-estar animal, reprodução, gestão entre outros. Entretanto, a máquina de ordenha se torna o coração da fazenda, visto que as vacas entrarão em contato com o equipamento pelo menos duas vezes por dia durante 305 dias de lactação ou mais.

Como já citado anteriormente, as teteiras são reservatórios dos microrganismos durante a ordenha e, portanto, quando vacas infectadas são ordenhadas antes das vacas saudáveis pode haver contaminação. Além disso, o excesso ou baixo de vácuo pode aumentar as lesões no esfíncter das vacas, gerando hiperqueratose e prolapso de esfíncter, ambas são situações irreversíveis e alteraram a primeira barreira física de impedimento da entrada de patógenos na glândula mamária (DOS SANTOS e FONSECA, 2019).

Além disso, a manutenção preventiva do equipamento deve ser realizada de acordo com o número de ordenhas e quantidade de animais. Fissuras geradas nas borrachas fazem com que a limpeza tenha eficiência diminuída, pois essas pequenas fissuras se tornam reservatório de microrganismos patogênicos, além de gerar lesões nos tetos do animal (DOS SANTOS e FONSECA, 2019).

2.6 Métodos para identificação de mastite

2.6.1 Métodos qualitativos

Segundo a revisão de Ruegg (2017), foram surgindo naturalmente métodos para identificação da mastite. Em 1957, Schalm e Noorlander, desenvolveram o California Mastite Teste (CMT), e Postle (1964) desenvolveu o Wisconsin Mastite Teste (WMT), sendo ambos métodos rápidos e baratos para detectar e tomar decisões a respeito de mastite subclínica. Quando o reagente destes testes se mistura à amostra de leite, as membranas celulares de células presentes no leite serão lisadas, precipitando então o DNA e as proteínas, o que gera o aumento da viscosidade. Entretanto, podem ocorrer falsos-positivos para mastite nestas avaliações, visto que no estágio final de lactação pode ocorrer maior descamação de células epiteliais do úbere. Além disso, o resultado do teste pode variar conforme a evolução da mastite. Segundo Huang

e Kusaba (2022), amostras com o mesma CCS podem apresentar diferentes escores nos testes acima. Visto que a interpretação do teste está sujeita ao observador e, portanto, há variações de pessoa para pessoa, sendo assim, a subjetividade do teste é uma questão a ser considerada.

2.6.2 Métodos quantitativos

Segundo Ruegg (2017), junto aos primeiros estudos sobre mastite foram surgindo os métodos quantitativos de identificação CCS. Primeiramente, surgiu a contagem de leucócitos, entretanto, os limiares utilizados eram variáveis. Um estudo comparativo inicial mostrou que valores abaixo de 200.000 a 250.000 células/ml seriam razoáveis para considerar o leite normal (PROUTY, 1934, apud RUEGG, 2017, p. 10384). Porém no caso de elevada prevalência de infecções subclínicas se aceitou o valor de 500.000 células/ml combinado com CPP maior de 200.000 UFC/ml para definir mastite subclínica (PLASTRIDGE, 1958, apud RUEGG, 2017, p. 10384).

A partir dos anos 1960, a CCS foi incluída como parâmetro nas legislações que regulamentam a produção de leite. Nos Estados Unidos da América (EUA) o limite é de 750.000 células/ml, na União Europeia (UE) é de 400.000 células/ml e no Brasil (BR) 500.000 células/ml ambos se referem a tanques de expansão. Cabe salientar que a medida da UE acabou se tornando também parâmetro mundial para a exportação de lácteos. A partir destas definições legislativas, se tornou necessário identificar vacas com infecções subclínicas e assim dentro das rotinas de produção e manejo de vacas leiteiras, a CCS individual se tornou parte fundamental para controle da mastite, como se verifica no estado do Paraná.

2.7 Métodos oficiais da Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite (RBQL)

Com isso, os métodos de avaliação de CCS foram sendo cada vez mais pesquisados. O método oficial de determinação da CCS é a citometria de fluxo (IN 76/2018 MAPA), no qual as células e partículas passaram por coloração a partir de corantes como laranja acridina, brometo de etídeo ou iodeto de propídio. Mais recentemente, o Fossomatic 7DC além da CCS, mas também a contagem diferencial de células somáticas. Um estudo feito por STOCCO et al., (2020) avaliaram o uso do Fossomatic 7DC na contagem celular diferencial correlacionando a proporção de PMN e linfócitos e a relação com a composição centesimal do leite, demonstraram então que quando ocorre o aumento de PMN ocorre diminuição da gordura, enquanto quando há aumento de macrófagos e linfócitos ocorre diminuição da proteína e caseína.

Além da contagem de células somáticas por citometria de fluxo – método padrão, estudos recentes mostram que os diferentes tipos celulares influenciam e se correlacionam diretamente com as alterações encontradas nos componentes do leite. Linfócitos, macrófagos e PMN tem papéis diferentes na resposta imune. Linfócitos regulam a indução e supressão da resposta inflamatória; já os macrófagos são células capazes de fagocitar microrganismos invasores, restos celulares e componentes do leite; com o reconhecimento dos agentes invasores por parte dos macrófagos, estes iniciam a liberação de quimioatrativos para o recrutamento dos PMN, estes têm função de defesa no início do processo inflamatório agudo. Além disso, conforme há aumento de DEL das vacas, a população de macrófagos aumenta conjuntamente (PILLA et al., 2012; SHARMA, SINGH e BHADWAL, 2011; ZECONNI et al., 2018). Entretanto, deve-se ressaltar que estes estudos utilizaram técnicas diferentes de análises e por isto, os resultados foram diferentes.

