



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

IVENS NAVARRO HAPONIUK PRUS

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE MASTITE
CLÍNICA EM SISTEMA DE ORDENHA ROBOTIZADA**

**EVALUATION OF INDICATORS FOR EARLY IDENTIFICATION OF CLINICAL
MASTITIS IN AUTOMATIC MILKING SYSTEM**

CURITIBA

2023

IVENS NAVARRO HAPONIUK PRUS

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE MASTITE
CLÍNICA EM SISTEMA DE ORDENHA ROBOTIZADA**

**EVALUATION OF INDICATORS FOR EARLY IDENTIFICATION OF CLINICAL
MASTITIS IN AUTOMATIC MILKING SYSTEM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Medicina e Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Cristina Santos Sotomaior

Coorientador: Prof. Dr. Rudiger Daniel Ollhoff

**CURITIBA
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Edilene de Oliveira dos Santos CRB 9 / 1636

P972a 2023	Prus, Ivens Navarro Haponiuk Avaliação de indicadores para identificação precoce de mastite clínica em sistema de ordenha robotizada = Evaluation of indicators for early identification of clinical mastites in automatic milking system / Ivens Navarro Haponiuk Prus; orientadora: Cristina Santos Sotomaior; coorientador: Rudiger Daniel Ollhoff. -- 2023 60 f. : il. ; 30 cm Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2023. Inclui bibliografias 1. Veterinária. 2. Bovinos de leite. 3. Ordenha robotizada. 4. Leite – Produção. Mastite – Diagnóstico. I. Sotomaior, Cristina Santos. II. Ollhoff, Rudiger Daniel. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em em Ciência Animal. IV. Título. V. Título. CDD 20. ed. – 636.089
---------------	---



Programa de
**PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA ANIMAL
PUCPR**

**ATA Nº 0182 E PARECER FINAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
CIÊNCIA ANIMAL DO ALUNO IVENS NAVARRO HAPONIUK PRUS**

Aos trinta e um dias do mês de julho do ano de dois mil e vinte e três, às 14h, na sala de vídeo 01, térreo do bloco verde, realizou-se a sessão pública de defesa de dissertação do mestrando Ivens Navarro Haponiuk Prus, intitulada: **“AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE MASTITE EM SISTEMA DE ORDENHA ROBOTIZADA (SOR)”**. O mestrando concluiu os créditos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração em Saúde, Tecnologia e Produção Animal, segundo os registros constantes na secretaria do Programa. Os trabalhos foram conduzidos pela Professora Orientadora e Presidente da banca, Dra. Cristina Santos Sotomaior (PUCPR), auxiliada pelos Professores Doutores André Ostrensky (PUCPR) e Luiz Francisco Zafalon (Embrapa Pecuária Sudeste e UNESP - Campus Jaboticabal). Procedeu-se à exposição da Dissertação, seguida de sua arguição pública e defesa. Encerrada a fase, os examinadores expediram o parecer final sobre a Dissertação, que foi considerada APROVADA.

Documento assinado digitalmente



CRISTINA SANTOS SOTOMAIOR
Data: 01/08/2023 07:08:03-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Assinatura

Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior (Presidente)

Assinatura

Prof. Dr. André Ostrensky (PUCPR)

Assinatura

Prof. Dr. Luiz Francisco Zafalon (Embrapa Pecuária Sudeste e UNESP - Campus Jaboticabal)

Proclamado o resultado, a Presidente da Banca Examinadora encerrou os trabalhos, e para que tudo conste, eu Caroline Nocera Bertton, confiro e assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora.

Curitiba, 31 de julho de 2023.

Caroline Nocera Bertton

Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Documento assinado digitalmente



RENATA ERNLUND FREITAS DE MACEDO
Data: 28/07/2023 08:09:13-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Profa. Dra. Renata Ernlund Freitas de Macedo
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Escola de Medicina e Ciências da Vida – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
Rua Imaculada Conceição, 1155 – Bairro Prado Velho – CEP: 80215-901 – Curitiba, PR – Brasil

Tel (41) 3271-2615

Email: ppgca@pucpr.br www.pucpr.br/ppgca

Dedicatória

Dedico essa dissertação à minha família, Elcio, Carem, Igor, Iago e Ana Larissa,
pelos valores que foram em mim cultivados.

A incerteza é a mola propulsora da criatividade.

Marcelo Gleiser

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e força de vontade.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Gralha Azul – PUCPR, Alceu, Diego, Mateus e Paulo, pelo apoio e suporte nos animais envolvidos na pesquisa.

À Cooperativa Agroindustrial COASUL, ao Edson e Glauber, pela confiança e apoio nos meus estudos, e por ter me permitido a conclusão do meu mestrado.

Aos colegas de Pós-Graduação, Mateus, Renata, Isabela, Alexandre e a todos os outros, pela amizade.

À Prof^a. Cristina Santos Sotomaior, pela orientação, pela inestimável ajuda, dedicação e apoio durante toda minha caminhada.

Ao Prof. Rüdiger Daniel Ollhoff, pela coorientação.

Ao Prof. André Ostrensky, por acreditar no meu potencial, por me incentivar e apoiar durante meu programa de aprimoramento, mestrado e na vida. Muito obrigado pela amizade.

Ao Prof. Rolnei Ruã Darós, pelas conversas e sugestões que ajudaram na estruturação da minha pesquisa.

Aos meus pais, Elcio e Carem e aos meus irmãos Igor e Iago, pela dedicação e esforço em me permitir ter uma formação e todos os valores que foram construídos em mim.

Aos meus avós, Gregório, Elisea, João e Nelis, que me inspiram por sua trajetória de vida, por sua persistência, resiliência e solidez, que apostaram que através da educação é possível crescer, exemplo que levarei para minha vida.

À minha esposa, Ana Larissa, pelo amor incondicional, apoio e incentivo.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS	9
FORMATO DA DISSERTAÇÃO	10
RESUMO GERAL.....	11
ABSTRACT	12
CAPÍTULO 1.....	13
INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO.....	13
REFERÊNCIAS.....	19
CAPÍTULO 2.....	22
RESUMO.....	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. METODOLOGIA.....	25
2.1 SELEÇÃO DE VACAS SUSPEITAS PARA MASTITE	26
2.2 IDENTIFICAÇÃO DE VACAS COM MASTITE	26
2.3 PARÂMETROS AVALIADOS	28
2.3.1 Dados das vacas	28
2.3.2 Parâmetros de sanidade da glândula mamária	28
2.3.3 Dados de comportamento das vacas	29
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
4. RESULTADOS	32
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÃO.....	45
7. REFERÊNCIAS.....	45
CAPÍTULO 4.....	50
CONCLUSÃO/ IMPACTO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	50
ANEXO	51
Anexo 1	51
Anexo 2	53
Anexo 3	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma para classificação de vacas com mastite (VCM) e vacas sem mastite (VSM).....	27
Figura 2. Porcentagem de vacas com mastite (VCM, n = 39) e sem mastite (VSM, n = 90), segundo a ordem de lactação. Entre parênteses, número absoluto de vacas com vacas com mastite e sem mastite, segundo a ordem de lactação....	32
Figura 3. Porcentagem de vacas com mastite (VCM, n = 39) e sem mastite (VSM, n = 90), segundo o grupo de gestação: grupo 0 (vacas vazias), grupo 1 (0 a 90 dias de gestação), grupo 2 (91 a 180 dias de gestação) e grupo 3 (acima de 180 dias de gestação). Entre parênteses, número absoluto de vacas com vacas com mastite e sem mastite, segundo grupo de gestação.....	33
Figura 4. Porcentagem de vacas com mastite (VCM, n = 39) e sem mastite (VSM, n = 90), segundo os dias em lactação (DEL): grupo 1 (0 a 90 dias em lactação), grupo 2 (91 a 180 dias em lactação) e grupo 3 (acima de 180 dias em lactação). Entre parênteses, número absoluto de vacas com vacas com mastite e sem mastite, segundo os dias de lactação.....	33
Figura 5. Porcentagem de acurácia, sensibilidade e especificidade do modelo GLM nos trinta dias retroativos ao diagnóstico de mastite clínica, considerando as variáveis: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log ₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).....	36
Figura 6. Porcentagem de valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do modelo GLM nos trinta dias retroativos ao diagnóstico de mastite clínica, considerando as variáveis: ruminação (min), atividade (min), ofegação (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log ₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).....	37
Figura 7. Porcentagem de acurácia, VPP, VPN, sensibilidade e especificidade do modelo, comparando os valores de MDi em relação ao modelo GLM no dia 0.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mediana, média ($\pm$ desvio padrão) de parâmetros produtivos de vacas com mastite (VCM) e vacas sem mastite (VSM), de dados retroativos da média dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite.....	35
Tabela 2. Porcentagem de acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do modelo <i>generalized linear models</i> (GLM) nos dias -30, -25, -20, -15, -10, -5 retroativos ao diagnóstico de mastite clínica (dia 0), considerando as variáveis: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log ₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).....	36
Tabela 3. Coeficientes dos parâmetros do modelo GLM nos dias -10 a 0, retroativos ao diagnóstico de mastite clínica, considerando as variáveis: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log ₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

AMS	<i>Automatic milking system</i>
CE	Condutividade elétrica
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CCS	Contagem de células somáticas
CMT	<i>California Mastitis Test</i>
CMB	Cultura microbiológica
CFB	Clima temperado
CPP	Contagem padrão em placa
DEL	Dias em lactação
EF	Exame físico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ECS	Escore de células somáticas
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FEGA	Fazenda Experimental Gralha Azul
GLM	<i>Generalized linear models</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MC	Mastite clínica
MSC	Mastite subclínica
MDI	Índice de Detecção de Mastite
NASEM	<i>National Academies of Science, Engineering, and Medicine</i>
OCC	Contador de células online
PMR	<i>Partial mixed ration</i>
SOR	Sistema de ordenha robotizada
UOR	Unidade de ordenha robotizada
VSM	Vacas sem mastite
VCM	Vacas com mastite
VS	Vaca suspeita
AMS	<i>Automatic milking system</i>
CE	Condutividade elétrica
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
CCS	Contagem de células somáticas

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por 3 capítulos. No capítulo 1, é apresentada uma introdução geral, a contextualização do tema, justificativa e os objetivos de estudo. O capítulo 2 é o artigo científico completo e formatado nas normas da revista para a qual será submetido. O capítulo 3 finaliza esta dissertação com considerações finais, impacto e perspectivas futuras do trabalho. As referências são apresentadas ao final de cada capítulo.

RESUMO GERAL

A mastite está entre as principais doenças que afetam vacas leiteiras e, por ser de origem multifatorial, sistemas de monitoramento, controle e tratamento vêm sendo desenvolvidos para reduzir os impactos na produtividade do animal e em seu bem-estar. Nos sistemas de ordenha robotizada (SOR), há o monitoramento de vários parâmetros que são de grande valia para o acompanhamento de mastite no rebanho. Há também sensores em colares que permitem monitorar não só aspectos reprodutivos das vacas, mas níveis de movimentação, alertas de saúde e ruminação, por meio de microfones e acelerômetros como componentes do sensor. Este estudo teve como objetivo avaliar indicadores para identificação precoce de mastite clínica, utilizando dados comportamentais coletados por colares de monitoramento e parâmetros de ordenha em SOR, e definir qual o período de antecedência, dentro de trinta dias, com maior acurácia, sensibilidade e especificidade na capacidade preditiva. Durante sete meses, de agosto de 2021 a fevereiro de 2022, vacas em lactação da raça Holandesa, ordenhadas em SOR, com suspeita de mastite, foram avaliadas por meio de exame físico, teste de CMT e cultura microbiológica para confirmação do diagnóstico. Foram coletados dados produtivos de ordenha em SOR e dados comportamentais coletados por colares de monitoramento, retrospectivos de 30 dias ao diagnóstico de mastite, totalizando 30 parâmetros de medição. Esses parâmetros foram usados em modelos lineares generalizados (GLM) para predição de mastite. Foram calculadas a sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo para cada um dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite. No total, foram avaliadas 129 vacas com suspeita de mastite, sendo 39 com diagnóstico positivo para mastite e 90 consideradas sem mastite clínica. Observou-se que os valores médios dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite de produção de leite por dia foram de $40,8 \pm 11,8$ kg para vacas com mastite e de $38,4 \pm 10,2$ kg para vacas sem mastite; contagem de células somáticas (CCS) de vacas com mastite 200.000 ± 50.000 mL e vacas sem mastite de 50.000 ± 50.000 mL, dias em lactação (DEL) de vacas com mastite 156 ± 85 dias e de vacas sem mastite 196 ± 85 dias e ordem de lactação de vacas com mastite $2,5 \pm 1,0$ e de vacas sem mastite $1,8 \pm 0,8$. Dentre os 30 parâmetros avaliados, seis apresentaram diferença significativa, na média dos 30 dias, entre as vacas com mastite e sem mastite, respectivamente: ordem de lactação (3 e 2); média de duração de ordenha (444,6 s e 385,5 s); média da produção nos últimos 30 dias no quarto posterior direito (4,56 kg e 4,01 kg); média da média de fluxo nos últimos 30 dias do quarto anterior direito (1,11 kg/min e 1,26 kg/min); média do ócio nos últimos 30 dias (592,2 min e 565,7 min); e média de atividade nos últimos 30 dias (272,7 min e 299,4 min). No modelo GLM, foram significativos os parâmetros de produção por dia (kg), CCS, média da média de fluxos (kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg), duração da ordenha (s), ruminação (min), ofegação (min) e atividade (min), com uma média de 79,2% de acurácia, 82,5% de sensibilidade, 78,7% de especificidade, 41,5% de valor preditivo positivo e 92,2% de valor preditivo negativo na previsão da ocorrência de mastite clínica, considerando-se os 9 dias antes do diagnóstico de mastite. Conclui-se que por meio de parâmetros da ordenha pelo SOR e dados coletados pelo colar de monitoramento de comportamento foi possível prever com 9 dias de antecedência a ocorrência de mastite clínica em vacas leiteiras em SOR.

Palavras chaves: vaca leiteira, identificação de mastite, diagnóstico precoce, sistema de ordenha robotizada, mastite clínica.

ABSTRACT

Mastitis is the main disease affecting dairy cows, and due to its multifactorial nature, monitoring, control, and treatment systems have been developed to reduce its impact on animal productivity and well-being. Automatic milking systems (AMS) enable the monitoring of various parameters that are highly valuable for mastitis surveillance in the herd. Collar sensors also allow monitoring not only reproductive aspects but also movement levels, health alerts, and rumination using microphones and accelerometers as sensor components. This study aimed to evaluate indicators for the early identification of clinical mastitis, using behavioral data collected by monitoring collars and milking parameters from AMS, and to define the period of advance, within thirty days, with greater accuracy, sensitivity and specificity in the predictive capability. Over seven months, from August 2021 to February 2022, lactating Holstein cows in AMS suspected of mastitis were evaluated through physical examination, California Mastitis Test (CMT), and microbiological culture for diagnosis confirmation. Productive milking data from AMS and behavioral data collected retrospectively for 30 days before mastitis diagnosis were used, resulting in 30 measurement parameters. These parameters were applied in generalized linear models (GLM) for mastitis prediction. Sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, and negative predictive value were calculated for each of the 30 days preceding mastitis diagnosis. A total of 129 cows with suspected mastitis were assessed, with 39 diagnosed with mastitis and 90 considered without clinical mastitis. The mean values of the 30 days before mastitis diagnosis for daily milk production were 40.8 ± 11.8 kg for cows with mastitis and 38.4 ± 10.2 kg for cows without mastitis; somatic cell count (SCC) for cows with mastitis was 200,000/mL and 50,000/mL for cows without mastitis. Days in milk (DIM) for cows with mastitis were 156 ± 85 days and 196 ± 85 days for cows without mastitis, while lactation order for cows with mastitis was 2.5 ± 1.0 and 1.8 ± 0.8 for cows without mastitis. Among the 30 evaluated parameters, six showed significant differences in the 30-day average between cows with and without mastitis, respectively: lactation order (3 and 2); average milking duration (444.6 s and 385.5 s); average production in the last 30 days from the right hindquarter (4.56 kg and 4.01 kg); average flow mean in the last 30 days from the right forequarter (1.11 kg/min and 1.26 kg/min); average rest time in the last 30 days (592.2 min and 565.7 min); and average activity time in the last 30 days (272.7 min and 299.4 min). In the GLM model, significant parameters included daily milk production (kg), SCC, average flow mean (kg/min), conductivity mean (mS/cm), peak flow mean (kg/min), milk production per milking (kg), milking duration (s), rumination time (min), panting time (min), and activity time (min). The model demonstrated an average accuracy of 79.2%, sensitivity of 82.5%, specificity of 78.7%, positive predictive value of 41.5%, and negative predictive value of 92.2% in predicting clinical mastitis occurrence, considering the 9 days before diagnosis. In conclusion, this study showed that utilizing milking parameters from AMS and behavioral data collected through monitoring collars allowed to predict 9 days in advance the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in AMS.

Keywords: dairy cow, mastitis identification, early diagnosis, robotic order system, clinical mastitis.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO

O Brasil ocupa a sexta posição no ranking mundial de produção de leite, com 35 bilhões de litros produzidos no país em 2021 (EMBRAPA, 2022). A produção de leite de vaca apresenta taxas de crescimento constantes, com aumento entre o ano de 2000 até 2021 de 12,1 para 35 bilhões de litros ao ano de leite inspecionado (IBGE, 2021). Esse aumento não ocorreu somente na produção do Brasil, mas de forma mundial, sendo a produção mundial estimada em 929,9 milhões de toneladas em 2022, com aumento de 0,6% em comparação ao ano de 2021 (FAO, 2022).

O Paraná é o segundo maior produtor nacional, com 4,6 bilhões de litros ao ano, respondendo por 13,09% da produção nacional, após Minas Gerais com 9,6 bilhões de litros ao ano, respondendo por 27,34% da produção nacional (EMBRAPA, 2022). Diante desse cenário de crescimento mundial, nacional e regional, novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas para uma maior eficiência, controle e monitoramento dos rebanhos.

Ao longo dos anos, a ordenha de vacas leiteiras foi se modernizando, evoluindo da ordenha manual para a mecânica, da forma mais simples do tipo balde ao pé, até a mais tecnificada, representada pelos sistemas de ordenha robotizado (SOR). Os primeiros registros de equipamentos que automatizaram o sistema de criação, alimentação e ordenha de vacas leiteiras datam dos anos 70 e 80, principalmente na Holanda e na Alemanha (Rossing et al., 1985). O primeiro SOR instalado em uma fazenda comercial data do ano de 1992, na Holanda (Klaas e Rodenburg, 2004).

O SOR é composto por uma unidade de ordenha, onde um braço robotizado equipado com vários sensores realiza todo o processo da ordenha (Koning, 2010). O braço robótico faz a limpeza dos tetos, aplicação do pré *dipping*, colocação das teteiras, ou do conjunto de teteiras, e aplicação do pós *dipping*. Os dados gerados durante cada ordenha são geridos e armazenados em softwares próprios da empresa fornecedora do SOR para gestão do rebanho.

O SOR permite intensificar o número de ordenhas, fazendo com que as vacas frequentem de forma espontânea a estação de ordenha mais de uma vez por dia para serem ordenhadas. Com isso, torna o rebanho mais eficiente, tendo em vista que em um sistema convencional, o número de ordenhas é pré-estabelecido pela propriedade. No SOR, a frequência de ordenha é personalizada para cada animal, considerando principalmente a sua produção e os dias em lactação (DEL). Todo o processo de ordenha acontece de forma autônoma, não havendo uma necessidade tão grande de mão de obra, em comparação a um sistema convencional (Hansen, 2015).

