**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Prevalência da mastite subclínica em rebanhos brasileiros e o efeito sobre a
composição do leite**

João Pedro Pereira Winckler

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens.

**Piracicaba
2019**

João Pedro Pereira Winckler
Zootecnista

**Prevalência da mastite subclínica em rebanhos brasileiros e o efeito sobre a composição
do leite**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO FERNANDO MACHADO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens.

Piracicaba
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Winckler, João Pedro Pereira

Prevalência da mastite subclínica em rebanhos brasileiros e o efeito sobre a composição do leite / João Pedro Pereira Winckler. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

62 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Contagem de células somáticas 2. Infecção intramamária 3. Produção de leite 4. Sólidos do leite 5. Vacas leiteiras I. Título

Dedico este trabalho aos meus pais, Patrícia
Fernandes Pereira e Graan Winckler.

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente meus pais e irmão, pelo incentivo nos estudos e apoio que me deram em todas as escolhas que fiz.

À Raquel Rybandt pelo companheirismo, paciência e apoio em todos os momentos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Fernando Machado, pela oportunidade de ser seu orientado, pelos conselhos e ensinamentos. O treinamento que recebi me preparou, não somente para ser um bom profissional, como também para a vida.

Aos colegas e amigos de laboratório Helen Krystine da Silva, Renata Coutinho, Maximiliano H. de Oliveira Pasetti, Janielen da Silva e Larissa N. de Freitas pela amizade, companheirismo e auxílio nos trabalhos realizados.

Ao Marcos Busannello, pela amizade e o grande auxílio que prestou na condução desse trabalho, principalmente nas análises estatísticas.

À “Clínica do Leite” da ESALQ-USP e ao seu time de colaboradores, especialmente ao Augusto Lima, Júlio Meirelles e Débora Horn, pelo suporte, por fornecerem o banco de dados necessário para a realização desse trabalho e pelo auxílio nas publicações realizadas durante o doutoramento.

Ao programa de pós-graduação “Ciência Animal e Pastagens” da ESALQ-USP e aos professores do Departamento de Zootecnia, principalmente ao Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão e à Prof.^a Dr. Carla Maris Machado Bittar, pelos ensinamentos, pela participação no meu comitê de orientação e qualificação, bem como pelas sugestões para aprimorar esse trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) pela infraestrutura necessária para a condução desse trabalho e os profissionais que auxiliaram para o conhecimento obtido.

À Capes e ao CNPq pela concessão de bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTAS DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
1 INTRODUÇÃO	13
1.1 A produção de leite no Brasil e a mastite	13
1.2 Patógenos causadores da mastite	14
1.3 Impacto econômico da mastite	15
1.4 Justificativa do trabalho	16
1.5 Objetivos.....	17
Referências	17
2 PREVALÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS BRASILEIROS: EFEITO DO TAMANHO DOS REBANHOS, ESTAÇÃO DO ANO E A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO TANQUE	21
Resumo	21
Abstract.....	21
2.1 Introdução	22
2.2 Material e Métodos	23
2.3 Análises estatísticas	25
2.4 Resultados.....	26
2.5 Discussão	29
2.6 Conclusões.....	34
Referências	34
3 EFEITO DA PREVALÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE A COMPOSIÇÃO DO LEITE DE REBANHOS BRASILEIROS.....	39
Resumo	39
Abstract.....	39
3.1 Introdução	40
3.2 Material e Métodos	41
3.2.1 Categorização dos rebanhos quanto à prevalência	42

3.2.2	Análises estatísticas.....	43
3.2.2.1	Análises descritivas e comparações entre as categorias de prevalência.....	43
3.2.2.2	Análise de regressão.....	44
3.2.2.3	Análise de correspondência multivariada	44
3.3	Resultados	45
3.4	Discussão.....	51
3.5	Conclusões	55
	Referências.....	56
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	61

RESUMO

Prevalência da mastite subclínica em rebanhos brasileiros e o efeito sobre a composição do leite

A mastite é uma das doenças mais prevalentes e de maior impacto a cadeia do leite. Apesar da mastite subclínica não apresentar sintomas aparentes é responsável pela redução na produção, qualidade, rendimento industrial e tempo de prateleira do leite. A CCS do tanque (CCST) tem sido utilizada como indicador do número de vacas infectadas nos rebanhos, entretanto indicadores calculados a partir da CCS individual, como a prevalência, refletem com maior precisão a situação dos rebanhos frente a mastite subclínica. Dessa forma, os objetivos desse estudo foram estimar a prevalência (%) em grande população de rebanhos brasileiros, analisar os efeitos do tamanho dos rebanhos, estações do ano e CCST sobre esse indicador e o impacto na produção e composição do leite. Para isso, foram analisados 7213 testes diários (TD) de 860 rebanhos brasileiros que enviaram amostras para a “Clínica do Leite”, no período entre janeiro de 2016 e maio de 2018. A prevalência (%) foi definida como o número de vacas com CCS ≥ 200 mil céls/mL, dividido pelo número de vacas em lactação do rebanho. Para analisar os efeitos do tamanho dos rebanhos, estações do ano e CCST sobre a prevalência e a CCST, essas variáveis foram comparadas dentro das diferentes categorias de tamanho de rebanho, estação do ano e contagem de células somáticas do tanque. Foram compiladas as variáveis CCS individual das vacas (mil céls/mL), número de vacas do rebanho, CCS do tanque (CCST) (mil céls/mL), produção média do rebanho (L/vaca/dia) e os constituintes do leite do tanque: gordura (%), proteína (%), caseína (%), lactose (%), extrato seco total (EST) (%) e nitrogênio ureico do leite (NUL) (mg/dL) para analisar o efeito da prevalência sobre a produção e componentes do leite. Os rebanhos foram categorizados quanto a prevalência e realizadas análises descritivas e de comparação de médias. Análises de regressão foram empregadas para estudar os efeitos quantitativos da prevalência sobre a composição e produção do leite. Para avaliar o grau de associação entre as variáveis de forma conjunta, foi utilizada a análise de correspondência multivariada. A média da prevalência no período estudado foi de 46,95% (860 rebanhos) e a mediana da CCST de 388 mil céls/mL (620 rebanhos). Tanto a prevalência como a CCST foram maiores no verão e outono (estações mais quentes e úmidas). Em rebanhos com baixa CCST (≤ 200 mil céls/mL) não houve efeito do tamanho dos rebanhos sobre a prevalência, entretanto nas categorias com maior CCST, os rebanhos menores apresentaram maior prevalência. Com o aumento da prevalência dos rebanhos a produção de leite foi reduzida e a CCS do tanque aumentada. A lactose foi o único sólido do leite que apresentou redução na sua concentração com o aumento da prevalência, entretanto quando foram avaliados a produção de sólidos dos rebanhos em kg/dia, a gordura, proteína, lactose e o extrato seco total (EST) apresentaram redução em função da menor produção de leite. Os resultados encontrados nesse estudo evidenciam o impacto da mastite subclínica nos rebanhos brasileiros, servem de alerta e estímulo para o governo, indústria e produtores criarem e implementarem programas de controle da mastite para a melhoria da qualidade do leite.

Palavras-chave: Contagem de células somáticas; Infecção intramamária; Produção de leite; Sólidos do leite; Vacas leiteiras

ABSTRACT

Prevalence of subclinical mastitis in Brazilian herds and the effect on milk composition

Mastitis is the most common infectious disease of dairy cows and results in considerable economic loss for both dairy farmers and milk processors. Although the subclinical mastitis do not show apparent symptoms, it is responsible for decrease milk production and quality, industrial income and shelf time. Bulk tank somatic cell count (BTSCC) has been used as an index of number of infected cows at the herd, however, index calculated from the SCC at cow level, as prevalence, reflects better the herd situation regarding subclinical mastitis. Thus, the aim of this study were to estimate the prevalence (%) in a large population of Brazilian dairy herds, analyze the effects of herd size, season and BTSCC on the prevalence and the impact on milk production and composition. There were analyzed 7.213 test day from 860 Brazilian dairy herds from January 2016 to May 2018. The prevalence was taken as the number of the cows with SCC greater than 200.000 cell/mL and divided it by the number of lactating dairy cows of the herd. To evaluate the herd size, season and BTSCC categories effects on prevalence and BTSCC, these variables there were compared among different categories of herd size, season and BTSCC. There were collected the follow information: SCC at cow level (cell/mL), number of cows of the herd, BTSCC (cell/mL), milk production (L/cow/d) e bulk tank milk components: fat (%), protein (%), casein (%), lactose (%), total dry extract (%) and milk urea nitrogen (MUN) (mg/dL) to analyze the prevalence effects on milk production and components. The herds there were categorized as prevalence and descriptive and t-student analysis were performed. Regression analysis were performed to evaluate the quantitative effects on milk production and composition. In order to evaluate the degree of association between the variables together, were performed multivariate correspondence analysis. The prevalence average was 46.95% (860 dairy herds) and the BTSCC median was 388.000 cell/mL (620 dairy herds). The prevalence and BTSCC were higher in the summer and fall (hottest and wet season). In the herds with low BTSCC (≤ 200.000 cell/mL) there was no effect of herd size on prevalence, however, in those categories with higher BTSCC, the small herds showed higher prevalence. When prevalence was higher, the milk production decreased and the BTSCC was higher. The lactose concentration decreased when prevalence was high, however, when solids production (kg/d) was evaluated, fat, protein, lactose and total dry extract decreased due to lower milk production. The results found in this study show the impact of subclinical mastitis on Brazilian dairy herds, are an alert and stimulus for the government, industry and dairy farmers to create and implement mastitis control programs to improve milk quality.

Keywords: Somatic cell count; Intramamary infection; Milk production; Milk solids; Dairy cows

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. Descrição da triagem dos dados.....	24
Figura 2. Variação da prevalência da MS (linha sólida) e CCST (linha pontilhada) entre jan/2016 e mai/2018.....	27

CAPÍTULO 3

Figura 1. Descrição da triagem dos dados.....	42
Figura 2. Variação sazonal da prevalência média e mediana de CCST no período entre janeiro de 2016 a maio de 2018.	46
Figura 3. Variação sazonal da gordura, lactose, proteína, caseína e prevalência da MS (média dos meses) entre janeiro de 2016 a março de 2018.....	47
Figura 4. A. Regressões lineares entre prevalência versus os componentes do leite (%) e produção média dos rebanhos por dia (L/vaca/dia).	49
Figura 4. B. Regressões lineares entre prevalência versus gordura (kg), proteína (kg), lactose (kg) e extrato seco total (kg).	50
Figura 5. Análise de correspondência múltipla entre prevalência de MS e os componentes do leite proteína, lactose, EST, gordura e NUL.	50

LISTAS DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Estatística descritiva da prevalência e CCST, dentro das diferentes categorias de estação, tamanho de rebanho e categoria de CCS¹ 28

Tabela 2. Resultados da modelagem para prevalência da MS e CCST nas diferentes estações do ano, tamanhos de rebanho e categorias de CCS, bem como entre a interação de tamanho de rebanho e categoria de CCST..... 33

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Estatística descritiva da distribuição dos dados 45

Tabela 2. Estimativas ajustadas para CCST, prevalência, produção média de leite do rebanho e constituintes do leite nas diferentes categorias de prevalência 48

LISTA DE ABREVIATURAS

AIC – Akaike

BIC – Bayesiano

CBT – Contagem Bacteriana Total

CCS – Contagem de Células Somáticas

CCST – Contagem de Células Somáticas no Tanque

CMT – California Mastitis Test

céls – Células

dL – Decilitro

DHIA – Dairy Herd Improvement Association

EST – Extrato Seco Total

IC – Intervalo de Confiança

kg - Quilograma

L – Litros

Max – Máximo

mg – Miligrama

Mín – Mínimo

mL – Mililitro

MS – Mastite Subclínica

N – n-amstral

NUL – Nitrogênio Ureico do Leite

Prev. – Prevalência

P-valor – Probabilidade de Significância

Q1 – Primeiro Quartil

Q3 – Terceiro Quartil

R² – Coeficiente de Determinação

RMSE – Raiz Quadrada do Erro-Médio

STROBE – Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology

TD – Testes Diários

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

1 INTRODUÇÃO

1.1 A produção de leite no Brasil e a mastite

O Brasil vem se consolidando como um dos maiores produtores de leite do mundo. De 1974 a 2014 a produção brasileira quase quadriplicou, passando de 7,1 bilhões para mais de 35 bilhões de litros de leite por ano. Entretanto, nos anos de 2015 e 2016 houve redução na produção de 2,8 e 3,7%, respectivamente. Um dos motivos que contribuiu para essa redução foi a crise econômica enfrentada pelo país, período no qual a renda das famílias caiu, bem como o consumo de produtos lácteos. A redução no preço pago ao produtor de leite, somada às constantes altas no custo de produção, inviabilizaram o negócio para muitos produtores (Rocha and Carvalho, 2018).

A partir do segundo semestre de 2016 com a recuperação dos preços pagos ao produtor, devido à queda na produção nacional, aliada à redução no custo de produção, impulsionada pela perspectiva de safra recorde de grãos no período de 2016/2017, fizeram com que a produção de leite voltasse a subir, obtendo em 2017 aumento de 4% (totalizando 33 bilhões de litros) (IBGE, 2018).

Melhorias no manejo, sanidade, nutrição e genética do rebanho brasileiro proporcionaram o aumento da produção de leite brasileira ao longo dos anos (Muller, 2002). Contudo, o desempenho não foi melhor devido a doenças, como a mastite, que acomete aproximadamente 46,4% das vacas dos rebanhos brasileiros (Busanello et al., 2017).

A mastite bovina é caracterizada pela inflamação da glândula mamária que pode ter origem infecciosa ou não infecciosa (Bradley, 2002). Existem duas formas de apresentação da doença: a mastite clínica e a subclínica. A mastite clínica é caracterizada pela presença de sinais clínicos, como aparecimento de grumos ou sangue no leite, sintomas no úbere, como calor, vermelhidão, inchaço, dor e, em alguns casos, sintomas sistêmicos como febre e perda de apetite. Por outro lado, quando a vaca está com mastite subclínica, não apresenta sinais clínicos, para a detecção da doença é necessária análise laboratorial do leite. Em casos positivos para mastite subclínica, ocorrem alterações na composição do leite, principalmente redução na lactose, ou há isolamento de patógeno em testes de cultura microbiológica.