2.8 Métodos alternativos não oficiais para análise do leite

Dentre os métodos quantitativos indiretos, podemos ainda citar a espectroscopia por bioimpedância elétrica (EBE). A passagem de corrente elétrica com múltiplas frequências de onda provoca diferentes excitações nos diferentes constituintes do material biológico analisado (LOPES et al., 2018). Sendo assim, é possível estimar a CCS e a interferência da composição do leite para parâmetros de gordura, proteína, lactose, extrato seco e extrato seco desengordurado. O leite com elevada CCS tem alteração na sua composição mineral, pois a mastite causa danos no tecido epitelial e como consequência ocorre modificação no sistema do transporte de íons, logo o cálcio e potássio tem suas concentrações diminuídas, ocorrendo o aumento de sódio e cloretos, o que gera aumento da salinidade e como consequência alterações na análise de bioimpedância elétrica por alteração na condutividade elétrica (SCHUMACHER et al., 2019; VEIGA e BERTEMES-FILHO 2012; MARTINS et al., 2017). Veiga e Bertemes-Filho (2012), ao analisarem a impedância elétrica em leites homogenizados integral, semi-desnatado e desnatado, encontram diferentes valores, mas observaram que, conforme ocorre a diminuição da gordura, há aumento na condutividade elétrica. Além disso, a caseína também tem influência, visto que os sais solúveis do leite, principalmente fosfato de cálcio, estão relacionados com as micelas de caseína na fase coloidal, portanto, quando passam para a fase solúvel podem alterar a condutividade elétrica do leite.

As correlações entre os métodos EBE e citometria de fluxo publicadas até o presente momento, como Schumacher et al., (2019) apresentaram para sólidos totais (ST) e sólidos

desengordurados $r = 0,45$ e $0,53$, respectivamente, com significância estatística ($p < 0,05$). Enquanto isso, Zuffo (2021) analisou 50 amostras de leite de vacas individuais e relatou coeficiente de correlação entre $0,40$ e $0,48$ para CCS entre os métodos. Já Breitenbach (2021) utilizou cinco versões do equipamento e analisou 1.194 amostras de leite onde a correlação de CCS entre citometria de fluxo *vs* bioimpedância elétrica ficou entre $r = 0,12$ a $0,34$ ($p < 0,01$). Este autor também avaliou a correlação entre a composição centesimal e encontrou correlações significativas ($p < 0,01$) para gordura, lactose sólidos totais, e sólidos não gordurosos em quatro das cinco versões do equipamento, sendo respectivamente de $0,17$ a $0,29$, $0,50$ a $0,55$, $0,40$ a $0,41$ e $0,25$ a $0,43$. Entretanto, a correlação para proteína $r = -0,01$ a $0,03$ não foi significativa ($p > 0,05$), e uma versão do equipamento não foi significativa para sólidos não gordurosos $0,00$.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de amostras

Duas propriedades leiteiras com sala de ordenha canalizada e copo coletor de amostras previamente instalado no sistema de ordenha foram selecionadas e o estudo foi aprovado previamente pelo proprietário. As amostras de leite de vacas individualizadas foram coletadas com o uso do copo coletor durante a ordenha da noite e da manhã nos dias 14 de dezembro de 2023 e 15 de dezembro de 2023, respectivamente para a Fazenda A e Fazenda B (descrição a seguir). Foram utilizados frascos de polipropileno de coleta próprios do LAB-REF.

Posteriormente as ordenhas, foram registrados os seguintes dados zootécnicos dos animais: raça (Holandesa, Jersey, cruzadas), volume de leite produzido por dia, paridade e dias em lactação (DEL), a fim de correlacionar com os resultados obtidos pelas análises no LAB-REF, EBE e CMT.

A Fazenda A está localizada no estado de Santa Catarina (SC) no município de Braço do Norte, com sala sistema espinha de peixe, ordenha mecanizada, canalizada com 14 conjuntos, ou seja, 14 animais são ordenhados ao mesmo tempo. O rebanho é constituído por em média 120 vacas da raça Holandesa em lactação. Os animais são totalmente confinados em galpão tipo *compost barn* e com ventilação cruzada, e a alimentação dos animais se dá por dieta totalmente misturada (TMR). Constituída por silagem de milho, farelo de soja, milho, núcleo mineral e feno de Tifton (*Cynodon dactylon*), fornecida duas vezes ao dia pela manhã e ao anoitecer.

A Fazenda B está localizada no estado SC no município de Braço do Norte, com sala de ordenha com sistema de transferidor com 4 conjuntos, sendo ordenhados 4 animais por vez, sistema lado a lado. O rebanho conta em média com 25 vacas da raça Jersey em lactação. O sistema de produção leiteira é pastoril com suplementação no cocho. A base forrageira consiste em capim estrela-africana (*Cynodon plectostachyus*) que em geral é adubado com esterco suíno devido à alta disponibilidade na região. O sistema de manejo de pastagens é em piquetes com cerca elétrica e a suplementação no cocho se dá por silagem de milho, produzida na propriedade, em média de 10 kg de matéria natural/animal/dia e ração comercial, sendo em torno de 5 kg/dia/animal. Esta suplementação ocorre após a ordenha.

As amostras de leite dos copos coletores foram retiradas da máquina de ordenha e foram homogeneizados, onde duas alíquotas foram retiradas, uma para o frasco com Bronopol e outra em frasco sem conservante. O mesmo procedimento foi realizado em ambas as fazendas.

Em relação ao manejo de ordenha, ambas as propriedades realizam *pré-dipping* a base de hipoclorito de sódio com formação de espuma, secagem com papel toalha e *pós-dipping* a base de ácido láctico. Nas duas propriedades não é feito o teste da caneca de fundo preto, na fazenda A o piso é emborrachado preto e na fazenda B é concreto, portanto, os três primeiros jatos são descartados no chão. Ambas as propriedades fazem a realização mensal de CMT e secagem das vacas com terapia da vaca seca com antibiótico intramamário, a fazenda A ainda utiliza selante na secagem e realiza ainda vacina autógena para mastite.

3.2 Análises quantitativas diretas e indiretas e qualitativa indireta da CCS e composição centesimal do leite

As amostras de leite usadas para análises no laboratório de referência, (LAB-REF) foram coletadas em frasco polipropileno apropriado de 50 ml com conservante Bronopol em forma de comprimido a 0,02% m/v e foram devidamente identificados para cada vaca. Estes foram mantidos em temperatura ambiente – pois a refrigeração é obrigatória apenas na coleta mensal de qualidade do leite de cada propriedade – e enviados via transportadora para o laboratório no dia 18 de dezembro de 2023.

