



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS REALEZA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM ESTAR E PRODUÇÃO
ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL**

DAVI DAYAN ASSENHEIMER

**MONITORAMENTO DE MARCADORES COMPORTAMENTAIS PARA
DETECÇÃO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS**

REALEZA

2023

DAVI DAYAN ASSENHEIMER

**MONITORAMENTO DE MARCADORES COMPORTAMENTAIS PARA
DETECÇÃO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Realeza, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marta Lizandra do Rêgo Leal

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maiara Garcia Blagitz Azevedo

REALEZA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Assenheimer, Davi Dayan
MONITORAMENTO DE MARCADORES COMPORTAMENTAIS PARA
DETECÇÃO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS / Davi
Dayan Assenheimer. -- 2023.
60 f.

Orientadora: DOUTORA Marta Lizandra do Rêgo Leal
Co-orientadora: DOUTORA Maiara Garcia Blagitz Azevedo
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde,
Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira
Sul, Realeza, PR, 2023.

1. BOVINOCULTURA. 2. MASTITE. 3. DIAGNÓSTICO PRECOCE.
4. PECUÁRIA DE PRECISÃO. I. Leal, Marta Lizandra do
Rêgo, orient. II. Azevedo, Maiara Garcia Blagitz,
co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul.
IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DAVI DAYAN ASSENHEIMER

Dissertação de mestrado, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Diagnóstico e Bem-estar Animal na Fronteira Sul.

Esta dissertação de mestrado foi defendida e aprovada pela banca em:

05/09/2023

BANCA EXAMINADORA

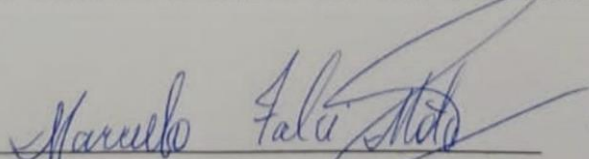
Marta Lizandra R. Leal

Prof.^a. Dr.^a. Marta Lizandra do Rêgo Leal – UFSM

Orientadora

Alice

Prof.^a. Dr.^a. Alice Maria Melville Paiva Della Libera - USP



Prof. Dr. Marcelo Falci Mota - UFFS

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Davi Daian Assenheimer e Ana Cláudia Leite, por investirem e apoiarem tudo que sempre sonhei. Minha coragem e inspiração sempre veio de vocês, que me ensinaram que a riqueza está naquilo que não se pode comprar com dinheiro, e a educação é uma delas. Obrigado por me proporcionarem essa vida, em que navego confiante, sem data para voltar, mas sempre na certeza que o porto vai estar lá.

Agradeço à minha irmã, Giovana Carolina Assenheimer, por sempre me incentivar, aconselhar com maturidade e encorajar a seguir em frente, por estar comigo brindando nas vitórias e me reerguendo nas derrotas. Meu exemplo de força e perseverança.

Agradeço às tias Elisa, Fabiane e Leila, por serem minhas grandes incentivadoras e inspirações como docentes fantásticas. Agradeço aos tios Flávio, Fernando e Daniel pelo carinho e apoio de sempre. Ao cunhado Leonardo, aos primos Felipe, Éllen, Rodrigo, Gabriela, Augusto e Arthur pelo companheirismo, horas de conversa, amizade e que apesar de longe sempre me mantiveram motivado e determinado a seguir em frente.

Agradeço ao meu afilhado Frederico e meu afilhado de coração Eduardo (minhas saudades diárias), pelo amor incondicional, pelo abraço quentinho na volta para casa e por sempre estarem comigo me motivando no coração.

Agradeço aos amigos de longa data, em especial Eduardo, João Bruno, Jean, Leonardo, Fabrício, Rodrigo e Bianca, pela risada, amizade, incentivo, conselhos e por sempre me fazerem lembrar de quem sou e quem tenho ao meu lado.

Agradeço às minhas mães científicas, professoras Marta Leal e Maiara Blagitz Azevedo, inspirações como profissionais e pesquisadoras. Apesar do caminho tortuoso sempre me transmitiram calma e confiança para realizar o meu trabalho. E mesmo em um momento tão especial de suas vidas nunca esqueceram de mim. À professora Tatiana Champion por me ouvir, ser guia, alicerce e aconselhar em tantos momentos (a promessa está de pé).

Ao professor Gentil Gonçalves, que auxiliou na organização e remanejamento financeiro e dos equipamentos necessários para a execução do experimento. À todo o corpo docente do PPG-SBPAS que fizeram parte da minha formação e foram grandes incentivadores nessa caminhada. À UFFS-Realeza que foi e sempre será minha casa. Obrigado a todos os professores, técnicos, seguranças e auxiliares que estiveram comigo durante esse processo.

À toda equipe da professora Alice Della Libera, por me acolherem em SP e me ajudarem com vários resultados. Agradeço de forma especial ao José, que me recebeu em seu apartamento durante a estadia na cidade grande.

Ao produtor, Joari Palavesini e sua família, que gentilmente cedeu seus animais para essa pesquisa. Obrigado por todo o acolhimento, por terem nos recebido durante muitas e muitas visitas, sempre com um sorriso no rosto. Sem dúvida missão cumprida, aproximamos a universidade do campo.

Às amigas/irmãs Pollyana Freisleben e Tainá Wagner, que fizeram do seu lar o meu, me ouviram, sorriram e choraram comigo em tantos momentos, e passaram tantas madrugadas me apoiando. À Luana por todo apoio desde o início e por me proporcionar a oportunidade de morar com pessoas fantásticas e ceder seu quarto em Realeza.

Agradeço às irmãs científicas Sara Kielbowicz e Maria Zangrande, por estarem comigo desde o primeiro dia de pós-graduação em todas as empreitadas, fazendo muita pesquisa, de forma descontraída, por estarem junto na boa e na ruim, e nunca desistirem de mim. Ao colega e amigo Fernando Gnoatto por toda ajuda e parceria. Agradeço aos amigos Higor Cogo e Richardy Aguiar e suas famílias, pelas risadas, pelas viagens, por me acolherem em seus lares, pelo trabalho, e por serem meus irmãos no Paraná.

Agradeço à toda minha equipe RUB e GERFUS, Daniela Wessling, Daniela Savi, Eduarda Ambrósio, Jhulie Nogueira, João Cazassa, Mariana Otto, Roseli Cordeiro e Sarah Vieira pela parceria em momentos de coleta e processamento de amostras. Vocês fazem parte de toda essa pesquisa, de todos os méritos e de todos os bons frutos que pretendemos colher. Obrigado por me acompanharem em todos os momentos, chuva ou sol, frio ou calor. Vocês serão sempre lembrados por mim no coração.

Por fim, dedico esse documento aos meus avós maternos, seu Santo Corrêa Leite, que apesar de “surdinho” sempre ouviu atento às minhas histórias, desabafos e conquistas. Aconselhou sabiamente e torceu tantas vezes, mesmo de longe. E à dona Elinor König Leite, que apesar de “esquecidinha”, sempre lembrou de mim, me abraçou em todos os desafios e me inspira como docente e pela pessoa fantástica que é.

“Sou um pouco de todos que conheci, um pouco dos lugares que fui, um pouco das saudades que deixei e sou muito das coisas que gostei”. Antoine de Saint-Exupéry

O preço é alto. A gente se questiona, a gente se culpa, a gente se angustia. Mas o destino, a vida e o peito às vezes pedem que a gente embarque. Alguns não vão. Mas nós, que fomos, viemos e iremos, não estamos livres do medo e de tantas fraquezas. Mas estamos para sempre livres do medo de nunca termos tentado. *Keep walking.*

RESUMO

A mastite é uma das doenças mais comuns e prejudiciais que as fêmeas bovinas podem apresentar. Essa enfermidade afeta diretamente o bem-estar do animal acometido e também ocasiona um impacto econômico negativo aos produtores, além de afetar a quantidade e qualidade do leite produzido. O monitoramento eletrônico de marcadores comportamentais e de saúde pode permitir a detecção de mudanças sutis antes do aparecimento de indicações clínicas evidentes. O objetivo do presente estudo foi investigar e identificar as alterações comportamentais de ruminação, atividade, ofegação e ócio registradas com um sistema eletrônico de monitoramento em vacas leiteiras da raça Holandesa com mastite subclínica (MSC). Com base nos achados do exame clínico geral de 188 vacas em lactação, foram selecionadas 10 vacas com mastite subclínica (GMSC) e 10 vacas clinicamente saudáveis (GS) (sem sinais clínicos de quaisquer doenças). O comportamento de ruminação, atividade, ofegação e ócio foram registrados com sensores em coleiras de monitoramento eletrônico C-TECH (Chipinside®, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil) em conexão com o sistema CowMed. Os dados foram registrados durante 29 dias: 14 dias antes do diagnóstico, no dia do diagnóstico e 14 dias após o diagnóstico de MSC, e foram comparados com os dados do GS do mesmo período. O grupo GS apresentou menor tempo de ruminação, ofegação e ócio ($p < 0.05$), mas um aumento significativo no tempo de atividade em relação ao grupo GMSC em ambos os períodos ($p < 0.05$). Os resultados obtidos foram distribuídos em dois artigos, que estão dispostos a seguir.

Palavras-chave: bem-estar animal, diagnóstico precoce, pecuária de precisão, sistema de monitoramento eletrônico.

ABSTRACT

Mastitis is one of the most common and harmful diseases that dairy cows can develop. This condition directly affects the well-being of the affected animal and also causes a negative economic impact on producers, besides affecting the quantity and quality of milk produced. Electronic monitoring of behavioral and health markers can allow the detection of subtle changes before obvious clinical signs appear. The aim of this study was to investigate and identify behavioral alterations in rumination, activity, panting, and rest, recorded using an electronic monitoring system in dairy cows with subclinical mastitis (SCM). Based on the findings of a general clinical examination of 188 lactating cows, 10 cows with subclinical mastitis (SCM group) and 10 clinically healthy cows (control group) (without clinical signs of any diseases) were selected. The behaviors of rumination, activity, panting, and rest were recorded using sensors in electronic monitoring collars C-TECH (Chipinside®, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil) connected to the CowMed system. Data were recorded for 29 days: 14 days before SCM diagnosis, on the day of diagnosis, and 14 days after SCM diagnosis, and were compared with control group data for the same period. The control group showed lower rumination, panting, and rest times ($p < 0.05$), but a significant increase in activity time compared to the SCM group during both periods ($p < 0.05$). The obtained results were distributed in two articles, which are presented below.