A partir de meados dos anos 70 e 80, a CCS tem sido utilizada como ferramenta para monitorar a mastite em rebanhos leiteiros. As células somáticas são compostas por células imunológicas (linfócitos, neutrófilos polimorfonucleares e macrófagos), bem como por

células epiteliais, componentes esses que também estão presentes em glândulas mamárias saudáveis e podem superestimar uma infecção.

Vários estudos avaliaram o potencial da CCS em classificar uma vaca como infectada ou sadia. (Dohoo et al., 1981; McDermott et al., 1982; Timms and Schultz, 1987). Uma vaca é considerada infectada quando apresenta leite com CCS superior a 200.000 céls/mL. Esse limite foi escolhido por apresentar a maior sensibilidade (0,726) e especificidade (0,855), em comparação com as demais contagens, para identificar casos positivos e negativos, respectivamente (Dohoo and Leslie, 1991).

1.2 Patógenos causadores da mastite

A mastite é considerada uma doença multifatorial, sendo desencadeada por fatores relacionados ao hospedeiro (resposta imunológica), agente etiológico e meio ambiente (Schroeder, 1997; Oviedo-Boyso et al., 2007). Mais de 137 agentes já foram identificados como causadores da mastite, essa diversidade dificulta a eficácia de medidas de tratamento e controle da doença (Watts, 1988; Rabiee and Lean, 2013).

Os patógenos causadores da mastite são classificados como contagiosos ou ambientais, dependendo do seu reservatório primário e forma de contágio. Os patógenos contagiosos são aqueles adaptados a sobreviver dentro do hospedeiro, em particular dentro da glândula mamária. Eles são capazes de gerar infecções subclínicas, na qual ocorre a elevação na CCS sem sinais clínicos aparentes e, normalmente são transmitidos de vaca para vaca, no ato da ordenha. Os patógenos ambientais por sua vez, não são adaptados a viver dentro do hospedeiro, eles invadem de forma oportunista, multiplicam-se, desencadeiam a resposta imune do hospedeiro e geralmente são eliminados rapidamente (Bradley, 2002).

Os patógenos causadores da mastite também são classificados como primários ou secundários, dependendo do seu efeito sobre a CCS. Os patógenos primários contagiosos, como *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Mycoplasma* sp. (Keefe, 2012), bem como os primários ambientais, como *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Escherichia coli*, normalmente provocam maior resposta na CCS quando comparados com os patógenos secundários, como espécies de *Corynebacterium* e *Staphylococcus* coagulase-negativa (Bradley and Green, 2005). No estudo de Wilson et al. (1997) a CCS média para animais com isolamento de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* foi de 440 e de 640 mil céls/mL, respectivamente. Enquanto que para microrganismos secundários, como

Staphylococcus spp. coagulase negativo, a contagem foi de 170 mil céls/mL e para *Corynebacterium bovis*, 150 mil céls/mL.

1.3 Impacto econômico da mastite

Os custos associados a mastite podem ser divididos por sua natureza direta ou indireta (Kossaibati and Esslemont, 1997). Os custos diretos estão relacionados a despesas com tratamento e custos com veterinário, aumento do trabalho, leite descartado (durante o tratamento), queda na produção e qualidade do leite. Os custos indiretos, por sua vez, são aqueles que nem sempre são óbvios para o produtor de leite, como: o risco de distúrbios subsequentes, fertilidade reduzida, aumento do risco de abate prematuro e, ocasionalmente, a morte do animal. Portanto, o custo total da mastite pode ser muito maior do que aparenta ser (Kossaibati and Esslemont, 1997).

A redução na produção é o principal componente envolvido no impacto econômico da mastite, estima-se que 69 a 80% do custo seja devido a este fator (Blosser, 1979). A extensão da perda depende da severidade, patógeno causador, número de partos e o estágio da lactação no momento que ocorre o caso. Vacas na primeira lactação sofrem menor efeito de perda de produção, comparadas com vacas multíparas. No estudo de Hortet and Seegers (1998) foram compilados dados de perda de produção durante toda a lactação, concluiu-se que vacas multíparas perderam de 300 a 400 kg, enquanto vacas primíparas de 200 a 300 kg. As perdas de produção ocorrem antes mesmo do diagnóstico da doença e persistem durante toda a lactação (Wilson et al., 2004; Rajala-Schultz et al., 1999).

Vacas que produzem mais leite tem maior susceptibilidade de serem acometidas pela mastite. Wilson et al., (2004) estudaram essa relação e observaram que vacas portadoras da doença apresentaram produção, em média, 2,6 kg superior antes do diagnóstico da mastite, quando comparadas com vacas sadias, no mesmo período.

A mastite, além de reduzir a produção de leite, altera a sua composição (Harmon, 1994). Essas alterações na composição, causadas pela doença, passaram a ter maior relevância com a adesão das indústrias ao sistema de pagamento por qualidade e, também, pelo estabelecimento de padrões mínimos de qualidade pelo governo brasileiro (Instruções Normativas Nº 76 e 77, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018).

As mudanças na composição do leite são resultado, primeiramente, da redução na atividade de síntese dos seus principais compostos, como a gordura, lactose e caseína (Schultz, 1977). Em segundo lugar, a composição do leite é alterada pelo aumento da

presença de elementos sanguíneos, devido a reação inflamatória, como proteínas (albumina sérica e imunoglobulinas), cloreto e sódio (Larson et al., 1980). As perdas de gordura e proteína causadas pela mastite em uma lactação, variam de 3 a 22 kg (1,5 a 7,5%), e de 0 a 15 kg (0 a 8,5%), respectivamente (Hortet e Seegers, 1998).

1.4 Justificativa do trabalho

Apesar do comprovado impacto que a mastite tem sobre os sistemas de produção de leite, não é possível afirmar com precisão qual é a extensão do problema nos rebanhos brasileiros. Alguns trabalhos avaliaram a prevalência da mastite subclínica, no entanto, os resultados apresentam grande variação (de 15,6% a 63,6%) (Busanello, et al., 2017; Cunha et al., 2015; Ziech et al., 2013; Oliveira et al., 2011; Oliveira et al., 2010; Bueno et al., 2002; Costa et al., 1999). Isso ocorre, principalmente, devido às diferenças metodológicas dos trabalhos publicados. Diferentes limites na CCS são utilizados para considerar uma vaca como sadia ou com mastite subclínica, alguns trabalhos utilizam o California Mastitis Test (CMT) para estimar a CCS individual das vacas ou a CCST dos tanques para estimar o número de vacas doentes. Além disso, a maioria dos estudos avaliaram pequeno número de fazendas de uma determinada região, retratam a situação de uma cidade ou estado, não sendo possível extrapolar os dados a nível de país. Apenas o estudo de Busanello et al. (2017) avaliou grande população de rebanhos (517) de diferentes regiões e verificaram que a prevalência média é de 46,4%.

O efeito da mastite subclínica sobre a composição do leite dos rebanhos brasileiros também não é bem elucidada. Alguns trabalhos analisaram o efeito da mastite subclínica sobre a composição do leite, entretanto, a maioria deles utilizou a CCST como parâmetro para estimar as perdas. Machado et al. (2000), analisaram 6.112 amostras de leite de tanques e verificaram que as amostras com $CCS < 283$ mil céls/mL apresentaram concentrações de gordura e proteína, 0,11% e 0,8% menores, respectivamente, que amostras com $CCS > 283$ mil céls/mL. Bueno et al. (2005) também avaliaram amostras de tanques, foram analisadas 18.949 amostras e observaram que a variação na concentração de gordura, proteína e lactose entre amostras com $CCS \leq 200$ mil céls/mL e > 1.000 mil céls/mL foi de +0,27%, -5,07% e -5,22%, respectivamente.

Ao utilizar a CCST como parâmetro para estimar a extensão das perdas na composição do leite em função da mastite subclínica, deve-se levar em consideração que a CCST é a média da CCS de cada vaca do rebanho, ponderada pela sua produção de leite.

Vacas com mastite subclínica podem excretar de 200 mil a milhões de células somáticas por mililitro (Reneau, 1986). Devido à grande variação na CCS e na produção de cada vaca, a CCST pode apresentar alta contagem com baixa prevalência no rebanho e vice-versa. Por essa razão, a prevalência da MS é melhor indicador para diagnosticar a situação de um rebanho comparado à CCST.

1.5 Objetivos

I) Estimar, a partir da CCS individual, a prevalência da mastite subclínica em grande população de rebanhos brasileiros;

II) Analisar o efeito do tamanho dos rebanhos, estações do ano e CCST sobre a prevalência da mastite subclínica;

III) Avaliar o efeito da prevalência da mastite subclínica sobre os principais constituintes do leite de rebanhos brasileiros rebanhos;

IV) Analisar a variação sazonal dos principais constituintes do leite e da prevalência da mastite subclínica.

Referências

Blosser, T. H. Economic losses from the national research program on mastitis in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p.119-127, 1979.

Bueno, V. F. F., Nicolau, R. S., Mesquita, A. J., Ribeiro, A. R., Silva, J. A. B., Costa E. O., Coelho, K. O. and Neves, R. B. Mastite bovina clínica e subclínica na região de Pirassununga, SP: Frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 3, p. 47-52, 2002.

Bueno, V. F. F., Mesquita, A. J. D., Nicolau, E. S., Oliveira, A. N. D., Oliveira, J. P. D., Neves, R. B. S., ... and Thomaz, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v. 35, p.848-854, 2005.

Busanello, M., Rossi, R. S., Cassoli, L. D., Pantoja, J. C., and Machado, P. F. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 8, p. 6545-6553, 2017.

Bradley, A. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**. v. 164, p. 116-128, 2002.

Bradley, A.; Green, M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. **In practice**, v. 27, p. 310, 2005.

Costa, E. O., Ribeiro, A. R., Watanabe, E. T., Silva, J. A. B., Garino Júnior, F., Benites, N. R. and Horiuti, A. M. Mastite subclínica: Prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **Revista Napgama**. v. 2, p. 16-20, 1999.

Cunha, A. F., L. J. Bragança, L. C. Quintão, S. Q. Silva, F. N. Souza, and M. M. O. P. Cerqueira. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinaria Brasilica** v. 9, p. 160-166, 2015.

Dohoo, I.R., Meek, A.H., Martin, S.W. and Barnum, D.A., Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. v. 45, p. 8-14, 1981.

Dohoo, I. R., and Leslie, K. E. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 10, p. 225-237, 1991.

Harmon, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.77, p. 2103-2113, 1994.

Hortet, P.; Seegers, H. Loss in Milk Yield and Related Composition Changes Resulting from Clinical Mastitis in Dairy Cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 37, p. 1-20, 1998.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite (2018)**. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/leite/tabelas>>. Acesso em: 14, jan. de 2019.

Instrução Normativa 76 e 77, de 26 de novembro de 2018. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite cru refrigerado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, Brasil, 2018.

Keefe, G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 28, p. 203-216, 2012.

Kossaiati, M.A.; Esslemont, R.J. The Costs of Production Diseases in Dairy Herds in England. **Veterinary Journal**, v. 154, p. 41-51, 1997.

Larson, B.L.; Heary, H.L.; Devery, J.R.; Devery J.E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 665-671, 1980.

Machado, P. F., Pereira, A. R., and Sarriés, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1883-1886, 2000.

McDermott, M.P., Erb, H.N. and Natzke, R.P. Predictability by somatic cell counts related to prevalence of intramammary infections within herds. **Journal of Dairy Science**., v. 65, p. 1535-1539, 1982.

Muller, E. E. Anais do II Sul – Leite: Simpósio Sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. Toledo-PR: UEM/CCA/DZO – NUPEL, p. 212, 2002.

Oliveira, C. M. C., Sousa, M. G. S., Silva, N. S., Mendonça, C. L., Silveira, J. A. S., Oaigen, R. P., Andrade, S. J. T., and Barbosa, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, p. 104-110, 2011.

Oliveira, U. V., Galvão, G. S., Paixão A. R. R., and Munhoz, A. D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** v.11, p. 630–640, 2010.

Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J. J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J. E., Bravo-Patino, A. and Baizabal-Aguirre, V. M. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **Journal of Infection**, v. 54, p. 399-409, 2007.

Rabiee, A.R. and Lean, I.J. The effect of internal teat sealant products (Teat seal and Orbeseal) on intramammary infection, clinical mastitis and somatic cell counts in lactating dairy cows: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 6915-6931, 2013.

Rajala-Schultz, P.J.; Gröhn, Y.T. Culling of Dairy Cows. Part I. Effects of Diseases on Culling in Finnish Ayrshire Cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 41, p. 195-208, 1999.

Reneau, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**. v. 69, p. 1708-1720, 1986.

Rocha, D. T. and Carvalho, G.R. Produção brasileira de leite: uma análise conjuntural. **Anuário do Leite 2018 – Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/gado-de-leite>>. Acesso em: 14, jan. de 2019.

Schroeder, J.W. Bovine mastitis and milking management. Mastitis control program. North Dakota State University, Fargo. p. 46-52, 1997.

Schultz, L.H. Somatic cells in milk. Physiological aspects and relationships to amount and composition of milk. **Journal of Food Protection**, v. 40, p. 125-131, 1977.

Timms, L.L. and Schultz, L.H. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 2648-2657, 1987.

Ziech, R. E., C. Balzan, C. R. R. Nilles, A. C. Vargas, C. Lampugnani, and A. P. Perin. Ocorrência e etiologia da mastite subclínica e avaliação da qualidade microbiológica do leite cru na região central do RS. **Veterinária e Zootecnia**. v. 20, p. 139–140, 2013.

Watts, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**. v.16, p. 41-66, 1988.

Wilson, D.J.; Gonzalez, R.N.; Das, H.H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pensilvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.80, p. 2592-2598, 1997.

Wilson, D.J.; Gonzalez, R.N.; Hertl, J.A.; Schulte, H.F.; Bennett, G.J.; Schukken, Y.H.; Gröhn, Y.T. Effect of Clinical Mastitis on the Lactation Curve: A Mixed Model Estimation Using Daily Milk Weights. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2073-2084, 2004.