Para as análises no EBE foi utilizado frasco polipropileno apropriado, mas sem conservante Bronopol, estas foram refrigeradas a 8°C em geladeira. As especificações do equipamento são as mesmas descritas por Zuffo (2021), o espectrômetro comercial é composto por sonda tetrapolar, conectados a um software. Os modelos de regressão utilizados pelo software do espectrômetro para estimar os constituintes do leite também foram avaliados nos

softwares Unscrambler (CAMO Analytics, Japão) e Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA), em que foram exploradas um total de 29 frequências (de 50265 a 6283185 rad.s-1), sendo duas em baixa frequência (0 a 314159 rad.s-1), 22 em média frequência (314 a 628318 rad.s-1) e cinco em alta frequência (628318 a 6283185 rad.s-1). A análise feita no dia posterior à coleta.

Foi realizado o teste de CMT de cada vaca no leite total, por ser um parâmetro qualitativo indireto para avaliação de CCS.

3.3 Análise estatística

Os dados foram tabulados usando planilha eletrônica Excel 2016. A análise estatística foi realizada com o programa SAS[®], porém, os *outliers* não foram removidos.

Primeiramente os dados foram ordenados e suas frequências relativa e absoluta conforme as diversas classes de valores foram calculadas usando o procedimento FREQ (SAS). Os valores originais da CCS foram transformados pela aplicação de \log_{10} , em função da sua distribuição não normal. Posteriormente foi realizada a análise de correlação linear simples entre os pares de valores de todas as variáveis das características do leite avaliadas segundo o laboratório de referência LAB-REF e o EBE. Finalmente, foi realizado análise de regressão linear simples, para verificar o efeito do aumento da CCS sobre a concentração dos componentes do leite – gordura, proteína, lactose sólidos totais e NUL. Nessas análises, usou-se a equação: $Y = a + bX$, sendo Y (variável dependente) as características do leite (concentração de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico), a o intercepto, b coeficiente angular, e X a variável independente \log_{10} CCS, o efeito raça não foi considerado na análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises descritivas

4.1.1 Estratificação das amostras utilizadas

Ao total, foi coletado o leite de 104 vacas leiteiras, dividido em três alíquotas de leite para as análises em laboratório referência (LAB-REF), método alternativo (EBE) e método qualitativo indireto (CMT). A distribuição racial é apresentada na tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição das racial das amostras de leite coletadas.

Amostras		
Raça	N	%
Holandês	80	76,92
Jersey	24	23,08

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

O maior número de animais foi da raça holandesa, com normalmente maior volume de produção entre as diversas raças (THALER NETO, RODRIGUES, CÓRDOVA, 2013). A classificação da produção de leite mostra que a maior parte das vacas produziu acima de 30 litros diários (tabela 2). Outros fatores além da raça podem influenciar a produção leiteira, como o nível de intensificação das fazendas. A Fazenda A já está em estágio profissional e com média de 32,13 L/vaca/dia, portanto, há nutricionista para balancear a dieta dos animais, o conforto térmico é garantido pela ventilação cruzada e ainda há veterinário disponível para garantir a sanidade dos animais em produção. Por outro lado, a Fazenda B está com média de 13,13 L/vaca/dia e ainda está se profissionalizando quanto a questões nutricionais, reprodutivas e sanitárias, até mesmo por uma questão financeira de não ter condições ainda de possuir nutricionista e veterinário – para a parte sanitária – à disposição.

Tabela 2 – Distribuição dos animais conforme a respectiva produção de leite.

Produção de Leite		
L/Dia	N	%
Até 20 L	29	28,43
De 20 a 30 L	24	23,53
Acima de 31 L	49	48,04
Total	102	100

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Fatores que podem influenciar a produção de leite é a ordem de parto, ou paridade e ainda o número de dias em lactação médio, pois vacas a partir do terceiro parto tem probabilidade de concepção à primeira inseminação reduzida em 26,5% em relação a primíparas (SOARES, REIS e DIAS, 2021). E isso impacta diretamente na produtividade e longevidade da vaca leiteira, além de que a dificuldade de prenhez em um rebanho tende a aumentar o DEL dos animais e conseqüentemente pode ter impacto na CCS do tanque de expansão. A descamação de células epiteliais aumenta ao final da lactação das vacas, portanto,

animais de maior DEL tendem a ter maiores níveis de CCS (BARBOSA et al., 2007). Deve-se lembrar, entretanto, que a reprodução é função de luxo e, portanto, é impactada pelo quadro de saúde geral da vaca leite, o balanço energético negativo (BEN) tem sido apontado como um dos principais motivos de infertilidade em vacas leiteiras, além de mastites clínicas e subclínica e sanidade no próprio sistema reprodutivos, com a ocorrência de endometrites (BEXIGA, 2019). No presente caso, a maior parte das vacas eram primíparas (tabela 3) e se encontravam entre 60 e 210 dias de lactação (tabela 4), estágio em que há mais propensão a mastite subclínica de origem contagiosa, enquanto a ocorrência de mastite clínica ambiental é maior durante o período pós-parto (DOS SANTOS e FONSECA, 2019).

Tabela 3 – Distribuição da ordem de parto das vacas utilizadas no presente estudo.

Paridade das Vacas		
Ordem de Parto	N	%
1	49	47,12
2	31	29,81
3	13	12,50
> 3	11	10,58
Total	104	100

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Tabela 4 – Distribuição do DEL dos animais utilizados no estudo.