Keywords: animal welfare, early diagnosis, electronic monitoring system, precision livestock farming.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 - Biomarcadores do comportamento das vacas avaliadas identificados usando sensores em tempo real (C-TECH, Chip-Inside, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil) e quantificados em conjunto com o software (Cowmed®, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil) e suas descrições (MARTINS, 2020).....30

Tabela 2 - Parâmetros do comportamento de ruminação, ofegação, atividade e ócio registrados com sensores em tempo real medidos com a coleira C-TECH por grupos de vacas e períodos experimentais.....32

ARTIGO 2

Tabela 1 – Estatísticas resumidas do conjunto de dados.....45

Tabela 2 - Resultados obtidos da Correlação de Pearson entre o Tempo de Ruminação e Composição do Leite das vacas avaliadas no estudo.....46

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO 1

- Gráfico 1** - Tempo médio de ruminação dos grupos de vacas por dias de experimento.....32
- Gráfico 2** - Tempo médio de ofegação dos grupos de vacas por dias de experimento.....33
- Gráfico 3** - Tempo médio de atividade dos grupos de vacas por dias de experimento.....34
- Gráfico 4** - Tempo médio de ócio dos grupos de vacas por dias de experimento.....35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGVs – Ácidos Graxos Voláteis

BEA – Bem-estar animal

Bpm – Batimento por minuto

BR – Brasil

CCS – Contagem de células somáticas

CEP – Código de Endereçamento Postal

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

Cél. – Célula

CMS – Consumo de Matéria Seca

CMT – *California Mastitis Test*

D – Dia do diagnóstico

DC - Dias de coleta de leite

dL – Decilitro

ECG – Eletrocardiograma

Et al – e outros

EUA – Estados Unidos da América

FAWC – Farm Animal Welfare Council

FC – Frequência cardíaca

FND – Fibra em detergente neutro

FR – Frequência respiratória

GMSC – Grupo Mastite Subclínica

GS – Grupo Saudável

IDF – International Dairy Federation

ISO – Organização Internacional para padronização

Kg – Quilograma

Km – Quilômetro

LPS – Lipopolissacarídeo

M1 – Período experimental 1

M2 - Período experimental 2

MALDI-TOF – Espectrometria de massa de tempo de voo de dessorção/ionização a laser assistida por matriz

mL – Mililitro

MC – Mastite clínica

min - Minutos

MS – Matéria seca

MSC – Mastite Subclínica

n. – Número

p - Página

PARLPR – Programa de análise de rebanhos leiteiros do Paraná

Ph – Potencial hidrogenionico

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

Tel – Telefone

TMR – Ração Mista Total

TR – Tempo de ruminação

UFFS – Universidade Federal da Fronteira Sul

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 BEM-ESTAR ANIMAL.....	16
2.2 MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS	18
2.3 PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E BEM-ESTAR DE BOVINOS	20
2.4 SISTEMAS ELETRÔNICOS DE MONITORAMENTO DE BOVINOS LEITEIROS ...	23
3. ARTIGO 1	24
4. ARTIGO 2	41
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
6. REFERÊNCIAS.....	51

1. INTRODUÇÃO

Desde a década de 1960, após a publicação do livro “*Animal Machines*” (HARRISON, 1964), o tema bem-estar animal (BEA) vem sendo debatido e estudado em todo o mundo. Segundo BROOM (1986), o BEA refere-se ao estado do animal frente às suas tentativas de se adaptar ao ambiente em que se encontra. Fundamentado a isso, em 1993, foram estabelecidas “as cinco liberdades” como um instrumento de avaliação do BEA expressas como: livre de fome e sede; livre de dor, ferimentos e doenças; livre de desconforto; liberdade para expressar o comportamento natural e livre de medo e angústia (GRANDIN, 2014).

Na indústria leiteira, o bem-estar dos bovinos é um aspecto fundamental a ser considerado. Autores relatam que o manejo adequado e as condições ambientais favoráveis afetam diretamente o comportamento, a saúde e a produção desses animais (WEBB et al., 2019). A implementação de práticas de BEA também atende às demandas dos consumidores por produtos lácteos provenientes de sistemas de produção responsáveis e preocupados com o BEA, contribuindo para a sustentabilidade da indústria leiteira (TUCKER et al., 2020).

Há um consenso entre os pesquisadores de que o controle da dor em animais durante enfermidades é de extrema importância para preservar o seu bem-estar. A dor associada a doenças inflamatórias, como a mastite, é amplamente reconhecida como a principal fonte de desconforto em ruminantes (FITZPATRICK et al., 2006). Nos últimos anos, com os crescentes avanços da saúde única, a mastite voltou a ganhar ênfase, uma vez que, práticas como a utilização de antimicrobianos quando de forma inadimplente geram reflexos na saúde humana e/ou ambiental, como o surgimento de bactérias multirresistentes (OLIVEIRA et al., 2021).

A mastite é um grande gargalo sanitário na pecuária leiteira, devido as suas implicações diretas ou indiretas, que se perfilham desde o produtor até a indústria, podendo ainda, refletir no consumidor final (BEXIGA et al., 2011; HIITIO et al., 2016; LIMA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2021). A doença é responsável por gerar redução na qualidade e quantidade do leite produzido, gastos com o tratamento e conseqüente comprometimento do bem-estar do animal acometido, podendo levar a perda precoce do mesmo (TAPONEN et al., 2019).

Considerando esses aspectos, a prevenção e a detecção precoce desempenham um papel fundamental na minimização dos efeitos negativos da mastite na indústria leiteira, uma vez que esse diagnóstico precoce da mastite está associado a uma maior taxa de cura, redução da

duração da doença e menor incidência de complicações secundárias (BRADLEY et al., 2007; PYÖRÄLÄ et al., 2009).

Sob esta perspectiva, estudos têm sido conduzidos para examinar os parâmetros comportamentais de bovinos como indicadores precoces de enfermidades e de dor (WEARY et al., 2006; STUBSJØEN et al., 2009). As coleiras de monitoramento surgem como uma ferramenta promissora para supervisionar os rebanhos, sinalizar a dor e a ocorrência de doenças em vacas leiteiras. Essas coleiras são equipadas com sensores que registram a atividade e o comportamento das vacas que permitem identificar mudanças que podem estar relacionadas à presença de mastite. Essas alterações incluem modificações no padrão de alimentação, redução da atividade e aumento da temperatura corporal (WEARY et al., 2009).

Além disso, a utilização de técnicas não invasivas, como a monitorização da frequência cardíaca, permite uma avaliação contínua e em tempo real do estado de saúde dos animais, fornecendo dados objetivos e precisos sobre seu bem-estar (STANLEY et al., 2018). Dessa forma, a investigação das respostas comportamentais em bovinos com mastite clínica e subclínica pode fornecer uma abordagem abrangente para o diagnóstico precoce, monitoramento do tratamento e avaliação do bem-estar desses animais.

Portanto, o objetivo deste estudo foi monitorar e avaliar parâmetros fisiológicos e comportamentais em vacas leiteiras confinadas, sadias e com mastite subclínica. A análise desses parâmetros através de coleiras de monitoramento permitiu uma compreensão mais aprofundada dos efeitos da mastite subclínica no estado fisiológico e comportamental dos bovinos, contribuindo para aprimorar o diagnóstico e o manejo da doença, bem como para promover melhores práticas de BEA na indústria leiteira.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BEM-ESTAR ANIMAL

Nos últimos cinquenta anos, a produção pecuária passou por transformações notáveis para atender à crescente demanda por alimentos derivados de animais nas economias de maior crescimento do mundo (FAO, 2019). Pressões econômicas, inovações tecnológicas, mudanças demográficas, expectativas do consumidor e uma estrutura regulatória em evolução contribuíram para o ímpeto de mudanças na indústria global de laticínios (BARKEMA et al., 2015).

O uso ineficiente dos recursos naturais globais, os efeitos adversos à saúde e bem-estar humano, as consequências ambientais prejudiciais e o baixo índice de bem-estar animal (BEA) têm destacado a insustentabilidade do sistema pecuário. Esses fatores combinados resultaram em um aumento significativo na inaceitabilidade do setor lácteo perante o público (BROOM, 2019).

A preocupação pública em relação aos animais usados por humanos não é um fenômeno recente, mas tem ganhado cada vez mais importância ao longo do último século. Esse movimento teve início com a legislação britânica de proteção animal do século XIX (BULLER et al., 2018). Em 1964, o livro "Animal Machines" de Ruth Harrison foi publicado, desencadeando um debate mais amplo sobre o BEA e os direitos dos animais (HARRISON, 1964).

Ao longo das últimas cinco décadas, diversos aspectos relacionados à capacidade dos animais em lidar com o ambiente (BROOM, 1986; FRASER et al., 1990), qualidade de vida experimentada e avaliada pelos animais (SUMNER, 1996) e estados mentais positivos e negativos (DAWKINS, 1988; DUNCAN & PETHERICK, 1991; SANDOE, 1996) têm levado a uma variedade de definições, dependendo da importância atribuída a esses diferentes aspectos.

Segundo CORNISH et al. (2016), ainda não existe uma definição globalmente aceita de BEA. O termo é utilizado com diferentes significados (HEMSWORTH et al., 2015), e as partes interessadas têm diferentes definições e percepções sobre o BEA (VANHONACKER et al., 2008; FISHER, 2009). Nessa perspectiva, FRASER (2003) classificou as abordagens científicas para a definição do BEA em três grupos, dependendo se sua concentração é no funcionamento biológico do animal (objetivo), nas emoções vivenciadas pelos animais ou em seu estado afetivo (subjetivo), ou se o comportamento ou ambiente em que o animal vive é semelhante ao estado natural da espécie (vida natural).

As Cinco Liberdades, propostas em 1979 pelo Farm Animal Welfare Council (FAWC) do Reino Unido, têm sido amplamente utilizadas internacionalmente como uma estrutura conceitual para descrever os princípios fundamentais do BEA. Essas liberdades incluem: liberdade de sede, fome e má-nutrição; liberdade de desconforto; liberdade de dor, ferimentos e doenças; liberdade para expressar o comportamento natural; e liberdade de medo e estresse (VAPNEK & CHAPMAN, 2010). Essas liberdades são consideradas referências importantes para avaliar o BEA em diferentes contextos.