2 PREVALÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS BRASILEIROS: EFEITO DO TAMANHO DOS REBANHOS, ESTAÇÃO DO ANO E A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO TANQUE

PREVALENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS IN BRAZILIAN DAIRY HERDS: EFFECTS OF HERD SIZE, SEASONS AND BULK TANK SOMATIC CELL COUNT

Resumo

Os objetivos desse estudo foram estimar a prevalência da MS nos rebanhos brasileiros e analisar o efeito do tamanho dos rebanhos, estação do ano e CCST sobre a prevalência e categorias de CCS do tanque (CCST). O banco de dados final deste estudo consistiu-se de 7213 Testes Diários (TD) de 860 rebanhos brasileiros, no período de janeiro de 2016 a maio de 2018. A prevalência da MS foi definida como o número de vacas com CCS ≥ 200 mil céls/mL, dividido pelo número de vacas em lactação do rebanho. As variáveis prevalência da MS e a CCST (variáveis resposta) foram analisadas comparando-as dentro das diferentes categorias de tamanho de rebanho, estação do ano e contagem de células somáticas do tanque (variáveis preditoras). A média geral da prevalência da MS nos 860 rebanhos brasileiros no período estudado foi de 46,95%. Tanto a prevalência da MS como a CCST foram maiores no verão e outono (estações mais quentes e úmidas). Ocorreu interação entre o tamanho dos rebanhos e a categoria de CCST. Em rebanhos com baixa CCST (≤ 200 mil céls/mL) não houve efeito do tamanho dos rebanhos sobre a prevalência, entretanto nas categorias com maior CCST, os rebanhos menores apresentaram maior prevalência. Esse efeito não foi observado quando analisadas a CCST dentro das categorias de tamanho de rebanho. Os resultados deste estudo evidenciam que a prevalência da MS é afetada pela estação do ano, tamanho dos rebanhos e a CCST. A CCST pode não ser um bom indicador para estimar a prevalência da MS quando esta é > 200 mil céls/mL, principalmente em rebanhos com pequeno número de vacas.

Palavras-chave: Vacas leiteiras; Indicadores epidemiológicos; Infecção intramamária; Produção de leite

Abstract

The aim of this study were estimate the subclinical mastitis (SM) prevalence in Brazilian dairy herds and analyze the effects of herd size, season of the year and bulk tank somatic cell count (BTSCC) on prevalence and categories of the BTSCC. The database used had 7.213 test days from 860 Brazilian herds taken from January 2016 to May 2018. The SM prevalence was defined as number of the cows SCC ≥ 200.000 cell/mL divided by the lactation cows on the

herd. The SM and BTSCC (response variable) were analyzed compared them into the different herd size categories, season and BTSCC (predicted variables). The average of SM prevalence in the 860 Brazilian herds was 46.95%. Both the SM prevalence as the BTSCC were higher in the summer and fall (hottest and wet season). There was interaction between herd size and BTSCC category. In the herds with low BTSCC (≤ 200.000 cell/mL) there was no effect of herd size on prevalence, however, in the categories with high BTSCC, the lower herds showed higher prevalence. This effect was not observed when BTSCC was analyzed into of each herd size category. The results of this study show that SM prevalence is affected by the season of the year, herd size and BTSCC. The BTSCC may not be a great indicator to estimate the SM prevalence when it is > 200.000 cell/mL, mainly in small herds.

Keywords: Dairy cows; Epidemiology index; Intramamry infections; Milk production

2.1 Introdução

A mastite é considerada uma das doenças mais frequentes e de maior impacto para a cadeia do leite (Halasa et al., 2007). Infecções intramamárias, causadas principalmente por bactérias, são as principais causas da mastite clínica e subclínica, bem como da variação na contagem de células somáticas (CCS) do leite (Harmon, 1994; Schepers et al., 1997). Apesar da mastite subclínica (MS) não apresentar sintomas aparentes, esta é responsável pela redução na produção, qualidade, rendimento industrial e tempo de prateleira do leite (Barbano et al., 2006).

Indicadores epidemiológicos, como a prevalência da mastite subclínica, são importantes para diagnosticar a situação dos rebanhos frente a mastite e mensurar a eficácia de programas de controle (Ruegg, 2003). Vacas produzindo leite com CCS > 200 mil céls/mL são consideradas infectadas (Dohoo and Leslie, 1991). A prevalência é calculada a partir da percentagem de vacas infectadas sobre o número de vacas lactantes do rebanho.

A CCS do tanque (CCST) tem sido utilizada como indicador da prevalência da MS nos rebanhos leiteiros. Entretanto, parâmetros calculados a partir da CCS individual de todos os animais em lactação, como a prevalência, refletem com maior precisão a situação da MS em um rebanho leiteiro (Lievaart et al., 2007). Na CCST a grande variação da CCS individual das vacas, ponderada pela produção de leite, faz com que uma vaca possa ter maior ou menor efeito no tanque, enquanto que na prevalência cada vaca contribui de forma igualitária no resultado, em rebanhos com o mesmo número de vacas.

O tamanho dos rebanhos pode afetar a prevalência da MS. Rebanhos maiores, normalmente recebem maior investimento, possuem maquinários e equipamentos mais eficientes e recebem assistência técnica, por outro lado, rebanhos menores possibilitam o produtor ter cuidado individual com as vacas e identificar problemas mais facilmente (Plozza et al., 2011). Além disso, a forma como este indicador é calculado faz com que, em rebanhos pequenos, uma vaca infectada tenha maior impacto sobre a prevalência do que em rebanhos grandes.

O clima também pode afetar a prevalência, normalmente nas estações do ano mais quentes e úmidas a prevalência é maior, quando comparadas as mais frias e secas (Ruegg, 2003). Segundo Harmon, (1994), não há evidências de que o estresse térmico aumente diretamente a CCS em glândulas mamárias saudáveis. Entretanto, ambientes quentes e úmidos favorecem a proliferação de microrganismos, principalmente ambientais, e aumentam o número de patógenos aos quais as vacas estão expostas (Smith et al., 1985). A maior exposição, somada a menor resistência imunológica em função do menor consumo, aumentam a incidência de novas infecções (Machado, 1998).

Devido aos fatores citados anteriormente e as diferenças metodológicas, (N amostral, região de estudo, uso do California Mastitis Test (CMT) ou CCST para estimar a prevalência) dos trabalhos realizados no Brasil, os resultados de prevalência apresentaram grande variação. Em estudos regionais que avaliaram pequeno número de fazendas ($n = 5 - 44$), a prevalência variou de 15,6% a 63,6% (Cunha et al., 2015; Ziech et al., 2013; Oliveira et al., 2011; Oliveira et al., 2010; Bueno et al., 2002; Costa et al., 1999). Apenas um estudo avaliou grande população de rebanhos ($n = 517$) em vários estados do Brasil (Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Pará, Goiás, Ceará e Bahia), no qual apresentou prevalência de 46,4% (Busanello et al., 2017).

Sendo assim, os objetivos desse estudo foram estimar a prevalência da mastite subclínica em grande população de rebanhos brasileiros, de modo a ser possível diagnosticar a situação do Brasil frente a mastite subclínica e analisar o efeito do tamanho dos rebanhos, estações do ano e CCST sobre esse indicador.

2.2 Material e Métodos

O “Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology” (STROBE) (Sargeant e O’Connor, 2014), foi utilizado como diretriz para execução e escrita deste estudo. O banco de dados original incluía as variáveis CCS individual das vacas, CCST

e o número vacas em lactação dos rebanhos, totalizando 9848 testes diários (TD) de 1687 rebanhos e indústrias que enviaram amostras de leite para análise na Clínica do Leite (ESALQ/USP) entre janeiro de 2016 e maio 2018. Os rebanhos eram localizados nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito Federal, Sergipe, Rio Grande do Norte e Ceará, entretanto 87,66% dos rebanhos eram da região sudeste (São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo) e apenas 12,34% de outros estados.

A triagem dos dados foi feita respeitando critérios lógicos e de distribuição dos dados. Foram excluídos do banco de dados os rebanhos com extremos de prevalência e CCST (1% superior e 1% inferior) para evitar que possíveis envios de amostras de leite de parte dos rebanhos (lotes sadios ou infectados) fossem identificados como rebanhos com 0% ou 100% de prevalência, por exemplo. Desta forma, os rebanhos que permaneceram no estudo apresentaram prevalência $\geq 10\%$ e $\leq 95\%$ e CCST ≥ 50.000 e $\leq 2.500.000$. Outro critério utilizado para eliminar possíveis envios de parte dos rebanhos, foi excluir rebanhos que apresentaram coeficiente de variação da média do número de vacas $>35\%$ no período estudado (10% superiores). Também foram excluídos os rebanhos com valores extremos do número médio de vacas (5% superior e 5% inferior). Isso foi feito visando que a população estudada fosse a mais representativa possível, considerando as características dos rebanhos brasileiros. Assim, os rebanhos que permaneceram no estudo tinham ≥ 20 e ≤ 300 vacas. Após todas as exclusões, permaneceram no estudo 7213 TD de 860 rebanhos ($n = 860$) (Figura 1).

Figura 1. Descrição da triagem dos dados.

Para categorizar os rebanhos quanto ao seu tamanho, foram calculadas as médias aritméticas do número de vacas de cada rebanho no período estudado e posteriormente os 33° e 66° percentis, desta forma foram separados em: Pequeno (< 60 vacas em lactação), Médio (entre 60 e 110 vacas em lactação) e Grande (> 110 vacas em lactação). Os rebanhos foram separados também quanto a categoria de CCST, A (50 – 199 mil céls/mL), B (200 – 399 mil céls/mL), C (400 – 799 mil céls/mL) e D (≥ 800 mil céls/mL), além da estação do ano no qual a amostra foi enviada, Verão (janeiro, fevereiro e março), Outono (abril, maio e junho), Inverno (julho, agosto e setembro) e Primavera (outubro, novembro e dezembro).

O limite de 200 mil céls/mL foi utilizado para definir um caso de MS (Dohoo e Leslie, 1991). A prevalência de MS foi calculada a partir do número de vacas com CCS > 200 mil céls/mL dividido pelo número total de vacas do respectivo rebanho.

2.3 Análises estatísticas

Inicialmente foram calculadas medidas descritivas gerais para as variáveis prevalência de MS e CCST, dentro das categorias estudadas (estação do ano, tamanho do rebanho e categoria CCST) utilizando o PROC MEANS do SAS. A média aritmética foi utilizada como medida de tendência central para prevalência e mediana para CCST por esta variável não apresentar distribuição normal. O número de rebanhos e de testes enviados foram calculadas por meio do PROC FREQ do SAS.

Para estudar os efeitos dos fatores estação do ano, tamanho do rebanho e categoria CCST, um modelo linear generalizado misto foi aplicado por meio do PROC GLIMMIX do SAS. Neste modelo, a estação do ano, tamanho do rebanho e categoria CCST foram tratados como efeitos fixos, bem como suas interações de primeira ordem. A fazenda foi tratada como efeito aleatório e as medidas repetidas dentro da mesma fazenda foram consideradas na modelagem. As interações não significativas, foram retiradas do modelo para simplificá-lo. O ajuste do modelo foi verificado por meio dos critérios de informação Bayesiano e Akaike (BIC e AIC, respectivamente) (Wolfinger, 1993). Além disso, diferentes matrizes de variância-covariância foram testadas (autorregressiva de primeira ordem, autorregressiva de primeira ordem heterogênea, não-estruturada, simetria composta, simetria composta heterogênea, entre outras), sendo que a que resultou em melhor ajuste do modelo foi a de simetria composta em função dos menores valores de BIC e AIC. A distribuição normal foi utilizada no modelo para a prevalência de MS, enquanto que a distribuição lognormal foi utilizada para a CCST. Os resíduos de ambos os modelos foram verificados quanto à

normalidade por meio de histogramas, gráficos quantil-quantil e testes estatísticos (PROC UNIVARIATE do SAS) e atenderam tal pressuposição. O modelo geral segue abaixo:

$$y_{ijk} \text{ ou } \log(y_{ijk}) = \alpha + \beta_{ij}(X) + \delta_k + \varepsilon_{ijk}$$

onde,

y_{ijk} ou $\log(y_{ijk})$ = prevalência de MS e log de CCST, respectivamente;

α = constante;

$\beta_{ij}(X)$ = i -ésimo coeficiente para a j -ésima variável explicatória (estação do ano, tamanho do rebanho e categoria CCST e interações de primeira ordem);

δ_k = efeito aleatório da k -ésima fazenda;

ε_{ijk} = erro aleatório associado à observação y_{ijk} ou $\log(y_{ijk})$.

Quando uma variável preditora foi significativa, as comparações entre as categorias foram feitas por meio do teste de Tukey-Kramer utilizando o método de mínimos quadrados. Com relação às interações, apenas a interação entre categoria de CCST e tamanho de rebanho foi significativa em ambos os modelos (para prevalência e CCST) e permaneceu no modelo final. O estudo da interação foi realizado por meio do desdobramento da mesma, onde os níveis de tamanho de rebanho foram comparados dentro das categorias de CCST e vice-versa, também utilizando o teste de Tukey-Kramer e o método de mínimos quadrados. Todas as análises foram realizadas utilizando software SAS University Edition (SAS Institute, 2012). Foram consideradas diferenças estatísticas significativas ao nível de 0,05 (5%) de probabilidade.

2.4 Resultados

O banco de dados final consistiu-se de 7.213 TD de 860 rebanhos. A maioria dos rebanhos pertenciam a região sudeste do Brasil (87,66%), seguido do centro oeste (6,75%), sul (4,78%) e demais regiões (0,81%). As informações referentes a estação do ano foram obtidas de 204 (2183 testes), 190 (1884 testes), 244 (1650 testes) e 222 (1496 testes) rebanhos para verão, outono, inverno e primavera, respectivamente. A mediana do tamanho dos rebanhos foi de 81 (variando de 21 – 299 vacas em lactação). Após a separação quanto ao

tamanho dos rebanhos, a mediana foi de 43 (variando de 21–59), 81 (variando de 60–109) e 152 (variando de 110–299) para rebanhos pequenos, médios e grandes, respectivamente.