Dias em Lactação		
Estágio	N	%
0 a 60 dias	15	14,42
61 a 210 dias	51	49,04
211 a 300 dias	21	20,19
Acima 300 dias	17	16,35
Total	104	100

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

4.2 Análises realizadas pelo LAB-REF e EBE e suas correlações

O nível de CCS foi estratificado (tabela 5), onde até 200.000 cél/ml são vacas saudáveis, > 200.000 a 500.000 cél/ml são animais que se estão com valor intermediário de CCS e necessitam de atenção e acima de 500.000 cél/ml são animais que estão com CCS alta e mastite subclínica

Tabela 5 – Nível de CCS dos animais amostrados no estudo.

CCS (LAB-REF) Classificação	CCS (LAB-REF)		CCS (EBE)		Coeficiente de correlação (r)	P-value
	N	%	N	%		
Até 200.000 cél/ml	34	32,69	9	8,65	-0,0174	0,8603
200.000 a 500.000 cél/ml	23	22,12	49	47,12		
> 500.000 cél/ml	47	45,19	46	44,23		
Total	104	100	104	100		

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Aproximadamente 44% dos animais possuem CCS (LAB-REF) maior que 500.000 cél/ml, o que pode vir a indicar que há muitos quartos infectados dentro dos rebanhos avaliados, segundo o NMC (1996), em torno de 16% para esse nível de CCS e como consequência em torno de 6% de perdas em produção de leite.

Como se pode observar, há diferença na distribuição dos dados avaliados pelo LAB-REF e pelo EBE, provavelmente em consequência do baixo coeficiente de correlação (r). Segundo os dados da fabricante do equipamento (EBE), ele já estaria calibrado para animais da raça Holandesa. Como 76,92% das amostras de leite utilizadas foram provenientes de animais da raça Holandesa, não se esperava que o valor de r fosse tão baixo. Os métodos de análise são distintos, o método oficial (LAB-REF) usa a citometria de fluxo, enquanto o método alternativo usa a bioimpedância elétrica (EBE).

No presente estudo, a correlação entre eles foi não significativa, provavelmente em função de problemas de calibração do equipamento, embora estudos prévios tenham relatado correlações baixas a médias. Zuffo (2021) relatou coeficiente de correlação entre 0,40 e 0,48 (n = 50, p<0,05) para valores de CCS avaliados segundo o método de referência e a bioimpedância elétrica. Breitenbach (2021) analisou 1.194 amostras de leite onde a correlação entre citometria de fluxo vs bioimpedância elétrica ficou entre r = 0,12 a 0,34 (p<0,01). O método de bioimpedância apresenta limitada confiabilidade em estimar os valores absolutos de CCS. Entretanto, o setor produtivo utiliza métodos para gerar alertas como a mensuração no equipamento de ordenha da condutividade elétrica do leite, cuja correlação foi de 0,4 (VILLAS-BOAS et al., 2017). Segundo esses autores, apesar da relação significativa entre CE e CCS, o primeiro analisado apenas no dia oficial do registro pode não ser um método confiável para o diagnóstico de mastite. Entretanto, a CE poderia ser utilizada como característica auxiliar na análise da resistência à mastite simultaneamente à contagem de células somáticas, pois, além da associação entre essas duas características, a medida da CE é um método barato, simples e rápido. A condutividade elétrica do leite tem sido utilizada para detectar os graus de mastite em

vacas leiteiras (KHATUN et al., 2017), mas a alta taxa de falsos positivos dificulta o fornecimento de resultados confiáveis e não pode ser usada para prever quantitativamente a CCS.

Considerando o teste de CMT, pouco mais de 50% das amostras não tiveram reação ao reagente, o que deveria indicar – segundo o grau e interpretação do CMT do fabricante – CCS de até 200.000 cél/ml (tabela 6). Porém, BARBOSA et al. (2002) realizaram um experimento onde estratificaram a CCS em até 500.000 cél/ml como negativo e traços, de 500.000 a 1.000.000 cél/ml em score 1 (+), de 1.000.000 a 5.000.000 cél/ml em score 2 (++) e acima de 5.000.000 em score 3 (+++), obtiveram então um coeficiente de correlação de 0,77, por isso, acredita-se que o nível de interpretação seja mais variável do que as recomendações do fabricante.

Entretanto, por se tratar de um teste qualitativo indireto e de interpretação subjetiva, não é preciso. Além disso, uma possível explicação é de que assim como a gordura, a secreção de leucócitos também varia durante a ordenha, sendo menor no início da ordenha (sem contar os primeiros jatos que estão no canal do teto) e maior no último leite retirado da glândula mamária (GONZÁLEZ, 2001).

Tabela 6 – Distribuição dos scores de CMT nas amostras de leite.

Califórnia Mastit Test		
Classificação	N	%
0	53	50,96
Traços (0,5)	27	25,96
1	13	12,5
2	10	9,62
3	1	0,96
Total	104	100

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Entretanto, foi encontrada uma correlação interessante entre o CMT e os valores de CCS (transformados por \log_{10}) realizada pelo LAB-REF, com um alto coeficiente de correlação. Enquanto a correlação entre o CMT e a análise de CCS feita no EBE foi baixa, dados apresentados na tabela 7. Portanto, isso confirma que o CMT tem uma alta proximidade com a análise de CCS pelo método referência.

Tabela 7 – Correlação entre as análises de CCS e CMT.

Correlação entre CCSL (LAB-REF), CCSE (EBE) e CMT		
CMT	CCSL	CCSE
r	0,7851	0,1510
P-value	<0,001	0,126

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Quanto à composição centesimal do leite, as correlações entre LAB-REF e EBE foram baixas a moderadas (tabela 8), e foram significativas para os teores de sólidos totais, gordura e proteína. Os teores de sólidos totais, gordura, proteína, lactose e NUL serão apresentados, respectivamente na tabela 9.

Tabela 8 – Apresentação do r e P-value de todas as variáveis analisadas.