Para garantir essas liberdades, países do mundo inteiro – em especial a União Europeia - investiram significativamente em pesquisas sobre o bem-estar dos animais de produção como parte de uma abordagem política para identificar maneiras de melhorar a vida dos animais (BULLER et al., 2018; PHILLIPS & MOLENTO, 2020). A evolução dos conceitos e preceitos de BEA depende do avanço científico, o qual fornece as evidências para a construção de um consenso entre as pessoas (FONTANA & PINTO, 2021).

A avaliação animal é uma parte essencial da melhoria do padrão de BEA. Nesse sentido, esforços têm sido feitos para pesquisar indicadores de bem-estar com base científica como ferramentas de avaliação (FRASER et al., 2013). Nessa concepção, para conhecer de maneira científica o grau de BEA é necessário o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico. Nos procedimentos de diagnóstico centrados no animal, os indicadores mais utilizados são as respostas fisiológicas e comportamentais e a sua condição sanitária (LEEB et al., 2004).

2.2 MASTITE EM BOVINOS LEITEIROS

Nos últimos anos, com os crescentes avanços da saúde única, a mastite voltou a ganhar ênfase, uma vez que, práticas como a utilização de antimicrobianos quando de forma irresponsável geram reflexos na saúde humana e/ou ambiental, como o surgimento de bactérias multirresistentes (TAPONEN et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2021).

A doença é caracterizada pela inflamação da glândula mamária, podendo ou não estar associada à infecção. Ainda, tem como agravante um perfil multifatorial e uma gama de microrganismos que podem estar associados à doença (OIKONOMOU et al., 2014; TAPONEN et al., 2019), como bactérias, fungos, algas e vírus, além de lesões traumáticas e irritação química (ZHAO & LACASSE, 2008).

A mastite bovina é uma doença complexa e pode ser amplamente classificada em dois tipos, mastite clínica (MC) e mastite subclínica (MSC) (ASHRAF & IMRAN, 2020). O primeiro, é uma condição grave na qual são evidentes sinais locais e sistêmicos, incluindo vermelhidão e inflamação das áreas afetadas, dor, perda de apetite, aumento da temperatura corporal, redução da produção de leite, alterações na composição do leite (DE VLIEGHER et al., 2012), e em casos mais avançados, podem ser observados inclusive coágulos sanguíneos (LEHTOLAINEN et al., 2004).

Já na MSC, a aparência da glândula mamária e do leite são normais. A contagem de células somáticas (CCS) é uma das principais indicações de MSC. Os outros indicadores

incluem aumento da população bacteriana no leite, diminuição da produção de leite e alteração na composição e qualidade do leite (BIAN et al., 2014). Adicionalmente, MULLEN et al. (2013) explicam que vacas com níveis de CCS superiores a 200.000 células/mL são consideradas positivas.

Existem diversas alternativas para realizar o diagnóstico de mastite de forma direta e indireta. As formas diretas identificam os agentes causadores da doença, enquanto as formas indiretas detectam as consequências enfrentadas pelas vacas com mastite, como o aumento da celularidade do leite (VARGAS et al., 2014; AGHAMOHAMMADI et al., 2018).

Como ferramenta diagnóstica indireta, além da CCS (AGHAMOHAMMADI et al., 2018), pode-se utilizar o *California Mastitis Test* (CMT) (SCHALM & NOORLANDER, 1957). Já entre os métodos diretos encontram-se a cultura microbiológica tradicional e na fazenda (LAGO et al., 2011) e formas moleculares para identificação do patógeno após o isolamento, como a espectrometria de massa de tempo de voo de desorção/ionização a laser assistida por matriz (MALDI-TOF) (BARREIRO et al., 2010).

Tendo em vista todos os impactos negativos causados pela mastite em toda a cadeia leiteira, a detecção precoce é fundamental para diminuir todos os seus efeitos deletérios (REIS & LOPES, 2014). Nesta perspectiva, o monitoramento de marcadores comportamentais e de saúde pode permitir a detecção de mudanças sutis antes do aparecimento de indicações clínicas óbvias. Os dados que precedem os diagnósticos podem ser valiosos, se puderem prever riscos ou detectar doenças com mais eficiência do que observações usando indicadores clínicos (KING et al., 2018).

Nesse sentido, pesquisadores registraram medidas comportamentais em vacas com mastite clínica induzida experimentalmente e demonstraram que nos primeiros dias após o desafio intramamário com *Escherichia Coli* ou lipopolissacarídeo (LPS), as vacas apresentaram redução no consumo de ração e comportamento alimentar, passaram mais tempo em pé e menos tempo se autolimpando (SIIVONEN et al., 2011; FOGSGAARD et al., 2012). Também foi observado em outros estudos, que as vacas com mastite passaram menos tempo deitadas em relação ao grupo controle, possivelmente para aliviar a pressão no úbere (SIIVONEN et al., 2011; ZIMOV et al., 2011; CYPLES et al., 2012; MEDRANO-GALARZA et al., 2012).

Durante o período da doença, o tempo médio de ruminação diminuiu 5,33% para animais com MSC e 14,85% para MC (SCHMIDT et al., 2021). Em outro estudo, as vacas saudáveis em comparação com as vacas com MC, tiveram uma redução no tempo de ruminação

de 397 minutos/dia (STANGAFERRO et al., 2016). Vacas no meio da lactação não apresentaram mudanças consistentes no comportamento alimentar antes do diagnóstico de mastite, mas isso pode ter ocorrido devido à variação na gravidade dos casos (GONZÁLEZ et al., 2008).

Sob esta perspectiva, outros autores concluíram que quando os sinais clínicos mais graves de mastite estavam presentes, as vacas passavam mais tempo comendo e menos tempo ruminando e bebendo (NIELEN et al., 1995), concordando com SIIVONEN et al. (2011), os quais relatam que vacas com mastite apresentaram consumo de água reduzido. Segundo MEDRANO-GALARZA et al. (2012), a atividade de vacas com MC pode aumentar e associações entre CCS, mudanças comportamentais e distância percorrida devem ser consideradas.

Em seu estudo, ANTANAITIS et al. (2022) descobriram que de fato a MSC afeta o tempo de ruminação e o número de mastigações registradas com os sistemas de monitoramento eletrônico, diminuindo esses parâmetros. Nesse sentido, os autores ressaltam que veterinários e produtores devem considerar o uso desse tipo de ferramentas para a identificação de MSC. Esses sistemas permitiriam a identificação precoce de vacas doentes e reduziriam as perdas econômicas para as fazendas devido a doença.

2.3 PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E BEM-ESTAR DE BOVINOS

A avaliação do BEA, incluindo vacas leiteiras e outras espécies de animais de produção, é de fato um processo complexo e multidimensional. Envolve a análise de diversos aspectos que afetam o bem-estar dos animais, como saúde, comportamento, nutrição, alojamento e interações sociais (KOOIJ, 2020).

O comportamento constitui importante instrumento no diagnóstico de BEA. O conhecimento do comportamento natural do animal é importante para se diagnosticar e aprimorar seu grau de bem-estar (FRASER, 1993). Para GONÇALVES & ANDRADE (2012), comportamento é descrito como todo movimento executado por um dado organismo, onde cada espécie é dotada de um repertório de padrões comportamentais e fisiológicos próprios, da mesma forma que é dotada de suas peculiaridades anatômicas. Dessa forma, DERETTI et al. (2016) ressaltam que conhecer o comportamento dos animais é fundamental para qualquer prática e convívio com eles.

Classicamente, um bovino dedica seu dia a 3 atividades principais, de 8 horas cada: ruminção, deslocamento e ócio (GONZÁLES, 2021), as quais são essenciais para sua saúde, bem-estar e produtividade. Assim, qualquer alteração na rotina de um rebanho leiteiro irá representar desvios comportamentais nos animais, e como consequência diminuição do desempenho e perdas na produção (KRAWCZEL & GRANT, 2009; HILL et al., 2009).

As vacas leiteiras mantidas confinadas passam em torno de quatro a seis horas se alimentando em um período de 24 horas, com uma média de 7,3 refeições/dia (DEVRIES et al., 2003). Nesse sentido, vale destacar, que alguns fatores interferem na permanência dos animais alimentando-se, como ordem de parto, produção, estágio de lactação, época do ano, quantidade e qualidade dos ingredientes da dieta e com os horários de fornecimento do alimento (CARVALHO et al., 2003; DEVRIES et al., 2003).

A ruminção (necessária para a quebra de partículas e o equilíbrio do pH ruminal) é um processo fisiológico de regurgitação, remastigação, salivação e deglutição da ingesta para reduzir o tamanho de partícula dos alimentos, manter o equilíbrio do pH ruminal e melhorar a digestão das fibras (BEAUCHEMIN, 1991). Esta é uma manifestação física importante em bovinos, refletindo na saúde e relacionada ao estado de BEA (GRANT et al., 2015).

Vacas em lactação permanecem em média sete horas e quarenta minutos ruminando por dia (DADO & ALLEN, 1994). De acordo com SCHIRMANN et al. (2009), o aumento da ruminção em vacas leiteiras tem sido associado ao aumento da produção de saliva e manutenção da saúde ruminal. Já a diminuição da ruminção é interpretada como um indicador de estresse ou doença (SCHIRMANN et al., 2011). Nesse sentido, o comportamento de ruminção pode ser um indicador de doenças útil para obter rapidamente informações sobre o estado de saúde dos animais (SORIANI et al., 2012; LIBOREIRO et al., 2015; PAUDYAL, et al., 2016; STANGAFERRO et al., 2016).

O tempo de ruminção está associado aos fatores nutricionais dos alimentos (ADIN et al., 2009), bem-estar animal (GRANT et al., 2015), estresse térmico (ABENI & GALLI, 2017; SORIANI et al., 2013), doenças (HANSEN et al., 2003; KAUFMAN et al., 2018) e alterações fisiológicas, por exemplo, durante o estro e parto (HEERSCHE et al., 2015). Segundo SORIANI et al. (2013) existe uma associação positiva entre produção de leite e TR, enquanto KAUFMAN et al. (2018) afirmam a mesma associação positiva em vacas leiteiras no início da lactação, mais uma associação negativa com a composição de gordura. Já ANDREEN et al. (2020), descobriram que existe uma fraca correlação entre TR e teor de gordura no leite.

As vacas têm uma forte motivação para descansar, sendo o primeiro comportamento alterado ao apresentar algum desconforto ou dor (WHAY & SHEARER, 2017), ou seja, o tempo que as vacas dedicam ao ócio reflete, e muito, seu bem-estar (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY PANEL ON ANIMAL HEALTH AND WELFARE, 2009). Muitos aspectos do comportamento de descanso do gado podem fornecer informações sobre seu estado de bem-estar – por exemplo, o tempo gasto no processo de deitar ou levantar (DIPPEL et al., 2009; PLESCH et al., 2010; ZAMBELIS et al., 2019) e as posturas adotadas ao deitar (HALEY et al., 2001).