Tanto em sistemas de ordenha convencional quanto no SOR existe um problema sanitário crítico, responsável pelo comprometimento da saúde e, portanto, do bem-estar animal e perdas econômicas: a inflamação da glândula mamária, conhecida como mastite (Bonestroo et al., 2021). Esta doença é causada por diferentes fatores, normalmente por bactérias, que podem ser classificadas em agentes contagiosos e ambientais. Os principais agentes contagiosos são o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* e, entre os ambientais, *Escherichia coli* e *Klebsiella* sp. (Schwarz et al., 2010). Para a identificação do patógeno, há a cultura microbiológica tradicional, que leva em média de 5 a 7 dias dependendo do patógeno a ser isolado para se ter o resultado, aumentando o tempo entre a identificação da vaca doente até o tratamento. Porém, existem meios de cultura comerciais que podem encurtar esse período, sendo que um deles é o sistema OnFarm®. Esse sistema é feito por meio de uma placa tripartida, com um meio cromogênico, que permite em um período de 24 horas se ter o resultado de várias espécies e gêneros de bactérias causadores de mastite (Granja et al., 2021).

Qualquer fator que predisponha ao crescimento bacteriano, ou à infecção da vaca pelo patógeno deve ser controlado. Alguns fatores de risco à mastite incluem a falta de higiene durante o processo de ordenha por parte do ordenhador ou do sistema de ordenha, baixa imunidade das vacas devido a doenças que causam desequilíbrios metabólicos e condições de manejo inadequadas que resultam em excesso de contaminação ambiental e sujidades, o que favorece a proliferação de bactérias causadoras de mastite (Ruegg, 2021). A mastite em SOR pode ser influenciada pelo risco de contaminação do equipamento de ordenha, quando não é adequadamente gerenciado, o que pode

afetar outras vacas no rebanho (Edmondson, 2012), pela ausência de ordem de entrada na ordenha.

O quadro clínico da mastite pode variar em gravidade dependendo da duração das infecções. Quanto mais rápido as infecções forem eliminadas, maior será a eficácia do programa de controle. Existem diferentes métodos de eliminação das infecções, incluindo o tratamento durante a lactação, o tratamento ao secar as vacas e a cura espontânea. O uso de antibióticos é frequentemente necessário nos tratamentos durante a lactação e ao secar as vacas (Brito e Brito, 2000). Logo, encontrar alternativas para identificação, tratamento precoce e prevenção da mastite clínica são de grande valia para minimizar os impactos negativos, como os verificados na produção de leite, na longevidade das vacas e, principalmente, os relacionados à saúde pública, como ao tipo de processamento e à qualidade do leite (Santos et al., 2004).

Além do desafio à indústria que a mastite causa, há outro problema relacionado à resistência antimicrobiana causada pela exposição dos microrganismos a antibióticos cada vez mais potentes, gerando uma refratariedade da bactéria ao tratamento (Naranjo-Lucena e Slowey, 2023), com grande impacto na saúde animal e podendo refletir também em saúde pública (Tassi et al., 2018).

A mastite pode se apresentar na forma clínica (MC) ou na forma inaparente, onde o processo do diagnóstico precisa de exames complementares para ser detectado, conhecido como mastite subclínica (MSC), sendo a segunda a mais comum (Oliveira et al., 2013). Com isso, identificar vacas com mastite se torna um ponto chave para o diagnóstico e tratamento, reduzindo perdas produtivas e financeiras. Diante desse cenário, monitorar a atividade e o comportamento do animal e os parâmetros de produção e qualidade do leite acabam sendo o ponto de partida para o diagnóstico e monitoramento da enfermidade no rebanho.

Diferente da MC onde há alterações evidentes no aspecto físico do leite, na MSC ou inaparente as vacas não apresentam sinais macroscópicos de alterações no leite ou na glândula mamária, com exceção da diminuição da produção de leite (Petrovski et al., 2006). Para a identificação da mastite (MC e MSC) podem ser usados testes no leite como o *California Mastitis Test* (CMT) (Schalm e Noorlander, 1957), com o reagente púrpura de bromocresol, o que

permite uma avaliação semiquantitativa, baseada no resultado visual entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite, formando um gel, cuja intensidade da reação é proporcional ao número de células somáticas (Rossi et al., 2018).

Outro parâmetro de acompanhamento da mastite (MC e MSC) é a condutividade elétrica (CE) do leite, que foi introduzida em 1970 como um parâmetro indicador de mastite (Hamann e Zecconi, 2003) e se baseia na medição de íons de sódio e cloro aumentados durante a mastite (Teixeira et al., 2008), como consequência do incremento da permeabilidade vascular. Ao passarem para o leite, resultam em maior capacidade em conduzir eletricidade.

Além da CE, há a contagem de células somáticas (CCS) como parâmetro de reação inflamatória da glândula mamária (Acosta et al., 2016), que é a contagem das células de descamação do epitélio da glândula mamária e dos leucócitos que passam do sangue para o leite, como resposta à presença de microrganismos. Segundo as instruções normativas nº 76 e 77 de 30 de novembro de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o valor máximo de CCS para o leite cru refrigerado é de 500 mil células/mL (média trimestral). Porém, vacas saudáveis têm valores iguais ou inferiores a 200.000 células/mL de leite (Bonestroo et al., 2021).

O SOR se diferencia por obter diferentes mensurações de formas automatizadas, como por exemplo CCS, média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite (kg/min), presença de sangue (ppm) e CE por quarto (mS/cm). Cada fabricante tem sua forma de relacionar esses dados em softwares de sinalização de vacas com alteração. A fabricante Lely (Lely Industries, Brasil) tem em seu SOR o MCQ-C, que realiza o teste de CMT de forma automatizada, gerando um valor expresso em células/mL, sinalizando vacas com CCS mais elevada. Essa metodologia aplicada no SOR da fabricante Lely segue diretrizes segundo Deng et al. (2020). O SOR produzido pela fabricante Delaval utiliza o índice MDi (Índice de Detecção de Mastite, associado ao software Delpro®), composto pela porcentagem da produção esperada da vaca por quarto (%), presença de sangue (ppm), CE por quarto (mS/cm), coice durante o processo da ordenha (sim ou não) e CCS (Contador de Células Online - OCC).

Outros parâmetros podem ajudar na identificação de vacas com mastite, como as alterações de comportamento. Essas variáveis podem ser coletadas por meio de sensores do tipo pedômetro, afixadas nos membros das vacas, ou na forma de colares. No início, o uso de coleiras de monitoramento tinha como objetivo identificar vacas em estro, tendo em vista que as vacas têm um aumento considerável de movimentação durante esta fase do ciclo reprodutivo (Roelofs e Van Erp-Van Kooji, 2015). Porém, o uso de sensores em colares permite monitorar não só aspectos reprodutivos do animal, mas níveis de movimentação, alertas de saúde e ruminação por meio de microfones e acelerômetros como componentes do sensor (Medrano-Galarza et al., 2012).

Com isso, abriu-se espaço para o desenvolvimento de pesquisas buscando correlacionar padrões de comportamento de vacas doentes em comparação a vacas saudáveis, como na claudicação, parto, mastite, cetose, acidose e qualquer outra enfermidade que comprometa a saúde e atividade da vaca no rebanho (Sepúlveda-Varas et al., 2016). Siivonen et al. (2011) avaliaram vacas com MC induzida e seus reflexos em tempo em ruminação, atividade e o número de dias entre o alerta no software de monitoramento ao diagnóstico por meio de observação e imagens termográficas, demonstrando que as vacas com MC ficaram mais tempo em pé, evitando deitar-se com o úbere inflamado.

Fitzpatrick et al. (2013) avaliaram o efeito do tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais sob o efeito de MC induzida e seus efeitos na sensibilidade à dor, ruminação e alteração nos sinais clínicos, apresentando resultados promissores do monitoramento da mastite clínica por meio desses parâmetros. Medrano-Galarza et al. (2012) identificaram aumento de atividade em vacas com mastites moderadas e graves, decorrente do desconforto do processo inflamatório, em comparação com vacas saudáveis, utilizando sensores do tipo pedômetro. Há alternativas comerciais desses colares de monitoramento, que monitora tempo em ruminação, atividade e ócio do rebanho, registrados em software próprio.

Desde o início da utilização dos SOR, houve uma demanda por sistemas de detecção automática de mastite, devido à necessidade de redução do tempo para identificar vacas com mastite que necessitam de avaliação e, caso necessário, intervenção do médico veterinário (Mollenhorst et al., 2012). Khatun et al. (2018) desenvolveram uma metodologia de detecção de mastite para

predição no intervalo de 1 a 3 dias antes do diagnóstico, utilizando a combinação de seis medições (CE, CE por hora, produção de leite por quarto, produção de leite por hora, média de fluxo de leite e ordenhas incompletas), tendo resultados de 90% de sensibilidade e 91% de especificidade com acurácia de 96% para MC. Pakrashi et al. (2023), utilizando parâmetros do SOR e dados de composição do leite, desenvolveram um algoritmo, por meio de *machine learning*, capaz de prever com 7 dias de antecedência o caso de mastite subclínica, com sensibilidade de 69,45% e especificidade de 95,64%.

Porém, não se sabe se a interação de outros parâmetros coletados pelo SOR e parâmetros de monitoramento de comportamento por meio dos dados da coleira Cowmed® podem aumentar mais ainda esses valores de precisão, ou prever com uma maior antecedência os casos de MC.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes parâmetros para identificação precoce de mastite clínica em vacas submetidas a SOR.

Os objetivos específicos foram:

- Comparar retrospectivamente duração da ordenha (s), produção total (kg) da vaca, produção por quarto (kg) por ordenha, CCS (x 1.000 células/mL), média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite (kg/min), CE por quarto (mS/cm), e parâmetros de monitoramento de comportamento (tempo em ruminação, atividade e ócio) de vacas com e sem MC.
- Avaliar a acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) na capacidade preditiva de mastite em cada um dos 30 dias precedentes ao diagnóstico.
- Definir qual o período de antecedência, dentro de 30 dias, que o método é capaz de prever o início da MC.

REFERÊNCIAS

- Acosta AC, Silva LBG, Medeiros ES, Pinheiro-Junior JW, Mota RA. Mastites em ruminantes no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 2016; 36: 565-573.
- Bonestroo J, Voort, Mariska VDJ, Hogeveen H, Emanuelson U, Klaas IC. Progression of different udder inflammation indicators and their episode length after onset of inflammation using automatic milking system sensor data. *J. Dairy Sci.* 2021; 104 (3): 3458-3473.
- Brito JRF, Brito MAVP. Mastite bovina, São Paulo: Manole, 2000: 114- 129.
- Deng Z, Hogeveen H, Lam TJGM, van der Tol R, Koop G. Performance of Online Somatic Cell Count Estimation in Automatic Milking Systems. *Front Vet Sci.* 2020; 28; 7:221.
- EMBRAPA. Anuário Leite 2022 - Pecuária leiteira de precisão. Juiz de Fora, Embrapa Gado de Leite, 114p. 2022. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1144110/1/Anuario-leite-2022.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2023.
- Edmondson P. Mastitis control in robotic milking systems. In practice, 2012;34:260-268.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Dairy Market Review 2022: Emerging trends and outlook, 9p 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cc3418en/cc3418en.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2023.
- Fitzpatrick CE, Chapinal N, Petersson-Wolfe CS, DeVries TJ, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE. The effect of meloxicam on pain sensitivity, rumination time, and clinical signs in dairy cows with endotoxin-induced clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2013;96(5):2847-56.
- Granja BM, Fidelis CE, Garcia BLN, Santos Mv. Evaluation of chromogenic culture media for rapid identification of microorganisms isolated from cows with clinical and subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 2021; 104(8): 9115-9129.
- Hansen, B. G. Robotic milking-farmer experiences, and adoption rate in Jaeren, Norway. *J. Rural Stud.* 2015; 41:109–117.
- Hamann J, Zucconi Z. Evaluation of the electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. *Federação Internacional de Laticínios.* 2003; 86: 2061-2071.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de Leite. 2021. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>. Acesso em: 06 jun. 2023.

Klaas IC, Rodenburg CJAM. Automatic Milking: State of the Art in Europe and North America. In: Meijering A, Hogeveen H, De Koning CJAM (Eds). Automatic milking – A better understanding, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands. 2004;27-40.

MAPA - Ministério da Agricultura e Pecuária, Programa Nacional de Qualidade do Leite – PNQL, Instrução Normativa 76/2018 e 77/2018, Disponível em https://www.in.gov.br/materia//asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em: 09 jul. 2023.

Medrano-Galarza C, Gibbons J, Wagner S, Passille AM de, Rushen J. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. J. Dairy Sci. 2012; 95(12): 6994-7002.

Mollenhorst H, Rijkaart LJ, Hogeveen H. Mastitis alert preferences of farmers milking with automatic milking systems. J. Dairy Sci. 2012; 95:2523–2530.

Naranjo-Lucena A, Slowey R. Invited review: Antimicrobial resistance in bovine mastitis pathogens: A review of genetic determinants and prevalence of resistance in European countries. J Dairy Sci. 2023 ;106(1):1-23.

Oliveira L, Hulland C, Ruegg PL. Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. J Dairy Sci. 2013;96(12):7538-49.

Pakrashi A, Ryan C, Guéret C, Perry D.P, Corcoran M., Keane M.T., Mac Namee B. Early detection of subclinical mastitis in lactating dairy cows using cow-level features, J. Dairy Sci. 2023.

Petrovski KR, Trajcev M, Buneski G. A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis: review article. J. Dairy Sci. 2006;77(2):52-60.

Rossing W, Ipema AH, Veltman PF. The feasibility of milking in a feeding box. IMAG Research Report 85-2, Wageningen, The Netherlands.1985.

Rossi RS, Amarante AF, Correia LBN, Guerra ST, Nobrega DB, Latosinski GS, Rossi BF, Rall VLM, Pantoja JCF. Diagnostic accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. J. Dairy Sci. 2018;101(11): 10220-10229.

Roelofs JB, Van Erp-van der Kooij E. Estrus detection tools and their applicability in cattle: Recent and perspectival situation. Anim Reprod Sci. 2015;12. 498-504.

Ruegg PL. What Is Success? A Narrative Review of Research Evaluating Outcomes of Antibiotics Used for Treatment of Clinical Mastitis. *Front Vet Sci.* 2021 Feb 2; 8:639641.

Santos JE, Cerri RL, Ballou MA, Higginbotham GE, Kirk JH. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2004;80(1-2):31-45.

Siivonen, J., Taponen, S., Hovinen, M., Pastell, M., Lensink, J., Pyörälä, S., & Hänninen, L. (2011). Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 132(2-4), 101-106.

Sepúlveda-Varas P, Proudfoot KL, Weary DM, von Keyserlingk MAG. Changes in behavior of dairy cows with clinical mastitis. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2016; 175:8-13.

Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1957; 130 (5): 199-207.

Tassi R, McConnel CS, Dufour S, Bergeron N, Dohoo IR. The impact of subclinical and clinical mastitis on milk yield and milk quality: A systematic review and meta-analysis. *J Dairy Sci.* 2018;101(6):4727-4741.

Teixeira P, Ribeiro C, Simões J. Prevenção de mamites em explorações de bovinos leiteiros. Da teoria à prática. Um ebook para veterinários, produtores e estudantes. 2008.

CAPÍTULO 2

Artigo científico submetido a ser submetido para publicação no periódico
Journal of Dairy Science

AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE MASTITE EM SISTEMA DE ORDENHA ROBOTIZADA (SOR)

RESUMO

A mastite é definida como uma inflamação da glândula mamária, que impacta principalmente na produtividade leiteira da vaca e em seu bem-estar. Diante desse desafio de saúde da glândula mamária, há a demanda por sistemas de detecção automática de mastite, devido à necessidade de redução do tempo de inspeção para identificar vacas com mastite que necessitam de avaliação. Este estudo teve como objetivo comparar métodos de identificação precoce de mastite, e definir qual o período de antecedência, no intervalo de trinta dias, com maior acurácia na capacidade preditiva, utilizando dados comportamentais coletados por colares de monitoramento e parâmetros de ordenha em sistema de ordenha robotizada (SOR). Durante sete meses, de agosto de 2021 a fevereiro de 2022, vacas em lactação da raça Holandesa, ordenhadas em SOR, com suspeita de mastite, foram avaliadas por meio de exame físico, teste de CMT e cultura microbiológica para confirmação do diagnóstico. Foram coletados dados produtivos de ordenha em SOR e dados comportamentais coletados por colares de monitoramento, retrospectivos de 30 dias ao diagnóstico de mastite, totalizando 30 parâmetros de medição. Esses parâmetros foram analisados através da metodologia de modelos lineares generalizados (GLM), utilizando o software SPSS 25. Para todos os métodos, foram calculadas a sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. No total, foram avaliadas 129 vacas, sendo 39 com diagnóstico positivo para mastite clínica e 90 consideradas vacas sem mastite. Os valores médios dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite de produção de leite por dia de vacas com mastite foi de $40,8 \pm 11,8$ kg e de vacas sem mastite $38,4 \pm 10,2$ kg, contagem de células somáticas (CCS) de vacas com mastite de 200.000 ± 50.000 mL e vacas sem mastite de 50.000 ± 50.000 mL, dias em lactação (DEL) de vacas com mastite 156 ± 85 dias e de vacas sem mastite 196 ± 85 dias e ordem de lactação de vacas com mastite $2,5 \pm 1,0$ e de vacas sem mastite $1,8 \pm 0,8$. Dentre os 30 parâmetros avaliados, seis apresentaram diferença significativa, na média dos 30 dias, entre as vacas com mastite e sem mastite, respectivamente: ordem de lactação (3 e 2); média de duração de ordenha (444,6 s e 385,5 s); média da produção nos últimos 30 dias no quarto posterior direito (4,56 kg e 4,01 kg), média da média de fluxo nos últimos 30 dias do quarto anterior direito (1,11 kg/min e 1,26 kg/min); média do ócio nos últimos 30 dias (592,2 min e 565,7 min); e média de atividade nos últimos 30 dias (272,7 min e 299,4 min). No modelo GLM, foram significativos os parâmetros de produção de leite por dia (kg), CSS, média da média de fluxos (kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg), duração da ordenha (s), ruminação (min), ofegação (min) e atividade (min). Considerando-se os 9 dias anteriores ao diagnóstico de mastite, foi observada uma média de

79,2% de acurácia, 82,5% de sensibilidade, 78,7% de especificidade, 41,5% de valor preditivo positivo e 92,2% de valor preditivo negativo na previsão da ocorrência de mastite. Conclui-se que por meio de parâmetros da ordenha pelo SOR e de parâmetros de comportamento coletados pelo colar de monitoramento é possível prever com 9 dias de antecedência a ocorrência de mastite clínica em vacas leiteiras em SOR.

PALAVRAS CHAVES: diagnóstico precoce, mastite clínica, sistema de ordenha robotizada, monitoramento de ordenha.