A média da prevalência da MS de todos os testes analisados durante o período estudado foi de 46,95% (variando de 10,23% - 94,90%) (Tabela 1). Dentre os testes analisados, 25% (terceiro quartil) dos rebanhos apresentaram prevalência > 58,65%. A prevalência da MS e a CCST apresentaram variação sazonal no período entre janeiro de 2016 e maio de 2018 (Figura 2). A média de prevalência foi de 47,94%, 45,86% e 47,46% em 2016, 2017 e 2018, respectivamente. A mediana da CCST foi de 440, 416 e 434 mil céls/mL em 2016, 2017 e 2018, respectivamente. Não foram feitas comparações entre os anos.

Figura 2. Variação da prevalência da MS (linha sólida) e CCST (linha pontilhada) entre jan/2016 e mai/2018.

A mediana da CCST, entre todos os testes realizados, foi de 415 mil céls/mL (variando de 52 – 2496 mil céls/mL). Quando separados em categorias de CCST, os rebanhos apresentaram mediana de 157, 338, 615 e 1.038 mil céls/mL para as categorias A, B, C e D, respectivamente (Tabela 1). A distribuição dos rebanhos dentro das categorias de CCST, foi de 16%, 54%, 16% e 14% para A, B, C e D, respectivamente.

Tabela 1. Estatística descritiva da prevalência e CCST, dentro das diferentes categorias de estação, tamanho de rebanho e categoria de CCS¹

Variável	Rebanhos		Testes		Prevalência (%) ²			CCS x 1000 (cél/s/mL)		
	N	%	N	%	Min	Média (STD)	Max	Min	Mediana (IIQ)	Max
Total	860	100	7213	100	10,23	46,95 (16,98)	94,90	52,00	415 (360)	2496,00
Estação do ano³										
Verão	204	24	2183	30	10,23	49,25 (17,08)	94,83	64	373 (307)	2493
Outono	190	22	1884	26	11,11	48,61 (16,74)	94,23	52	428 (360)	2463
Inverno	244	28	1650	23	10,42	44,59 (16,43)	93,33	55	381 (340)	2496
Primavera	222	26	1496	21	10,81	44,14 (17,02)	94,83	53	459 (411)	2488
Tamanho do Rebanho⁴										
Pequeno	296	34	1983	27	10,42	49,60 (18,77)	94,83	64	444 (427)	2488
Médio	272	32	2154	30	10,77	47,48 (17,18)	94,90	53	427 (362)	2496
Grande	292	34	3076	43	10,23	44,88 (15,29)	93,44	52	368 (314)	2424
Categoria de CCST⁵										
A	140	16	834	12	10,23	26,45 (10,13)	83,01	52	157 (52)	199
B	467	54	3626	50	10,42	41,36 (11,48)	85,00	200	338 (139)	499
C	137	16	1668	23	18,75	55,69 (12,35)	93,75	500	615 (148)	799
D	116	14	1085	15	25,00	67,97 (13,34)	94,90	800	1038 (396)	2496

¹Dados de 7213 TD de 860 rebanhos, analisados entre janeiro de 2016 e maio de 2018.

²A prevalência foi calculada considerando como vacas infectadas as que apresentaram CCS > 200 mil células/mL, dividido pelo número de vacas do rebanho.

³Estação do ano: Verão (janeiro, fevereiro e março), Outono (abril, maio e junho), Inverno (julho, agosto e setembro) e Primavera (outubro, novembro e dezembro);

⁴Tamanho do rebanho: P (< 60 vacas em lactação), M (entre 60 e 110 vacas em lactação) e G (> 110 vacas em lactação);

⁵Categoria de CCST: A (50 – 199 mil células/mL), B (200 – 399 mil células/mL), C (400 – 799 mil células/mL) e D (≥ 800 mil células/mL).

As estações do ano tiveram influência na prevalência da MS ($p < 0,0001$) e na CCST ($p = 0,0038$). As prevalências foram maiores no Verão e Outono (51,45% e 51,02%), quando comparados com o Inverno e Primavera (48,47% e 48,31%). Da mesma forma, a CCST foi maior no verão e outono (443 e 436 mil céls/mL) do que no Inverno e Primavera (425 e 427 mil céls/mL) (Tabela 2).

Dentre todas as possíveis interações entre as variáveis (estação do ano, tamanho do rebanho e CCST), apenas a interação entre tamanho do rebanho e categoria de CCST foi significativa para ambas as variáveis, prevalência ($p = 0,0015$) e CCST ($p < 0,0001$). Ao explorar essa interação pode-se observar que na categoria de CCST “A” não houve diferença na prevalência entre os diferentes tamanhos de rebanho, mas para as demais categorias (“B”, “C” e “D”) os rebanhos pequenos tiveram maior prevalência em comparação aos grandes, enquanto que os médios não diferiram dos pequenos e dos grandes (Tabela 2).

2.5 Discussão

O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência da MS nos rebanhos brasileiros e analisar os efeitos do tamanho do rebanho, estação do ano e CCST sobre este indicador. A média de prevalência (46,95%) encontrada neste estudo é um resultado alarmante, pois indica que quase metade das vacas dos rebanhos estudados estão infectadas subcl clinicamente, sendo que a recomendação para prevalência nos Estados Unidos, por exemplo, é $< 15\%$ (Ruegg e Pantoja, 2013). Além disso, mostram que o controle da mastite no Brasil não vem melhorando ao longo dos anos, visto que no estudo conduzido por Busanello et al., (2017), no qual foram avaliados 517 rebanhos Brasileiros, a prevalência média encontrada foi de 46,40% no período entre 2011 a 2015.

Vários fatores podem explicar o grande número de vacas infectadas e, a consequente alta CCST nos rebanhos avaliados. No Brasil, apenas 14% dos produtores são submetidos a programas de pagamento por qualidade (Machado et al., 2016), a grande maioria ainda recebe por volume, pouco importando a concentração de sólidos no leite e aspectos sanitários como CCS e CBT. O governo brasileiro estabelece critérios para padronização do leite e limites para a CCS (500.000 céls/mL) e CBT (300.000 UFC/mL) (Instrução Normativa Nº 76, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018), entretanto não é previsto qualquer tipo de penalização, ficando a critério da indústria a comercialização, ou não, do leite fora dos padrões. Os produtores brasileiros, muitas vezes negligenciam os casos de mastite subclínica em razão da ausência de sintomas aparentes e por não gerarem custos

imediatos com medicamentos e serviços veterinários. Além disso, poucos produtores participam de programas de Controle Leiteiro Oficial, equivalente ao DHIA nos EUA, sendo que no Brasil existem poucas iniciativas desse tipo.

Outro ponto que chama atenção nos resultados encontrados nesse estudo, é a alta prevalência (média de 26,45%) em rebanhos com baixa CCST (mediana de 159 mil céls/mL), enquanto que a prevalência, para o mesmo nível de CCST, em estudo realizado na Holanda foi < 15% (Lievaart et al., 2007).

A baixa CCST normalmente é associada a rebanhos com poucas vacas com MS e poucos casos de infecções por patógenos primários (Erskine and Eberhart, 1988). Entretanto, a grande variação da CCS individual, em função do tipo de microrganismo que está causando a mastite e a resposta imune de cada vaca a infecção, fazem com que seja possível a CCST ser baixa em rebanhos onde a prevalência é elevada. Em geral, patógenos primários como *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus agalactiae*, provocam maior resposta imune, em comparação com patógenos secundários como *Corynebacterium* e *Staphylococcus* coagulase-negativa (Bradley e Green, 2005). Tem sido reportado na literatura que a prevalência de *Corynebacterium* spp. varia de 10-25% (Haltia et al., 2006; Schukken et al., 2009), em estudo realizado em 21 rebanhos brasileiros, esse microrganismo foi encontrado em 15,79% dos casos de mastite subclínica (Gonçalves et al., 2014).

Infecções envolvendo patógenos primários são mais propensas em resultar, a nível de vaca, CCS > 200 mil céls/mL, enquanto que patógenos secundários variam de 50 a 150 mil céls/mL (Bradley and Green, 2005). Como as infecções causadas por patógenos secundários normalmente levam a aumentos moderados na CCS, as correlações entre a prevalência e infecções causadas por este tipo de patógeno são baixas ou inexistentes (Eberhart et al., 1982), ou seja, o aumento de casos de mastite subclínica causados por microrganismos secundários, como *Corynebacterium* spp. podem resultar em aumento na prevalência com pouco efeito sobre a CCST.

Outro fator que pode contribuir para a alta prevalência (número de vacas com CCS > 200 mil céls/mL) em rebanhos com baixa CCST são os problemas reprodutivos encontrados nos rebanhos brasileiros. O intervalo entre partos no Brasil varia de 13 a 19 meses (Grossi e Freitas, 2002; Leite et al., 2001; Marques, et al., 2002) e a CCS individual é influenciada pelo número de partos e o estágio de lactação (Gonçalves, et al., 2018), sendo que, em lactações prolongadas, as vacas passam a produzir menos e ocorre concentração de células somáticas

(Harmon, 1994). Nessa condição, a prevalência é aumentada, mas como as vacas produzem menos, contribuem pouco para a CCST.

Em alguns rebanhos os produtores podem utilizar a estratégia de descartar leite com alta CCS para que não sejam penalizados pela baixa qualidade, normalmente isso ocorre quando a CCS está próxima do limiar de penalização. Assim, esses rebanhos apresentam alta prevalência, com pouco reflexo na CCST.

A sazonalidade da prevalência e CCST apresentada nesse estudo, pode ser explicada pela variação climática das regiões estudadas. Nas regiões sudeste e centro-oeste do Brasil (94,41% dos dados) o clima predominante é o tropical, ou seja, existe divisão bem definida entre os períodos quente/chuvoso e frio/seco. No período entre outubro e março (estação chuvosa) dos anos estudados, a prevalência e a CCST foram maiores em comparação aos demais meses. Isso pode ser explicado pela maior proliferação de microrganismos causadores da mastite em ambientes com maior temperatura e umidade Riekerink et al. (2007). A maior exposição dos tetos a esses agentes, aliado à redução da imunidade das vacas, devido ao menor consumo, podem aumentar a susceptibilidade das vacas, a incidência e a prevalência de mastite. Smith et al. (1985) sugerem que os aumentos da temperatura e de umidade favorecem a proliferação de coliformes no material das camas das vacas, por exemplo, que conseqüentemente resultam no aumento dos casos de mastite.

A CCST, por sua vez, é influenciada principalmente pela prevalência e incidência da mastite subclínica e clínica, que depende de fatores como estágio da lactação, tipo de alojamento, manejo e fatores ambientais como a temperatura, umidade e estação do ano. (Hogan et al., 1989; Laevens et al., 1997). Riekerink et al. (2007) sugerem que o comportamento sazonal da CCST é explicado em parte pelo estágio de lactação médio dos rebanhos, especialmente em rebanhos onde existe estação de parição.

A CCST tem sido utilizada como indicador da prevalência da MS em rebanhos leiteiros (Lievaart et al., 2007). Entretanto, apesar da CCST apresentar variação semelhante a prevalência nos diferentes meses do ano, em alguns momentos as curvas desses indicadores se distanciam, evidenciando a limitação da CCST em estimar a prevalência dos rebanhos. Isso ocorre, devido a forma com que estes indicadores são calculados e o perfil dos microrganismos que estão causando as infecções. Na prevalência o efeito de cada vaca do rebanho é igual, enquanto que na CCST este efeito é ponderado pela CCS e produção individual. Sendo assim, vacas com alta CCS e alta produção podem elevar muito a CCST e representar apenas uma unidade na prevalência.

Analisando os resultados de prevalência, entre os tamanhos de rebanho e as categorias de CCST (Tabela 2), é possível observar que nos rebanhos com baixa CCST (≤ 200 mil céls/mL) não houve diferença na prevalência, independentemente do tamanho dos rebanhos. Isso pode ter ocorrido devido a escolha do limite da categoria “A” de CCST (200 mil céls/mL) ser o mesmo valor utilizado como limiar para considerar uma vaca infectada ou sadia. Desta forma, em tanques no qual a CCS é baixa, poucas vacas apresentaram CCS > 200 mil céls/mL e a prevalência não foi alterada nos diferentes tamanhos de rebanho.

A maioria dos trabalhos que avaliaram o efeito dos tamanhos dos rebanhos sobre a mastite, utilizaram a CCST como indicador. Jayarao et al. (2004), Ruegg (2003), Van Schaik et al. (2002) e Norman et al. (2000) sugerem que em rebanhos maiores a CCST é menor. Quando a prevalência é utilizada como indicador, são relatados resultados semelhantes aos de CCST, no qual a prevalência é menor em rebanhos maiores. Em trabalho realizado na Austrália, Plozza et al. (2011) categorizou os rebanhos quanto a prevalência e verificou que na categoria de prevalência $< 20\%$ a média do tamanho dos rebanhos era de 172 vacas, enquanto que na categoria $> 30\%$, 154 vacas.

No Brasil, apenas o estudo de Busanello, et al., 2017 comparou a prevalência em diferentes tamanhos de rebanhos, não encontrando diferenças significativas. Também no Brasil, Marcondes et al. (2017) avaliou a CCST em rebanhos com diferentes níveis de produção e verificou que aqueles que produzem entre 1000 e 5000 L/dia apresentaram menor CCST (~ 50 mil céls/mL), quando comparados com os que produzem menos de 1000 L/dia.

Existem várias explicações para a maior prevalência em rebanhos menores, Marcondes et al. (2017) sugere que pequenos produtores têm problemas para identificar casos de mastite subclínica, executam manejo inadequado na ordenha e, provavelmente, possuem menor taxa de descarte, mantendo no rebanho animais mais velhos e com casos crônicos de mastite. Por outro lado, produtores maiores encontram desafios em promover ambiente adequado com a maior densidade animal e identificar casos crônicos de mastite.

Apesar dos fatores citados anteriormente contribuírem para o aumento da prevalência nos rebanhos, o principal motivo para que rebanhos menores apresentem maior prevalência é matemático. Como a prevalência é calculada a partir do número de vacas lactantes do rebanho, dividido pelo número de vacas com mastite subclínica (CCS > 200 mil céls/mL), quando maior for o dividendo (número de vacas em lactação), menor a contribuição de uma vaca no cálculo da prevalência. Por exemplo, duas vacas com mastite subclínica em um rebanho de 10 vacas representam 20% de prevalência, enquanto que, para um rebanho de 100 vacas, apenas 2%.