Componente	r	P-value
CCS LAB REF	-0,01746	0,8603
CCS EBE		
CCS LAB REF - Trans	0,05991	0,5458
CCS EBE - Trans		
Gordura LAB REF	0,25089	0,0102
Gordura EBE		
Proteína LAB REF	0,1312	0,1843
Proteína EBE		
Lactose LAB REF	0,30812	0,0015
Lactose EBE		
Sólidos totais LAB REF	0,24994	0,0105
Sólidos totais EBE		
NUL LAB REF	-0,11992	0,2253
NUL EBE		

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Os métodos de análise dos componentes lácteos diferem, uma vez que o método de referência usa citometria de fluxo, para CCS, e para composição centesimal espectroscopia por infravermelho na região média, enquanto a EBE usa utiliza as características elétricas dos componentes para estimar seus percentuais, a qual é expressa em Ohms (VEIGA, 2013).

Breitenbach (2021) analisou 1.194 amostras de leite de vacas, identificando correlações significativas ($p < 0,01$) para gordura ($r = 0,17$ a $0,29$), lactose ($r = 0,50$ a $0,55$), sólidos totais (r

= 0,40 a 0,41), e sólidos não gordurosos 0,00 (não significativo) 0,25 a 0,43 sendo significativo. A correlação para proteína ($r = -0,01$ a $0,03$) não foi significativa ($p > 0,05$). Esses resultados confirmam achados anteriores de Schumacher et al., (2019) que encontraram correlações significantes para sólidos totais ($r = 0,45$) e sólidos não gordurosos ($r = 0,53$) ($p < 0,05$).

Concluimos que a correlação para a CCS não se aproximou do método de referência, mesmo após transformação, com melhora limitada. Os teores de gordura foram significativos e correlacionaram-se de maneira semelhante a Breitenbach (2021). Notavelmente, os teores de proteína apresentaram correlação superior a Breitenbach (2021), enquanto os níveis de lactose foram inferiores. Além disso, os sólidos totais mostraram-se inferiores aos resultados de Breitenbach (2021) e Schumacher et al. (2019).

Tabela 9 – Distribuição dos teores de sólidos totais, gordura, proteína, lactose e NUL.

Sólidos Totais (LAB-REF)			Sólidos Totais (EBE)		Coefficiente de correlação (r²)	P-value
Classificação	N	%	N	%		
< 11,3%	19	18,27	0	0	0,2499	0,0105
> 11,3 a 14,7%	74	71,15	103	99,04		
> 14,8%	11	10,58	1	0,96		
Total	104	100	104	100		
Gordura (LAB-REF)			Gordura (EBE)		Coefficiente de correlação (r²)	P-value
Classificação	N	%	N	%		
< 2,2%	9	8,65	0	0	0,2508	0,0102
> 2,2 a 6,5%	90	86,54	104	100		
> 6,5%	5	4,81	0	0		
Total	104	100	104	100		
Proteína (LAB-REF)			Proteína (EBE)		Coefficiente de correlação (r²)	P-value
Classificação	N	%	N	%		
< 2,5%	0	0	17	16,35	0,1312	0,1843
> 2,5 a 4,5%	103	99,04	80	76,92		
> 4,5%	1	0,96	7	6,73		
Total	104	100	104	100		
Lactose (LAB-REF)			Lactose (EBE)		Coefficiente de correlação (r²)	P-value
Classificação	N	%	N	%		
< 4,0%	7	6,73	0	0	0,3081	0,0015
> 4,0 a 5,5%	97	93,27	104	100		
> 5,5%	0	0	0	0		
Total	104	100	104	100		
NUL (LAB-REF)			NUL (EBE)		Coefficiente de correlação (r²)	P-value
Classificação	N	%	N	%		
< 6,0%	10	9,62	0	0	-0,1199	0,2253
6,0 a 25,0%	91	87,5	104	100		
> 25,0%	3	2,88	0	0		
Total	104	100	104	100		

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Os teores de sólidos totais estão dentro da normalidade. Para os teores de gordura, sabe-se que erros de amostragem das amostras podem gerar valores abaixo ou acima do normal – como por exemplo gordura < 2,2% e > 6,5% – em posteriores análises, no caso da gordura o efeito pode ser aumentado, visto que esse componente sai em maior concentração ao final da ordenha. Portanto, o copo coletor e a máquina de ordenha devem estar ajustados para que os erros diminuam, por este motivo, acredita-se que haja um erro na amostragem de algumas amostras. Deve-se também atentar-se ao fato de que a gordura é o componente de maior

variação no leite, sendo afetado pelo intervalo entre ordenhas, estado de saúde do animal e pelo estresse térmico, além da raça e estágio de lactação (CABRAL et al., 2016).

Os teores de proteína tiveram menor ocorrência de valores anormais – no caso das proteínas valores $< 2,5\%$ e $> 4,5\%$. Uma possível explicação para não ter ocorrido grandes alterações nos teores de proteína é de que em animais com mastite subclínica, ou seja, CCS > 200.000 cél/ml, tem maior entrada de proteínas do sangue para a glândula mamária, fazendo com que na análise não ocorra grandes prejuízos em questão numérica, entretanto, a caseína – componente de suma importância para o rendimento de queijos e produtos lácteos para indústria – tenha seu teor reduzido. Gerando assim, perdas no processamento dos produtos lácteos (LIMA et al., 2016). Ainda os teores de proteína, podem ser correlacionados com NUL, como a maior parte das amostras foi acima de 3% e, portanto, aparentemente houve aporte correto de proteína, talvez apenas um pequeno excesso, visto que a maior parte dos produtores mantém o nível de proteína no concentrado durante o ano todo, não fazendo diferenciação conforme mudam-se as estações do ano e conseqüentemente as pastagens. Além disso, é comum que os produtores não façam diferenciação na quantidade de concentrado da dieta para lotes de vacas de alta e baixa produção; outro fator é a composição de dietas com ingredientes muito proteicos, como por exemplo silagem de milho, pré-secado ou feno de aveia.