1. INTRODUÇÃO

Na cadeia de produção do leite há diversos pontos-chaves para otimização e eficiência das propriedades (Fischer et al., 2019). Considerando-se os aspectos de sanidade, a mastite é a doença mais frequente de vacas leiteiras, gerando impactos no bem-estar animal e na lucratividade da fazenda (Ruegg, 2017). A gravidade do quadro clínico da mastite é influenciada pela duração das infecções, pois quanto mais rapidamente estas forem eliminadas, mais sucesso terá o programa de controle, podendo ser eliminadas por meio de tratamento durante a lactação, frequentemente com o uso de antibióticos, e cura espontânea (Brito e Brito, 2000). Portanto, é importante buscar alternativas para identificar, tratar precocemente e prevenir a mastite, a fim de minimizar os impactos negativos na produção de leite, na longevidade das vacas e, possivelmente, em saúde pública.

Os sistemas de ordenha robotizada (SOR) possuem desafios para a saúde do úbere, principalmente pelo processo de ordenha que, comparado ao sistema de ordenha convencional, possui diferenças nos ajustes de equipamentos, frequência de ordenha e processos de pré e pós-*dipping* (Hovinen e Pyörälä, 2011; Edmondson, 2012). Devido à necessidade de vários ajustes e à complexidade do sistema, observa-se um aumento de fatores predisponentes à mastite (Jago et al., 2006; Dohmen et al., 2010; Hovinen and Pyörälä, 2011).

Por outro lado, os SOR coletam diversos dados de ordenha de forma automatizada, como de produção por quarto (kg), fluxo de leite (kg/min) e condutividade elétrica (CE) por quarto (mS/cm) e podem realizar outras mensurações em equipamentos anexos aos SOR, como a contagem de células

somáticas (CCS) automática. Cada fabricante tem sua forma de relacionar esses dados em softwares de sinalização de vacas com mastite, como o software MCQ-C da fabricante Lely (Lely Industries, Brasil) e o Índice de Detecção de Mastite - MDi (software Delpro®) da fabricante Delaval.

Juntamente com os parâmetros coletados pelos SOR, existem outras opções para monitoramento de vacas, não só relacionadas à produção de leite, mas também dados relacionados ao comportamento das vacas leiteiras por meio de sensores de monitoramento, sejam eles do tipo pedômetro, microfones ou colares (Siivonen et al. 2011, Sepúlveda-Varas et al. 2016). Os sistemas monitoramento do tipo colar se baseiam no monitoramento do tempo em atividade, ruminação e ócio. Medrano-Galarza et al. (2012) identificaram um aumento de atividade em vacas com mastites moderadas e graves, decorrente do desconforto do processo inflamatório, em comparação com vacas saudáveis, utilizando sensores do tipo pedômetro.

Desde o início da utilização dos SOR, houve uma demanda por sistemas de detecção automática de mastite, devido à necessidade de redução do tempo para identificar vacas com mastite que necessitam de avaliação e, caso necessário, intervenção do médico veterinário (Mollenhorst et al., 2012). Existem modelos preditivos de mastite que utilizam os parâmetros do SOR e de outros sensores. Khatun et al. (2018) predisseram mastite com 1 a 3 dias de antecedência, combinando seis parâmetros do SOR e com resultados de 90% de sensibilidade e 91% de especificidade e acurácia de 96%. Pakrashi et al. (2023) desenvolveram, por meio de *machine learning*, um algoritmo utilizando parâmetros do SOR e dados de composição do leite, prevendo com 7 dias de antecedência o caso de mastite subclínica, com sensibilidade de 69,45% e especificidade de 95,64%.

Porém, não se sabe se a interação de outros parâmetros coletados pelo SOR e parâmetros de monitoramento de comportamento por meio dos dados de colar de monitoramento podem aumentar mais ainda esses valores de acurácia, sensibilidade e especificidade, ou predizer com uma maior antecedência os casos de MC. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes parâmetros para identificação precoce de mastite clínica em vacas submetidas a SOR. Os objetivos específicos foram: comparar retrospectivamente duração da ordenha (s), produção total (kg) da vaca, produção por quarto (kg) por ordenha, CCS (x

1.000 células/mL), média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite (kg/min), CE por quarto (mS/cm), e parâmetros de monitoramento de comportamento (tempo em ruminção, atividade e ócio) de vacas com e sem MC; avaliar a acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) na capacidade preditiva de mastite em cada um dos 30 dias precedentes ao diagnóstico; e definir qual o período de antecedência, dentro de 30 dias, que o método é capaz de prever o início da MC.

2. METODOLOGIA

Este estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais da PUCPR, registrado sob o número 02298 (anexo 1).

O trabalho foi realizado seguindo o modelo de estudo de coorte longitudinal retrospectivo, conduzido com dados coletados de agosto de 2021 a fevereiro de 2022 do setor de Bovinocultura Leiteira da Fazenda Experimental Gralha Azul, da PUCPR, localizado em Fazenda Rio Grande, Paraná, Brasil (25°39'28,3"S 49°17'17,1" W – Clima Cfb). A unidade de pesquisa possui um estábulo tipo *free-stall* para alojamento das vacas em lactação ordenhadas em SOR (VMS 300, Delaval, Jaguariúna, Brasil), em sistema *milk first*. As camas disponíveis no estábulo são do tipo colchão emborrachado, cobertas por serragem, que é repostada quatro vezes por semana.

O rebanho em lactação é composto em média por 55 vacas da raça Holandesa, distribuídas aleatoriamente em dois lotes. A dieta das vacas em lactação era fornecida duas vezes ao dia em horários pré-definidos (08:00 e 16:00 h) de forma dividida, uma parte no cocho de trato do estábulo e parte do concentrado fornecido no SOR, na forma de dieta parcial (PMR - do inglês *partial mixed ration*). A dieta fornecida no cocho continha silagem de milho, silagem pré-secada de azevém, concentrado comercial, farelo de soja, bicarbonato de sódio, minerais, vitaminas e outros aditivos, atendendo as necessidades nutricionais de acordo com NASEM (2021).

2.1 SELEÇÃO DE VACAS SUSPEITAS PARA MASTITE

Diariamente, médicos veterinários verificavam os parâmetros do SOR, sempre pela manhã, em busca de vacas com alterações dos parâmetros de ordenha. A seleção de vacas suspeitas para mastite foi a partir da identificação, no software de gestão do rebanho Delpro®, de variação de um ou mais parâmetros indicativos de mastite, sendo eles: valores de CE do leite por quarto (mS/cm) $\geq 5,37 \pm 0,02 \text{ mS/cm}$, segundo Norberg et al. (2004); variação nos valores de porcentagem de produção esperada por quarto (%) ($\leq 80\%$); valores de CCS superiores a 200.000 células/mL nessa ordenha, na última ordenha, ou na média das 9 últimas ordenhas; e valores $\geq 2.0 \text{ MDi}$ (índice de detecção de mastite, software Delpro®).

O índice MDi é composto pela porcentagem da produção esperada da vaca por quarto (%), presença de sangue (ppm), CE por quarto (mS/cm), coice durante o processo da ordenha (sim ou não). O índice MDi pode incluir também os valores de CCS, quando há a disponibilidade do sistema de contagem de células somáticas (OCC) que fica anexo ao SOR. Com isso, foram consideradas as variações no valor do índice MDi e dos parâmetros que o compõe isoladamente.

Vacas que atenderam a um ou mais parâmetros citados foram selecionadas como vaca suspeita para mastite e foram examinadas. E, para toda vaca suspeita para mastite, outras duas vacas em lactação foram sorteadas para serem avaliadas. Esse sorteio visava a comparação com as companheiras de rebanho saudáveis.

2.2 IDENTIFICAÇÃO DE VACAS COM MASTITE

Após a seleção das vacas suspeitas e sorteio das duas vacas (Figura 1) foi feito o exame físico (EF) geral e específico do úbere, segundo Rosenberg (1983). O EF geral consiste na avaliação dos parâmetros fisiológicos: temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória, movimentação ruminal e coloração da mucosa vulvar. O exame específico do úbere consiste na inspeção e palpação do úbere com um todo, buscando lesões, alterações de consistência, dor e hipertermia, seja como um todo ou um quarto específico, incluindo os tetos.

Vacas que tiveram alterações no EF condizentes com a descrição das mastites catarrais, apostematosas, flegmonosas ou gangrenosas (Birgel, 2021) foram classificadas como vacas com mastite (VCM). As vacas que não tiveram alteração no EF foram consideradas como vacas sem mastite (VSM).

Foi realizado o Teste de CMT (*California Mastitis Test*) para todas as vacas que, juntamente com o resultado do EF, caracterizava as vacas com e sem mastite (Schalmm e Noorlander, 1957).

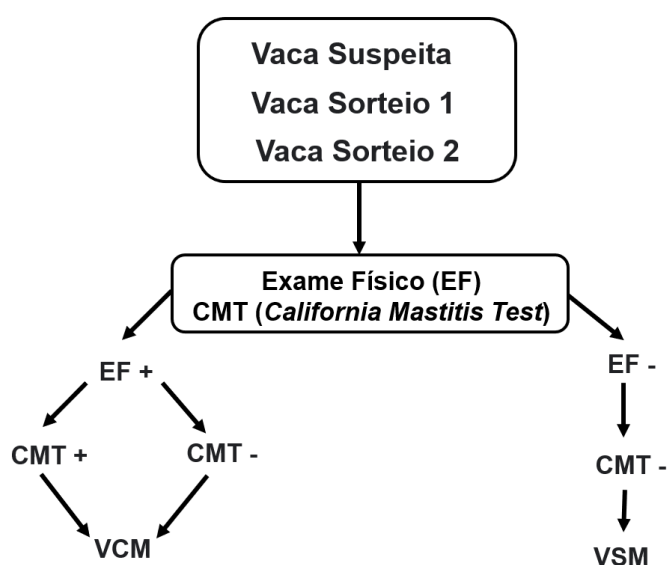


Figura 1. Fluxograma para classificação de vacas com mastite (VCM) e vacas sem mastite (VSM).

No momento da realização do teste de CMT, caso o quarto fosse reagente (+, ++ ou +++), coletava-se a amostra para cultura microbiológica. Caso o teste de CMT não tivesse sido reagente, era coletada uma amostra em pool do leite dos quatro quartos da vaca.

A cultura microbiológica foi feita utilizando o sistema OnFarm®, método descrito e validado por Granja et al. (2021), que permite o rápido diagnóstico de várias espécies e gêneros de bactérias causadores de mastite, por meio do uso de meios de cultura cromogênicos para facilitar a identificação de patógenos. Nesse sistema, uma placa de cultivo tripartida, com três meios de cultivos diferentes, permite o crescimento do total de 13 espécies bacterianas que, mantidas em estufa própria a 35/36°C por 24 horas, favorece o diagnóstico microbiológico mais rápido e, consequentemente, contribui com a tomada de

decisões mais apropriadas para cada caso. Como pode ser realizado na própria fazenda, reduz a necessidade de vários equipamentos e instalações para preparo de meios de cultura. O sistema é feito em placa tripartida; portanto, a mesma amostra de leite pode acusar mais de uma classe de bactéria.

Todas as amostras de leite para microbiológico foram coletadas de forma asséptica. Os tetos foram imergidos em solução desinfetante de tetos por 30 segundos e, a seguir, secos com papel toalha. Então, os três primeiros jatos de leite foram descartados. As pontas dos tetos foram desinfetadas com álcool a 70% e o leite de cada teto foi coletado em tubo estéril. Essas atividades foram realizadas em tronco de contenção próprio para bovinos.

Todos esses dados foram anotados e registrados em fichas de acompanhamento clínico da rotina do setor de Bovinocultura Leiteira FEGA-PUCPR. Toda vaca que foi sorteada e era negativa ficava fora da possibilidade de sorteio por 30 dias; após os 30 dias, ela voltava a ficar elegível a ser sorteada novamente.

2.3 PARÂMETROS AVALIADOS

Após a definição dos grupos de vacas com e sem mastite, foram colhidas as seguintes informações de todas as vacas avaliadas (VCM e VSM):

2.3.1 Dados das vacas: idade, ordem de lactação, dias em lactação (DEL) e dias em gestação. Os valores de DEL foram classificados em três grupos: grupo 1 (0 a 90 dias em lactação), grupo 2 (91 a 180 dias em lactação) e grupo 3 (acima de 180 dias em lactação). Os valores de tempo de gestação foram classificados em quatro grupos, grupo 0 (vacas vazias) grupo 1 (0 a 90 dias de gestação), grupo 2 (91 a 180 dias de gestação) e grupo 3 (acima de 180 dias de gestação).

2.3.2 Parâmetros de sanidade da glândula mamária: parâmetros obtidos por meio dos relatórios de informações analisadas pelo próprio SOR da Delaval e seu software (Delpro®): duração da ordenha (s), produção total da vaca e por quarto naquela ordenha (kg), CCS (x 1.000 células/mL), média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite (kg/min), presença de sangue (ppm), CE por quarto (mS/cm) e MDi (sem unidade). Para a análise dos dados de MDi, no dia do diagnóstico de mastite, foram utilizados dois valores de

cut-off: 1.4 e 2.0, segundo metodologia aplicada por Lusa et al. (2017), na qual vacas com MDi $\geq 1,4$ devem ser examinadas em relação a problemas de saúde do úbere e vacas com MDi $\geq 2,0$ são consideradas com um alerta agudo para um problema de saúde do úbere. Esses dados, retroativos a 30 dias anteriores ao diagnóstico, foram extraídos em planilhas por vaca avaliada (VCM ou VSM) em formato xlsx, para o software Excel® (Microsoft 2010).

2.3.3 Dados de comportamento das vacas: registrados automaticamente pelas coleiras Cowmed® de monitoramento, compostas pelo acompanhamento de ruminação, atividade, ofegação e ócio da vaca. Estes parâmetros eram medidos em tempo que o animal permanecia em cada um, totalizando o somatório de 1.440 minutos/dia. Todos os dados da atividade individual das vacas do rebanho foram registrados em software próprio. Esses dados, retroativos a 30 dias anteriores ao diagnóstico, foram extraídos todos os dias à meia noite e compilados em planilhas por vaca avaliada (VCM e VSM) em formato xlsx. para o software Excel® (Microsoft 2010).

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A estatística descritiva foi realizada no software SPSS 25 (IBM, 2017), assim como as comparações entre as médias das vacas com e sem mastite, nas quais foi aplicado o teste *t Student* para amostras independentes, dos parâmetros avaliados. Foram considerados resultados estatisticamente significativos para valores de $p < 0,05$.

Para a predição de mastite, foi utilizado o método de *Generalized Linear Models* (GLM), utilizando o software SPSS 25 (IBM, 2017). O GLM é uma abordagem estatística que utiliza modelos lineares para fazer previsões em variáveis dicotômicas (Hair et al., 2009), como é o caso deste estudo, em que as classes são "com mastite" (VCM) e "sem mastite" (VSM). No processo de avaliação conjunta dessas variáveis, foi aplicada a técnica de *backward elimination*, em que variáveis não significativas ($p < 0,05$) são removidas manualmente do modelo, mantendo apenas as variáveis que são estatisticamente relevantes. Essa abordagem permite identificar quais variáveis são significativas para a predição de mastite.

No GLM, assume-se que todas as variáveis independentes são normalmente distribuídas e contínuas, e que a variável de resposta também seja uma variável contínua. Porém, nesse estudo foi utilizada uma variável de resposta dicotômica (sim ou não, VCM ou VSM). Por isso, foi utilizado, através dos resultados numéricos contínuos para esse modelo, a classificação de valores $> 0,5 = 1$ (VCM), e valores $< 0,5 = 0$ (VSM).

Foram utilizadas como variáveis independentes os parâmetros por quarto: CE por quarto (mS/cm), média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), produção de leite por quarto por ordenha (kg); parâmetros por dia: média de fluxo de leite por quarto por dia (kg/min), média da CE por quarto por ordenha por dia (mS/cm), média de pico do fluxo de leite por dia (kg/min), média de produção por dia (kg), média da duração da ordenha por dia (s), ruminação (min), atividade (min), ócio (min), ordem de lactação, DEL e CCS na forma de ECS (escore de células somáticas). Por não apresentar distribuição normal, a CCS foi transformada para uma escala logarítmica (ECS), segundo Shook (1982) por meio da equação: $ECS = \log_2 (CCS/100.000) + 3$.

Decidiu-se avaliar todos os parâmetros por dia, independentemente de como eram coletados inicialmente por ordenha, por quarto por ordenha ou por avaliação diária. Essa mudança foi aplicada em todas as análises subsequentes.

Foram calculadas acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do método de predição de mastite clínica avaliado.

A sensibilidade é calculada dividindo o número de verdadeiros positivos (VP) pelo número total de indivíduos com a condição ou característica em estudo (VP + falsos negativos – FN). Neste caso, seriam as vacas com mastite que o método foi capaz de corretamente predizer com mastite. Matematicamente, a sensibilidade é definida pela equação 1:

$$\text{Equação 1 - Sensibilidade} = VP / (VP + FN)$$

A especificidade é calculada dividindo o número de verdadeiros negativos (VN) pelo número total de indivíduos sem a condição ou característica em estudo (VN + falsos positivos – FP). Ou seja, seriam as vacas sem mastite que o método

foi capaz de corretamente prever como sem mastite. Matematicamente, a especificidade é definida pela equação 2:

$$\text{Equação 2 - Especificidade} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP})$$

A acurácia é calculada dividindo o número de predições corretas (VP + VN) pelo número total de predições e multiplicando o resultado por 100 para obter a porcentagem. Matematicamente, a acurácia é definida pela equação 3:

$$\text{Equação 3 - Acurácia} = (\text{VP} + \text{VN}) / (\text{VP} + \text{FP} + \text{VN} + \text{FN}) * 100$$

O VPP é calculado dividindo o número de VP pelo total de resultados positivos, que inclui tanto os VP quanto os FP. O VPP indica qual a probabilidade de um teste positivo ser realmente positivo, ou seja, qual a probabilidade de uma vaca ter mastite quando o método de predição indicou que a presença de mastite. Matematicamente, o VPP é definido pela equação 4:

$$\text{Equação 4 - VPP} = \text{VP} / (\text{VP} + \text{FP})$$

O VPN é calculado dividindo o número de VN pelo total de resultados negativos, que inclui tanto os VN quanto os FN. O VPN indica qual a probabilidade de um teste negativo ser realmente negativo, ou seja, qual a probabilidade de uma vaca não ter mastite quando o método de predição não indicou que a presença de mastite. Matematicamente, o valor preditivo negativo é definido pela equação 5:

$$\text{Equação 5 - VPN} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FN})$$

Essas métricas são empregadas para avaliar o desempenho de um teste diagnóstico, mensurando sua habilidade em detectar corretamente os casos positivos (sensibilidade) e negativos (especificidade), bem como a confiabilidade dos resultados por meio da identificação adequada dos verdadeiros positivos (VPP) e verdadeiros negativos (VPN). Além de verificar a precisão geral do teste (acurácia).

4. RESULTADOS

Foram avaliadas 129 vacas com suspeita de mastite no período de sete meses entre agosto de 2021 a fevereiro de 2022. Deste total, em 39 casos, houve a confirmação de mastite através do EF, sendo os dados destas vacas incluídos no grupo VCM; os demais casos, 90, foram definidos como de VSM. A idade média de VCM foi de 6 ± 1 anos e de VSM, 5 ± 1 anos.

Na estatística descritiva, em relação à ordem de lactação, foi observado que vacas em sua segunda lactação apresentaram maior ocorrência de mastite em comparação com as demais lactações. Além disso, a ocorrência de mastite aumentou com o número de lactações da vaca, pois proporcionalmente havia mais vacas com mastite do que sem mastite a partir da segunda lactação (Figura 2).