As vacas leiteiras gastam em média metade do tempo diário deitadas (MUNKSGAARD et al., 2005; GOMEZ & COOK, 2010). Quando são privadas de deitar e o tempo em pé aumenta, ocorrem maior número de lesões nos cascos e incidência de claudicação (GOMEZ & COOK, 2010). As formas de determinação mais comuns do comportamento de ócio em bovinos incluem a duração total do tempo gasto deitado dentro de um período de tempo (um dia), a frequência das sessões de deitar e a duração média da sessão, as quais podem ser medidas automaticamente (LEDGERWOOD et al., 2010; KOK et al., 2015). Contudo, TUCKER et al. (2021) alertam que a frequência e a duração média da sessão deitado podem ser diferentemente afetadas por diversos fatores.

À vista disso, VASSEUR et al. (2012) correlacionaram a paridade da vaca positivamente com a duração do tempo deitado, mas negativamente com a frequência da sessão de deitar. Já RUSHEN et al. (2007) em sua investigação, concluíram que uma superfície dura resulta em maior frequência de sessões, mas menor tempo total deitado em comparação com superfícies mais macias. Adicionalmente, SCHÜTZ et al. (2019) complementam que a cama molhada resulta em menos sessões de deitar, mas não afeta a duração do tempo deitado.

Em seu estudo, PROUDFOOT et al. (2014) demonstraram uma correlação entre o aparecimento de enfermidade e o ócio, ocorrendo aumento da duração do ócio para vacas doentes em comparação com vacas saudáveis no período pós-parto precoce. Destaca-se assim, que o aumento no tempo de ócio, aumenta o número de problemas de saúde, causa redução na produtividade e do BEA (MUNKSGAARD et al., 2005; SCHIRMANN et al., 2012).

Outro comportamento bastante importante levado em consideração na determinação de indicadores reprodutivos ou de saúde, é a atividade (KAPPES, 2020), a qual é dividida em atividade diária de caminhada, aumento da atividade durante o estro e inquietação na ordenha (DITTRICH et al., 2019). Autores explicam que vacas que permanecem por muito tempo sem movimentação podem indicar conforto e bem-estar ou alguma mudança na saúde (BORCHERS

et al., 2016). Em contrapartida, aumento de atividade podem ser indicativos de algum desconforto e estresse (BENAÏSSA et al., 2017), bem como manifestação de estro ou no momento do parto (REITER et al., 2018; VÁZQUEZ DIOSDADO et al., 2015).

Essas mudanças acentuadas de comportamento ou até mesmo em relação aos dias anteriores podem ser usados para identificar essas condições específicas de cio, algum desconforto ou para predição de doenças. Além disso, os comportamentos de atividade e ruminção são utilizados sinergicamente para prever com maior precisão e confiabilidade informações sobre as vacas (REITER et al., 2018).

2.4 SISTEMAS ELETRÔNICOS DE MONITORAMENTO DE BOVINOS LEITEIROS

Habitualmente, a observação visual ou até mesmo por vídeo é utilizada como padrão-ouro na identificação de vacas com alguma enfermidade e/ou manifestação de estro e também na avaliação do comportamento desses animais (BENAÏSSA et al., 2017; BURFEIND et al., 2011). Entretanto, essas práticas apresentam limitações importantes como a influência do tempo de observação e a experiência do observador (SUTTON et al., 2013). Dessa forma, a avaliação do comportamento animal pelos funcionários da fazenda, em muitas propriedades, torna-se subjetiva (GONZÁLEZ et al., 2008).

Ademais, essa identificação será ainda mais precária futuramente, devido ao número crescente de vacas nos rebanhos e a menor interação entre humanos e animais ao longo dos anos, o que tornará difícil o uso desse tipo de avaliação como ferramenta para monitorar as alterações nos padrões comportamentais (BARKEMA et al., 2015; DITTRICH et al., 2019) e, conseqüentemente, o estado de saúde das vacas (WEARY et al., 2009).

Por outro lado, os avanços da pecuária de precisão nas últimas duas décadas, através da colaboração entre pesquisadores associados à engenharia e ao setor pecuário, levaram a uma evolução significativa na avaliação do comportamento e BEA. A pecuária de precisão desenvolveu-se rapidamente nos últimos anos, e o BEA pode ser avaliado objetivamente em tempo real, utilizando uma ampla variedade de indicadores (GRANT et al., 2015).

A implementação de tecnologias por meio de programas controlados por computador podem se tornar instrumentos valiosos, a fim de melhorar o BEA e reduzir as perdas de produção (GONZÁLEZ et al., 2008). O monitoramento do bem-estar das vacas, sua produtividade e práticas de manejo é possível por meio de dados de sensores de imagem, som e movimento combinados com algoritmos (STYGAR et al., 2021; QIAO et al., 2021).

Os sistemas de sensores podem ser usados para medir padrões comportamentais como atividade, ócio, ofegação, alimentação e ruminação. Esses padrões mudam com a ocorrência da doença, mas também interagem com fatores externos, como mudanças climáticas e estro, por exemplo (WEARY et al., 2009). Desta forma, os principais sistemas de monitoramento nas propriedades fornecem informações abrangentes em diferentes áreas e demonstram sua adequação e viabilidade para aplicação na fazenda leiteira (LOVARELLI et al., 2020).

Sob esta perspectiva, a avaliação do comportamento tem desempenhado um grande papel na avaliação do bem-estar das vacas leiteiras (VON KEYSERLINGK et al., 2017; CERQUEIRA et al., 2018; CEBALLOS et al., 2021). Diversos sensores têm sido desenvolvidos para o monitoramento do comportamento desses animais (BENAISSA et al., 2017; MARTISKAINEN et al., 2009; REITER et al., 2018; SCHIRMANN et al., 2009; SCHIRMANN et al., 2012), os quais trazem a vantagem do monitoramento em tempo real e contínuo, com armazenamento dos dados coletados (BORCHERS et al., 2016).

Um exemplo de sensor de monitoramento, é a coleira C-TECH (Chip Inside®) em conexão com o sistema COWMED®, um conjunto formado por vários dispositivos eletrônicos e um software de gestão, o qual permite ao produtor de leite e/ou técnico monitorar o comportamento das suas vacas e, através dele, auxiliar produtores, técnicos e funcionários a realizarem a detecção de cio e a predição de doenças (MARTINS, 2020).

Segundo MARTINS (2020), três variáveis são monitoradas: tempo de ruminação dos animais, tempo que as vacas ficam em atividade (tempo em que caminham, montam, consomem alimentos e água, socializam com outros animais, balançam a cabeça, entre outras) e o tempo em que os animais ficam parados e sem fazer nada. Todas estas variáveis são monitoradas pela coleira e enviadas, em tempo real, para a antena instalada na propriedade. O autor, ainda, destaca que o sistema COWMED® também consegue, mediante coleta dos dados gerados pela coleira, prever com dias de antecedência quando um animal vai ficar doente.

3. ARTIGO 1

Artigo confeccionado conforme as normas do periódico “Veterinary Sciences” (Anexo 1).

Artigo

IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA MONITORADAS POR SISTEMA ELETRÔNICO

Davi Assenheimer^{1,*}, Maiara Blagitz² & Marta Leal³

¹ Programa de Pós-graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, – Universidade Federal da Fronteira Sul, Paraná, Brasil.

² Departamento de Clínica Médica de Animais de Produção, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, Paraná, Brasil. <http://orcid.org/0000-0002-4544-7530>

³ Centro de Ciências Rurais, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

* Autor correspondente: assendavi@gmail.com. Avenida Edmundo Gaievski, 1000, Rodovia BR 182, Km 466, Zona Rural, Realeza, Paraná, Brasil. CEP: 85770-000. Tel: 55 53-999740697.

Resumo simples

O estudo investigou mudanças comportamentais em vacas leiteiras com mastite subclínica (MSC) usando um sistema eletrônico de monitoramento. Foram selecionadas 10 vacas com MSC e 10 vacas saudáveis para comparação. Os dados foram coletados durante 29 dias, antes e após o diagnóstico de MSC. O grupo com MSC apresentou maior tempo de ruminação, ofegação e ócio, mas menor tempo de atividade em relação ao grupo saudável. Os resultados sugerem que a MSC afeta o comportamento das vacas, essas descobertas reforçam a necessidade de medidas preventivas, detecção precoce e de monitoramento constante da saúde dos animais em sistemas de produção leiteira.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi investigar e identificar as alterações comportamentais de ruminação, atividade, ofegação e ócio registradas com um sistema eletrônico de monitoramento em vacas leiteiras com mastite subclínica (MSC). Com base nos achados do exame clínico geral de 188 vacas em lactação, foram selecionadas 10 vacas com mastite subclínica (GMSC) e 10 vacas clinicamente saudáveis (GS) (sem sinais clínicos de quaisquer doenças). O comportamento de ruminação, atividade, ofegação e ócio foram registrados com sensores em coleiras de monitoramento eletrônico C-TECH (Chipinside®, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil) em conexão com o sistema CowMed. Os dados foram registrados durante 29 dias: 14 dias antes do diagnóstico, no dia do diagnóstico e 14 dias após o diagnóstico de MSC, e foram comparados com os dados do GS do mesmo período. O grupo GS apresentou menor tempo de ruminação, ofegação e ócio ($p < 0.05$), mas um aumento significativo no tempo de atividade em relação ao grupo GMSC em ambos os períodos ($p < 0.05$). Os resultados indicam que a MSC afeta as variáveis registradas e analisadas no estudo. Essas descobertas reforçam a necessidade de medidas preventivas, detecção precoce e de monitoramento constante da saúde dos animais em sistemas de produção leiteira.

Palavras-chave: bem-estar animal, diagnóstico precoce, pecuária de precisão, sistema de monitoramento eletrônico.

1. Introdução

A mastite é uma das doenças mais comuns e prejudiciais que as fêmeas bovinas podem apresentar (JAMALI *et al.* 2018). A doença é caracterizada por inflamação da glândula mamária, podendo ou não estar associada à infecção. Ainda, tem como agravante um perfil multifatorial e uma gama de microrganismos que podem estar associados à doença (OIKONOMOU *et al.*, 2014; TAPONEN *et al.*, 2019), como bactérias, fungos, algas e vírus, além de lesões traumáticas e irritação química (ZHAO & LACASSE, 2008).