Quanto aos teores de lactose, em uma pesquisa conduzida em Santa Catarina durante o período estudado por Alessio et al. (2016), foi observado que os níveis de lactose foram inferiores no outono em comparação com a primavera. Os autores atribuíram essa descoberta às deficiências nutricionais resultantes da escassez de forragem no outono, que apresenta um déficit tanto qualitativo quanto quantitativo de forragens. Por outro lado, na primavera, há uma maior disponibilidade de pastagens de alta qualidade, especialmente de aveia (*Avena spp.*) e aveia (*Lolium multiflorum*). Portanto, a lactose também pode ser influenciada pela alimentação dos animais.

Os teores de nitrogênio ureico do leite (NUL) não foram significativamente correlacionados entre os métodos não tendo significância ($p>0,05$). Além disso, se constatou que aproximadamente 40% das amostras tiveram teores acima de 16%, o que pode indicar excesso de proteína total ou degradável ou deficiência de energia na dieta das vacas (GRANDE e DOS SANTOS, 2010). Entretanto, há divergências na literatura, visto que Peres (2001) relatou que níveis entre 10 e 18 mg/dL são normais. Portanto, sabe que animais de alta produção tendem a ter um NUL mais elevado, sendo assim, quase 50% dos animais amostrados são de maior produção (> 31 L/vaca/dia), o que corrobora com os dados encontrados na literatura.

Após as análises de correlação – devido à baixa confiabilidade entre os métodos – foi realizada a análise de regressão – somente com os dados do LAB-REF – para avaliar o efeito do incremento de $\text{Log}_{10}\text{CCS}$ na concentração dos componentes do leite (tabela 10).

Tabela 10 – Resultados da análise de regressão linear simples do efeito da CCS (transformada por log_{10}) sobre a produção de leite e as concentrações dos componentes lácteos avaliados segundo o método de referência.

Componente	a (Log_{10} CCS)	b (Intercepto)	R ²	Pr > F
Gordura LAB-REF	0,41296	1,63027	0,035	0,0597
Proteína LAB-REF	0,20732	2,31779	0,1058	0,0009
Lactose LAB-REF	-0,23028	5,72796	0,2156	<0,0001
Sólidos totais LAB-REF	0,42606	10,43684	0,0287	0,0888
NUL LAB-REF	-1,24423	21,3935	0,0169	0,1932
Produção de leite	-3,38474	46,70986	0,0378	0,0503

R² = coeficiente de determinação

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

A concentração de gordura teve tendência a aumentar com o incremento da $\text{Log}_{10}\text{CCS}$ (tabela 10), possivelmente porque animais com mastite subclínica diminuem a sua produção de leite e por isso ocorre a concentração deste componente.

Os teores de proteína aumentaram com o aumento de CCS. Normalmente os valores da proteína total não se alteram, mas estudos mostram que podem ocorrer pequenos aumentos (NORO et al., 2006), pois em animais com mastite, tem maior entrada de proteínas do sangue para a glândula mamária (PEREIRA et al., 1999). Entretanto, a caseína, componente de suma importância para o rendimento de queijos e produtos lácteos para indústria, normalmente tem seu teor reduzido, ocasionando assim, perdas no processamento dos produtos lácteos (LIMA et al., 2016).

Os teores de lactose se reduziram ($P < 0,05$) com o aumento de CCS, o que pode ser explicado por três principais causas: a) danos das células secretoras devido à inflamação e infecção; b) ruptura das “tight junctions” e alterações na permeabilidade da membrana basal das células mamárias que separa o sangue e o leite; c) ação dos patógenos da mastite, que

utilizam a lactose disponível como substrato, resultando na redução do percentual de lactose (COSTA et al., 2019). Além disso, Alessio et al. (2016) identificaram, por meio da análise fatorial, uma relação inversa entre os níveis de lactose e a Contagem de Células Somáticas (CCS), indicando que maiores CCS estão associadas a menores teores de lactose. Além disso, no mesmo contexto, a paridade foi correlacionada a uma CCS mais elevada e a menores teores de lactose.

Conforme o esperado, a produção de leite se reduziu ($P=0,05$) com o aumento da CCS. Ocorrem perdas de produção de leite, as quais podem chegar a 1,0 a 2,5 kg de leite/dia durante as duas primeiras semanas de infecção, e a perda total em kg de leite pode chegar de 110 a 552 kg durante toda a lactação (RAJALA-SCHULTZ et al., 1999). Nesse presente estudo, a cada unidade de Log_{10} de CCS, houve uma redução de 3,38 litros de leite.

Os teores de sólidos totais NUL não foram afetados ($P>0,05$) pelo aumento de CCS.

5 CONCLUSÃO

A espectroscopia por bioimpedância elétrica de leite com a atual calibração não pode ser utilizada para análise de CCS e composição centesimal devido à baixa associação com o método de referência, visto que os resultados errados podem levar ao descarte de vacas saudáveis ou a aceitação de leite com problemas e, portanto, gerando prejuízos e erros nas decisões gerenciais de uma propriedade. Os efeitos da alta CCS nos rebanhos leiteiros podem acarretar prejuízos econômicos devido aos altos custos com tratamentos medicamentosos, descarte de leite e alteração da composição e diminuição do volume de leite produzido por vaca, deve-se, portanto, manter as boas práticas agropecuárias na produção a fim de minimizar a ocorrência de mastite em propriedades leiteiras.

REFERÊNCIAS

- ALESSIO, D. R. M. et al. Multivariate analysis of lactose content in milk of Holstein and Jersey cows. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 2641-2652, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/308225730_Multivariate_analysis_of_lactose_content_in_milk_of_Holstein_and_Jersey_cows1. Acesso em: 10 jan/2024.
- BARBOSA, C.P. et al. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California mastitis test” (CMT) no diagnóstico de mastite bovina. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 1, p. 93-102, 2002.

BARBOSA, S. B. P. et al. Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 94-102, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/sfpWfrpYJBcm8q644QnGdqM/?lang=pt>. Acesso em: 08 jan/2024.