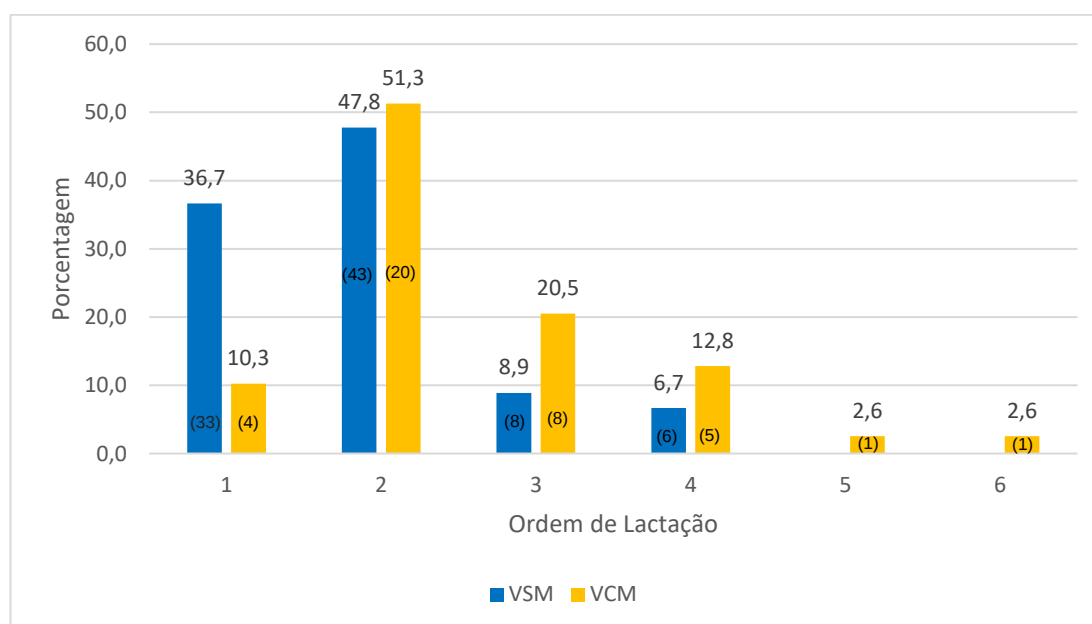


Figura 2. Porcentagem de vacas com mastite (VCM, n = 39) e sem mastite (VSM, n = 90), segundo a ordem de lactação. Entre parênteses, número absoluto de vacas com mastite e sem mastite, segundo a ordem de lactação.

Foi observado que vacas no início da gestação (0 a 90 dias) apresentaram uma maior incidência de mastite em comparação com os outros grupos. Conforme o tempo em gestação aumentava, a incidência de mastite reduziu em comparação ao início da gestação (Figura 3).

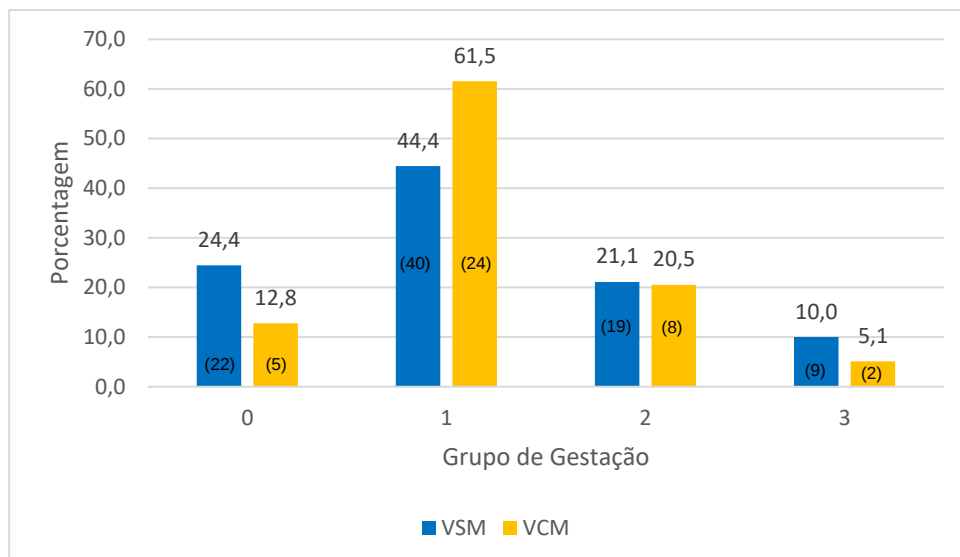


Figura 3. Porcentagem de vacas com mastite (VCM, n = 39) e sem mastite (VSM, n = 90), segundo o grupo de gestação: grupo 0 (vacas vazias), grupo 1 (0 a 90 dias de gestação), grupo 2 (91 a 180 dias de gestação) e grupo 3 (acima de 180 dias de gestação). Entre parênteses, número absoluto de vacas com mastite e sem mastite, segundo grupo de gestação.

Em relação aos dias em lactação (DEL), vacas com um maior número de dias em lactação apresentaram uma maior incidência de mastite em comparação com os casos no início da lactação (Figura 4).

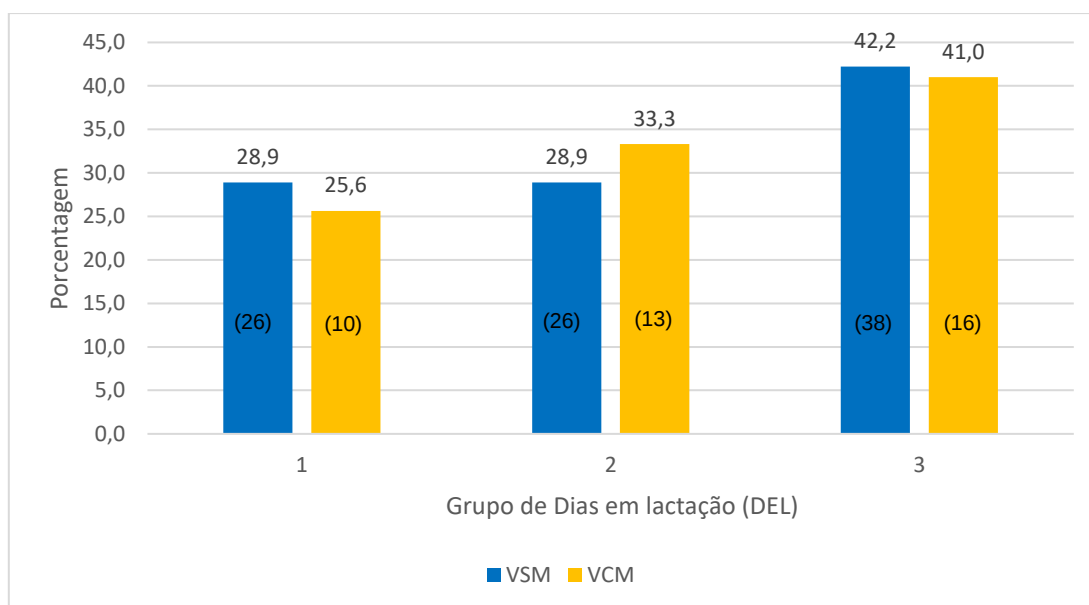


Figura 4. Porcentagem de vacas com mastite (VCM, n = 39) e sem mastite (VSM, n = 90), segundo os dias em lactação (DEL): grupo 1 (0 a 90 dias em lactação), grupo 2 (91 a 180 dias em lactação) e grupo 3 (acima de 180 dias em lactação). Entre parênteses, número absoluto de vacas com mastite e sem mastite, segundo os dias de lactação.

Foram identificadas 39 culturas microbiológicas positivas. Dentre os resultados positivos, as bactérias encontradas foram: *Staphylococcus aureus* (SNA) com 41,4%, outras bactérias Gram positivas com 27,3%, *Streptococcus agalactiae* / *Streptococcus dysgalactiae* com 10,2%, *Klebsiella/Enterobacter* spp. com 7,8%, *Streptococcus uberis* com 5,5%, *Serratia* spp. com 3,9%, *Enterococcus* spp. com 2,3% e *Escherichia coli* com 1,6%.

Em relação à média dos parâmetros de comportamento e do SOR, na comparação dos grupos VCM e VSM, de cada um dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite, houve diferença estatística entre os grupos, para diferentes parâmetros, em diferentes dias (Anexo 2). Na comparação da média dos 30 dias, para cada parâmetro, houve diferenças significativas nas médias de VCM e VSM em seis parâmetros, que podem ser divididos em três grupos: relacionados ao animal (ordem de lactação); relacionados ao SOR (média de duração de ordenha, média da produção nos últimos 30 dias no quarto posterior direito e média da média de fluxo nos últimos 30 dias do quarto anterior direito); e os relacionados ao colar de monitoramento (média do ócio nos últimos 30 dias e média de atividade nos últimos 30 dias) (Tabela 1).

No GLM, foram significativas as seguintes variáveis independentes: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção diária de leite (kg), ECS (CSS Log₂), média do fluxo de leite (kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenha (kg) e duração da ordenha (s).

Os valores de acurácia, sensibilidade, especificidade, VPP e VPN obtidos com a metodologia GLM podem ser observados na Tabela 2. Durante o período de -30 a -10 dias a acurácia, sensibilidade e especificidade, apresentaram variações, sem um padrão definido, conforme pode ser observado na Figura 5. No entanto, a partir do dia -9 até o dia 0, foi possível prever a ocorrência de mastite com uma média de 79,2% de acurácia, 82,5% de sensibilidade, 78,7% de especificidade, 41,5% de VPP e 92,2% de VPN (Figura 5 e Figura 6).

Tabela 1. Mediana, média ($\pm$ desvio padrão) de parâmetros produtivos de vacas com mastite (VCM) e vacas sem mastite (VSM), de dados retroativos da média dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite.

Variável	Mediana	VSM	VCM	P
Ordem de lactação	2	2 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	<0,001
Dias em lactação (DEL)	160	196 $\pm$ 88	159 $\pm$ 85	0,107
Dias em gestação	70	87 $\pm$ 70	70 $\pm$ 67	0,123
Média da atividade nos ult.30 d (min)	283	299 $\pm$ 66	272 $\pm$ 50	0,017
Média de ócio nos ult.30 d (min)	562	565 $\pm$ 66	592 $\pm$ 73	0,047
Média de ruminação nos ult.30 d (min)	557	546 $\pm$ 33	547 $\pm$ 30	0,450
Média de duração da ordenha (s)	390	385 $\pm$ 72	444 $\pm$ 100	0,001
Média de produção na ordenha nos ult.30 d (kg)	14,7	14 $\pm$ 3,6	16 $\pm$ 3,8	0,006
Média de produção por dia nos ult.30 d (kg)	39,2	38,4 $\pm$ 10,2	40,8 $\pm$ 11,8	0,138
ECS (CCS log ₂)	3	2 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1	1,000
AE Média do pico de fluxo nos ult. 30d (kg/min)	1,63	1,69 $\pm$ 0,42	1,62 $\pm$ 0,47	0,230
AD Média do pico de fluxo nos ult. 30d (kg/min)	1,69	1,77 $\pm$ 0,34	1,67 $\pm$ 0,38	0,089
PE Média do pico de fluxo nos ult. 30d (kg/min)	1,65	1,67 $\pm$ 0,38	1,62 $\pm$ 0,44	0,286
PD Média do pico de fluxo nos ult. 30d (kg/min)	1,60	1,62 $\pm$ 0,37	1,57 $\pm$ 0,50	0,281
Média do pico de fluxo total nos ult. 30d (kg/min)	1,64	1,69 $\pm$ 0,31	1,62 $\pm$ 0,30	0,123
AE Média da condutividade nos ult. 30d (mS/cm)	4,32	4,32 $\pm$ 0,26	4,35 $\pm$ 0,78	0,399
AD Média da condutividade nos ult. 30d (mS/cm)	4,35	4,32 $\pm$ 0,22	4,43 $\pm$ 0,56	0,122
PE Média da condutividade nos ult. 30d (mS/cm)	4,33	4,27 $\pm$ 0,30	4,45 $\pm$ 0,86	0,109
PD Média da condutividade nos ult. 30d (mS/cm)	4,30	4,27 $\pm$ 0,50	4,26 $\pm$ 1,03	0,476
Média da condutividade total nos ult. 30d (mS/cm)	4,33	4,29 $\pm$ 0,24	4,37 $\pm$ 0,50	0,184
AE Média da prod. por ordenha nos ult. 30d (kg)	3,29	3,26 $\pm$ 1,15	3,57 $\pm$ 1,30	0,096
AD Média da prod. por ordenha nos ult. 30d (kg)	3,41	3,35 $\pm$ 1,14	3,68 $\pm$ 1,56	0,125
PE Média da prod. por ordenha nos ult. 30d (kg)	4,10	4,08 $\pm$ 1,48	4,66 $\pm$ 2,08	0,060
PD Média da prod. por ordenha nos ult. 30d (kg)	4,18	4,01 $\pm$ 1,29	4,56 $\pm$ 1,94	0,056
Média da produção total por ordenha nos ult. 30d (kg)	3,77	3,68 $\pm$ 0,91	4,13 $\pm$ 0,97	0,008
AE Média da média de fluxos nos ult. 30d (kg)	1,22	1,22 $\pm$ 0,35	1,17 $\pm$ 0,38	0,219
AD Média da média de fluxos nos ult. 30d (kg)	1,22	1,26 $\pm$ 0,44	1,11 $\pm$ 0,45	0,044
PE Média da média de fluxos nos ult. 30d (kg)	1,17	1,67 $\pm$ 0,38	1,62 $\pm$ 0,44	0,464
PD Média da média de fluxos nos ult. 30d (kg)	1,15	1,09 $\pm$ 0,33	1,08 $\pm$ 0,48	0,430
Média da média de fluxos total nos ult. 30d (kg)	1,18	1,22 $\pm$ 0,27	1,16 $\pm$ 0,25	0,105

Obs.: AE quarto anterior esquerdo, AD quarto anterior direito, PE quarto posterior esquerdo e PD quarto posterior direito. As médias dos parâmetros avaliados nos últimos 30 dias antes do diagnóstico na forma de “nos ult. 30d”. As médias da produção por ordenha nos últimos 30 dias antes do diagnóstico na forma de “média da prod. por ordenha nos ult. 30d”. Os valores de P que foram significativos estão em negrito.

Tabela 2. Porcentagem de acurácia, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do modelo *generalized linear models* (GLM) nos dias -30, -25, -20, -15, -10, -5 retroativos ao diagnóstico de mastite clínica (dia 0), considerando as variáveis: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log₂), média da média de fluxos (kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).

Dias	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
-30	70	63	70	14	96
-25	69	50	69	5	98
-20	70	50	73	24	90
-15	69	40	70	5	96
-10	55	73	74	53	56
-5	75	75	75	24	97
0	77	74	77	36	95

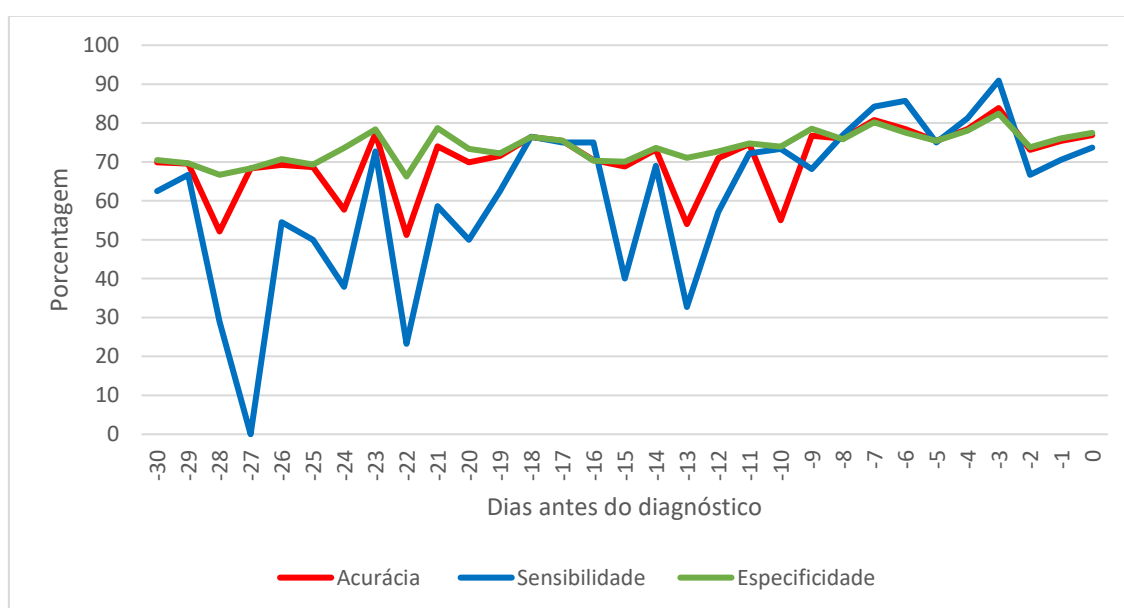


Figura 5. Porcentagem de acurácia, sensibilidade e especificidade do modelo GLM nos trinta dias retroativos ao diagnóstico de mastite clínica, considerando as variáveis: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).

Os valores de VPP apresentaram uma média de 28% ao longo dos 30 dias, com oscilações durante o período. Nos últimos 2 dias antes do diagnóstico de mastite, houve um aumento, chegando a 36%. Por outro lado, os valores de VPN se mantiveram mais elevados, apresentando uma média de 89% durante os 30 dias. A partir do dia -9 até o dia 0, esses valores mantiveram-se acima de 92% (Figura 6).

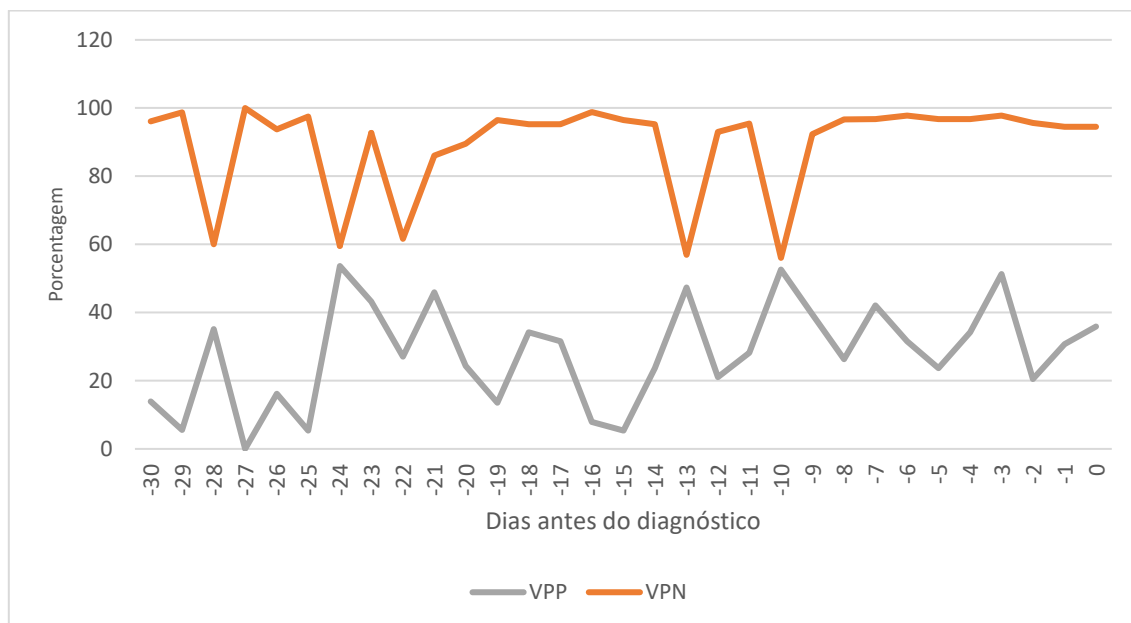


Figura 6. Porcentagem de valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do modelo GLM nos trinta dias retroativos ao diagnóstico de mastite clínica, considerando as variáveis: ruminação (min), atividade (min), ofegação (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).