A mastite bovina é uma doença complexa e pode ser amplamente classificada em dois tipos: mastite clínica (MC) e mastite subclínica (MSC) (ASHRAF & IMRAN, 2020). A

primeira é uma condição grave, apresentando sinais locais e sistêmicos evidentes, tais como vermelhidão e inflamação nas áreas afetadas, dor, perda de apetite, aumento da temperatura corporal, redução da produção de leite e alterações na composição do leite (DE VLIEGHER et al., 2012).

Por outro lado, na MSC, a aparência da glândula mamária e do leite aparentam ser normais. A contagem de células somáticas (CCS) é uma das principais indicações de mastite subclínica. Outros indicadores incluem aumento da população bacteriana no leite, diminuição da produção de leite e alterações na composição e qualidade do leite (BIAN et al., 2014). Além disso, segundo MULLEN et al. (2013), vacas com níveis de CCS superiores a 200.000 células/mL são consideradas com MSC.

Essa enfermidade afeta diretamente o bem-estar do animal acometido e também ocasiona um impacto econômico negativo aos produtores (DE VLIEGHER et al. 2012), além de afetar a quantidade e qualidade do leite produzido (ZIGO et al. 2021). Os custos associados à mastite são justificados pelas perdas advindas do descarte do leite contaminado, redução na produção a curto e longo prazo, os altos custos das medicações, a necessidade de descarte prematuro de animais doentes e o risco potencial de resíduos de antibióticos no leite (HUIJIPS et al., 2008).

Tendo em vista todos os impactos negativos causados pela mastite em toda a cadeia leiteira, a detecção precoce é fundamental para diminuir todos os seus efeitos deletérios (REIS & LOPES, 2014). Nesta perspectiva, o monitoramento de marcadores comportamentais e de saúde pode permitir a detecção de mudanças sutis antes do aparecimento de indicações clínicas óbvias. Os dados que precedem os diagnósticos podem ser valiosos, se puderem prever riscos ou detectar doenças com mais eficiência do que observações usando indicadores clínicos (KING et al., 2018).

As coleiras com sensores de ruminação e outros indicadores têm se mostrado eficientes na detecção de mastite e outras doenças em seus estágios iniciais (REIS & LOPES, 2014; BEAUCHEMIN, 2018; CALAMARI et al., 2014). Esses equipamentos registram a atividade e o comportamento das vacas, permitindo identificar mudanças que podem estar relacionadas à presença de mastite, como: modificações no padrão de alimentação, redução da atividade e aumento da temperatura corporal (WEARY et al., 2009).

A coleira de monitoramento da C-Tech da COWMED, é um dispositivo eletrônico que, através de um acelerômetro, monitora em tempo real quatro variáveis comportamentais de

bovinos: tempo de ruminaco dos animais, tempo de atividade (movimentaco, alimentaco, socializaco), tempo de ofegaco e o tempo em que os animais ficam parados e sem fazer nada. Todas estas variáveis são monitoradas pela coleira e enviadas, em tempo real, para a antena instalada na propriedade (MARTINS, 2020).

Em estudos com vacas que tiveram mastite induzida experimentalmente, concluiu-se que nos primeiros dias após o desafio intramamário com *Escherichia Coli* ou lipopolissacarídeo (LPS), as vacas apresentaram reduco no consumo de rao e ruminaco, passaram mais tempo em atividade e menos tempo se auto limpando (SIIVONEN et al., 2011; FOGSGAARD et al., 2012). Em contrapartida, em outras pesquisas, as vacas com mastite passaram menos tempo deitadas, possivelmente para aliviar a pressão no bere (SIIVONEN et al., 2011; ZIMOV et al., 2011; CYPLES et al., 2012; FOGSGAARD et al., 2012; MEDRANO-GALARZA et al, 2012).

Ao monitorarem vacas no meio da lactaco, pesquisadores relataram que esses animais não apresentaram mudanças consistentes no comportamento de ruminaco antes do diagnóstico de mastite, mas isso pode ter ocorrido devido  variao na gravidade dos casos (GONZÁLEZ et al., 2008). Segundo MEDRANO-GALARZA et al. (2012), a atividade de vacas com MC pode aumentar e associaes entre CCS, mudanças comportamentais e distância percorrida devem ser consideradas.

Em seu estudo, ANTANAITIS et al. (2022) descobriram que de fato a MSC afeta o tempo de ruminaco e o número de mastigaes registradas com os sistemas de monitoramento eletrônico. Nesse sentido, os autores ressaltam que veterinários e produtores devem considerar o uso desse tipo de ferramentas para a identificao de MSC. Esses sistemas permitiriam a identificao precoce de vacas doentes e reduziriam as perdas econômicas para as fazendas devido a doença. No entanto, mais estudos são necessários para desenvolver critérios para a identificao e preveno de doenças com base em dados de sistemas eletrônicos de monitoramento de saúde (STANGAFERRO et al., 2016).

Sob esta perspectiva, levantou-se a hipótese de que a MSC afetaria o comportamento de ruminaco, atividade, ofegaco e ócio registrados com sistemas eletrônicos de monitoramento em vacas leiteiras. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar e identificar as alteraes comportamentais de ruminaco, atividade, ofegaco e ócio, em vacas leiteiras com MSC, para utiliz-los como métodos auxiliares de diagnóstico da MSC.

2. Material e Métodos

2.1 Aprovação ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS (nº 4329120422).

2.2 Instalações, Manejo e Animais

O estudo foi realizado no verão, entre 20 de dezembro de 2022 e 17 de janeiro de 2023, na Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus Realeza* e em uma fazenda leiteira do Brasil (25°47'40.0"S 53°19'37.6"W). A produção média de leite por vaca foi de 10.500 kg por ano.

As vacas da raça Holandesa foram mantidas em condições ambientais homogêneas, em sistema de alojamento *FreeStall* com cama de maravalha e o Índice de Temperatura e Umidade médio durante o período experimental foi de 67,80. Eram submetidas à ordenha e alimentadas com ração mista total (TMR) três vezes ao dia (manhã, tarde e noite), balanceada para atender ou exceder às necessidades fisiológicas de uma vaca holandesa de 550 kg produzindo 40 kg de leite por dia.

A dieta era baseada em silagem de milho, pré-secado, caroço de algodão, ração 22%, grão úmido, casquinha de soja, farelo de soja, sal mineral e água *ad libitum*. O teor de matéria seca (MS) foi de 35,90%, fibra em detergente ácido (% da MS) foi de 18,8%, fibra em detergente neutro (% da MS) foi de 32,5%, carboidratos não fibrosos (% da MS) foi de 38,00%, proteína bruta (% da MS) foi de 18,9% e energia líquida para lactação foi de 1.7% (Mcal/kg).

Para as avaliações foram selecionadas 20 vacas de um rebanho de 188 (média $194,5 \pm 3,4$ dias em lactação). Em uma escala de cinco pontos, as vacas tiveram um escore médio de condição corporal de $3,18 \pm 0,12$, avaliado por um único observador conforme as recomendações de EDMONSON et al. (1989). A produção média de leite das vacas selecionadas foi de $29,6 \pm 0,3$ kg, com gordura do leite de $6,31 \pm 0,36\%$, proteína do leite de $3,08 \pm 0,08\%$, sólidos totais do leite de $14,78 \pm 0,33$, lactose do leite (ML) de $4,40 \pm 0,07\%$, nitrogênio ureico do leite de $19,86 \pm 0,87$ mg/dL e contagem de células somáticas (CCS) do leite de $1101 \pm 359,5$ mil células/mL.

2.3. Delineamento experimental

Foram avaliadas 188 vacas quanto à prevalência de mastite e divididas em vacas sem mastite (saudáveis), com MC e com MSC, por meio da coleta de leite de cada animal. A mastite

subclínica foi determinada através do exame *Califórnia Mastitis Test* (CMT) (CUNHA et al., 2015).

Do total de vacas saudáveis e vacas com MSC, foram selecionadas aleatoriamente 20 fêmeas, e divididas em dois grupos de dez de acordo com seguintes critérios: Grupo Saudável (GS) - animais com CCS < 150.000 cél./mL, CMT negativo e sem sinais clínicos de qualquer doença durante o período de avaliação; Grupo Mastite Subclínica (GMSC) - animais com CCS acima de 200.000 cél./mL e CMT positivo durante o período de avaliação.

2.4 Monitoramento do comportamento

O sistema utilizado para monitorar o comportamento dos animais foi o colar C-TECH (Chip-Inside) em conjunto com o software CowMed®, que captura dados do colar a cada hora. Os sensores do colar C-Tech (Chip inside) possuem um acelerômetro que mede a ruminação, a atividade, a ofegação e o ócio dos bovinos a cada hora.

O sistema é composto pelo C-Reader e pelo *software* de gerenciamento, que podem gerar um padrão comportamental para cada animal no rebanho e também um padrão médio para todo o rebanho com base nos dados comportamentais. Foram avaliados os dados captados pelo colar de tempo de ruminação, tempo de ofegação, tempo de atividade e tempo de ócio.

Tabela 1

Biomarcadores do comportamento das vacas avaliadas identificados usando sensores em tempo real (C-TECH, Chip-Inside, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil) e quantificados em conjunto com o software (Cowmed®, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil) e suas descrições (MARTINS, 2020).

Parâmetro	Descrição
Tempo de Ruminação	Tempo gasto em mastigações ruminantes;
Tempo de Ofegação	Tempo de respiração ofegante;
Tempo de Atividade	Tempo em que os animais caminham, montam, consomem alimentos e água, socializam com outros animais, balançam a cabeça entre outras movimentações;
Tempo de Ócio	Tempo em que os animais ficam parados e sem fazer nada;

2.5 Coleta e análise do leite

Para a coleta de leite, os animais foram conduzidos até a sala de espera, durante a rotina de ordenha da propriedade, e após entrarem na sala de ordenha foi iniciado o procedimento. Inicialmente a glândula mamária foi observada com intuito de identificar alguma alteração para diagnóstico da mastite clínica (ASHRAF; IMRAN, 2020; CUNHA et al., 2016).

Posteriormente os tetos foram higienizados, imergidos em solução pré-*dipping*, seguido pelo teste da caneca de fundo escuro. Para este teste, os três primeiros jatos de leite foram descartados e avaliados conforme os critérios estabelecidos por BIRGEL (2014), observando a cor, consistência e presença de massas ou grumos da secreção.