Tabela 2. Resultados da modelagem para prevalência da MS e CCST nas diferentes estações do ano, tamanhos de rebanho e categorias de CCS, bem como entre a interação de tamanho de rebanho e categoria de CCST

Variáveis	Prev. (%)	95% IC	P-valor	CCST x 1000 (célis/mL)	95% IC	P-valor
Estação do ano¹			<0,0001			<0,0001
Verão	51,45 a	50,67 - 52,22		443 a	437 - 448	
Outono	51,02 a	50,23 - 51,82		436 a	430 - 441	
Inverno	48,47 b	47,67 - 49,28		425 b	419 - 430	
Primavera	48,31 b	47,49 - 49,13		427 b	421 - 433	
Tamanho do rebanho²			0,0002			0,2772
Pequeno	51,58 a	50,34 - 52,82		437 a	430 - 445	
Médio	49,97 ab	48,69 - 51,25		430 a	423 - 437	
Grande	47,88 b	46,67 - 49,10		430 a	423 - 437	
Categorias de CCST³			<0,0001			<0,0001
A	36,59 d	35,58 - 37,60		161 d	158 - 165	
B	45,58 c	44,82 - 46,33		338 c	335 - 342	
C	54,72 b	53,91 - 55,53		608 b	600 - 616	
D	62,37 a	61,46 - 63,28		1052 a	1035 - 1069	
Tamanho do Rebanho*Categoria de CCST			0,0015			<0,0001
A						
P	36,84 Da	35,05 - 38,63		158 Da	153 - 164	
M	36,72 Da	34,90 - 38,55		158 Da	152 - 163	
G	36,19 Da	34,57 - 37,81		168 Da	164 - 174	
B						
P	47,18 Ca	45,85 - 48,52		339 Ca	333 - 346	
M	46,22 Cab	44,87 - 47,56		339 Ca	333 - 346	
G	43,33 Cb	42,08 - 44,58		336 Ca	331 - 342	
C						
P	57,32 Ba	55,91 - 58,73		624 Ba	609 - 639	
M	54,55 Bab	53,12 - 55,98		606 Ba	592 - 621	
G	52,28 Bb	50,92 - 53,64		596 Ba	583 - 609	
D						
P	64,98 Aa	63,45 - 66,51		1089 Aa	1060 - 1119	
M	62,40 Aab	60,77 - 64,03		1054 Aa	1024 - 1085	
G	59,73 Ab	58,17 - 61,29		1014 Aa	987 - 1043	

IC: Intervalo de Confiança; $P = < 0,05$;

Letras minúsculas indicam diferença entre as médias das estações, tamanho do rebanho e categorias de CCS, segundo o teste de Tukey-Kramer;

Estudo da interação (Tamanho do Rebanho*Categoria de CCST): letras maiúsculas indicam diferença entre categorias de CCS dentro de categorias de determinado tamanho de rebanho, enquanto que as minúsculas indicam diferença entre tamanho de rebanho dentro de determinada categoria de CCS, segundo o teste de Tukey-Kramer

¹Estação do ano: Verão (janeiro, fevereiro e março), Outono (abril, maio e junho), Inverno (julho, agosto e setembro) e Primavera (outubro, novembro e dezembro);

²Tamanho do rebanho: P (< 60 vacas em lactação), M (60 e 110 vacas em lactação) e G (> 110 vacas em lactação);

³Categorias de CCST: A (50 – 199 mil células/mL), B (200 – 399 mil células/mL), C (400 – 799 mil células/mL) e D ($\geq$ 800 mil células/mL).

Apesar dos resultados encontrados nesse estudo evidenciarem que a prevalência é afetada pela estação do ano (3,14% maior no verão do que na primavera) e pelo tamanho dos

rebanhos, considerando a CCST ($\cong$ 5% maior prevalência nos rebanhos com < 60 vacas do que nos rebanhos > 110 vacas, quando a CCST é > 200 mil céls/mL). Essas diferenças estatísticas encontradas têm pouco impacto na prática, pois não resultam em considerável melhora ou piora na qualidade do leite produzido, em outras palavras, os produtores devem considerar essas informações como um alerta e não como limitação para seus sistemas de produção. Para melhor a qualidade do leite, o Brasil precisa de iniciativas que reduzam consideravelmente a prevalência.

É importante frisar que, apesar deste estudo ser o mais abrangente já realizado no Brasil para diagnosticar a prevalência e a CCST, 94,41% dos dados são da região sudeste e centro-oeste, o que pode limitar a extrapolação dos resultados a nível de país. Outras limitações importantes desse estudo, são a falta de variáveis como a ordem de lactação e estágio de lactação individuais, variáveis estas que afetam a CCS e, conseqüentemente, os resultados de prevalência.

2.6 Conclusões

A mastite subclínica acomete quase metade das vacas dos rebanhos avaliados. A prevalência é afetada pela estação do ano, climas mais quentes e úmidos apresentam maior prevalência em comparação aos mais frios e secos. O tamanho dos rebanhos afeta a prevalência apenas naqueles que apresentam CCST > 200 mil céls/mL, sendo que, nessas condições, os rebanhos menores (< 60 vacas) têm maior prevalência quando comparados com os médios (60 – 110 vacas) e grandes (> 110).

Referências

Bradley, A., Green, M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. **In practice**, v. 27, p. 310-315, 2005.

Barbano, D. M., Ma, Y., & Santos, M. V. Influence of Raw Milk Quality on Fluid Milk Shelf Life. **Journal of Dairy Science**, v. 89, 2006.

Bueno, V. F. F., R. S. Nicolau, A. J. Mesquita, A. R. Ribeiro, J. A. B. Silva, E. O. Costa, K. O. Coelho, and R. B. Neves. Mastite bovina clínica e subclínica na região de Pirassununga, SP: Frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 3, p. 47-52, 2002.

Busanello, M., Rossi, R. S., Cassoli, L. D., Pantoja, J. C., & Machado, P. F. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 8, p. 6545-6553, 2017.

Costa, E. O., A. R. Ribeiro, E. T. Watanabe, J. A. B. Silva, F. Garino Júnior, N. R. Benites, and A. M. Horiuti. Mastite subclínica: Prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **Revista Napgama**. v. 2, p. 16-20, 1999.

Cunha, A. F., L. J. Bragança, L. C. Quintão, S. Q. Silva, F. N. Souza, and M. M. O. P. Cerqueira. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinaria Brasilica** v. 9, p. 160-166, 2015.

Dohoo, I. R., and K. E. Leslie. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 10, p. 225-237, 1991.

Eberhart, R. J.; Hutchinson, L. J.; Spencer, S. B. Relationships of bulk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. **Journal of Food Protection**, v. 45, p. 1125-1128, 1982.

Erskine, R.J. and Eberhart, R.J. Comparison of duplicate and single quarter milk samples for the identification of intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 854-856, 1988.

Gonçalves, J. L., Tomazi, T., Barreiro, J. R., de Campos Braga, P. A., Ferreira, C. R., Junior, J. P. A., Eberlin, M. N., dos Santos, M. V. Identification of *Corynebacterium* spp. isolated from bovine intramammary infections by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. **Veterinary microbiology**, v. 173, p. 147-151, 2014.

Gonçalves, J. L., Cue, R. I., Botaro, B. G., Horst, J. A., Valloto, A. A., e Santos, M. V. Milk losses associated with somatic cell counts by parity and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, .4357-4366, 2018.

Grossi, S. F.; Freitas, M. A. R. Eficiência reprodutiva e produtiva em rebanhos leiteiros comerciais monitorados por sistema informatizado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 1362-1366, 2002.

Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., e Hogeveen, H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. **Veterinary Quarterly**, v. 29, p. 18-31, 2007.

Haltia, L., Honkanen-Buzalski, T., Spiridonova, I., Olkonen, A., Myllys, V. A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 48, p. 22, 2006.

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

Hogan, J. S., K. L. Smith, K. H. Hoblet, D. A. Todhunter, P. S. Schoenberger, W. D. Hueston, D. E. Pritchard, G. L. Bowman, L. E. Heider, and B. L. Brockett. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 250-258, 1989.

Jayarao, B. M., Pillai, S. R., Sawant, A. A., Wolfgang, D. R., & Hegde, N. V. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3561-3573, 2004.

Laevens, H., H. Deluyker, Y. H. Schukken, L. De Meulemeester, R. Vandermeersch, E. De Muelenaere, and A. de Kruif. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 3219-3226, 1997.

Leite, T.E.; Moraes, J.C.F.; Pimentel, C.A. Eficiência reprodutiva em vacas leiteiras. **Ciência Rural**, v. 31, p. 467-472, 2001.

Lievaart, J. J.; Kremer, W. D. J.; Barkema, H. W. Comparison of bulk milk, yield-corrected, and average somatic cell counts as parameters to summarize the subclinical mastitis situation in a dairy herd. **Journal of dairy science**, v. 90, p. 4145-4148, 2007.

Machado, P.F. Efeitos da alta temperatura sobre a produção, reprodução e sanidade de bovinos leiteiros. In: SILVA, I.J.O. **Ambiência na produção de leite em clima quente**. Piracicaba, SP: FEALQ, p. 179-188, 1998.

Machado, P.F., Cassoli, L.D., Silva, J. Contagem de Células Somáticas (CCS). **Mapa da Qualidade do Leite**. Piracicaba, SP, v. 1. 2016.

Marcondes, M. I., Brandão, V. L. N., Ferreira, G. A. T., & Silva, A. L. D. Impact of farm size on milk quality in the Brazilian dairy industry according to the seasons of the year. **Ciência Rural**, v. 47, 2017.

Marques, V. M.; Reis, R. P.; Sáfiadi, T.; Reis, A. J. dos. Custo e escala na pecuária leiteira: estudos de casos em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, p. 1027-1034, 2002.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite cru refrigerado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, Brasil, 2018.

Norman, H. D., R. H. Miller, J. R. Right, and C. R. Wiggans. Herd and state means and somatic cell count from dairy herd improvement. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p. 2805-2809, 2000.

Oliveira, C. M. C., M. G. S. Sousa, N. S. Silva, C. L. Mendonça, J. A. S. Silveira, R. P. Oaigen, S. J. T. Andrade, and J. D. Barbosa. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, p. 104-110, 2011.

Oliveira, U. V., G. S. Galvão, A. R. R. Paixão, and A. D. Munhoz. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim**, v. 11, p. 630-640, 2010.

Plozza, K., Lievaart, J., Potts, G., & Barkema, H. Subclinical mastitis and associated risk factors on dairy farms in New South Wales. **Australian Veterinary Journal**, v. 89, p. 41-46, 2011.

Riekerink, RGM Olde; Barkema, H. W.; Stryhn, H. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1704-1715, 2007.

Ruegg, P. L. Investigation of mastitis problems on farms. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 19 p. 47-74, 2003.

Ruegg, P. L.; Pantoja, J. C. F. Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, p. 101-117, 2013.

Sargeant, J. M., and A. M. O'Connor. Issues of reporting in observational studies in veterinary medicine. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 113, p. 323-330, 2014.

SAS Institute, Inc. (2012). SAS OnDemand for Academics. Release 9.04.01M5P09132017. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. Disponível em: <https://odamid.oda.sas.com/SASStudio/>

Schepers, A. J. et al. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1833-1840, 1997.

Smith, K.L., Todhunter, D.A., Schoenberger, P.S. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 1531-1553, 1985.

Schukken, Y.H., Gonzalez, R.N., Tikofsky, L.L., Schulte, H.F., Santisteban, C.G., Welcome, F.L., Bennett, G.J., Zurakowski, M.J., Zadoks, R.N. CNS mastitis: nothing to worry about? **Veterinary Microbiology**, v.134, p. 9–14, 2009.

Van Schaik, G., M. Lotem, and Y. H. Schukken. Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State During 1999–2000. **Journal of Dairy Science**. v. 85, p. 782–789, 2002.

Ziech, R. E., C. Balzan, C. R. R. Nilles, A. C. Vargas, C. Lampugnani, and A. P. Perin. Ocorrência e etiologia da mastite subclínica e avaliação da qualidade microbiológica do leite cru na região central do RS. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 139–140, 2013.

Wolfinger, R. Covariance structure selection in general mixed models. **Community of Statistics – Simulation**, v. 22, p. 1079-1106, 1993.

3 EFEITO DA PREVALÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE A COMPOSIÇÃO DO LEITE DE REBANHOS BRASILEIROS

EFFECT OF SUBCLINICAL MASTITIS PREVALENCE ON MILK COMPOSITION OF BRAZILIAN DAIRY HERDS

Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da prevalência da mastite subclínica e sobre a composição do leite de rebanhos brasileiros. Para isso, foram analisados 4817 testes diários de 620 fazendas que enviaram amostras de leite para a “Clínica do Leite” no período entre janeiro de 2016 e maio 2018. Foram compiladas as variáveis CCS individual das vacas (mil céls/mL), número de vacas do rebanho, CCS do tanque (CCST) (mil céls/mL), produção média do rebanho (L/vaca/dia) e os constituintes do leite do tanque: gordura (%), proteína (%), caseína (%), lactose (%), extrato seco total (EST) (%) e nitrogênio ureico do leite (NUL) (mg/dL). Os rebanhos foram categorizados quanto a prevalência e realizadas análises descritivas e de comparação de médias. Análises de regressão foram empregadas para estudar os efeitos quantitativos da prevalência sobre a composição e produção do leite. Para avaliar o grau de associação entre as variáveis de forma conjunta, foi utilizada a análise de correspondência multivariada. A média de prevalência entre todos os rebanhos avaliados foi de 45,23% e a mediana da CCST de 388 mil céls/mL. Com o aumento da prevalência dos rebanhos a produção de leite foi reduzida e a CCS do tanque aumentada. A lactose foi o único sólido do leite que apresentou redução na sua concentração com o aumento da prevalência, entretanto, quando foram avaliados a produção de sólidos dos rebanhos em kg/dia, a gordura, proteína, lactose e o extrato seco total (EST) apresentaram redução em função da menor produção de leite. As variáveis categorizadas mais associadas com a “alta prevalência” são a “alta CCST” e a “baixa lactose”, evidenciando que os principais efeitos do aumento da prevalência são a elevação da CCST e a redução da lactose.