Os resultados do modelo GLM no dia 0, comparados ao MDi, apresentaram maior acurácia quando considerado o valor de corte de MDi 1.4. No entanto, quando considerado o valor de MDi 2.0, os resultados foram muito próximos. Em relação à sensibilidade e VPN, os valores de MDi 2.0 e GLM foram semelhantes, mas ao utilizar o MDi 1.4, o GLM obteve um resultado mais elevado. Em relação a especificidade, os valores de MDi 1.4 e MDi 2.0 foram mais altos que o GLM, resultado este que seguiu no VPP (Figura 7).

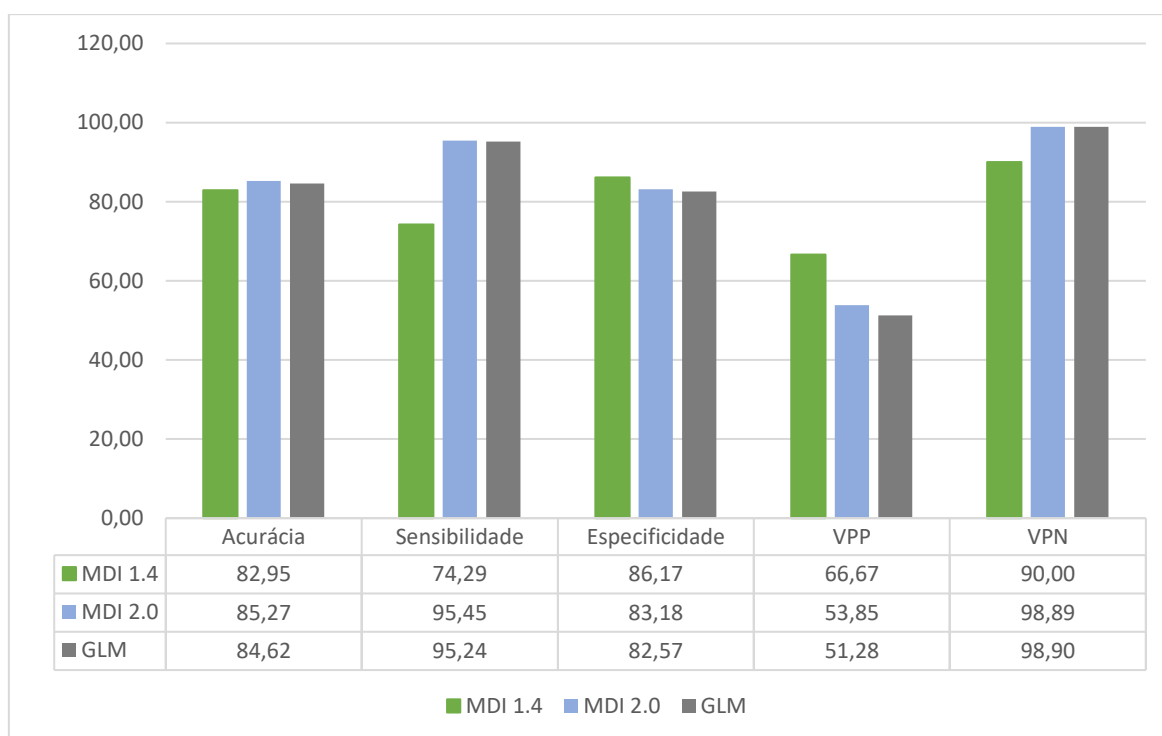


Figura 7. Porcentagem de acurácia, VPP, VPN, sensibilidade e especificidade do modelo, comparando os valores de MDi em relação ao modelo GLM no dia 0.

Utilizando os valores dos coeficientes (Tabela 3) dos parâmetros significativos no GLM é possível realizar o cálculo preditivo de mastite (Anexo 3).

Tabela 3. Coeficientes dos parâmetros do modelo GLM nos dias -10 a 0, retroativos ao diagnóstico de mastite clínica, considerando as variáveis: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção de leite por dia (kg), ECS (CSS Log₂), média da média de fluxos(kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).

Dia	Constante	Ruminação (s)	Ofegação (s)	Atividade (s)	Produção por dia (kg)	ECS (CSS Log ₂)	Média da média de fluxos (kg/min)	Média da condutividade de (mS/cm)	Média do pico de fluxo (kg/min)	Média da produção por ordenhas (kg)	Duração da ordenha (s)
-10	-0,0556115	-0,00088734	0,000705831	-0,00195813	0,00305858	0,110293	0,62879	0,0161478	-0,142379	-0,0832801	0,00183979
-9	-0,747396	0,000407133	0,000348829	0,00002006	-0,00316831	0,138589	0,825939	0,139214	-0,973424	0,177226	-0,00009426
-8	-3,60805	0,00322217	-0,00109234	-0,000140614	-0,00786409	0,130651	-2,40678	0,243205	2,19222	-0,0334267	0,00125116
-7	-3,10381	0,00149414	0,0029095	0,00121349	-0,0101666	0,13867	0,704424	0,235028	-0,230836	-0,131569	0,00277631
-6	-3,29619	0,00311749	0,00103891	0,000359788	-0,00850461	0,142073	2,68091	0,152358	-1,63403	-0,211849	0,0033489
-5	-2,09692	0,00117459	0,000728005	0,000452242	-0,0112387	0,100128	0,309092	0,264889	-0,183442	0,0290413	0,00084786
-4	-1,96195	-0,000827624	-0,000477577	-0,00114633	0,00399526	0,0776806	1,88791	0,448265	-1,25839	-0,202585	0,00344117
-3	-2,58679	0,00054588	0,000132165	0,000825989	-0,0187635	0,0790144	-2,25332	0,495329	1,57426	0,133008	0,000565317
-2	-1,88543	0,000849041	-0,000439292	0,00005785	-0,00293718	0,111606	1,3456	0,28142	-1,05549	-0,0758315	0,00192513
-1	-0,333252	-0,000295732	0,00207224	0,00123468	-0,022476	0,101145	1,77801	0,0502523	-1,37197	0,0444776	0,00193497
0	-4,69326	0,000817337	0,00145493	0,000843351	0,00609201	0,125155	0,639354	0,716935	-0,287546	-0,305115	0,00342737

5. DISCUSSÃO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar diferentes parâmetros obtidos no SOR e por meio de colares de monitoramento de comportamento para a identificação precoce de mastite clínica em vacas leiteiras. Utilizou-se o modelo GLM e, a partir do dia -9 até o dia 0, foram obtidos os seguintes valores médios: acurácia de 79,2%, sensibilidade de 82,5 %, especificidade de 78,7%, VPP de 41,5% e VPN de 92,2%.

Esses valores parcialmente atendem ao padrão exigido pelo padrão ISO 20966:2007, que estabelece uma sensibilidade superior a 70% e especificidade acima de 99% (ISO 20966:2007). Observa-se que a sensibilidade atinge o padrão ISO a partir do dia -9, mas não há uma linearidade consistente nos resultados do dia -30 até -9, oscilando entre 50% e 85%.

A sensibilidade é uma medida que indica a capacidade do teste em detectar corretamente os casos positivos (Schukken et al., 2011). Em outras palavras, quanto mais alta a sensibilidade, maior a proporção de vacas com mastite que são corretamente identificadas. No dia do diagnóstico, técnicos ou ordenhadores treinados conseguem identificar a mastite clínica com uma boa sensibilidade. Dependendo da habilidade do avaliador e da gravidade do caso, é possível alcançar em média até 80% de sensibilidade em uma única ordenha (Dodd et al., 1969; Hillerton, 2000). No entanto, a capacidade de prever com certa antecedência a mastite só é possível por meio de sistemas de monitoramento e análise de dados de ordenha (Hogeveen et al., 2021).

A especificidade é uma medida que indica a capacidade do teste em detectar corretamente os casos negativos, em relação ao total de casos negativos. Quanto maior a especificidade, menor a probabilidade de o teste fornecer um resultado falso positivo (Bradley et al., 2007). Os resultados obtidos para a especificidade não atingem o padrão exigido pela ISO 20966:2007, que estabelece uma especificidade acima de 99%. A média dos últimos 9 dias foi de 78,7%. No entanto, obter valores elevados de especificidade é um desafio quando se trata de sistemas de identificação precoce de mastite (Hovinen e Pyörälä, 2011; Hogeveen et al., 2021). Essa dificuldade existe, pois, a mastite é um processo inflamatório que causa várias alterações a nível metabólico,

produtivo, imunológico e comportamental. Essas alterações ocorrem em diferentes momentos antes e depois da vaca apresentar os sinais clínicos aparentes (Friggens et al., 2007). Erros de falso positivo fazem com que diminua a confiança por parte do produtor nos alertas de sistemas de identificação precoce (Steenekveld et al., 2010).

Os valores elevados de VPN na média dos 9 dias (95,9%) demonstram uma proporção significativa de acertos na identificação de vacas verdadeiramente negativas, ou seja, vacas saudáveis. O VPN representa a probabilidade de um resultado negativo pelo modelo preditivo ser verdadeiramente negativo (Barkema et al., 2008). Valores elevados de VPN são possíveis em testes com sensibilidade elevada, resultado este que corrobora os dados encontrados nessa pesquisa, com VPN (95,9%) e sensibilidade (82,5%).

Em contraste, o VPP indica a probabilidade de um resultado positivo no modelo preditivo ser verdadeiramente positivo (Schukken et al., 2011). No presente estudo, o VPP na média dos 9 dias foi de 33,5%, o que indica uma baixa probabilidade de um resultado positivo ser verdadeiramente positivo. Valores elevados de VPP são possíveis em testes com alta especificidade, porém o valor de especificidade foi baixo (78,7%), acompanhado por um valor baixo de VPP.

Os valores de VPN e VPP avaliam a população amostral, ao contrário da especificidade e sensibilidade que avaliam o potencial de acerto do teste, sem influência da amostra estudada ou da prevalência da doença. O VPP e VPN podem ter resultados diferentes dependendo da população, sendo influenciados por dois fatores: especificidade e prevalência da doença (Sedgwick, 2014).

A mastite é uma doença com baixa prevalência nos rebanhos leiteiros, como relatado por Bausewein et al. (2022). Essa constatação é consistente com os valores médios mensais de prevalência de mastite de 8,6% observados neste estudo, durante o período avaliado. Com isso, o resultado encontrado de valores elevados de VPN e sensibilidade ajudam a reduzir a chance de uma vaca saudável ser classificada erroneamente como tendo mastite, especialmente devido ao tratamento com antibióticos em animais saudáveis. Essa prática pode resultar em prejuízos financeiros devido ao descarte de leite desnecessariamente (Hovinen e Pyörälä, 2011). Além de aumentar a resistência

aos antibióticos, o que pode comprometer a eficácia do tratamento em futuros casos de mastite (Naranjo-Lucena and Slowey, 2023).

Pakrashi et al. (2023) desenvolveram, por meio da tecnologia de *machine learning*, um algoritmo para identificação precoce de vacas com mastite subclínica utilizando dados de produção individual de leite, pico de fluxo de leite, composição do leite (teores de gordura, lactose e proteína) e contagem de células somáticas (CCS). Foram incluídos no algoritmo o peso corporal, escore de condição corporal, histórico de mastite, chegando a prever com 7 dias de antecedência o caso de mastite subclínica, com sensibilidade de 69,45% e especificidade de 95,64%. Porém, a mensuração dos dados de peso corporal e escore, eram feitos de forma manual, sendo registrados semanalmente para todas as vacas, dificultando assim, a automatização do processo de coleta de dados.

Pakrashi et al. (2023), Kamphuis et al. (2010), Khatun et al. (2018), Fan et al. (2023) buscaram desenvolver modelos com altos valores de sensibilidade e especificidade, porém não conseguiram atender às normas do sistema ISO 20966:2007. Até o momento, as pesquisas nessa área têm dificuldade em alcançar os valores de sensibilidade e especificidade mencionados (Khatun et al., 2018; Hogeveen et al., 2021). Obter esses valores de sensibilidade e especificidade são difíceis devido à natureza multifatorial e complexa das alterações no comportamento e produção causadas pela mastite (Petrovski et al., 2006; Schwarz et al., 2010; Medrano-Galarza et al., 2012).

É possível identificar mastite atendendo os padrões ISO, porém com pouca antecedência. Fan et al. (2023) desenvolveram um modelo para mastite clínica por meio da metodologia baseada em árvore de decisão, utilizando os dados da ordenha atual e das últimas 9 ordenhas, atingindo valores de especificidade de 95% e sensibilidade 82% com a antecedência de 1 dia antes da vaca ter mastite.

Khatun et al. (2018) publicaram o estudo de detecção precoce, no mesmo modelo de SOR utilizado nesta pesquisa, e encontraram resultados preditivo de 1 a 3 dias com 90% de sensibilidade, 91% de especificidade e com acurácia de 96%, baseado em seis variáveis: produção de leite por quarto (kg), condutividade elétrica (mS/cm), média de fluxos(kg/min), quartos não ordenhados por ordenha, identificação feita pelo software Delpro® (sim ou não), produção de leite por hora

(kg/h) e condutividade elétrica por hora (ECH; mS/cm/h). Ao avaliarem vários modelos de predição, tanto univariáveis quanto multivariáveis, Hogeveen et al. (2010) e Steeneveld et al. (2010) obtiveram valores mais altos de sensibilidade e especificidade. O objetivo era reduzir o número de falsos negativos e falsos positivos, resultando em um tempo de predição mais curto para os casos de mastite.

A presente pesquisa conseguiu prever a ocorrência de mastite com uma média de 77,5% de acurácia, 77,3% de sensibilidade e 77,5% de especificidade nos 9 dias anteriores ao diagnóstico, resultado este com maior antecedência em comparação aos outros pesquisadores. Os resultados com maior antecedência foram de Kamphuis et al. (2010), com 24h antes do diagnóstico de mastite clínica, Khatun et al. (2018) com 1 a 3 dias antes do diagnóstico de mastite clínica e Pakrashi et al. (2023) com 7 dias antes do diagnóstico de mastite subclínica. Hogeveen et al. (2021) afirmam que os sistemas de identificação de mastite em SOR devem apresentar sensibilidade superior a 80% e alta especificidade acima de 99,5%, com a capacidade de detectar a mastite com até 7 dias antes do diagnóstico. A maior antecedência permite a implementação de ações corretivas e preventivas, como realização da cultura microbiológica ou alterações no manejo dos animais identificados como previsão de vir a ter mastite.

O desenvolvimento de modelos para predição de mastite, segundo Hogeveen et al. (2010), devem incluir mais variáveis, pois têm resultados melhores que modelos de análise univariável. Os parâmetros significativos utilizados no modelo GLM são consistentes com observações anteriores que também buscavam identificar precocemente a ocorrência de mastite. Neste estudo foi utilizado a produção de leite por hora como um parâmetro para a detecção de doenças, uma abordagem semelhante à realizada por Lukas et al. (2009). No entanto, neste trabalho, esse parâmetro foi convertido para a produção por dia (kg) e a média da produção por ordenhas (kg). Os parâmetros média da média de fluxos (kg/min), média do pico de fluxo (kg/min), e duração da ordenha (s) fizeram parte do trabalho de Khatun et al. (2018), sendo selecionados para o modelo final, pois assim como a produção de leite, possuem correlação com a mastite (Penry et al., 2017). Grindal et al. (1991) utilizaram os parâmetros de fluxo de leite (kg/min) e pico de fluxo (kg/min) para avaliar as alterações nesses parâmetros em vacas com mastite.

O uso da média da condutividade (mS/cm) e ECS (CSS Log₂) como parâmetros para a predição de mastite se deve ao fato de que esses indicadores estão relacionados ao processo inflamatório associado à mastite. Essas alterações no organismo têm sido estudadas por Kamphuis et al. (2008) e consideradas importantes para o diagnóstico e monitoramento dessa doença.

A condutividade (mS/cm) está diretamente associada à lesão celular causado pela invasão bacteriana no úbere, como observado em estudos de Nielen et al. (1992). E está diretamente relacionada à migração de leucócitos polimorfonucleares do sangue para o úbere, como uma resposta defensiva da vaca para prevenir a invasão bacteriana (Kremer et al., 1990).

O uso dos parâmetros ruminação, ofegação e atividade, coletados através do colar de monitoramento de comportamento, foram utilizados para modelos de diagnóstico de mastite, pois há relação de alteração do comportamento das vacas (Fitzpatrick et al. 2013), sendo que vacas com mastite permanecem mais tempo em pé em comparação a vacas sem mastite (Siivonen et al., 2011). Esses dados também estão de acordo com os resultados de Medrano-Galarza et al. (2012), que constataram que vacas com mastite moderada e grave apresentaram um aumento na atividade, o qual é atribuído ao desconforto causado pelo processo inflamatório, em comparação com vacas saudáveis.

A busca por métodos mais precisos e eficazes de identificação tem contribuído para a prevenção e tratamento da mastite. De acordo com a pesquisa conduzida por Halasa et al. (2007), a disseminação da infecção por mastite em um rebanho acarreta altos custos. Assim, é crucial a detecção precoce dos primeiros sinais de mastite, a fim de que os produtores de leite possam tomar medidas imediatas, como o tratamento das vacas afetadas, evitando que a doença progrida para um estado mais grave ou se espalhe para as demais vacas do rebanho. Principalmente devido à crescente demanda pelo uso consciente de antibióticos e tratamentos específicos, surge a necessidade de explorar outras terapias para o controle e tratamento da mastite que não envolvam o uso de antibióticos. Isso contribui para evitar o desenvolvimento de resistência antimicrobiana ao tratamento (Naranjo-Lucena and Slowey, 2023), abrindo novas oportunidades de pesquisa nessa área.

6. CONCLUSÃO

Com o GLM, foi possível prever a ocorrência de mastite clínica a partir do dia -9 até o dia 0, com valores médios de acurácia de 79,2%, sensibilidade de 82,5 %, especificidade de 78,7%, VPP de 41,5% e VPN de 92,2%, utilizando os parâmetros: ruminação (min), ofegação (min), atividade (min), produção por dia (kg), ECS (CSS Log₂), média da média de fluxos (kg/min), média da condutividade (mS/cm), média do pico de fluxo (kg/min), média da produção por ordenhas (kg) e duração da ordenha (s).

As previsões do modelo podem auxiliar os produtores na identificação das vacas com maior probabilidade de desenvolver mastite clínica, permitindo a implementação de ações corretivas adequadas. Esses parâmetros podem ser utilizados como base para o desenvolvimento de modelos matemáticos preditivos na identificação da mastite em vacas leiteiras, permitindo uma previsão eficiente com antecedência de 9 dias.