Novamente os tetos foram imergidos em solução pré-*dipping* e após trinta segundos foram secos com toalha de papel individualmente. As amostras de leite foram colhidas em tubos do tipo Falcon identificados e com capacidade de 15 mL. Todas as amostras de leite coletadas foram acondicionadas em caixa isotérmicas, com temperatura controlada de 4°C e encaminhadas ao laboratório. Foram utilizados 2 mL de leite de cada quarto mamário e dois mL do reagente CMT em cada poço da raquete, em seguida foi homogeneizado através de movimentos circulares e o grau de viscosidade foi observado.

As alterações foram pontuadas conforme SCHALM & NOORLANDER (1957), observando a intensidade da reação, onde o zero (0) representou a negatividade da formação de gel no teste; traços quando houve um leve espessamento, mas sem formação de gel; 1 cruz na qual a positividade era fraca, mas com espessamento imediato e leve formação de gel; 2 cruces houve a formação de gel forte e 3 cruces foi quando a formação de gel foi muito forte.

2.6 Períodos de Avaliações

O estudo teve duração de 29 dias. Os dados do C-TECH foram avaliados durante um período de 29 dias: durante os 14 dias antes do diagnóstico (Momento 1 - M1), no dia do diagnóstico (D) e durante os 14 dias após a detecção mastite subclínica (Momento 2 - M2). Os dados foram contrastados com os dados do GS do mesmo período de tempo, ou seja, as vacas com mastite foram observadas nos mesmos dias que as vacas sadias.

2.7 Análise de Dados e Estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism 9.0® (GraphPad Software, Dotmatics, Boston, Massachusetts, EUA). Todos os dados foram digitados em uma base de dados e verificados duas vezes para erros de entrada. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

As variáveis paramétricas foram descritas em valores de média e desvio padrão e avaliadas por meio do teste T, pareado. As variáveis não paramétricas foram descritas em medianas e intervalos interquartis (25 a 75%) e avaliadas pelo teste de Mann Whitney, não pareado. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

O desenho do estudo utilizou medições repetidas, incluindo medições (períodos de tempo) do mesmo indicador (ruminação, ofegação, atividade e ócio) de acordo com os dias do experimento. A média e o desvio padrão da média foram calculados para as variáveis estimadas. O teste TwoWay ANOVA de múltiplas comparações foi utilizado para comparar as diferenças na média entre os valores dos grupos.

3. Resultados

No M1, o GS apresentou tempo de ruminação médio de aproximadamente 4,7% menor em relação ao GMSC ($p < 0,05$). Da mesma forma, o tempo de ofegação também foi menor no GS, com uma diferença de cerca de 4,8% em relação ao GMSC ($p < 0,05$). No entanto, em termos de tempo de atividade, o GS registrou uma média aproximadamente 15,2% maior do que o GMSC ($p < 0,05$). Em relação ao tempo de ócio, o GS apresentou uma média de cerca de 3,6% mais baixa em relação ao GMSC ($p < 0,05$).

Já no M2, as diferenças entre os grupos foram mantidas (Tabela 2). O GS apresentou uma média 7,3% menor no tempo de ruminação em relação ao GMSC ($p < 0,05$), bem como uma média 6,0% a menos no tempo de ofegação em comparação com o GMSC ($p < 0,05$). Entretanto, o GS mostrou-se 24,6% maior no tempo de atividade em relação ao GMSC ($p < 0,05$). Em relação ao tempo de ócio, o GS apresentou uma média 2,4% mais baixa em relação ao GMSC ($p < 0,05$).

Tabela 2

Parâmetros do comportamento de ruminação, ofegação, atividade e ócio registrados com sensores em tempo real medidos com a coleira C-TECH por grupos de vacas e períodos experimentais.

Indicador	GS	GMSC
	Período Experimental 1	

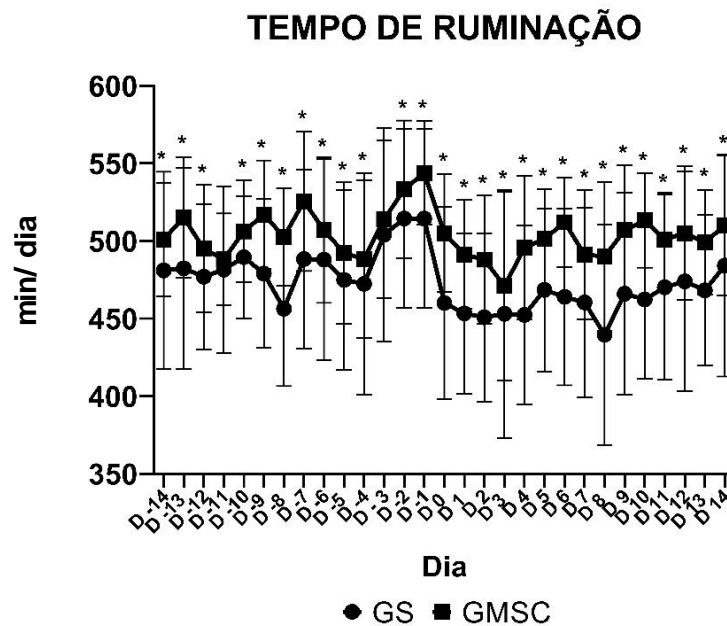
(-14 a -1 dias)		
	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão
Tempo de Ruminação (min/dia)	485.60 ± 60,8 ^b	509.40 ± 43,98 ^a
Tempo de Ofegação (min/dia)	175.60 ± 20.08 ^b	184.40 ± 28.82 ^a
Tempo de Atividade (min/dia)	358.30 ± 121.80 ^a	310.00 ± 58,24 ^b
Tempo de Ócio (min/dia)	420.60 ± 96.60 ^b	436.20 ± 63.73 ^a
Período Experimental 2 (1 a 14 dias)		
	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão
Tempo de Ruminação (min/dia)	462.00 ± 62.61 ^b	498.60 ± 42.43 ^a
Tempo de Ofegação (min/dia)	177.60 ± 17.42 ^b	188.90 ± 34.00 ^a
Tempo de Atividade (min/dia)	386.60 ± 124.10 ^a	310.20 ± 67.98 ^b
Tempo de Ócio (min/dia)	431.80 ± 94.20 ^b	442.30 ± 63.70 ^a

Legenda: GS: grupo clinicamente saudável; MSC: grupo mastite subclínica. ^{ab}: A diferença entre os valores médios dos grupos GS e MSC marcados com letras diferentes é estatisticamente significativa, considerando-se $p < 0,05$. min-minutos.

Verificou-se que houveram diferenças estatisticamente significativas no tempo de ruminação entre os grupos em todos os dias avaliados, exceto nos dias -11 e -3 antes do diagnóstico. Essa diferença foi mais acentuada após o diagnóstico, com reduções significativas no tempo médio de ruminação no grupo saudável em relação ao grupo com mastite subclínica, variando entre 18,00% e 50,90%. Antes do diagnóstico, as reduções foram menores, mas ainda relevantes, variando entre 15,90% e 46,40% (Gráfico 1).

Gráfico 1

Tempo médio de ruminação diário dos grupos GS e GMSC monitoradas com coleiras de sensores eletrônicos durante o período experimental.



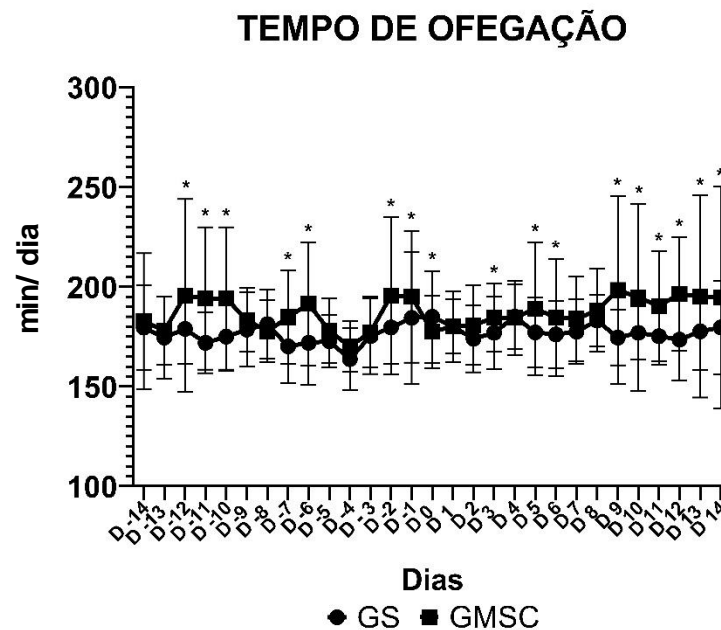
Legenda: GS: grupo clinicamente saudável; GMSC: grupo mastite subclínica (MSC). Quadrado: tempo médio de ruminação do GMSC. Círculo: tempo médio de ruminação do GS. As barras indicam o desvio padrão. A diferença entre os valores médios dos grupos é estatisticamente significativa em * = $p < 0,05$. min: minutos.

Quanto ao parâmetro tempo médio de ofegação, os resultados revelaram diferenças significativas em alguns dias, destacando-se o D -12, D -11 e D -10, onde o GS apresentou uma média de ofegação significativamente menor em -16,70%, -22,30% e -19,20%, respectivamente, em comparação com o GMSC ($p < 0,05$). Por outro lado, em outros dias, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, como nos Dias D -14 e D -13 (Gráfico 2).

A maior diferença de média entre os grupos GS e GMSC foi no Dia D 9. Nesse dia, a média foi de aproximadamente 13,64% menor no GMSC ($p < 0,05$). Já o dia com a menor média de diferença foi o Dia D 4. Nesse dia, a diferença entre as médias no tempo de ofegação foi de apenas 0,27% entre os dois grupos. Importante notar que essa diferença não é estatisticamente significativa, indicando que a média de ofegação das vacas com MSC é praticamente a mesma que a das vacas saudáveis nesse dia específico.

Gráfico 2

Tempo médio de ofegação diário dos grupos GS e GMSC monitoradas com coleiras de sensores eletrônicos durante o período experimental.