Palavras-chave: Sólidos do leite; Infecção intramamária; Contagem de células somáticas; Vacas leiteiras; Produção de leite

Abstract

The aim of this study was to evaluate the subclinical mastitis prevalence effects on the milk composition. Thus, there were analyzed 4.817 test days from 620 farms that sent their milks samples to the Clínica do Leite” Laboratory from January 2016 to May 2018. There were collected data about SCC at cow level (cell/mL), number of the cows, bulk tank somatic cell count (BTSCC), milk production at herd level (L/cow/day) and bulk tank milk components: fat (%), protein (%), casein (%), lactose (%), total dry extract (%) and milk urea nitrogen (MUN) (mg/dL). The herds there were categorized according to the prevalence and descriptive and t-student analysis were performed. Regression analysis were

taken to evaluate the quantitative effects on milk production and composition. To evaluate the association level between the variables, it was used the multivariate analysis. The prevalence average between the herds was 45.23% and the BTSCC median was 388.000 cell/mL. With the increase of the prevalence of the herds the milk production was reduced and the tank CCS increased. The lactose concentration decreased when prevalence was high, however, when the solids production (kg/d) was evaluated, fat, protein, lactose and total dry extract decreased due to lower milk production. The categorized variables more associated with the high prevalence are “higher BTSCC” and “lower lactose”, evidencing that the mainly effects of the prevalence increasing are the high BTSCC and low lactose.

Keywords: Milk solids; Intramamary infection; Somatic cell count; Dairy cows.
Milk production

3.1 Introdução

A mastite consiste em inflamação da glândula mamária que normalmente resulta em aumento na contagem de células somáticas (CCS), redução na produção, qualidade e rendimento industrial dos produtos lácteos. A CCS é um indicador da intensidade da resposta imune, entretanto úberes saudáveis podem apresentar níveis basais de CCS que variam de 50 a 200 mil céls/mL, dependendo da idade e estágio fisiológico da vaca (Urech et al., 1999). Vacas produzindo leite com CCS > 200.000 céls/mL são consideradas infectadas (Dohoo and Leslie, 1991) e a prevalência da mastite subclínica (MS) é calculada a partir da percentagem de vacas infectadas sobre o número de vacas lactantes do rebanho.

Vacas com mastite subclínica podem excretar de 200 mil a milhões de células somáticas por mililitro (Reneau, 1986). Devido à grande variação na CCS e na produção de cada vaca, a CCS do tanque (CCST) pode apresentar alta contagem com baixa prevalência de MS no rebanho e vice-versa. Por essa razão, a prevalência da MS é melhor indicador para diagnosticar a situação de um rebanho comparado à CCST.

Leite de vacas infectadas apresentam mudanças nos principais constituintes: proteína, gordura, lactose e minerais (Cinar et al., 2015). Essas mudanças são devido a reações inflamatórias nas células secretoras e mudanças na permeabilidade da glândula mamária (Harmon, 1994).

Alguns trabalhos avaliaram o efeito da mastite subclínica sobre a composição do leite nos rebanhos brasileiros (Pereira et al., 1999; Machado et al., 2000; Bueno et al., 2005; Cunha et al., 2008; Dos Reis et al., 2013). Entretanto, a maioria dos estudos utilizou a CCST como indicador para a MS, dado normalmente disponível nas fazendas e de mais fácil

obtenção quando comparado com a prevalência da MS, no qual são necessárias análises de cada animal. Estes estudos também apresentam como limitações não especificar o número de rebanhos e as regiões analisadas ou fazem referência a apenas uma região do país com poucos rebanhos, não sendo possível estimar a situação a nível de país.

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da prevalência de MS sobre os principais constituintes do leite de rebanhos brasileiros rebanhos, além descrever a variação ao longo do tempo desses constituintes.

3.2 Material e Métodos

O “Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology” (STROBE), foi utilizado como diretriz para os resultados deste estudo (Sargeant and O’Connor, 2014). O banco de dados original consistiu em 9848 testes diários (TD) de 1687 rebanhos que enviaram amostras de leite para a Clínica do Leite (ESALQ/USP) entre janeiro de 2016 e maio 2018. A triagem dos dados foi feita respeitando critérios lógicos e de distribuição dos dados. Foram excluídos do banco de dados os rebanhos com extremos de prevalência e CCST (1% superior e 1% inferior) para evitar que possíveis envios de amostras de leite de parte dos rebanhos (lotes sadios ou infectados) fossem identificados como rebanhos com 0% ou 100% de prevalência, por exemplo. Desta forma, os rebanhos que permaneceram no estudo apresentaram prevalência $\geq 10\%$ e $\leq 95\%$ e CCST ≥ 50.000 e $\leq 2.500.000$. Outro critério utilizado para eliminar possíveis envios de parte dos rebanhos, foi excluir rebanhos que apresentaram coeficiente de variação da média do número de vacas $>35\%$ no período estudado (10% superiores). Também foram excluídos os rebanhos com valores extremos do número médio de vacas (5% superior e 5% inferior). Isso foi feito visando que a população estudada fosse a mais representativa possível, considerando as características dos rebanhos brasileiros. Assim, os rebanhos que permaneceram no estudo tinham ≥ 20 e ≤ 300 vacas. Após todas as exclusões, permaneceram no estudo 7213 TD de 860 rebanhos ($n = 860$) (Figura 1).

Desses rebanhos, foram compiladas as seguintes variáveis: CCS individual das vacas (mil céls/mL), número de vacas do rebanho, CCST (mil céls/mL), produção média do rebanho (L/vaca/dia) e os constituintes do leite do tanque: gordura (%), proteína (%), caseína (%), lactose (%), extrato seco total (EST) (%) e nitrogênio ureico (NUL) (mg/dL). A partir da CCS individual das vacas e o número de vacas de cada rebanho, foi calculada a prevalência da MS. As vacas que apresentaram CCS > 200.000 céls/mL foram consideradas infectadas (Dohoo

and Leslie, 1991). A triagem dos dados foi feita respeitando critérios lógicos e de distribuição dos dados. Foram excluídos do banco de dados observações que apresentaram valores extremos de gordura, proteína, lactose, NUL e EST (1% superiores e 1% inferiores), de modo que possíveis erros de coletas e análises fossem descartados. Assim, os dados utilizados nesse estudo apresentaram: gordura <1 ou >7%, proteína <1 ou >4%, lactose <4 ou >6%, NUL >25 e EST <9 ou >15%. Após as exclusões, o banco final consistiu em 4817 TD de 620 rebanhos (Figura 1). Os rebanhos eram localizados nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito Federal, Sergipe, Rio Grande do Norte e Ceará, entretanto 86,13% dos rebanhos pertenciam aos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, sendo que apenas 13,87% eram de outros estados.

Figura 1. Descrição da triagem dos dados.

3.2.1 Categorização dos rebanhos quanto à prevalência

Os rebanhos foram categorizados quanto à prevalência de MS respeitando os seguintes critérios: rebanhos que apresentaram $\leq 15\%$ das vacas com CCS > 200 mil céls/mL foram considerados de “Baixa” prevalência, entre $> 15\%$ e $\leq 45\%$ “Média” prevalência e $> 45\%$ “Alta” prevalência. Esses limites foram escolhidos levando em consideração a prevalência

recomendada para rebanhos desenvolvidos ($< 15\%$) (Ruegg and Pantoja, 2013) e a prevalência média brasileira que é de aproximadamente 45% (Busanello et al., 2017).

3.2.2 Análises estatísticas

3.2.2.1 Análises descritivas e comparações entre as categorias de prevalência

Inicialmente foram calculadas medidas descritivas gerais utilizando o PROC MEANS do SAS para as variáveis: prevalência de mastite subclínica, CCST, EST, gordura, proteína, lactose, NUL e média de produção de leite vaca/dia. Medidas descritivas para tais variáveis também foram calculadas dentro das categorias de prevalência de MS (baixa, média e alta). Frequências para número de testes dentro das categorias foram calculadas por meio do PROC FREQ do SAS.

Para estudar os efeitos das categorias de prevalência sobre as variáveis resposta acima mencionadas (CCST, EST, gordura, proteína, lactose, NUL e média de produção de leite vaca/dia) um modelo linear generalizado misto foi aplicado por meio do PROC GLIMMIX do SAS para cada uma das variáveis resposta. Neste modelo, os fatores de fazenda, mês, ano e interação entre mês e ano foram tratados como aleatórios, além de considerarmos as medidas repetidas dentro de uma mesma fazenda. A categorização de prevalência foi considerada como efeito fixo no modelo. O ajuste do modelo foi verificado por meio dos critérios de informação Bayesiano e Akaike (BIC e AIC) (Wolfinger, 1993).

Além disso, diferentes matrizes de variância-covariância foram testadas (autorregressiva de primeira ordem, autorregressiva de primeira ordem heterogênea, não-estruturada, simetria composta, simetria composta heterogênea, entre outras), sendo que a que resultou em melhor ajuste do modelo foi a de simetria composta heterogênea verificada pelos menores valores de BIC e AIC e com os fatores acima mencionados para todos os modelos. A distribuição normal foi utilizada nos modelos para as variáveis resposta EST, gordura, proteína, lactose, NUL e média de produção de leite vaca/dia, enquanto que a distribuição lognormal foi utilizada para a CCST. Os resíduos dos modelos foram verificados quanto à normalidade por meio de histogramas, gráficos quantil-quantil e testes estatísticos (PROC UNIVARIATE do SAS) e atenderam tal pressuposição. Quando se encontrou significância estatística para categoria de prevalência, as comparações entre as categorias foram feitas por meio do teste de Tukey-Kramer utilizando o método de mínimos quadrados. Todas as análises

foram realizadas no software SAS University Edition (SAS Institute, 2012). Foram consideradas diferenças estatísticas significativas ao nível de 0,05 (5%) de probabilidade.

3.2.2.2 Análise de regressão

Uma abordagem semelhante à das comparações entre as categorias de prevalência de MS foi empregada para estudar os efeitos quantitativos da prevalência sobre a composição e produção do leite. Um modelo linear generalizado misto foi aplicado por meio do PROC GLIMMIX do SAS para cada uma das variáveis resposta utilizando a distribuição normal para as variáveis proteína, lactose, gordura, EST, NUL, lactose e produção, e a distribuição lognormal para a variável CCST. Neste modelo, os fatores de fazenda e a interação entre mês e ano foram tratados como aleatórios, além de considerarmos as medidas repetidas dentro de uma mesma fazenda. A prevalência de MS foi considerada como efeito fixo no modelo.

O ajuste do modelo foi verificado por meio dos critérios de informação Bayesiano e Akaike (BIC e AIC) (Wolfinger, 1993). A matriz de covariância que resultou em melhor ajuste dos dados foi a de simetria composta heterogênea verificada pelos valores de BIC e AIC. Os resíduos dos modelos foram verificados quanto à normalidade por meio de histogramas, gráficos quantil-quantil e testes estatísticos (PROC UNIVARIATE do SAS) e atenderam tal pressuposição. Os modelos foram testados com efeitos lineares e quadráticos, sendo que quando um dos efeitos não fosse significativo o modelo era simplificado. O coeficiente de determinação (R^2) e a raiz quadrática do erro médio (RMSE) também foram calculados. Todas as análises foram realizadas no software SAS University Edition (SAS Institute, 2012). Foram consideradas diferenças estatísticas significativas ao nível de 0,05 (5%) de probabilidade.

3.2.2.3 Análise de correspondência multivariada

Realizou-se a análise de correspondência multivariada com o objetivo de estudar as relações multivariadas entre as variáveis CCST, EST, gordura, proteína, lactose, NUL e prevalência de mastite subclínica. A análise de correspondência permite identificar associação entre categorias por meio da visualização gráfica das categorias das variáveis em uma tabela de contingência e, assim, verificar o grau de interação entre tais categorias. Para criar as categorias, calculou-se as médias para cada rebanho para as variáveis acima mencionadas,

com a exceção da CCST, no qual calculou-se a mediana. Foram calculadas na sequência médias e mediana (apenas para CCST) gerais dos rebanhos no novo banco de dados. Então, os rebanhos foram classificados como acima ou abaixo destas médias/mediana para este novo conjunto de dados, criando assim medidas qualitativas para as variáveis que até então eram quantitativas. Ressalta-se que para a análise de correspondência multivariada os rebanhos precisavam ter informações de todas as variáveis que fariam parte da análise. Desta forma, este conjunto de dados ficou composto de 478 rebanhos com 7 variáveis (EST, proteína, lactose, gordura, CCST, prevalência e NUL). A análise de correspondência multivariada foi realizada por meio do PROC CORRESP do software SAS University Edition (SAS Institute, 2012).

3.3 Resultados

O banco de dados final utilizado nas análises incluiu 4817 TD de 620 rebanhos. A maioria dos rebanhos era da região sudeste (86,13%), seguido de sul (6,45%), centro-oeste (6,30%) e demais regiões (1,12%). A prevalência da MS média e a mediana da CCST entre todos os testes analisados, no período de janeiro/2016 a maio/2018 foi de 45,23% e 388 mil céls/mL, respectivamente. A maioria das variáveis analisadas (prevalência, CCST, gordura, proteína, lactose e EST) apresentaram 4817 observações, exceto NUL (3523 observações), caseína (540 observações) e produção média do rebanho (291 observações) (Tabela 1).

Tabela 1. Estatística descritiva da distribuição dos dados

Variável	N	Mín	Q1	Mediana	Q3	Máx
Prevalência (%)	4817	10,23	32,35	43,48	56,55	94,90
CCST*1000	4817	51	261	388	603	2493
Gord. (%)	4817	1,03	3,22	3,50	3,76	6,46
Prot. (%)	4817	2,47	3,16	3,26	3,36	3,98
Lact. (%)	4817	4,00	4,48	4,56	4,62	4,95
EST (%)	4817	9,79	11,96	12,28	12,61	14,96
Cas. (%)	540	2,13	2,45	2,54	2,63	3,00
NUL (mg/dL)	3523	3,95	11,90	13,75	15,70	25,00
Prod. (L/vaca/dia)	291	6,70	22,89	26,50	30,68	45,07

A prevalência da MS e a CCST apresentaram variação sazonal no período entre janeiro de 2016 e maio de 2018, ambos foram maiores nos meses mais quentes do ano (Figura 2). A porcentagem de gordura, lactose, proteína e caseína no leite do tanque dos rebanhos

também apresentaram variação durante o ano. A gordura foi maior nos meses mais frios (elevação a partir de maio e redução a partir de novembro), a proteína apresentou comportamento semelhante ao da gordura, mas com menor variação. A lactose permaneceu praticamente constante durante os meses do ano e a caseína apresentou pequena variação (aumento nos meses mais frios do ano) (Figura 3).