7. REFERÊNCIAS

- Bausewein M, Mansfeld R, Doherr MG, Harms J, Sorge US. Sensitivity and Specificity for the Detection of Clinical Mastitis by Automatic Milking Systems in Bavarian Dairy Herds. *Animals (Basel)*. 2022 Aug 19;12(16):2131.
- Barkema HW, Schukken YH, Lam TJ, Beiboer ML, Benedictus G, Brand A, et al. The value of pathogen-specific cow-level data for diagnostic test evaluation: a novel latent class analysis approach applied to subclinical mastitis in dairy cows. *Epidemiol Infect*. 2008;136(5):613-625.
- Birgel JEHF. Formas clínicas das mamites dos bovinos. *Rev Bras Buiatr*. 2021;1(4):100-123.
- Brito JRF, Brito MAVP. Mastite bovina, São Paulo: Manole, 2000: 114- 129.
- Bradley AJ, Green MJ, Newton HT. A review of the aetiology and pathogenesis of mastitis in dairy cows. *Vet J*. 2007;176(1):3-4.
- Edmondson P. Mastitis control in robotic milking systems. *In Practice*. 2012; 34:260-266.

Dohmen W, Neijenhuis F, Hogeveen H. Relationship between udder health and hygiene on farms with an automatic milking system. *J Dairy Sci.* 2010;93(9):4019-33.

Dodd FH, Westgarth DR, Neave FK, Kingwill RG. Mastitis - the strategy of control. *J Dairy Sci.* 1969; 52:689.

Fan X, Watters RD, Nydam DV, Virkler PD, Wieland M, Reed KF. Multivariable time series classification for clinical mastitis detection and prediction in automated milking systems. *J Dairy Sci.* 2023 May;106(5):3448-3464.

Fitzpatrick CE, Chapinal N, Petersson-Wolfe CS, DeVries TJ, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE. The effect of meloxicam on pain sensitivity, rumination time, and clinical signs in dairy cows with endotoxin-induced clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2013;96(5):2847-56.

Fischer K, Sjöström K, Stiernström A, Emanuelson U. Dairy farmers' perspectives on antibiotic use: A qualitative study. *J Dairy Sci.* 2019;102(3):2724-2737.

Friggens NC, Chagunda MGG, Bjerring M, Ridder C, Hojsgaard S, Larsen T. Estimating degree of mastitis from time-series measurements in milk: a test of a model based on lactate dehydrogenase measurements. *J Dairy Sci.* 2007;90(12):5415-5427.

Granja BM, Fidelis CE, Garcia BLN, Santos Mv. Evaluation of chromogenic culture media for rapid identification of microorganisms isolated from cows with clinical and subclinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2021;104(8):9115-9129.

Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Vet Q.* 2007;29(1):18-31.

Hair Jr., J.F., Black, W.C., Babin, B.J., and Anderson, R.E. *Multivariate Data Analysis*. 7th Edition. Upper Saddle River: Prentice Hall; 2009.

Hillerton, E. Detecting mastitis at cow-side. Annual Meeting-National Mastitis Council Incorporated. Vol. 39. National Mastitis Council; 1999, 2000.

Hovinen M, Pyörälä S. Invited review: udder health of dairy cows in automatic milking. *J Dairy Sci.* 2011;94(2):547-62.

Hogeveen H, Kamphuis C, Steeneveld W, Mollenhorst H. Sensors and clinical mastitis--the quest for the perfect alert. *Sensors (Basel).* 2010;10(9):7991-8009.

Hogeveen H, Klaas IC, Dalen G, Honig H, Zecconi A, Kelton DF, Sánchez Mainar M. Novel ways to use sensor data to improve mastitis management. *J Dairy Sci.* 2021;104(10):11317-11332.

IBM Corp. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows (Versão 25.0). Armonk, NY: IBM Corp.

ISO 20966:2007: Sistemas de ordenha automática - requisitos e testes. Anexo C: Exemplo de métodos de avaliação de sistemas de detecção de leite considerado anormal devido a sangue ou a alterações na homogeneidade. Organização Internacional de Normalização (ISO), 2007.

Jago JG, Davis PJ, Copeman, Wollford MM. The effect of pre-milking teat-brushing on milk processing time in automated milking system. *J Dairy Sci.* 2006; 73:187–192.

Kremer WD, Noordhuizen-Stassen EN, Lohuis JA. Host defence and bovine coliform mastitis. Host defence mechanisms and characteristics of coliform bacteria in coliform mastitis in bovine: a review. *Vet Q.* 1990 Apr;12(2):103-13.

Kamphuis C, Mollenhorst H, Feelders A, Pietersma D, Hogeveen H. Decision-tree induction to detect clinical mastitis with automatic milking. *Comput Electron Agr.* 2010;70(1):60-8.

Kamphuis C, Sherlock R, Jago J, Mein G, Hogeveen H. Automatic detection of clinical mastitis is improved by in-line monitoring of somatic cell count. *J Dairy Sci.* 2008;91(12):4560-70.

Khatun M, Thomson PC, Kerrisk KL, Lyons NA, Clark CF, Molfinio J, Garcia SC. Development of a new clinical mastitis detection method for automatic milking systems. *J Dairy Sci.* 2018;101(10):9385-9395.

Lukas JM, Reneau JK, Wallace R, Hawkins D, Munoz-Zanzi C. A novel method of analyzing daily milk production and electrical conductivity to predict disease onset. *J Dairy Sci.* 2009 Dec;92(12):5964-76.

Lusis I, Antane V, Laurs A. Effectiveness of mastitis detection index for cow monitoring and abnormal milk detection in milking robots. *Engineering for Rural Development.* 2017; 16:1383–1387.

Medrano-Galarza C, Gibbons J, Wagner S, Passille AM de, Rushen J. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. *J Dairy Sci.* 2012;95(12):6994-7002.

Mollenhorst H, Rijkaart LJ, Hogeveen H. Mastitis alert preferences of farmers milking with automatic milking systems. *J Dairy Sci.* 2012; 95:2523–2530.

Norberg E, Rogers GW, Goodling RC, Cooper JB, Madsen P. Genetic Parameters for Test-Day Electrical Conductivity of Milk for First-Lactation Cows from Random Regression Models. *J Dairy Sci.* 2004;87(6):1917-1924.

Nielen M, Deluyker H, Schukken YH, Brand A. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta-analysis of mastitis detection performance. *J Dairy Sci.* 1992 Feb;75(2):606-14.

NASEM (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine). 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th rev. ed. The National Academies Press.

Naranjo-Lucena A, Slowey R. Invited review: Antimicrobial resistance in bovine mastitis pathogens: A review of genetic determinants and prevalence of resistance in European countries. *J Dairy Sci.* 2023;106(1):1-23.

Pakrashi A, Ryan C, Guéret C, Perry DP, Corcoran M, Keane MT, Mac Namee B. Early detection of subclinical mastitis in lactating dairy cows using cow-level features. *J Dairy Sci.* 2023;106(1):1-23.

Petrovski KR, Trajcev M, Buneski G. A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis: review article. *J Dairy Sci.* 2006;77(2):52-60.

Penry JF, Crump PM, Ruegg PL, Reinemann DJ. Short communication: Cow- and quarter-level milking indicators and their associations with clinical mastitis in an automatic milking system. *J Dairy Sci.* 2017 Nov;100(11):9267-9272.

Sepúlveda-Varas P, Proudfoot KL, Weary DM, von Keyserlingk MAG. Changes in behaviour of dairy cows with clinical mastitis. *Appl Anim Behav Sci.* 2016; 175:8-13.

Rosenberg G, Pôrto Neto FQ, Gava A, Rosendo AM. Exame Clínico dos Bovinos. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1983.

Ruegg, Pamela L. A. 100-Year Review: mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci.* 2017; 100:10381-10397.

Siivonen, J., Taponen, S., Hovinen, M., Pastell, M., Lensink, J., Pyörälä, S., & Hänninen, L. (2011). Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 132(2-4), 101-106.

Sedgwick P. Understanding the implications of prevalence, sensitivity and specificity for the positive and negative predictive values of diagnostic tests. *Epidemiol Health.* 2014;36: e2014015.

Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to the development of the California Mastitis Test. J Am Vet Med Assoc. 1957;130(5):199-207.

Schwarz D, Diesterbeck US, Failing K, König S, Brügemann K, Zschöck M, Wolter W, Czerny CP. Somatic cell counts and bacteriological status in quarter foremilk samples of cows in Hesse, Germany--a longitudinal study. J Dairy Sci. 2010;93(12):5716-28.

Schukken YH, Günther J, Fitzpatrick J, Fontaine MC, Goetze L, Holst O, Leigh J, Petzl W, Schuberth HJ, Sipka A, Smith DG, Quesnell R, Watts J, Yancey R, Zerbe H, Gurjar A, Zadoks RN, Seyfert HM. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. Vet Immunol Immunopathol. 2011;144(3-4):270-289.

Shook GE. Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability. National Mastitis Council Annual, 21., 1982, Pennsylvania. Proceedings Madison: National Mastitis Council, 1982. p. 150-166.

Steeneveld W, van der Gaag LC, Barkema HW, Hogeveen H. Simplify the interpretation of alert lists for clinical mastitis in automatic milking systems. Comput Electron Agr. 2010;71(1):50-56.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÃO/ IMPACTO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O desenvolvimento de métodos de identificação mais precisos e eficazes contribui para a prevenção e tratamento da mastite clínica. Essas tecnologias visam promover o uso racional de antibióticos e a saúde das vacas e humanos envolvidos.

Embora existam pesquisas que explorem a combinação de parâmetros coletados por sistemas de ordenha automatizados para prever a mastite, nenhum estudo utilizou a combinação específica de parâmetros adotada nesta pesquisa, além de fornecer uma predição com 9 dias de antecedência em relação a outros estudos.

Outros cenários a serem explorados são a aplicação do modelo utilizado nesta pesquisa em cenários com um maior número de amostras de rebanhos e outros sistemas de ordenha automatizados que, juntamente com a detecção de mastite subclínica, seria uma perspectiva interessante.

Além disso, há outros modelos tecnológicos, como o *machine learning* utilizando algoritmos de árvore de decisão (como o *Random Forest*), que podem ser explorados para avaliar a interação dos dados.

ANEXO

Anexo 1 – Parecer do CEUA



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA

TÍTULO DA PESQUISA	Desenvolvimento de metodologia para identificação precoce de mastite em sistema de ordenha robotizada (SOR)		
Nº DO PARECER / VERSÃO	02298		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL	Cristina Santos Sotomaior		
ESPECIE DO ANIMAL	<i>Bos taurus taurus</i>	Nº DE ANIMAIS	55
NOME COMUM DO ANIMAL	Bovino	Nº SISBIO (animais de vida livre)	<i>Não se aplica</i>
SEXO / IDADE / PESO	Fêmeas/734kg média/ entre 3-6 anos	ATIVIDADES (animais de vida livre)	<i>Não se aplica</i>
ORIGEM DO ANIMAL	FEGA	GP TAXONÔMICOS (animais de vida livre)	<i>Não se aplica</i>
DATA DE INICIO DA PESQUISA	Outubro 2022	LOCAL (IS) (animais de vida livre)	<i>Não se aplica</i>
DATA DE TÉRMINO DA PESQUISA	Julho 2023	Nº SIGEN	<i>Não se aplica</i>
APRESENTAÇÃO DO PROJETO	O projeto será realizado a partir de dados já coletados de casos de mastite que ocorreram na Leiteria da FEGA entre agosto de 2021 e julho de 2022, de pesquisa aprovado na CEUA com parecer número 02043. A partir da lista de vacas que tiveram mastite (MC - mastite clínica e MSC - mastite subclínica) neste período, serão selecionadas vacas, em mesmo número, que não tiveram mastite (VSM) para servirem de grupo controle. De todas estas vacas será realizado um análise retrospectiva, com os seguintes dados: Parâmetros de sanidade da glândula mamária: parâmetros obtidos por meio dos relatórios de informações analisadas pelo próprio sistema de ordenha da Delaval e seu software (Delpro®): duração da ordenha (mm:ss), produção total da vaca e por quarto naquela ordenha em kg, CCS (células/mL), média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite (kg/min), presença de sangue (ppm), CE por quarto (mS/cm) e MDi (sem unidade). O MDi é um índice desenvolvido pela Delaval em seu software (Delpro®), que é composto pela porcentagem da produção esperada da vaca por quarto (%), presença de sangue (ppm), condutividade elétrica por quarto (mS/cm), coice durante o processo da ordenha (sim ou não) e CCS. São informações analisadas rotineiramente pelos dispositivos do próprio SOR. Esses dados retroativos de 30 dias anteriores ao diagnóstico, foram extraídos em planilhas por vaca avaliada (positiva ou negativa) em formato xlsx. para o software Excel® (Microsoft 2010). Dados de comportamento das vacas: registrados automaticamente pelas coleiras Cowmed® de monitoramento, compostas pelo acompanhamento de ruminação, atividade, ofegação e ócio da vaca. Todos os dados da atividade individual das vacas do rebanho são registrados em software próprio.		
OBJETIVO DA PESQUISA	Desenvolver um índice de identificação precoce de mastite em vacas submetidas a SOR. Específicos: • Desenvolver um modelo para identificação de MC e MSC, com sensibilidade maior que 70% e especificidade maior que 90%. • Definir qual o período de		

	antecedência, dentro de 30 dias, que o modelo é capaz de identificar o início da MC ou MSC. • Analisar e comparar dados retrospectivos de: duração da ordenha (mm:ss) produção total da vaca e por quarto naquela ordenha em kg, CCS, média de fluxo de leite por quarto por ordenha (kg/min), pico do fluxo de leite (kg/min), CE por quarto (mS/cm), de vacas consideradas positivas e negativas para MC e MSC.
RISCOS E ATITUDES MITIGATÓRIAS	Esta pesquisa irá utilizar dados já obtidos em outra pesquisa, a saber: Acompanhamento de um projeto de avaliação de incidência de mastite em sistema de ordenha robotizada, por métodos convencionais e por sensores, aprovada sob parecer número 02043. Sem riscos para os animais e para os operadores.
CONSIDERAÇÕES SOBRE A PESQUISA	Pesquisa inédita no Brasil, especialmente com o enfoque na avaliação do efeito da mastite, mensurada pelos parâmetros propostos, sobre o comportamento e produtividade dos animais em sistemas de ordenha robotizada, até o momento. Tendo em vista que o sistema de ordenha robotizado tem sido usado de forma crescente por produtores no Brasil e, embora os parâmetros de mensuração de mastite sejam conhecidos, eles não foram avaliados como proposto neste trabalho.
CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA	Todos os termos de apresentação obrigatória foram submetidos e estão de acordo.
RECOMENDAÇÕES	Não há recomendações.
CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES	Nada a declarar.
CONSIDERAÇÕES FINAIS	O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 6.899/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA sendo aprovado pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado. Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar uma emenda à CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização.
SITUAÇÃO DO PARECER	APROVADO

Curitiba, 13 de outubro de 2022

PROF. DR. SÉRGIO LUIZ ROCHA

Coordenador CEUA-PUCPR

A validade deste documento pode ser confirmada pelo e-mail ceua@pucpr.br informando o número do parecer.

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br

Anexo 2 - Tabela comparação de médias por dia de vacas com mastite (VCM) e vacas sem mastite (VSM) dos dados retroativos da média dos 30 dias anteriores ao diagnóstico de mastite. AE quarto anterior esquerdo, AD quarto anterior direito, PE quarto posterior esquerdo e PD quarto posterior direito. A médias dos parâmetros avaliados nos últimos 30 dias antes do diagnóstico na forma de “nos ult. 30d”. “Med.” abreviação de média, “DP” abreviação de desvio padrão.

DP VCM		241,2	48,0	132,8	275,0	4,3	13,7	2	0,40	0,36	0,42	0,42	0,93	1,01	0,79	0,85	0,49	0,41	0,43	0,50	1,52	1,79	2,28	2,11	0,26	0,48	0,31	1,09	114,52
Valor P		0,1	0,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0	0,30	0,23	0,47	0,47	0,42	0,23	0,11	0,25	0,20	0,27	0,50	0,47	0,16	0,18	0,08	0,06	0,28	0,11	0,26	0,02	0,00
Med. VSM	-26	353,9	16,2	192,8	373,3	15,0	38,7	4	1,23	1,23	1,22	1,19	4,35	4,31	4,33	4,26	1,69	1,72	1,69	1,62	3,32	3,39	4,25	4,27	1,23	4,31	1,69	3,81	394,93
Med. VCM		403,7	31,9	199,1	456,8	16,8	42,8	4	1,21	1,20	1,20	1,18	4,37	4,26	4,48	4,23	1,66	1,68	1,67	1,62	3,67	3,66	4,80	4,76	1,20	4,34	1,66	4,23	451,68
DP VSM		268,6	46,9	161,1	290,7	3,9	11,0	2	0,38	0,30	0,35	0,34	0,36	0,38	0,42	0,38	0,44	0,37	0,42	0,40	1,18	1,22	1,58	1,30	0,28	0,30	0,34	0,97	79,39
DP VCM		236,9	64,8	128,1	278,0	4,7	13,9	2	0,43	0,36	0,41	0,46	0,85	1,02	0,86	1,13	0,54	0,44	0,50	0,56	1,45	1,69	2,24	2,19	0,29	0,58	0,37	1,19	109,77
Valor P		0,2	0,1	0,4	0,1	0,0	0,1	0	0,38	0,30	0,40	0,44	0,45	0,40	0,15	0,43	0,41	0,35	0,41	0,50	0,10	0,20	0,09	0,11	0,32	0,40	0,36	0,03	0,00
Med. VSM	-25	360,6	12,6	195,3	373,7	15,2	40,5	3	1,22	1,26	1,20	1,16	4,35	4,34	4,33	4,25	1,69	1,75	1,68	1,59	3,36	3,52	4,29	4,21	1,22	4,32	1,68	3,85	400,45
Med. VCM		414,7	19,3	217,3	439,4	17,8	41,7	4	1,20	1,23	1,20	1,19	4,36	4,60	4,47	4,39	1,68	1,74	1,69	1,63	3,95	3,98	4,94	5,04	1,21	4,45	1,69	4,48	464,87
DP VSM		266,7	44,8	156,5	282,4	4,8	13,1	2	0,35	0,30	0,34	0,32	0,42	0,33	0,34	0,41	0,43	0,37	0,42	0,38	1,27	1,41	1,89	1,51	0,27	0,30	0,32	1,20	80,81
DP VCM		244,9	42,1	141,0	270,1	5,3	15,8	2	0,40	0,34	0,38	0,44	0,83	1,24	1,07	0,93	0,51	0,40	0,48	0,55	1,64	1,59	2,40	2,27	0,27	0,62	0,35	1,33	135,97
Valor P		0,1	0,2	0,2	0,1	0,0	0,3	0	0,40	0,37	0,48	0,37	0,47	0,11	0,23	0,19	0,48	0,45	0,47	0,34	0,03	0,07	0,08	0,02	0,44	0,89	0,48	0,01	0,01
Med. VSM	-24	343,1	10,4	189,8	359,0	15,0	38,4	2	1,23	1,26	1,21	1,19	4,41	4,39	4,36	4,29	1,72	1,76	1,69	1,64	3,35	3,43	4,17	4,20	1,23	1,23	1,71	3,78	397,68
Med. VCM		428,9	17,2	204,9	439,6	17,4	42,1	4	1,17	1,19	1,17	1,13	4,33	4,49	4,40	4,21	1,62	1,68	1,65	1,55	3,91	3,93	4,97	4,75	1,17	1,17	1,63	4,39	465,61
DP VSM		270,9	27,8	161,3	286,0	4,5	13,0	2	0,35	0,31	0,33	0,35	0,39	0,34	0,46	0,33	0,44	0,36	0,40	0,41	1,28	1,38	1,61	1,46	0,28	0,28	0,33	1,10	82,91
DP VCM		248,6	55,4	130,9	259,3	5,8	12,8	2	0,40	0,37	0,38	0,41	0,91	0,86	0,93	1,15	0,51	0,45	0,46	0,50	1,68	1,92	2,66	2,24	0,27	0,27	0,33	1,45	101,14
Valor P		0,0	0,2	0,3	0,1	0,0	0,1	0	0,23	0,15	0,30	0,20	0,32	0,26	0,40	0,35	0,16	0,16	0,34	0,16	0,04	0,08	0,05	0,09	0,13	0,13	0,89	0,01	0,00
Med. VSM	-23	350,4	13,9	194,7	371,7	15,0	38,9	2	1,22	1,27	1,22	1,17	4,34	4,32	4,33	4,29	1,68	1,76	1,69	1,60	3,38	3,47	4,24	4,14	1,22	4,32	1,68	3,82	390,81
Med. VCM		425,8	23,9	211,2	467,7	16,7	41,1	4	1,19	1,18	1,20	1,15	4,30	4,28	4,43	4,22	1,65	1,66	1,68	1,61	3,77	3,72	4,70	4,63	1,18	4,31	1,65	4,21	442,42
DP VSM		264,6	35,6	156,6	285,4	4,0	11,7	2	0,36	0,31	0,35	0,34	0,33	0,26	0,33	0,44	0,45	0,36	0,40	0,38	1,19	1,28	1,61	1,36	0,27	0,29	0,32	1,00	83,54
DP VCM		232,9	50,2	119,6	267,5	5,5	16,4	2	0,44	0,36	0,38	0,39	0,85	0,99	0,90	1,33	0,54	0,45	0,47	0,50	1,60	1,79	2,38	2,37	0,28	0,63	0,33	1,37	110,18
Valor P		0,1	0,1	0,3	0,0	0,0	0,2	0	0,36	0,12	0,41	0,37	0,41	0,42	0,26	0,36	0,40	0,12	0,46	0,46	0,10	0,23	0,14	0,13	0,25	0,46	0,32	0,06	0,01
Med. VSM	-22	345,7	17,5	183,2	351,5	15,2	39,4	3	1,24	1,28	1,22	1,19	4,36	4,35	4,32	4,33	1,70	1,78	1,68	1,63	3,43	3,54	4,27	4,14	1,24	4,34	1,71	3,85	389,73
Med. VCM		403,4	24,9	207,4	455,4	17,2	43,0	4	1,22	1,20	1,22	1,16	4,39	4,29	4,45	4,25	1,70	1,69	1,71	1,59	3,74	3,95	4,92	4,72	1,20	4,34	1,67	4,34	451,38
DP VSM		274,3	40,1	155,1	283,0	4,2	11,3	2	0,36	0,30	0,35	0,37	0,31	0,27	0,36	0,61	0,43	0,34	0,41	0,43	1,35	1,38	1,59	1,48	0,27	0,31	0,32	1,10	89,15
DP VCM		236,9	54,0	137,2	282,9	5,0	14,9	2	0,42	0,40	0,40	0,44	0,80	1,13	0,87	1,17	0,54	0,53	0,53	0,53	1,51	2,11	2,50	1,91	0,30	0,64	0,38	1,26	116,10
Valor P		0,1	0,2	0,2	0,0	0,0	0,1	0	0,36	0,13	0,48	0,39	0,41	0,36	0,19	0,35	0,49	0,18	0,40	0,34	0,14	0,14	0,08	0,05	0,25	0,48	0,33	0,02	0,00