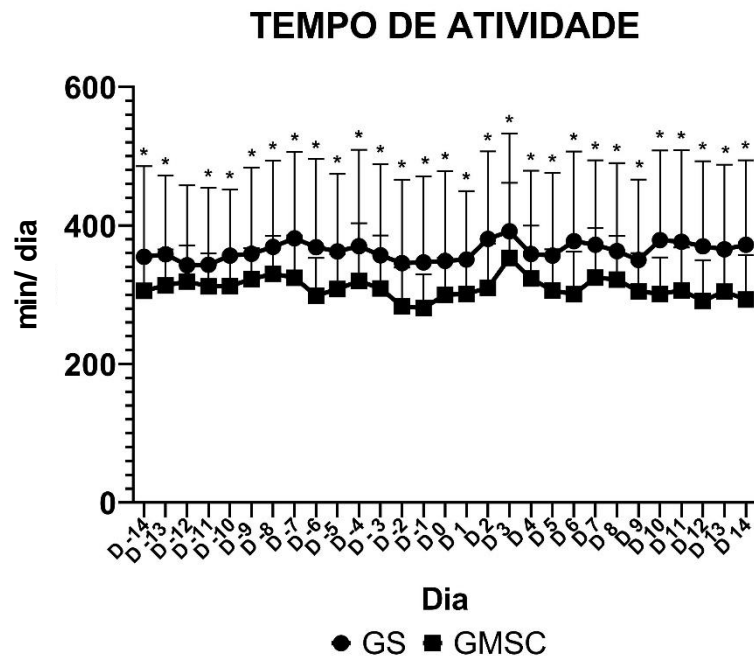
Legenda: GS: grupo clinicamente saudável; GMSC: grupo mastite subclínica (MSC). Quadrado: tempo médio de ofegação do GMSC. Círculo: tempo médio de ofegação do GS. As barras indicam o desvio padrão. A diferença entre os valores médios dos grupos é estatisticamente significativa em * = $p < 0,05$. min: minutos.

O dia com a maior diferença entre tempo médio de atividade registrado foi o D 6, onde o grupo com MSC apresentou um tempo médio de atividade significativamente maior em relação ao GS ($p < 0,05$). Em contrapartida, o dia com a menor diferença entre o tempo médio de atividade registrado foi o D -12, onde não foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Gráfico 3).

Além disso, também foram observadas diferenças estatisticamente significativas no tempo médio de atividade entre os grupos ao longo de todos os dias ($p < 0,05$), com exceção do D -12. Em todos esses dias, o grupo com MSC apresentou um tempo médio de atividade significativamente maior em comparação com o GS (Gráfico 3).

Gráfico 3

Tempo médio de atividade diário dos grupos GS e GMSC monitoradas com coleiras de sensores eletrônicos durante o período experimental.



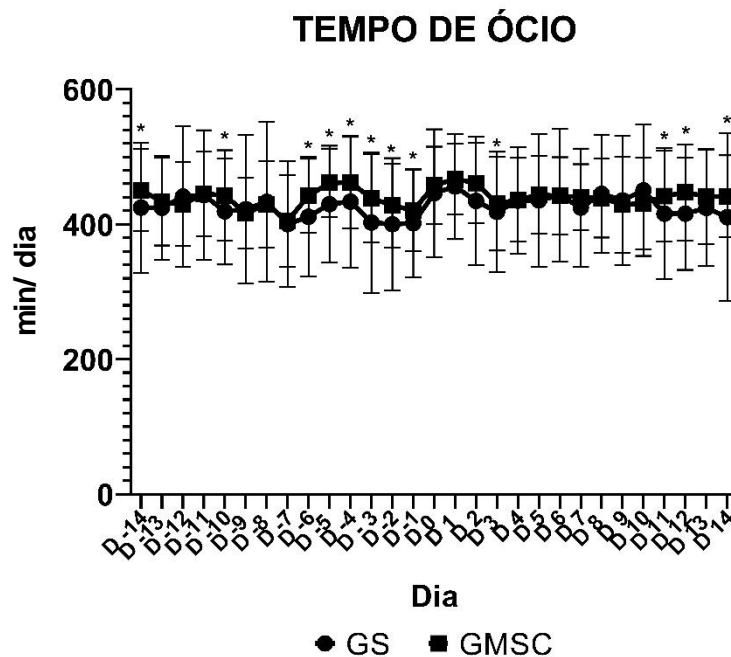
Legenda: GS: grupo clinicamente saudável; GMSC: grupo mastite subclínica (MSC). Quadrado: tempo médio de atividade do GMSC. Círculo: tempo médio de atividade do GS. As barras indicam o desvio padrão. A diferença entre os valores médios dos grupos é estatisticamente significativa em * = $p < 0,05$. min: minutos.

Quanto ao tempo médio de ócio, os resultados revelam diferenças significativas em alguns dias, onde o GS apresentou menor tempo de ócio em relação ao GMSC. Notavelmente, nos dias D -14, D -10, D -6, D -5, D -4, D -3, D -2, D 2, D 11, D 12 e D 14, as diferenças foram estatisticamente significativas, com GS exibindo menor tempo de ócio ($p < 0,05$).

O dia com a menor diferença de tempo médio de ócio do GS em relação ao GMSC foi o D 6, onde a diferença foi de aproximadamente -5,77%. Já o dia com a maior porcentagem média de ócio para o Grupo GS em relação ao GMSC foi o D -5, onde a diferença foi significativa ($p < 0,05$).

Gráfico 4

Tempo médio de ócio diário dos grupos GS e GMSC monitoradas com coleiras de sensores eletrônicos durante o período experimental.



Legenda: GS: grupo clinicamente saudável; GMSC: grupo mastite subclínica (MSC). Quadrado: tempo médio de ócio do GMSC. Círculo: tempo médio de ócio do GS. As barras indicam o desvio padrão. A diferença entre os valores médios dos grupos é estatisticamente significativa em * = $p < 0,05$. min: minutos.

4. Discussão

A ruminação é uma atividade essencial para a saúde e a produção de leite em bovinos leiteiros (GRANT et al., 2015). Surpreendentemente, o tempo de ruminação do GMSC foi maior em ambos os períodos em comparação com o GS ($p < 0,05$), resultado contrário a todos já relatados pela literatura e de conhecimento dos autores até o presente momento. Uma hipótese é de que a resposta imunológica e os desequilíbrios metabólicos associados à mastite podem afetar a motilidade do trato digestivo, influenciando positivamente o tempo gasto na ruminação. Estudos adicionais são necessários para validar essa hipótese e compreender melhor os mecanismos subjacentes à relação entre MSC e o comportamento ruminal em vacas.

Esses resultados são contraditórios aos de ANTANAITIS et al. (2022), os quais constataram que vacas com MSC passaram menos tempo ruminando em relação às vacas saudáveis. A redução do tempo de ruminação observada desses animais pode estar relacionada à inflamação na glândula mamária causada pela MSC, que pode gerar desconforto nos animais (SCHUKKEN et al., 2011). Esse desconforto pode levar à diminuição da motivação para se alimentar e, conseqüentemente, à redução da ruminação.

Com relação ao tempo de ócio, o GS também demonstrou uma média significativamente menor em ambos os períodos em comparação com o GMSC. A MSC pode resultar em um

aumento do tempo de descanso e repouso, uma vez que o animal busca reduzir a movimentação e a pressão na glândula mamária afetada (SIIVONEN et al., 2011; ZIMOV et al., 2011; CYPLES et al., 2012; FOGSGAARD et al., 2012). Por outro lado, o GS, por ser um grupo de animais saudáveis, não enfrenta esses desconfortos, resultando em menor tempo de ócio.

Além disso, o baixo tempo de ócio no GS também pode ser interpretado como um indicador positivo de bem-estar animal. O ócio excessivo pode ser um sinal de falta de estímulos no ambiente (VON KEYSERLINGK et al., 2017) e até mesmo de problemas de saúde (PROUDFOOT et al., 2014). Destaca-se assim, que o aumento no tempo de ócio pode causar redução na produtividade, aumento do número de problemas de saúde e redução do BEA (MUNKSGAARD et al., 2005; SCHIRMANN et al., 2012).

No que diz respeito ao tempo médio de ofegação, também foi observada uma diminuição significativa no GS em relação ao GMSC em ambos os períodos. Esses resultados, podem indicar que os animais saudáveis estão menos estressados. A presença de MSC pode levar a uma resposta de estresse crônico nos animais, causando aumento na liberação de hormônios do estresse, como o cortisol, e conseqüentemente, maior tempo de ofegação (GONZÁLEZ et al., 2016).

Outro comportamento bastante importante levado em consideração na determinação de indicadores reprodutivos ou de saúde, é a atividade (KAPPES, 2020). O GS registrou uma média desse comportamento significativamente maior do que o GMSC em ambos os períodos. Esse aumento pode ser atribuído ao bem-estar e à saúde geral dos animais no GS, uma vez que animais saudáveis tendem a ser mais ativos e engajados em diversas atividades (BORCHERS et al., 2016).

Ademais, o aumento da atividade pode estar relacionado a uma maior ingestão de alimentos e melhor aproveitamento dos recursos disponíveis, o que pode ser um indicativo de boa saúde e nutrição nos animais do GS (KAPPES, 2020). Já o GMSC pode apresentar um comportamento mais retraído devido ao desconforto causados pela mastite subclínica, reduzindo suas atividades em geral. Sob outra perspectiva, MEDRANO-GALARZA et al. (2012) afirmam que a atividade de vacas com MC pode aumentar e mudanças comportamentais e distância percorrida devem ser consideradas.

É importante destacar que a MSC é uma doença que afeta a produção leiteira e o bem-estar dos animais. Essa condição pode causar perdas econômicas significativas para os produtores de leite, além de impactar negativamente a saúde e o comportamento dos animais (HALASA et al., 2007). Portanto, a detecção precoce e o tratamento adequado da MSC são

fundamentais para garantir a saúde e o bem-estar dos animais, bem como a eficiência da produção leiteira.

5. Conclusões

Os resultados apresentados neste estudo demonstraram evidências importantes sobre como a MSC pode influenciar o comportamento de bovinos leiteiros. O GMSC demonstrou diferenças significativas no tempo de ruminação, tempo de ofegação, tempo de atividade e tempo de ócio em relação ao GS, indicando possíveis efeitos negativos dessa condição na rotina dos animais. Essas descobertas reforçam a necessidade de medidas preventivas, detecção precoce e de monitoramento constante da saúde dos animais em sistemas de produção leiteira.

6. Financiamento

Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná. Convênio nº 79.