BEXIGA, R. Conseguiremos aumentar a longevidade das vacas leiteiras? *In: Livro de Resumos das XX Jornadas das Associação Portuguesa de Buiatria*. 2019. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/27943/1/Livro%20de%20Resumos.XX.JAPB.pdf#page=33>. Acesso em: 08 jan/2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). Instrução normativa nº 51. de 18 de setembro de 2002, Regulamentos Técnicos de Produção. Identidade e Qualidade do Leite tipo A. do Leite tipo B. do Leite tipo C. do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**. Brasília. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). Instrução normativa nº 62. de 29 de dezembro de 2011, Regulamento Técnico de Produção. Identidade e Qualidade do Leite tipo A. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**. Brasília. Brasília. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 07, de 03 de maio de 2016. Regulamento Técnico de Produção. Identidade e Qualidade do Leite tipo A. o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado. o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**. Brasília. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 31, de 29 de julho de 2018. Regulamento Técnico de Produção. Identidade e Qualidade do Leite tipo A. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado. Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**. Brasília. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamento Técnico das características e da qualidade do produto na indústria. **Diário Oficial da União**. Brasília. 2018

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). Instrução normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. Regulamento Técnico dos critérios para obtenção de leite de qualidade e seguro ao consumidor. **Diário Oficial da União**. Brasília. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). Instrução normativa nº 78, de 26 de novembro de 2018. Regulamento Técnico dos critérios a serem seguidos nas provas de produção. **Diário Oficial da União**. Brasília. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). **Mapa do Leite**. [2023?]. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>. Acesso em: 22 out/2023.

BREITENBACH, P. **Espectroscopia de bioimpedância elétrica como ferramenta de avaliação da composição do leite e CCS**. 2021. 67 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, 2021. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popUp=true&id_trabalho=11335966. Acesso em: 11 nov/2023.

CABRAL, J. F. et al. Relação da composição química do leite com o nível de produção, estágio de lactação e ordem de parição de vacas mestiças. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 4, p. 244-255, 2016. Disponível em: <https://rilct.emnuvens.com.br/rilct/article/view/536/420>. Acesso em: 11 nov/2023.

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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030219304242>. Acesso em: 10 jan/2024.

DA FONSECA, M. E. B. et al. Mastite bovina: revisão. **Publicações em Medicina Veterinária**, v. 15, n. 2, p. 1-18, 2021. Disponível em: https://web.archive.org/web/20210216134352id_/http://www.pubvet.com.br/uploads/03e50c695917c47fd01868b511165d64.pdf. Acesso em: 25 nov/2024.

DAHL, G. E.; MCFADDEN, T. B. Symposium review: environmental effects on mammary immunity and health. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 10, p. 8586-8589, 2022. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(22\)00484-2/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(22)00484-2/fulltext). Acesso em: 25 nov/2024.

DOS SANTOS, M. V.; DA FONSECA, L. F. L. **Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções**. São Paulo: Edição dos Autores, 2019.

GONZÁLEZ, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. *In*: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS. 2001, p. 5-21.

GRANDE, P. A.; DOS SANTOS, G. T. **Níveis de ureia no leite como ferramenta para utilização das fontes de proteínas na dieta das vacas em lactação**. 2010. Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/niveis-ureia-leite.pdf>. Acesso em: 12 jan/2024.

HOTT, M. C.; ADRADE, R. G.; DE MAGALHÃES JUNIOR, W. C. P. Produção de leite no Brasil por Estados e regiões. *In*: DA ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; BERNARDO, W. F.; RENTERO, N.; ALBUQUERQUE, A. **Anuário do Leite 2023: leite baixo carbono**, p. 12-15. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1154264/anuario-leite-2023-leite-baixo-carbono>. Acesso em: 25 nov/2024.

- HU, X. et al. The rumen microbiota contributes to the development of mastitis in dairy cows. **Microbioly Spectrum**, v. 10, n. 1, 2022. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/spectrum.02512-21>. Acesso em: 28 nov/2023.
- HUANG, C.; KUSABA, N. Association between differential somatic cell count and California Mastitis Test results in Holstein cattle. **JDS Communications**, v. 3, n. 6, p. 441-445, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266691022200120X>. Acesso em: 28 nov/2023.
- KEANE, O. M. Symposium review: intramammary infections – majos pathogens and strain-associated complexity. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 5, p. 4713–4726, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030219301833>. Acesso em: 28 nov/2023.
- KHATUN, M. et al. Early detection of clinical mastites from electrical conductivity data in na automatic milking system. **Animal Production Science**, v. 57, n. 7, p. 1226-1232, 2017. Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/an/AN16707>. Acesso em: 25 jan/2024.
- LIMA, B. L. et al. Contagem celular somática nos grandes constituintes do leite. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 10, n. 8, p. 604-607, 2016. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/cbf6/746eeef5788a8f3c57f5591a144e03f40d28.pdf>. Acesso em: 30 nov/2023.
- LOPES, A. M. et al. Milk characterization using electrical impedance spectroscopy and fractional models. **Food Analytical Methods**, v. 11, p. 901-912, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-017-1054-4>. Acesso em: 30 nov/2023.
- MARTINS, C. M. M. R. et al. Evaluation of electrical bioimpedance spectroscopy in estimate the milk composition, SCC, and milk ethanol stability - Preliminary results. *In: AMERICAN DAIRY SCIENCE ASSOCIATION - ADSA ANNUAL MEETING 2017*. Pittsburgh. Anais... Pittsburgh. Disponível em: <https://m.adsa.org/2017/abs/t/70941>. Acesso em: 28 out/2023.
- MENDONÇA, L. C. **Viabilidade do controle da mastite contagiosa e da utilização do escore de sujidade de úbere e de lesões de esfíncter de tetos no monitoramento do risco de ocorrência da doença**. 2008. 43 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/LGPD-7Q2MW9>. Acesso em: 15 nov/2023.
- MONTANHINI, M. T. M.; MORAES, D. H. M.; MONTANHINI NETO, R. Influência da contagem de células somáticas sobre os componentes do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 18-22, 2013. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/25>. Acesso em: 30 out/2023.
- MURPHY, J. M. The genesis of bovine udder infection and mastites; the occurrence of streptococcal infection in a cow population during a seven-year period and its relationship to age. **American Journal of Veterinary Research**, v. 6, n. 26, p. 29-42, 1947. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5217538/>. Acesso em: 30 out/2023.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. US. **Current concepts of bovine mastitis**. 4.ed. Madison: NMC, 1996. 64p.