Med. VSM	-21	346,4	13,7	189,5	348,3	15,3	39,6	3	1,23	1,28	1,24	1,18	4,32	4,34	4,35	4,28	1,70	1,79	1,71	1,62	3,42	3,57	4,31	4,16	1,24	4,32	1,71	3,86	393,75
Med. VCM		432,5	19,1	204,2	473,4	16,1	39,3	4	1,19	1,19	1,21	1,17	4,39	4,28	4,47	4,26	1,64	1,69	1,68	1,61	3,57	3,62	4,51	4,50	1,19	4,35	1,66	4,06	431,68
DP VSM		273,6	32,7	158,7	278,1	3,9	11,0	2	0,36	0,30	0,33	0,34	0,32	0,25	0,28	0,57	0,43	0,36	0,41	0,40	1,25	1,27	1,63	1,36	0,27	0,28	0,31	0,96	82,10
DP VCM		236,6	30,6	124,5	276,8	4,1	12,5	2	0,43	0,38	0,41	0,46	0,80	1,11	0,85	1,13	0,54	0,48	0,51	0,55	1,43	1,65	1,88	1,85	0,29	0,58	0,36	1,04	98,97
Valor P		0,0	0,2	0,3	0,0	0,1	0,4	0	0,27	0,12	0,38	0,46	0,30	0,39	0,19	0,46	0,26	0,12	0,40	0,46	0,29	0,43	0,29	0,16	0,21	0,37	0,21	0,17	0,02
Med. VSM	-20	351,2	14,4	193,9	360,0	15,3	40,7	3	1,24	1,29	1,24	1,18	1,24	4,34	4,33	4,26	1,72	1,77	1,71	1,62	3,46	3,54	4,32	4,19	1,24	4,31	1,71	3,89	395,02
Med. VCM		421,9	17,6	220,7	469,4	16,9	44,2	4	1,21	1,20	1,20	1,16	1,21	4,27	4,49	4,26	1,69	1,70	1,67	1,58	3,67	3,70	4,79	4,80	1,20	4,36	1,66	4,25	441,51
DP VSM		270,7	39,4	159,7	277,3	3,8	12,3	2	0,37	0,31	0,36	0,34	0,37	0,28	0,34	0,58	0,45	0,34	0,42	0,42	1,26	1,20	1,63	1,35	0,28	0,29	0,33	1,00	76,76
DP VCM		229,6	35,6	134,8	269,2	4,4	14,1	2	0,41	0,34	0,38	0,44	0,41	1,13	0,88	1,08	0,52	0,41	0,46	0,52	1,52	1,65	2,09	2,21	0,27	0,57	0,33	1,14	104,19
Valor P		0,1	0,3	0,2	0,0	0,0	0,1	0	0,35	0,09	0,30	0,41	0,35	0,36	0,13	0,49	0,40	0,16	0,32	0,34	0,24	0,30	0,12	0,06	0,19	0,30	0,22	0,05	0,01
Med. VSM	-19	344,9	21,8	192,5	355,6	15,6	37,9	3	1,27	1,31	1,25	1,20	4,35	4,35	4,35	4,28	1,73	1,83	1,72	1,63	3,49	3,60	4,43	4,26	1,26	4,33	1,74	3,94	394,61
Med. VCM		460,4	17,1	244,2	485,7	16,6	40,5	4	1,19	1,22	1,21	1,17	4,32	4,41	4,48	4,16	1,64	1,73	1,68	1,61	3,59	3,73	4,78	4,64	1,20	4,34	1,67	4,19	446,25
DP VSM		266,2	50,0	160,5	279,9	3,9	11,1	2	0,37	0,32	0,34	0,33	0,33	0,30	0,31	0,61	0,43	0,38	0,40	0,40	1,20	1,20	1,62	1,46	0,28	0,31	0,33	0,96	80,93
DP VCM		211,2	40,3	127,9	226,1	4,5	13,8	2	0,42	0,33	0,41	0,43	0,90	0,94	0,89	1,16	0,50	0,43	0,50	0,48	1,43	1,70	2,33	2,10	0,28	0,63	0,34	1,13	118,86
Valor P		0,0	0,3	0,0	0,0	0,9	0,2	0	0,17	0,08	0,30	0,39	0,43	0,35	0,19	0,29	0,16	0,12	0,32	0,41	0,35	0,34	0,21	0,17	0,13	0,44	0,15	0,12	0,01
Med. VSM	-18	346,8	16,2	184,3	357,2	15,2	40,0	3	1,24	1,29	1,23	1,18	4,32	4,32	4,31	4,19	1,71	1,79	1,69	1,62	3,43	3,53	4,30	4,13	1,24	4,29	1,71	3,85	395,51
Med. VCM		461,9	22,2	236,5	487,1	18,0	42,7	4	1,22	1,23	1,19	1,16	4,44	4,34	4,51	4,22	1,69	1,73	1,67	1,62	3,97	3,95	5,14	5,01	1,20	4,38	1,68	4,53	471,04
DP VSM		272,5	34,9	155,6	284,3	3,7	12,5	2	0,36	0,31	0,34	0,35	0,32	0,27	0,36	0,64	0,43	0,35	0,41	0,41	1,24	1,27	1,53	1,37	0,27	0,31	0,31	0,93	84,53
DP VCM		211,5	47,8	119,2	228,2	4,7	14,3	2	0,42	0,33	0,38	0,44	0,81	1,18	0,88	1,15	0,51	0,39	0,46	0,52	1,52	1,74	2,33	2,32	0,27	0,60	0,33	1,22	118,50
Valor P		0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0	0,40	0,17	0,29	0,43	0,19	0,47	0,09	0,45	0,43	0,20	0,40	0,47	0,03	0,10	0,03	0,02	0,25	0,19	0,33	0,00	0,00
Med. VSM	-17	346,3	9,8	187,2	361,0	15,4	38,9	3	1,26	1,30	1,24	1,20	4,33	4,34	4,31	4,25	1,73	1,82	1,71	1,67	3,48	3,57	4,35	4,23	1,26	4,31	1,74	3,91	397,19
Med. VCM		454,2	24,2	230,1	499,3	17,5	41,1	5	1,23	1,23	1,22	1,20	4,39	4,56	4,47	4,35	1,72	1,74	1,73	1,66	3,76	4,10	4,84	4,91	1,22	4,44	1,71	4,41	454,32
DP VSM		271,4	27,4	156,3	285,9	3,9	11,7	2	0,36	0,32	0,35	0,35	0,34	0,29	0,36	0,59	0,43	0,35	0,40	0,41	1,25	1,29	1,54	1,40	0,28	0,31	0,31	0,98	91,85
DP VCM		214,4	46,0	129,7	251,1	5,2	15,6	2	0,41	0,35	0,40	0,41	0,81	1,05	1,03	1,19	0,52	0,42	0,52	0,50	1,54	2,12	2,50	1,92	0,27	0,57	0,34	1,30	120,68
Valor P		0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	0	0,35	0,15	0,40	0,50	0,34	0,12	0,18	0,32	0,44	0,14	0,44	0,44	0,16	0,09	0,14	0,03	0,26	0,10	0,33	0,02	0,01
Med. VSM	-16	355,1	20,8	190,4	359,7	15,2	39,2	3	1,25	1,29	1,22	1,22	4,31	4,32	4,29	4,28	1,71	1,82	1,71	1,65	3,39	3,47	4,30	4,22	1,25	4,30	1,73	3,85	388,75
Med. VCM		464,5	27,4	228,0	494,2	16,4	39,6	5	1,20	1,22	1,18	1,15	4,46	4,58	4,53	4,20	1,67	1,69	1,67	1,59	3,57	3,71	4,58	4,61	1,19	4,44	1,66	4,13	441,97

DP VSM		269,3	42,0	155,1	277,4	3,7	11,3	2	0,37	0,33	0,36	0,33	0,39	0,25	0,48	0,56	0,44	0,38	0,43	0,38	1,23	1,15	1,62	1,28	0,28	0,30	0,32	0,93	79,60
DP VCM		209,1	45,7	116,8	235,7	4,4	12,8	2	0,41	0,33	0,38	0,46	0,81	1,13	0,90	1,28	0,50	0,40	0,47	0,56	1,55	1,55	2,09	2,25	0,27	0,60	0,31	1,14	113,00
Valor P		0,0	0,2	0,1	0,0	0,1	0,4	0	0,30	0,15	0,25	0,20	0,14	0,08	0,06	0,36	0,31	0,05	0,34	0,26	0,27	0,21	0,23	0,16	0,13	0,08	0,13	0,09	0,01
Med. VSM	-15	319,5	21,5	182,2	324,1	15,9	40,3	3	1,26	1,30	1,24	1,20	4,34	4,35	4,29	4,23	1,74	1,82	1,72	1,64	3,55	3,72	4,46	4,41	1,26	4,30	1,74	4,03	396,24
Med. VCM		421,0	30,2	210,7	438,6	17,6	43,6	4	1,18	1,24	1,20	1,16	4,40	4,60	4,48	4,16	1,65	1,73	1,67	1,63	3,83	3,95	4,97	4,96	1,20	4,41	1,67	4,43	453,09
DP VSM		273,2	70,6	165,0	280,5	4,1	10,0	2	0,37	0,31	0,34	0,34	0,33	0,32	0,37	0,74	0,47	0,39	0,42	0,39	1,25	1,33	1,75	1,47	0,27	0,32	0,32	0,99	89,41
DP VCM		242,8	53,3	134,5	259,9	5,3	15,3	2	0,37	0,30	0,37	0,43	0,81	0,53	0,90	1,05	0,45	0,35	0,46	0,55	1,60	1,82	2,40	2,38	0,24	0,52	0,30	1,33	114,98
Valor P		0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,1	0	0,15	0,13	0,31	0,30	0,33	0,01	0,10	0,37	0,18	0,10	0,28	0,44	0,17	0,25	0,12	0,10	0,11	0,12	0,15	0,05	0,00
Med. VSM	-14	352,0	18,4	194,8	349,6	15,6	39,2	3	1,27	1,30	1,27	1,22	4,31	4,33	4,30	4,22	1,75	1,81	1,75	1,65	3,49	3,55	4,43	4,30	1,27	4,29	1,75	3,94	391,41
Med. VCM		448,8	14,8	231,9	486,4	16,3	41,6	4	1,16	1,19	1,15	1,15	4,41	4,29	4,45	4,18	1,63	1,67	1,63	1,58	3,55	3,60	4,63	4,63	1,16	4,33	1,63	4,11	436,38
DP VSM		272,1	40,0	161,3	273,8	4,4	11,6	2	0,37	0,32	0,34	0,34	0,34	0,25	0,36	0,57	0,45	0,37	0,39	0,40	1,30	1,30	1,73	1,56	0,28	0,28	0,31	1,09	79,19
DP VCM		225,5	35,2	130,8	263,3	5,4	15,2	2	0,41	0,36	0,38	0,45	0,82	1,21	1,00	1,26	0,51	0,43	0,49	0,55	1,45	1,87	2,48	2,15	0,28	0,64	0,33	1,37	113,40
Valor P		0,0	0,3	0,1	0,0	0,2	0,2	0	0,09	0,06	0,05	0,19	0,23	0,42	0,19	0,41	0,10	0,04	0,90	0,24	0,41	0,44	0,33	0,20	0,03	0,35	0,03	0,25	0,01
Med. VSM	-13	347,0	19,6	193,2	344,3	15,4	41,0	3	1,25	1,30	1,24	1,18	4,32	4,31	4,31	4,12	1,71	1,82	1,72	1,61	3,46	3,59	4,35	4,21	1,25	4,26	1,72	3,90	392,19
Med. VCM		347,0	39,7	218,1	456,8	15,8	41,1	5	1,16	1,19	1,13	1,15	4,41	4,54	4,51	4,29	1,60	1,66	1,60	1,57	3,42	3,53	4,52	4,48	1,16	4,43	1,61	3,99	433,75
DP VSM		271,6	45,3	160,9	274,0	3,7	11,7	2	0,37	0,31	0,32	0,35	0,29	0,23	0,34	0,86	0,45	0,35	0,37	0,43	1,18	1,23	1,62	1,47	0,26	0,31	0,31	0,91	80,36
DP VCM		225,8	61,0	126,6	249,4	4,5	15,6	2	0,40	0,30	0,39	0,44	0,92	1,02	0,87	1,07	0,50	0,38	0,48	0,52	1,34	1,73	2,29	2,07	0,27	0,59	0,33	1,13	106,87
Valor P		0,0	0,0	0,2	0,0	0,3	0,5	0	0,10	0,03	0,07	0,34	0,27	0,09	0,09	0,19	0,12	0,02	0,10	0,35	0,44	0,42	0,34	0,23	0,04	0,05	0,05	0,32	0,02
Med. VSM	-12	317,1	16,1	189,6	324,4	15,4	39,4	3	1,25	1,30	1,21	1,21	4,34	4,33	4,28	4,25	1,73	1,81	1,68	1,65	3,43	3,54	4,37	4,28	1,25	4,30	1,73	3,90	396,16
Med. VCM		423,9	28,6	221,7	443,2	15,6	40,1	5	1,17	1,18	1,13	1,11	4,38	4,53	4,35	4,07	1,61	1,67	1,61	1,54	3,41	3,54	4,47	4,32	1,15	4,33	1,61	3,94	431,83
DP VSM		271,1	43,5	173,7	282,0	3,9	11,5	2	0,35	0,32	0,36	0,34	0,32	0,26	0,48	0,56	0,41	0,37	0,42	0,41	1,25	1,21	1,73	1,38	0,28	0,31	0,32	0,98	78,31
DP VCM		234,9	47,0	135,6	251,1	4,8	15,5	2	0,39	0,32	0,40	0,47	0,77	1,03	1,15	1,41	0,46	0,41	0,53	0,56	1,35	1,52	2,38	2,18	0,27	0,69	0,33	1,19	103,86
Valor P		0,0	0,1	0,1	0,0	0,4	0,4	0	0,14	0,03	0,14	0,12	0,36	0,12	0,37	0,22	0,09	0,04	0,21	0,12	0,46	0,50	0,41	0,45	0,03	0,39	0,03	0,44	0,03
Med. VSM	-11	348,4	18,9	184,3	359,0	14,9	40,0	3	1,24	1,28	1,23	1,21	4,31	4,31	4,33	4,24	1,72	1,78	1,69	1,65	3,32	3,41	4,23	4,12	1,24	4,30	1,72	3,77	382,71
Med. VCM		466,5	25,5	229,4	498,4	16,5	41,7	5	1,18	1,17	1,17	1,14	4,33	4,41	4,45	4,21	1,63	1,64	1,64	1,56	3,53	3,73	4,70	4,62	1,17	4,35	1,62	4,16	443,76
DP VSM		270,4	45,0	155,7	282,4	3,7	12,5	2	0,35	0,31	0,35	0,34	0,34	0,25	0,30	0,53	0,42	0,35	0,42	0,39	1,15	1,20	1,55	1,32	0,27	0,27	0,31	0,93	77,07
DP VCM		207,1	49,0	115,9	227,9	4,6	16,4	2	0,41	0,34	0,40	0,44	0,83	0,85	0,92	1,13	0,50	0,39	0,48	0,54	1,27	1,92	2,38	2,03	0,28	0,51	0,33	1,16	105,83