Figura 2. Variação sazonal da prevalência média e mediana de CCST no período entre janeiro de 2016 a maio de 2018.

Figura 3. Variação sazonal da gordura, lactose, proteína, caseína e prevalência da MS (média dos meses) entre janeiro de 2016 a março de 2018.

A regressão entre CCST e prevalência apresentou efeito quadrático (Figura 4 - A). À medida que a prevalência aumenta a CCST também aumenta ($R^2 = 0,5369$). As regressões entre a porcentagem de gordura, proteína, EST, caseína e a prevalência também apresentaram efeito quadrático e tiveram pequena elevação com o aumento da prevalência, entretanto, apresentaram R^2 muito baixo, evidenciando relação quase nula entre essas variáveis em porcentagem e a prevalência ($R^2 = 0,0415$; $0,0258$; $0,0204$; $0,0159$, para gordura, proteína, EST e caseína, respectivamente). As regressões entre a porcentagem de lactose e produção de leite média dos rebanhos (L/vaca/dia) mostraram que em rebanhos com maior prevalência a lactose e produção de leite média dos rebanhos são menores ($R^2 = 0,2428$ e $0,3649$, respectivamente). A variação do NUL não apresentou relação com a prevalência (Figura 4 - A).

Quando as observações (TD) foram categorizados quanto à prevalência, os rebanhos com baixa ($\leq 15\%$), média ($> 15\%$ e $\leq 45\%$) e alta ($> 45\%$) prevalência apresentaram 24,7%, 38,3% e 57,4% das vacas lactantes com CCS > 200 céls/mL, respectivamente. Quanto maior foi a prevalência, maior a CCST, com valores de 210, 338 e 557 mil céls/mL, respectivamente para baixa, média e alta prevalência. A produção média de leite por vaca/dia dos rebanhos

com alta prevalência foi 1,16 L menor que os de média prevalência, e estes não diferiram dos de baixa. A porcentagem de gordura, proteína e EST do leite do tanque dos rebanhos com alta prevalência foram 0,25%, 0,04% e 0,24% maiores que nos rebanhos com baixa prevalência, respectivamente. A caseína e NUL não apresentaram variação entre as categorias de prevalência. A lactose (%) foi o único dos componentes do leite que apresentou redução com o aumento da prevalência (0,07% menor nos rebanhos de alta prevalência do que nos de baixa prevalência) (Tabela 2).

Tabela 2. Estimativas ajustadas para CCST, prevalência, produção média de leite do rebanho e constituintes do leite nas diferentes categorias de prevalência

Variáveis	N	Categoria de Prevalência						P-valor
		Baixa	N	Média	N	Alta	N	
CCST (mil céls/mL) ¹	4817	210 c	76	338 b	2491	557 a	2250	<0,0001
Produção (L/vaca/dia)	291	23,93 ab	5	24,77 a	180	23,61 b	106	0,0274
Gordura (%)	4817	3,35 c	76	3,48 b	2491	3,60 a	2250	<0,0001
Proteína (%)	4817	3,25 b	76	3,26 b	2491	3,29 a	2250	<0,0001
Caseína (%)	540	2,40 a	5	2,53 a	188	2,55 a	347	0,0146
Lactose (%)	4817	4,58 a	76	4,56 a	2491	4,51 b	2250	<0,0001
EST (%)	4817	12,15 c	76	12,28 b	2491	12,39 a	2250	<0,0001
NUL (mg/dL)	3523	14,18 a	57	13,97 a	1845	13,99 a	1621	0,8598
Prevalência (%)	4817	12,75 c	76	38,3 b	2491	57,6 a	2250	<0,0001

As letras a, b e c indicam diferenças entre as médias segundo o teste de Tukey-Kramer.

¹Dados retransformados de logaritmo natural (log2) para CCST.

Nas regressões entre gordura, proteína, lactose, EST do leite dos tanques e a prevalência, dessa vez utilizando como medida a produção média de sólidos dos rebanhos em kg/dia, foi possível observar que, diferentemente quando as variáveis são analisadas em porcentagem, todos os componentes do leite sofrem redução de produção com o aumento da prevalência. A gordura, proteína, lactose e EST apresentaram efeito quadrático e R^2 de 0,2839; 0,3285; 0,3757; 0,3515, respectivamente (Figura 4 - B).

Com os resultados da análise de correspondência múltipla foi possível observar o grau de associação entre as variáveis, aproximadamente 57% das associações entre as variáveis foram explicadas pelas duas dimensões do gráfico. A alta prevalência está associada à alta CCST e a baixa lactose (%), enquanto que a baixa prevalência está associada à baixa CCST e a alta lactose (%) (Figura 5). Gordura (%), proteína (%), EST (%) e NUL (mg/dL) não apresentaram associação com a alta ou baixa prevalência nos rebanhos estudados (Figura 5).

Figura 4. A. Regressões lineares entre prevalência versus os componentes do leite (%) e produção média dos rebanhos por dia (L/vaca/dia).

Figura 4. B. Regressões lineares entre prevalência versus gordura (kg), proteína (kg), lactose (kg) e extrato seco total (kg).

Figura 5. Análise de correspondência múltipla entre prevalência de MS e os componentes do leite proteína, lactose, EST, gordura e NUL.

3.4 Discussão

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da mastite subclínica (utilizando a prevalência dos rebanhos como indicador) sobre os principais constituintes do leite (% e kg/dia), bem como descrever a variação sazonal desses constituintes. A média de prevalência (45,23%) e mediana da CCST (388 mil céls/mL) são resultados alarmantes, pois indicam que a mastite é um desafio considerável em grande parte dos rebanhos analisados. Resultado semelhante foi encontrado no estudo de Busanello et al. (2017), no qual 46,40% das vacas de 540 rebanhos apresentaram mastite subclínica.

O grande número de vacas infectadas nos rebanhos brasileiros pode ser explicado por vários fatores. Ainda falta assistência técnica em algumas regiões do país, muitos produtores negligenciam os casos de mastite subclínica, em razão da ausência de sintomas aparentes e de não saberem o impacto sobre a produção e qualidade do leite. Apenas 14% dos produtores brasileiros participam de programas de pagamento por qualidade (Machado et al., 2016), desta forma investimentos que não resultem em aumento do volume de leite produzido não são viáveis para a maioria dos produtores. Além disso, no Brasil, existem poucos programas de Controle Leiteiro Oficial, equivalente ao DHIA nos EUA, para prestar assistência e acompanhar os indicadores produtivos (Busanello et al., 2017).

O governo brasileiro vem tentando melhorar a qualidade do leite produzido no país. Foram criadas as instruções normativas Nº 76 e 77 com o objetivo de padronizar o leite produzido, estabelecer normas para o armazenamento e transporte, bem como estipular limites máximos para CCS (500.000 céls/mL) e CBT (300.000 UFC/mL). Entretanto, não são previstas penalizações por parte do governo, para os produtores que produzirem leite fora dos padrões. A indústria tem a opção de desvincular, ou não, os produtores e transportadores de leite que descumprirem as normas estabelecidas (Instruções Normativas Nº 76 e 77, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018).

A variação sazonal da prevalência e CCST apresentada nesse estudo é explicada pelas características climáticas das regiões estudadas. A grande maioria dos dados são provenientes de rebanhos das regiões sudeste e centro-oeste do Brasil (92,42%), locais onde o clima predominante é o tropical, ou seja, existe divisão bem definida entre os períodos quente/chuvoso e frio/seco. Nos meses mais quentes e chuvosos (outubro a março) a prevalência e a CCST foram maiores em comparação aos demais meses. O aumento da temperatura e umidade favorecem a proliferação de microrganismos causadores da mastite Riekerink et al. (2007). Além disso, com o aumento das chuvas é mais difícil manter as baias

e camas limpas e secas, consequentemente as vacas ficam mais sujas nas pernas, flancos e úberes (Zucali et al., 2011). Barkema et al. (1998) observaram que em rebanhos no qual as vacas apresentaram úberes mais limpos, a CCST foi de < 150 mil céls/mL, enquanto que em rebanhos com vacas com úberes sujos foi de > 251 mil céls/mL.

Assim como a prevalência e a CCST, a composição do leite também apresentou efeito sazonal. A porcentagem de gordura, proteína e caseína no leite sofreram elevação a partir de maio (estação seca) e redução a partir de novembro (estação chuvosa) nos dois anos avaliados. Para vacas a pasto, estes resultados podem ser explicados pela menor oferta de alimentos e consequente menor produção de leite na estação seca e maior oferta de alimentos e maior produção de leite na estação chuvosa. Com o aumento do volume de leite produzido a concentração de gordura, proteína e outros sólidos podem sofrer redução em função do efeito de diluição.

Para vacas confinadas, o fornecimento de concentrados e silagem de milho são estratégias para suprir a exigência dos animais, principalmente na estação seca, quando a disponibilidade de outros alimentos é reduzida. O aumento do fornecimento desses alimentos é associado a maiores níveis de amido na dieta, que elevam a produção de ácido propiônico no rúmen (Bannink et al., 2006), aumentam a oferta de proteína microbiana (Dijkstra et al., 1998) e resultam em aumento da proteína do leite (Jenkins and McGuire, 2006). A gordura do leite também pode ser aumentada nesse período, devido ao menor aporte do ácido graxo linolênico, mais abundantes em forragens frescas que em silagens, que causariam a inibição da síntese de ácidos graxos na glândula mamária (síntese de novo) e, consequentemente, reduziriam o teor de gordura no leite (Baumgard et al., 2000).

Dentre os principais sólidos do leite, a lactose é o que sofre menor variação em função de alterações na dieta e aumentos de produção (Heck et al., 2009). As alterações nesse constituinte são quase que exclusivamente devido à mastite. No presente estudo, a concentração de lactose permaneceu praticamente constante no período avaliado, com pequenos aumentos quando a prevalência foi menor. As menores concentrações de lactose apresentados nos rebanhos com alta prevalência, estão de acordo com os resultados encontrados por Ogola et al. (2007), no qual menores concentrações de lactose foram encontradas nos quartos infectados, quando comparados com os contralaterais sadios.

Parte da variação sazonal dos principais componentes do leite pode ser atribuída a diferenças no fotoperíodo em algumas épocas do ano (Salfer et al., 2019). No verão (maior fotoperíodo), ocorre maior secreção de prolactina (Chew et al., 1979) e menor concentração de melatonina no leite, que é inibida pela luz (Illnerova e Sumova) e apresenta correlação

negativa com a produção de leite (Dahl et al., 2000). Essas reações, aliadas ao maior consumo devido ao maior número de horas de luz, faz com que a produção de leite seja elevada até 3,3 L/dia (Phillips and Schofield, 1989), com consequente diluição dos sólidos. Porém, na literatura, são relatadas apenas ligeiras reduções na gordura (Dahl et al., 2000; e proteína do leite (Salfer et al., 2019) com o maior fotoperíodo.

No presente estudo, os rebanhos com baixa e média prevalência ($\leq 45\%$) produziram (aproximadamente 1 L/vaca/dia) mais que os rebanhos com alta prevalência ($> 45\%$). Este resultado era esperado em função dos danos que as infecções causam ao epitélio secretor da glândula mamária que afetam a produção e composição do leite (Le Roux et al., 2003). Entretanto, a extensão da perda da produção de leite poderia ser ainda maior, considerando que no presente estudo foram analisadas apenas 291 observações para produção de leite e especificidades de determinados rebanhos podem ter influenciado os resultados.

O maior teor de gordura dos rebanhos com alta prevalência (3,60%), comparados com os rebanhos de baixa prevalência (3,35%) encontrados nesse estudo, não estão de acordo com os resultados de outros estudos (Schultz, 1977; Kitchen, 1981; Eberhart, 1987), que reportaram depressão da gordura do leite em casos de mastite. A elevação no teor de gordura no presente estudo, possivelmente, deve-se a redução da síntese de lactose e, consequentemente, do volume de produzido (Bruckmaier et al., 2004). Por outro lado, a produção de gordura total é reduzida em função da menor produção de leite (Harmon, 1994).

Os teores de proteína do leite praticamente não diferiram entre as categorias de prevalência. Resultados semelhantes foram encontrados por Bruckmaier et al. (2004), no qual não houveram diferenças no teor de proteína entre quartos infectados e os contralaterais. Embora o teor de proteína possa não sofrer mudanças com o aumento da prevalência, as frações de proteína presentes no leite mudam em função da maior permeabilidade da glândula mamária em resposta as infecções. O teor de caseína é reduzido, enquanto de proteínas séricas (de pouco interesse para a indústria láctea) como albuminas e imunoglobulinas aumentam (Kitchen, 1981).

Embora seja relatado na literatura que o teor de caseína é reduzido em função da mastite (Kitchen, 1981; Ogola et al., 2007; Murphy et al., 2016), no presente estudo, não houveram diferenças entre os rebanhos de diferentes categorias de prevalência, mesmo com diferença numérica de 0,15% entre os rebanhos de baixa prevalência e alta prevalência. A ausência de diferenças significativas deve-se ao fato de que foram analisadas apenas 5 observações do teor de caseína em rebanhos com baixa prevalência.

O efeito da prevalência sobre a CCST e a produção dos rebanhos fica evidente nas regressões entre essas variáveis. A nível de vaca, a CCS é aumentada devido a maior permeabilidade da glândula mamária e a entrada de componentes do sangue para controlar a infecção. As toxinas produzidas pelos patógenos e os coágulos formados na resposta imune podem bloquear os ductos de secreção de leite e levar a danos permanentes a parte da glândula que resultam em menor produção de leite (Harmon, 1994).

Ao analisar as regressões entre gordura (%), proteína (%), caseína (%), lactose (%), EST (%) e a prevalência, observa-se que com o aumento da prevalência dos rebanhos os teores dos sólidos aumentam. Isso pode ser explicado pela menor produção de leite e, consequente concentração dos sólidos nos rebanhos com alta prevalência. A lactose foi o único sólido do leite que reduziu seu teor com o aumento da prevalência. Na literatura, é reportado que a mastite reduz a concentração da lactose (Coulon et al., 2002; Bezman et al., 2015), mas tem pouco ou nenhum efeito, sobre a concentração da gordura e proteína (Botaro et al., 2015; Kester et al., 2015; Tomazi et al., 2015). A redução no teor da lactose ocorre devido à menor síntese pelas células epiteliais danificadas, consumo pelos microrganismos que estão causando a infecção e pela migração desse componente, do leite para a corrente sanguínea (Munro et al., 1984).