NORO, G. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/GYT8wbfKsRJgd3yrC6GSSCp/>. Acesso em: 11 jan/2024.

OIKONOMOU, G. et al. Microbiota of Cow's Milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. **PLoS One**, v. 9, n. 1, 2014. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0085904>. Acesso em: 30 out/2023.

OLIVEIRA, L.; HULLAND, C.; RUEGG, P. L. Characterization of clinical mastites occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 7538-7549, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24119795/>. Acesso em: 30 out/2023.

PEREIRA, A. R. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I-gordura e proteína. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 3, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjvras/a/5gWN3WfvDxLqKWCpyTFssWz/#>. Acesso em: 30 out/2023.

PERES, J. R. O leite como ferramenta de monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001, p. 30-45.

PESQUISA revela custo atual da mão-de-obra da atividade leiteira. **MilkPoint**, 26 de novembro 2012. Giro de Notícias. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/pesquisa-revela-custo-atual-da-maodeobra-da-atividade-leiteira-81542n.aspx>. Acesso em: 10 dez/2023.

PILLA, R. et al. Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 8, p. 4410-4420, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030212004298#:~:text=Differential%20cell%20counting%20can%20detect,in%20quarters%20otherwise%20considered%20healthy>. Acesso em: 10 dez/2023.

POSTLE, D. S. The Wisconsin mastitis test. **Proceedings Annual Meeting of United States of America Animal Health Association**, v. 68, 5217538, p. 488-494, 1964. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5217538/>. Acesso em: 30 out/2023.

QUALIDADE do leite no Brasil: MAPA disponibiliza dados online. **Sindileite**, 22 novembro 2021. Disponível em: <https://sindileite.org.br/qualidade-do-leite-no-brasil-mapa-disponibiliza-dados-online/>. Acesso em: 27 out/2023.

RAJALA-SCHULTZ, P. et al. Effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p.1213–1220, 1999. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030299753440#:~:text=The%20daily%20loss%20during%20the,the%20time%20of%20mastitis%20occurrence>. Acesso em: 27 out/2023.

RUEGG, P. L. Investigation of mastitis problems on farms. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 47-73, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749072002000786?via%3Dihub>. Acesso em: 30 out/2023.

RUEGG, P. L. Uma revisão de 100 anos: detecção, manejo e prevenção de mastite. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10381-10397, 2017. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(17\)31032-9/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(17)31032-9/fulltext). Acesso em: 30 out/2023.

SARTORI, L. C. A.; SANTOS, R. C.; MARIN, J. M. Identification of *Candida* species isolated from cows suffering mastitis in four Brazilian states. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1615-1617, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/d9FNbKGnk5kdDry57xQ5Rmm/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 17 dez/2023.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13416088/>. Acesso em: 30 out/2023.

SCHUMACHER, L. L. et al. Use of electrical bioimpedance analysis to evaluate the quality of bovine raw milk. **South African Journal of Animal Science**, v. 49, n. 3, p. 727-734, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.org.za/pdf/sajas/v49n4/13.pdf>. Acesso em: 17 dez/2023.

SHARMA, N.; SINGH, N. K.; BHADWAL, M. S. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 24, n. 3, p. 429-438, 2011. Disponível em: <https://www.animbiosci.org/upload/pdf/24-52.pdf>. Acesso em: 17 dez/2023.

SOARES, S. R. V.; REIS, R. B.; DIAS, A. N. Fatores de influência sobre o desempenho reprodutivo em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 73, n. 2, p. 451-459, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/jZh8fHvCCJDHWcdjnHPHJVL/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 12 dez/2023.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the Mammary Gold. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1851-1865, 1997. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(97\)76121-6/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(97)76121-6/pdf). Acesso em: 12 dez/2023.

STOCCO, G. et al. Differential Somatic Cell Count as a Novel Indicator of Milk Quality in Dairy Cows. **Animals**, v. 10, n. 5, 753, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/5/753>. Acesso em: 18 nov/2023.

THALER NETO, A.; RODRIGUES, R. S.; CÓRDOVA, H. de A. Desempenho produtivo de vacas mestiças Holandês x Jersey em comparação ao Holandês. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 12, n. 1, p. 7-12, 2013. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5186/3369>. Acesso em: 09 jan/2024.

VEIGA, E. A. **Desenvolvimento de um sistema de bioimpedância elétrica baseado em FPGA**. 2013. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2013.

VEIGA, E. A.; BERTEMES-FILHO, P. Bioelectrical impedance analysis of bovine milk fat. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 407, 2012. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/407/1/012009>. Acesso em: 25 nov/2023.

VIANA, K. F. et al. Comparação da contagem de células somáticas em leite cru por quatro métodos de coloração. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n.1, p. 59-63, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277255245_COMPARACAO_DA_CONTAGEM_DE_CELULAS_SOMATICAS_EM_LEITE_CRU_POR_QUATRO_METODOS_DE_COLORACAO. Acesso em: 25 nov/2023.

VILLAS-BOAS, D. F. et al. Association between electrical conductivity and milk production traits in Dairy Gyr cows. **Journal of Applied Animal Research**, v. 45, n. 1, p. 227-233, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2016.1150849>. Acesso em: 25 nov/2023.

ZECONNI, 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, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/329986802_Assessment_of_subclinical_mastitis_diagnostic_accuracy_by_differential_cell_count_in_individual_cow_milk. Acesso em: 25 nov/2023.

ZUFFO, G. R. **Espectroscopia por bioimpedância elétrica: análise em tempo real para a determinação da contagem de células somáticas no leite bovino**. 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, 2021. Disponível em: <https://sistemabu.udesc.br/pergamumweb/vinculos/00008d/00008d38.pdf>. Acesso em: 16 nov/2023.