Valor P		0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,3	0	0,21	0,05	0,24	0,20	0,43	0,22	0,21	0,43	0,17	0,03	0,31	0,16	0,20	0,17	0,13	0,08	0,08	0,26	0,06	0,04	0,00
Med. VSM	-10	336,6	15,2	182,9	335,8	14,3	39,0	3	1,22	1,28	1,23	1,18	4,43	4,42	4,46	4,33	1,69	1,78	1,70	1,61	3,22	3,33	4,03	3,91	1,23	4,41	1,70	3,63	375,64
Med. VCM		467,3	22,1	228,4	501,7	16,7	41,4	5	1,18	1,20	1,17	1,15	4,31	4,53	4,43	4,32	1,64	1,69	1,63	1,58	3,55	3,67	4,89	4,69	1,18	4,40	1,64	4,21	444,90
DP VSM		277,1	42,1	163,6	281,6	4,0	13,6	2	0,35	0,30	0,33	0,35	0,76	0,68	1,01	1,17	0,43	0,35	0,40	0,41	1,27	1,28	1,54	1,44	0,26	0,84	0,31	1,02	86,04
DP VCM		208,2	47,0	114,6	232,8	5,1	13,6	1	0,41	0,30	0,40	0,43	0,85	0,60	0,83	1,11	0,54	0,35	0,50	0,54	1,43	1,58	2,46	2,20	0,27	0,56	0,34	1,28	118,49
Valor P		0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0	0,32	0,10	0,19	0,38	0,23	0,17	0,43	0,49	0,32	0,09	0,23	0,39	0,11	0,12	0,02	0,02	0,15	0,47	0,16	0,01	0,00
Med. VSM	-9	333,3	22,3	189,8	360,7	14,6	38,0	3	1,20	1,25	1,19	1,20	4,29	4,27	4,13	4,37	1,66	1,76	1,66	1,64	3,25	3,32	4,11	4,11	1,22	4,26	1,69	3,70	389,61
Med. VCM		468,0	24,9	237,9	488,9	17,8	43,1	4	1,19	1,20	1,18	1,17	4,36	4,44	4,47	4,23	1,64	1,70	1,63	1,59	3,84	3,94	5,10	5,04	1,19	4,38	1,64	4,50	460,48
DP VSM		262,0	49,8	161,5	291,5	4,4	12,8	2	0,40	0,35	0,40	0,32	0,37	0,39	0,88	0,51	0,47	0,40	0,50	0,36	1,26	1,25	1,76	1,39	0,32	0,35	0,37	1,12	81,74
DP VCM		208,5	45,0	118,9	228,1	4,8	14,7	2	0,40	0,30	0,39	0,44	0,78	0,50	0,92	1,05	0,51	0,40	0,46	0,54	1,53	1,79	2,46	2,31	0,26	0,50	0,32	1,22	120,82
Valor P		0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0,45	0,24	0,43	0,34	0,29	0,03	0,03	0,20	0,40	0,21	0,37	0,27	0,02	0,03	0,01	0,01	0,30	0,11	0,23	0,00	0,00
Med. VSM	-8	337,1	18,8	187,9	352,2	14,5	38,8	3	1,21	1,28	1,22	1,21	4,33	4,32	4,27	4,29	1,69	1,77	1,69	1,65	3,24	3,32	4,10	4,04	1,24	4,30	1,71	3,68	387,53
Med. VCM		468,6	19,2	240,5	491,1	17,7	39,7	4	1,19	1,20	1,18	1,17	4,44	4,36	4,51	4,32	1,65	1,69	1,65	1,63	3,87	3,82	5,06	5,01	1,19	4,41	1,66	4,45	464,18
DP VSM		269,1	45,0	162,1	288,1	4,0	12,0	2	0,37	0,30	0,35	0,34	0,36	0,32	0,37	0,33	0,45	0,35	0,41	0,41	1,24	1,15	1,63	1,43	0,28	0,31	0,33	1,02	84,04
DP VCM		208,6	41,8	117,5	226,8	4,9	12,2	2	0,41	0,35	0,38	0,43	0,81	0,89	0,88	1,09	0,48	0,42	0,46	0,55	1,54	1,80	2,42	2,28	0,28	0,53	0,34	1,22	131,26
Valor P		0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,4	0	0,40	0,11	0,27	0,32	0,21	0,38	0,06	0,43	0,34	0,16	0,34	0,42	0,01	0,06	0,01	0,01	0,19	0,12	0,23	0,00	0,00
Med. VSM	-7	331,4	17,5	187,3	340,3	14,7	14,7	3	1,25	1,27	1,21	1,20	4,26	4,29	4,25	4,18	1,73	1,77	1,69	1,65	3,29	3,39	4,16	4,06	1,24	4,25	1,72	3,73	389,35
Med. VCM		468,3	35,5	231,4	485,0	17,5	17,5	5	1,15	1,21	1,20	1,15	4,29	4,69	4,48	4,25	1,61	1,72	1,66	1,59	3,78	3,85	4,99	4,95	1,18	4,43	1,65	4,40	456,03
DP VSM		271,7	46,8	164,8	284,3	4,5	4,5	2	0,39	0,31	0,36	0,34	0,33	0,31	0,39	0,74	0,48	0,37	0,43	0,42	1,32	1,28	1,68	1,56	0,28	0,30	0,33	1,12	81,57
DP VCM		208,5	47,9	119,0	223,0	5,1	5,1	2	0,41	0,31	0,39	0,44	0,89	0,72	0,89	1,08	0,53	0,37	0,49	0,54	1,67	1,67	2,35	2,25	0,28	0,57	0,34	1,27	128,03
Valor P		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0,12	0,15	0,42	0,26	0,42	0,00	0,06	0,35	0,11	0,23	0,39	0,27	0,06	0,06	0,02	0,01	0,13	0,03	0,14	0,00	0,00
Med. VSM	-6	330,9	16,8	195,9	342,5	15,0	38,6	3	1,23	1,28	1,18	1,21	4,29	4,32	4,13	4,29	1,69	1,78	1,65	1,64	3,36	3,47	4,16	4,21	1,23	4,26	1,70	3,81	393,52
Med. VCM		456,3	21,4	239,0	472,4	16,9	40,2	5	1,18	1,17	1,13	1,12	4,28	4,19	4,30	4,14	1,62	1,64	1,58	1,55	3,73	3,81	4,77	4,74	1,15	4,23	1,60	4,26	449,94
DP VSM		267,9	49,5	171,0	283,6	4,4	13,6	2	0,39	0,32	0,40	0,33	0,43	0,26	0,85	0,56	0,48	0,36	0,49	0,38	1,31	1,34	1,75	1,49	0,29	0,32	0,34	1,12	77,45
DP VCM		217,8	50,6	128,3	235,2	5,3	16,0	2	0,41	0,35	0,41	0,45	0,90	1,13	1,13	1,24	0,48	0,42	0,52	0,56	1,63	1,82	2,35	2,24	0,28	0,65	0,33	1,31	123,52
Valor P		0,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,3	0	0,24	0,05	0,26	0,14	0,46	0,23	0,19	0,24	0,21	0,04	0,25	0,16	0,11	0,14	0,07	0,09	0,07	0,40	0,06	0,03	0,01
Med. VSM	-5	340,9	17,5	185,6	342,1	15,0	38,1	3	1,23	1,29	1,22	1,22	4,19	4,29	4,24	4,26	1,69	1,79	1,68	1,66	3,35	3,45	4,18	4,22	1,24	4,24	1,71	3,80	389,42

Med. VCM		463,2	32,0	226,4	468,0	16,3	38,9	5	1,19	1,19	1,12	1,10	4,38	4,52	4,29	4,12	1,63	1,68	1,55	1,52	3,58	3,61	4,65	4,56	1,15	4,33	1,60	4,12	444,53
DP VSM		273,9	44,4	157,3	280,8	4,6	12,5	2	0,39	0,32	0,35	0,33	0,42	0,26	0,39	0,53	0,47	0,37	0,41	0,39	1,36	1,33	1,80	1,45	0,28	0,28	0,33	1,14	90,54
DP VCM		220,5	51,7	123,5	232,4	5,3	13,7	1	0,38	0,29	0,41	0,47	0,78	1,04	1,16	1,35	0,47	0,37	0,53	0,61	1,50	1,69	2,53	2,50	0,27	0,68	0,34	1,41	129,78
Valor P		0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4	1	0,28	0,03	0,09	0,08	0,07	0,09	0,40	0,27	0,24	0,05	0,10	0,90	0,21	0,30	0,15	0,21	0,04	0,23	0,04	0,10	0,01
Med. VSM	-4	332,2	16,0	181,2	347,3	14,9	37,8	3	1,26	1,30	1,23	1,20	4,33	4,31	4,27	4,21	1,73	1,81	1,69	1,65	3,35	3,43	4,15	4,12	1,25	4,28	1,73	3,76	386,06
Med. VCM		466,9	20,2	227,2	505,2	16,3	41,3	5	1,16	1,14	1,15	1,13	4,40	4,22	4,47	4,27	1,61	1,60	1,59	1,55	3,57	3,56	4,73	4,52	1,15	4,34	1,59	4,10	442,92
DP VSM		271,9	42,0	155,4	287,5	3,8	11,7	2	0,35	0,31	0,34	0,36	0,28	0,23	0,45	0,71	0,43	0,35	0,43	0,43	1,24	1,17	1,52	1,53	0,27	0,30	0,32	0,95	86,28
DP VCM		210,1	40,9	115,1	239,7	5,0	15,2	2	0,40	0,32	0,38	0,40	0,79	1,18	0,96	1,11	0,48	0,40	0,46	0,52	1,49	1,66	2,39	2,20	0,23	0,55	0,28	1,25	120,66
Valor P		0,0	0,3	0,0	0,0	0,1	0,1	0	0,10	0,00	0,12	0,17	0,29	0,32	0,11	0,38	0,08	0,00	0,13	0,16	0,21	0,33	0,08	0,15	0,01	0,25	0,01	0,07	0,00
Med. VSM	-3	316,1	19,3	176,6	326,9	14,4	38,6	3	1,25	1,29	1,22	1,20	4,26	4,29	4,26	4,19	1,71	1,79	1,67	1,62	3,22	3,32	4,03	4,03	1,24	4,25	1,70	3,65	383,77
Med. VCM		424,2	13,5	216,5	462,5	16,7	39,3	5	1,15	1,16	1,11	1,11	4,37	4,43	4,37	4,24	1,62	1,66	1,55	1,54	3,68	3,77	4,73	4,73	1,13	4,35	1,59	4,22	453,19
DP VSM		273,3	51,7	162,4	286,7	4,0	12,8	2	0,37	0,33	0,33	0,32	0,37	0,25	0,36	0,63	0,44	0,37	0,39	0,38	1,18	1,20	1,51	1,51	0,28	0,30	0,32	0,99	80,85
DP VCM		235,1	38,3	128,6	260,9	5,6	16,2	2	0,37	0,31	0,42	0,45	0,78	0,91	1,22	1,31	0,43	0,39	0,53	0,58	1,57	1,78	2,62	2,62	0,25	0,64	0,32	1,39	129,32
Valor P		0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,4	0	0,08	0,02	0,07	0,14	0,19	0,17	0,30	0,42	0,13	0,04	0,11	0,20	0,05	0,08	0,06	0,06	0,01	0,17	0,04	0,01	0,00
Med. VSM	-2	341,2	11,3	178,2	355,5	14,8	37,7	3	1,26	1,29	1,23	1,21	4,31	4,34	4,32	4,28	1,70	1,79	1,67	1,65	3,31	3,39	4,14	4,10	1,25	4,32	1,71	3,73	389,40
Med. VCM		439,0	19,7	215,1	471,4	16,8	39,4	4	1,15	1,18	1,13	1,13	4,34	4,56	4,50	4,35	1,60	1,67	1,59	1,65	3,62	3,72	4,80	4,78	1,15	4,44	1,61	4,24	459,93
DP VSM		274,9	33,8	152,5	291,8	4,2	13,2	2	0,38	0,32	0,33	0,33	0,36	0,25	0,30	0,64	0,45	0,38	0,40	0,41	1,22	1,22	1,58	1,49	0,28	0,28	0,33	1,04	97,30
DP VCM		232,8	51,4	128,0	259,6	5,4	13,9	2	0,42	0,33	0,39	0,44	0,84	1,07	0,92	1,13	0,51	0,44	0,47	0,54	1,50	1,70	2,52	2,62	0,27	0,59	0,33	1,36	132,53
Valor P		0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,3	0	0,09	0,04	0,09	0,15	0,43	0,11	0,13	0,37	0,37	0,08	0,16	0,20	0,13	0,14	0,07	0,07	0,03	0,11	0,06	0,02	0,00
Med. VSM	-1	321,5	13,4	175,1	328,8	14,7	38,4	3	1,24	1,28	1,20	1,20	4,34	4,33	4,22	4,23	1,71	1,79	1,66	1,64	3,36	3,43	4,06	4,06	1,24	4,28	1,71	3,73	388,40
Med. VCM		427,3	27,0	213,3	478,4	16,2	37,3	4	1,11	1,17	1,10	1,13	4,21	4,50	4,53	4,51	1,54	1,66	1,54	1,57	3,53	3,65	4,57	4,53	1,13	4,43	1,58	4,08	451,31
DP VSM		275,8	38,0	159,4	288,1	4,6	12,4	2	0,37	0,32	0,37	0,36	0,29	0,27	0,55	0,73	0,45	0,37	0,46	0,44	1,27	1,28	1,74	1,57	0,29	0,31	0,34	1,13	82,94
DP VCM		226,2	60,7	134,8	265,1	6,1	14,5	2	0,39	0,36	0,35	0,39	1,14	1,27	0,95	1,52	0,48	0,45	0,42	0,52	1,78	1,98	2,49	2,38	0,25	0,66	0,29	1,53	115,79
Valor P		0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,3	0	0,04	0,06	0,06	0,16	0,24	0,21	0,03	0,14	0,03	0,07	0,08	0,21	0,29	0,27	0,13	0,13	0,02	0,09	0,02	0,10	0,00
Med. VSM	0	335,4	18,2	183,9	348,7	14,3	38,5	3	1,24	1,28	1,22	1,21	4,32	4,33	4,33	4,29	1,69	1,69	1,66	1,64	3,18	3,29	4,04	3,98	1,24	4,32	1,70	3,63	380,38
Med. VCM		435,5	20,6	207,8	518,7	14,1	33,9	5	0,99	1,08	0,98	1,03	4,14	4,36	4,39	4,71	1,43	1,43	1,42	1,46	3,08	3,28	3,98	3,89	1,02	4,40	1,46	3,54	443,20
DP VSM		271,0	48,3	160,9	284,2	4,0	13,0	2	0,39	0,34	0,36	0,33	0,34	0,29	0,29	0,62	0,49	0,49	0,42	0,40	1,18	1,16	1,62	1,36	0,29	0,29	0,34	1,01	65,55

DP VCM		216,5	52,0	129,7	283,4	7,0	17,4	2	0,38	0,35	0,34	0,36	1,68	1,43	1,35	1,76	0,47	0,47	0,42	0,44	1,92	2,07	2,76	2,35	0,24	0,80	0,27	1,74	131,83
Valor P		0,0	0,4	0,2	0,0	0,4	0,1	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,44	0,38	0,08	0,00	0,00	0,00	0,01	0,38	0,49	0,45	0,41	0,00	0,25	0,00	0,39	0,00

Anexo 3 – Arquivo Excel com as constantes para predição de mastite

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Dias	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
2	Ruminação (s)	588,00	567,00	567,00	553,00	488,00	564,00	559,00	488,00	488,00	520,00	564,00
3	Ofegação (s)	0,00	37,00	37,00	75,00	0,00	0,00	97,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	Atividade (s)	356,00	408,00	408,00	309,00	317,00	345,00	278,00	317,00	317,00	284,00	345,00
5	Produção dia (kg)	53,94	52,93	52,93	24,32	37,02	40,03	28,79	37,02	37,02	12,45	40,03
6	ECS (CSS)	2	0	0		1	2	5	6	6	8	6
7	Méd. da méd. de fluxos (kg/min)	1,43	0,93	0,93	1,35	0,78	1,13	2,01	0,78	0,78	0,75	1,13
8	Méd.da cond. (mS/cm)	4,52	4,39	4,39	4,17	4,18	4,41	4,13	4,18	4,18	4,04	4,41
9	Méd. do pico de fluxo (kg/min)	2,04	1,28	1,28	1,81	1,18	1,58	2,56	1,18	1,18	1,13	1,58
10	Méd. da prod.por ordenhas (kg)	4,50	4,41	4,41	3,04	3,09	5,00	4,80	3,09	3,09	1,04	5,00
11	Duração (s)	389,33	516,33	516,33	317,00	427,33	513,00	291,50	427,33	427,33	332,67	513,00
12	Estimado	0,13	0,20	-0,16	0,06	-0,16	0,28	0,17	0,54	0,68	0,69	0,72
13	Classificado	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00
14		SAUDÁVEL SAUDÁVEL SAUDÁVEL SAUDÁVEL SAUDÁVEL SAUDÁVEL SAUDÁVEL							MASTITE MASTITE MASTITE MASTITE			

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Dias	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
2	Constante	-0,05561150000	-0,74739600000	-3,60805000000	-3,10381000000	-3,29619000000	-2,09692000000	-1,96195000000	-2,58679000000	-1,88543000000	-0,33325200000	-4,69326000000
3	Ruminação (s)	-0,00088734000	0,00040713300	0,00322217000	0,00149414000	0,00311749000	0,00117459000	-0,00082762400	0,00054588000	0,00084904100	-0,00029573200	0,00081733700
4	Ofegação (s)	0,00070583100	0,00034882900	-0,00109234000	0,00290950000	0,00103891000	0,00072800500	-0,00047757700	0,00013216500	-0,00043929200	0,00207224000	0,00145493000
5	Atividade (s)	-0,00195813000	0,00002006550	-0,00014061400	0,00121349000	0,00035978800	0,00045224200	-0,00114633000	0,00082598900	0,00005785110	0,00123468000	0,00084335100
6	Prod. por dia (kg)	0,00305858000	-0,00316831000	-0,00786409000	-0,01016660000	-0,00850461000	-0,01123870000	0,00399526000	-0,01876350000	-0,00293718000	-0,02247600000	0,00609201000
7	ECS	0,11029300000	0,13858900000	0,13065100000	0,13867000000	0,14207300000	0,10012800000	0,07768060000	0,07901440000	0,11160600000	0,10114500000	0,12515500000
8	Méd. da méd. de fluxos (kg/min)	0,62879000000	0,82593900000	-2,40678000000	0,70442400000	2,68091000000	0,30909200000	1,88791000000	-2,25332000000	1,34560000000	1,77801000000	0,63935400000
9	Méd.da cond. (mS/cm)	0,01614780000	0,13921400000	0,24320500000	0,23502800000	0,15235800000	0,26488900000	0,44826500000	0,49532900000	0,28142000000	0,05025230000	0,71693500000
10	Méd. do pico de fluxo (kg/min)	-0,14237900000	-0,97342400000	2,19222000000	-0,23083600000	-1,63403000000	-0,18344200000	-1,25839000000	1,57426000000	-1,05549000000	-1,37197000000	-0,28754600000
11	Méd. da prod.por ordenhas (kg)	-0,08328010000	0,17722600000	-0,03342670000	-0,13156900000	-0,21184900000	0,02904130000	-0,20258500000	0,13300800000	-0,07583150000	0,04447760000	-0,30511500000
12	Duração (s)	0,00183979000	-0,00009426840	0,00125116000	0,00277631000	0,00334890000	0,00084786000	0,00344117000	0,00056531700	0,00192513000	0,00193497000	0,00342737000
13	Duração (s)	0,00183979000	-0,00009426840	0,00125116000	0,00277631000	0,00334890000	0,00084786000	0,00344117000	0,00056531700	0,00192513000	0,00193497000	0,00342737000