Na literatura, são relatadas associações negativas entre CCS e o NUL a nível de vaca. Arunpivas et al. (2002) observaram que para cada aumento do escore linear de CCS a concentração do NUL diminui em 0,4 mg/dL. Da mesma forma, Godden et al. (2001) encontraram associação negativa, não linear, entre a CCS e o NUL. Entretanto, a nível de rebanho, ambos os estudos não encontraram associação negativa entre as variáveis, segundo os autores, devido a menor variação da CCST e do NUL. No presente estudo, também não foi encontrada associação entre a prevalência dos rebanhos e o NUL.

Quando as regressões utilizam como medida a produção total de gordura, proteína, lactose e EST em kg/dia, o efeito da redução na produção de leite nos rebanhos com alta prevalência fez com que a produção desses sólidos também fosse reduzida.

Com a análise de correspondência múltipla foi possível observar o grau de associação entre as variáveis categóricas de forma conjunta. As variáveis analisadas que apresentaram maior grau de associação com a “alta prevalência” foram a “alta CCST” e a “baixa lactose”, resultados que corroboram com os encontrados nas regressões entre os componentes do leite e a prevalência do presente estudo, nos quais foram encontrados os maiores valores de R^2 para CCST e lactose (0,54 e 0,24, respectivamente).

Os resultados obtidos nesse estudo evidenciaram que o aumento da prevalência da MS causa elevação na CCST, com pequeno aumento na concentração dos principais sólidos do leite (gordura, proteína, caseína e EST), apenas a lactose apresentou redução. Isso não quer dizer que os produtores com grande número de vacas com MS no seu rebanho produzem mais sólidos no leite. A queda da produção de leite dos rebanhos com alta prevalência faz com que, mesmo com o aumento na contração dos sólidos (efeito da concentração), a produção de sólidos em (kg/dia) seja reduzida.

É importante frisar que, apesar desse estudo ser o mais abrangente já realizado no Brasil para diagnosticar o efeito da MS sobre a composição do leite e o único que utilizou a prevalência como indicador, 92,42% dos dados são provenientes de rebanhos das regiões sudeste e centro-oeste do Brasil, limitando assim a extrapolação dos dados a nível de país. Não foi possível obter variáveis que podem afetar a composição do leite, como o sistema de produção dos rebanhos, características das dietas fornecidas, raça, ordem, estágio de lactação das vacas, entre outras. Entretanto, por tratar-se de um estudo que avaliou grande população de rebanhos, características individuais de determinados rebanhos e vacas tiveram pouco efeito sobre as médias. Outra limitação importante é o desconhecimento de como as amostras de leite foram coletadas, apesar de que os produtores que enviam amostras para a Clínica do Leite receberem instrução para as coletas. Possíveis efeitos de erros de amostragem, coleta ou análises do leite nos resultados, foram reduzidos na triagem dos dados.

3.5 Conclusões

A CCST dos rebanhos avaliados foi elevada (mediana de 388 mil céls/mL), consequência da alta prevalência da MS (média de 45,23%). A prevalência, CCST, gordura, proteína, caseína, lactose e EST apresentaram efeito sazonal no período avaliado. Dos principais sólidos do leite (gordura, proteína e lactose), apenas a lactose apresentou redução no teor com o aumento da prevalência dos rebanhos, entretanto, quando avaliada a produção total desses sólidos (kg/dia), o efeito da redução da produção de leite faz com que a produção total seja menor. Quando as variáveis foram categorizadas e analisadas de forma conjunta, as categorias mais associadas com a “alta prevalência” são a “alta CCST” e a “baixa lactose”, evidenciando que os principais efeitos do aumento da prevalência são a elevação da CCST e a redução da lactose.

Referências

- Arunpivas, P.; Dohoo, I.; Vanleeuwen, J.; Leger, E; Keefe, G. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 320, 2002.
- Bannink, A., J. Kogut, J. Dijkstra, J. France, E. Kebreab, A. M. Van Vuuren, and S. Tamminga. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. **Journal of Theoretical Biology**, v. 238, p. 36-51, 2006.
- Barkema H. W., Schukken Y. H., Lam T. J. G. M., Beiboer M. L., Benedictus G. Brand A. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell count in bulk milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81 p. 1917-1927, 1998.
- Baumgard, L. H., B. A. Corl, D. A. Dwyer, A. Saebø, and D. E. Bauman. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology**, v. 278, p. 179-184, 2000.
- Bezman D, Lemberskiy-Kuzin L, Katz G, Merin U & Leitner G. Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow's milk quality. **Journal of Dairy Research**, v. 82, p. 304-311, 2015.
- Botaro, B.G., Cortinhas C.S., Dibbern A.G., Silva, L.F.P., Benites N.R., dos Santos M.V. Staphylococcus aureus intramammary infection affects milk yield and SCC of dairy cows. **Tropical Animal Health Production**, v. 47, p. 61-66, 2015.
- Bueno, V. F. F., Mesquita, A. J. D., Nicolau, E. S., Oliveira, A. N. D., Oliveira, J. P. D., Neves, R. B. S., ... & Thomaz, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v.35, p.848-854, 2005.
- Bruckmaier, R. M., C. E. Ontsouka, and J. W. Blum. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. **Veterinarni Medicina – Czech**. v. 49, p. 283-290, 2004.
- Busanello, M., Rossi, R. S., Cassoli, L. D., Pantoja, J. C., & Machado, P. F. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, 100, v. 8, p. 6545-6553, 2017.
- Chew, B. P.; Malven P. V.; Erb, R. E.; Zamet, C. N.; D'Amico, M. F.; Colenbrander, V. F. Variables associated with peripartum traits in dairy cows. IV. Seasonal relationships among temperature, photoperiod, and blood plasma prolactin. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1394-1398, 1979.
- Cinar, M., Serbester, U., Ceyhan, A., Gorgulu, M. Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, 14(1), 3646, 2015.
- Coulon JB, Gasqui P, Barnouin J, Ollier A, Pradel P., Promiès D. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. **Animal Research**, v. 51, p. 383-393, 2002.
- Cunha, R. P. L., Molina, L. R., Carvalho, A. U., Facury Filho, E. J., Ferreira, P. M., Gentilini, M. B. Subclinical mastitis and the relationship between somatic cell count with

number of lactations, production and chemical composition of the milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 60(1), p. 19-24, 2008.

Dahl, G. E., Buchanan, B. A., Tucker, H. A. Photoperiodic Effects on Dairy Cattle: A Review. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 885-893, 2000.

Dijkstra, J., J. France, and D. R. Davies. Different mathematical approaches to estimating microbial protein supply in ruminants. **Journal of Dairy Science**. v. 81, p. 3370-3384, 1998.

Dohoo, I. R., and K. E. Leslie. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. **Prev. Vet. Med.** V. 10, p. 225-237, 1991.

Dos Reis, C. B. M., Barreiro, J. R., Mestieri, L., de Felício Porcionato, M. A., dos Santos, M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **BMC veterinary research**, v. 9, p. 67, 2013.

Eberhart, R. J., R. J. Harmon, D. E. Jasper, R. P. Natzke. S. C. Nickerson, J. K. Reneau, E. H. Row, K. L. Smith, and S. B. Spencer. **Current Concepts of Bovine Mastitis**. 3rd ed. Natl. Mastitis Counc., Inc., Arlington, VA, 1987.

Godden, S.M., Lissemore, K.D., Kelton, D.F., Leslie, K.E., Walton, J.S. Lumsden, J.H. Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 107-114, 2001.

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

Heck, J. M. L., Van Valenberg, H. J. F., Dijkstra, J., & Van Hooijdonk, A. C. M. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4745-4755, 2009.

Illnerova, H.; Sumova, A. Photic entrainment of the mammalian rhythm in melatonin production. **Journal of Biological Rhythms**, v. 12, p. 547-555, 1997.

Jenkins, T. C., and M. A. McGuire. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1302-1310, 2006.

Kester H.J.; Sorter D.E.; Hogan J.S. Activity and milk compositional changes following experimentally induced *Streptococcus uberis* bovine mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 999-1004, 2015.

Kitchen, B. J. Review of progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**. v. 48, p. 167, 1981.

Le Roux, Y., Laurent, F., Moussaoui, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**. v. 34, p. 629-645, 2003.

Machado, P. F., Pereira, A. R., & Sarriés, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1883-1886, 2000.

Machado, P.F., Cassoli, L.D., Silva, J. Contagem de Células Somáticas (CCS). **Mapa da Qualidade do Leite**. Piracicaba, SP, v. 1, 2016.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 76 e 77, de 26 de novembro de 2018. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite cru refrigerado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, Brasil, 2018.

Munro, G.L., Grieve, P.A., Kitchen, B.J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 39, p. 7-16, 1984.

Murphy, S. C., Martin, N. H., Barbano, D. M., Wiedmann, M. Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield?. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 10128-10149, 2016.

Ogola, H., Shitandi, A., & Nanua, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, p. 237-242, 2007.

Pereira, A. R., Prada, L. F., Molon, L. K., Machado, P. F., & Barancelli, G. 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, p. 121-124, 1999.

Phillips, C.J.C., and Schofield, S. A. The effect of supplementary light on the production and behavior of dairy cows. **Animal Production**. v. 48, p. 293-303, 1989.

Reneau, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**. v. 69, p. 1708-1720, 1986.

Riekerink, R. G. M. Olde; Barkema, H. W.; Stryhn, H. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1704-1715, 2007.

Ruegg, P. L.; Pantoja, J. C. F. Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, p. 101-117, 2013.

Salfer, I. J., Dechow, C. D., Harvatine, K. J. Annual rhythms of milk and milk fat and protein production in dairy cattle in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 1, p. 742-750, 2019.

Sargeant, J. M., and A. M. O'Connor. Issues of reporting in observational studies in veterinary medicine. *Preventive Veterinary Medicine*, v.113, p. 323-330, 2014.

SAS Institute, Inc. (2012). SAS OnDemand for Academics. Release 9.04.01M5P09132017. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. Disponível em: <https://odamid.oda.sas.com/SASStudio/>

Schultz, L. H. Somatic cells in milk-physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. **Journal of Food Protection**, v. 40, p. 125-131, 1977.

Urech, E.; Puhan, Z.; Schällibaum, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, v. 82, n. 11, p. 2402-2411, 1999.

Zucali, M., Bava, L., Tamburini, A., Brasca, M., Vanoni, L., Sandrucci, A. Effects of season, milking routine and cow cleanliness on bacterial and somatic cell counts of bulk tank milk. **Journal of Dairy Research**, v. 78, p. 436-441, 2011.

Tomazi, T.; Gonçalves, J.L.; Barreiro, J.R.; Arcari, M.A.; dos Santos M.V. Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3071-3078, 2015.

Wolfinger, R. Covariance structure selection in general mixed models. *Community of Statistics – Simulation*, v. 22, p. 1079-1106, 1993.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados encontrados nesse estudo é possível concluir que a mastite é um grande gargalo dos sistemas de produção de leite brasileiros. Praticamente metade das vacas dos rebanhos avaliados estão com mastite subclínica (média de 46,95%), o que resulta em baixa qualidade do leite produzido, principalmente com reflexo na CCST (mediana de 388 mil/céls/mL).

Fica evidente a falta de programas efetivos na melhoria da qualidade do leite no Brasil, isso deve-se, principalmente, pela falta de incentivos aos produtores, tanto pela indústria como pelo governo. Os programas de pagamento por qualidade propostos por algumas indústrias, não têm apresentado resultados satisfatórios para melhorar a qualidade do leite. Muitos desses programas não possuem embasamento científico, apenas atendem demandas de mercado e interesses dos laticínios. Por parte do governo, a recente criação das Instruções Normativas 76 e 77 não devem melhorar a qualidade do leite no país, são apenas diretrizes a serem seguidas, não existe fiscalização eficiente e não são previstas penalizações para os produtores que produzirem leite fora dos padrões, apenas a opcional desvinculação do mesmo pelo laticínio. Iniciativas semelhantes foram feitas no passado e não surtiram efeito.

Outros resultados encontrados nesse estudo foram as maiores prevalências no verão e outono em comparação ao inverno e primavera. Entretanto, as diferenças foram menores que 4%, o que significa que as estações do ano têm pouco efeito sobre o número de vacas infectadas e que esse não é um fator limitante para a melhoria da qualidade do leite, mesmo nas épocas mais quentes do ano.

Apesar da prevalência ser calculada considerando o número total de vacas lactantes dos rebanhos, o tamanho dos mesmos tem pouca importância quando a CCST é baixa, porém quando a CCST excede 200 mil céls/mL, os rebanhos pequenos apresentam maior prevalência, isso ocorre em função da maior contribuição que uma vaca infectada tem sobre a prevalência, em comparação aos rebanhos maiores.

Com o aumento do número de vacas com mastite subclínica a produção de leite foi reduzida e a CCS do tanque aumentada nos rebanhos avaliados. A lactose foi o único sólido do leite que apresentou redução na sua concentração com o aumento da prevalência, contudo, quando foram avaliados a produção de sólidos dos rebanhos em kg/dia, a gordura, proteína, lactose e o extrato seco total (EST) apresentaram redução em função da menor produção de leite.

Os resultados encontrados nesse estudo evidenciam o impacto da mastite subclínica nos rebanhos brasileiros, servem de alerta e estímulo para o governo, indústria e produtores criarem e implementarem programas efetivos no controle da mastite e melhoria da qualidade do leite.

Por fim, pesquisas futuras podem ser consideradas a partir desse estudo: I) correlacionar a prevalência estimada com a CCS com a obtida a partir de culturas de microrganismos. II) estimar a prevalência dos rebanhos brasileiros considerando variáveis que afetam a CCS individual, por exemplo, ordem de lactação, idade da vaca, estágio de lactação, raça, produção individual, etc. III) estudar o impacto econômico da perda de produção e alterações nos principais constituintes do leite em função da maior prevalência.