7. Referências Bibliográficas

- ANTANAITIS, R. et al. Identification of Changes in Rumination Behavior Registered with an Online Sensor System in Cows with Subclinical Mastitis. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 9, p. 454, 1 set. 2022.
- ASHRAF, A.; IMRAN, M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. **Animal Health Research Reviews**, p. 1–14, 13 fev. 2020.
- BEAUCHEMIN, K. A. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 4762–4784, jun. 2018.
- BIAN, Y.; LV, Y.; LI, Q. Identification of Diagnostic Protein Markers of Subclinical Mastitis in Bovine Whey Using Comparative Proteomics. **Bull Vet Ins. Pulawy**, v. 58, n. 3, p. 385–392, 1 out. 2014.
- BIRGEL, E. H. Semiologia da glândula mamária de ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Editora Roca, 2014. 1406 p.
- BORCHERS, M. R. et al. A validation of technologies monitoring dairy cow feeding, ruminating, and lying behaviors. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7458–7466, 2016.
- CALAMARI, L. et al. Rumination time around calving: An early signal to detect cows at greater risk of disease. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 6, p. 3635–3647, jun. 2014.

- CUNHA, A. F. et al. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 2, p. 160-166, 2015.
- CUNHA, A. F. et al. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite clínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 10, n. 1, p.4 8-54, 2016
- CYPLES, J. A.; FITZPATRICK, C. E.; LESLIE, K. E.; DEVRIES, T.J.; HALEY, D. B.; CHAPINAL, N. Short communication: The effects of experimentally induced *Escherichia coli* clinical mastitis on lying behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2571–2575, maio 2012.
- DE VliegHER, S. et al. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1025–1040, mar. 2012.
- EDMONSON, A. J. *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.
- FOGSGAARD, K. K.; RØNTVED, C.M.; SØRENSEN, M. S. HERSKIN. Sickness behavior in dairy cows during *Escherichia coli* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 2, p. 630–638, 1 fev. 2012.
- GONZÁLEZ, L.A.; TOLKAMP, B.J.; COEY, M.P.; FERRET, A.; KYRIAZAKIS, I. Changes in Feeding Behavior as Possible Indicators for the Automatic Monitoring of Health Disorders in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 3, p. 1017–1028, 1 mar. 2008.
- GRANT, R.J.; DANN, H.M.; WOOLPERT, M.E. Time required for adaptation of behavior, feed intake, and dietary digestibility in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.98, suppl.2, p.312, 2015.
- HALASA, T. et al. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. **Veterinary Quarterly**, v. 29, n. 1, p. 18–31, jan. 2007.
- HUIJPS, K.; LAM T. J.; HOGVEEN, H. Costs of mastitis: facts and perception. **Journal of Dairy Science**, v.75, n. 1, p. 113-20, 2008.
- JAMALI, H. et al. Invited review: Incidence, risk factors, and effects on clinical mastitis recurrence in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 4729-4746, 2018.
- KAPPES, R. **Comportamento ingestivo, atividade, produção e qualidade do leite de vacas holandês e mestiças holandês x jersey em sistema baseado em pastagem**. 2020, 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Pós Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC – Lages, Santa Catarina.
- KING, M. T. M. et al. Behavior and productivity of cows milked in automated systems before diagnosis of health disorders in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4343–4356, maio 2018.

- MARTINS, T. G. L. **Monitoramento Estatístico e Predição de Mudanças Comportamentais em Bovinos**. 2020, 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Pós-graduação em Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM – Santa maria, Rio Grande do Sul. *Medical Association*, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.
- MEDRANO-GALARZA, C. et al. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 6994–7002, dez. 2012.
- MULLEN, K. A. E. et al. Comparisons of milk quality on North Carolina organic and conventional dairies. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6753–6762, out. 2013.
- MUNKSGAARD, L. et al. Quantifying behavioural priorities—effects of time constraints on behaviour of dairy cows, *Bos taurus*. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 92, n. 1, p. 3–14, 1 jul. 2005.
- OIKONOMOU, G. et al. Microbiota of Cow’s Milk; Distinguishing Healthy, Sub-Clinically and Clinically Diseased Quarters. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e85904, 20 jan. 2014.
- PROUDFOOT, K. L. et al. Dairy cows seek isolation at calving and when ill. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2731–2739, 2014.
- REIS, E.M.B.; LOPES, M.A. Métodos automatizados de diagnóstico de mastite em vacas leiteiras: Uma revisão. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, v. 17, p. 199–208, 2014.
- SCHALM, O. W e NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the *California Mastitis Test*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.
- SCHIRMANN, K.; NÚRIA, C.; DANIEL, M. WEARY.; WOLFGANG, H.; MARIAN, A. G. V. K. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 3212- 3217, 2012.
- SCHUKKEN, Y.H.; GÜNTHER, J.; FITZPATRICK J., et al. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 144(3-4), 270-289, 2011.
- SIIVONEN, S.; TAPONEN, M.; HOVINEN, M.; PASTELL, B.J.; LENSINK, S. PYÖRÄLÄ, L.; HÄNNINEN. Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, 132, pp. 101-106, 2011.
- STANGAFERRO, M.L.; WIJMA, R.; CAIXETA, L.S.; AL-ABRI, M.A; GIORDANO, J.O. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part I. Metabolic and digestive disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 7395-7410, 2016.
- TAPONEN, S. et al. Bovine milk microbiome: a more complex issue than expected. **Veterinary Research**, v. 50, n. 1, 6 jun, 2019.

VON KEYSERLINGK, M.A.; WEARY, D.M. A 100-Year Review: Animal welfare in the Journal of Dairy Science—The first 100 years. **Journal of Dairy Science**, 100, 10432–10444, 2017.

WEARY, D. M.; HUZZEY, J. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. BOARD-INVITED REVIEW: Using behavior to predict and identify ill health in animals¹. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 2, p. 770–777, 1 fev. 2009.

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: Causes and control¹. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_13, p. 57–65, 1 mar. 2008.

ZIGO, F. *et al.* Maintaining optimal mammary gland health and prevention of mastitis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 69, 2021.

ZIMOV, J.L.; BOTHERAS, N.A.; WEISS, W.P. ; HOGAN, J.S. Associations among behavioral and acute physiologic responses to lipopolysaccharide induced clinical mastitis in lactating dairy cows. **Am. J. Vet. Res.** 72:620-627, 2011.

4. ARTIGO 2

Artigo confeccionado conforme as normas do periódico “Veterinary Sciences” (Anexo 1).

Artigo

Monitoramento Eletrônico do Tempo de Ruminação em Vacas Leiteiras e sua Influência na Composição do Leite

Davi Assenheimer^{1,*}, Maiara Blagitz² & Marta Leal³

¹ Programa de Pós-graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, – Universidade Federal da Fronteira Sul, Paraná, Brasil.

² Departamento de Clínica Médica de Animais de Produção, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, Paraná, Brasil. <http://orcid.org/0000-0002-4544-7530>

³ Centro de Ciências Rurais, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

* Autor correspondente: assendavi@gmail.com. Avenida Edmundo Gaievski, 1000, Rodovia BR 182, Km 466, Zona Rural, Realeza, Paraná, Brasil. CEP: 85770-000. Tel: 55 53-999740697.

Resumo simples

Este estudo investigou a relação entre o tempo de ruminação e a composição do leite em vacas leiteiras. Foram encontradas correlações positivas com a gordura do leite e sólidos totais, enquanto a lactose do leite apresentou correlação negativa com o tempo de ruminação. No entanto, não foram observadas correlações significativas com a proteína, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas do leite. Os resultados podem ser úteis para melhorar o manejo nutricional e de comportamento animal na indústria leiteira.

Resumo

Este artigo aborda a relação entre o tempo de ruminação (TR) registrado por sensores de colar cervical e a composição do leite em vacas leiteiras. Foram analisados dados de 178 vacas, ao longo de sete dias antes de seis momentos de análise do leite, sendo verificadas correlações significativas entre o TR e a gordura do leite, bem como com os sólidos totais, indicando que um aumento no TR pode estar associado a níveis mais elevados desses

componentes no leite. Por outro lado, houve uma correlação negativa entre o TR e a lactose do leite, sugerindo que um aumento no TR pode estar associado a uma diminuição nos níveis de lactose. No entanto, não foram encontradas correlações significativas entre o TR e a proteína, o extrato seco desengordurado (ESD) e a contagem de células somáticas (CCS) do leite. Os resultados podem ser úteis para melhorar o manejo nutricional e de comportamento animal na indústria leiteira.

Palavras-chave: pecuária de precisão, comportamento animal, sensores, ruminação, composição do leite.

1. Introdução

Os avanços da pecuária de precisão nas últimas duas décadas, mediante colaboração entre pesquisadores associados à engenharia e ao setor pecuário, levaram a uma evolução significativa na avaliação do comportamento e bem estar animal (BEA). A pecuária de precisão desenvolveu-se rapidamente nos últimos anos, e uma ampla variedade de informações podem ser avaliadas remotamente e em tempo real (LARSEN et al., 2021).

Diversos sensores têm sido desenvolvidos para o monitoramento do comportamento desses animais (BENAISSA et al., 2017; MARTISKAINEN et al., 2009; REITER et al., 2018; SCHIRMANN et al., 2009; SCHIRMANN et al., 2012), entretanto seus usos devem contar com um processo de rotulagem correto (ou seja, saber o significado dos dados obtidos) e com um sistema de leitura confiável (MARINO et al., 2021). A partir de dados de biomarcadores comportamentais, pode-se obter indicadores sobre saúde, desconforto, atividade reprodutiva e nutrição, sendo o mais importante a ruminação (BENAISSA et al., 2017; MOLFINO et al., 2017).

A ruminação (necessária para a quebra de partículas) é um processo fisiológico de regurgitação, remastigação, salivação e deglutição da ingesta para reduzir o tamanho de partícula dos alimentos, manter o equilíbrio do pH ruminal e melhorar a digestão das fibras (BEAUCHEMIN, 1991). Este processo mecânico permite aumentar a área de substrato para fermentação microbiana responsável pela produção de ácidos graxos voláteis, amônia e proteínas (MORAN, 2005).

A atividade de ruminação em vacas leiteiras está associada ao comprimento das partículas da ração e ao teor de fibra em detergente neutro (FDN), principalmente celulose e lignina. O tempo de ruminação (TR, número de minutos em um determinado período de tempo) está associado aos fatores nutricionais dos alimentos (ADIN et al., 2009), bem-estar animal (GRANT et al., 2015), estresse térmico (ABENI & GALLI, 2017; SORIANI et al., 2013), doenças (HANSEN et al., 2003; KAUFMAN et al., 2018) e alterações fisiológicas, por exemplo, durante o estro e parto (HEERSCHE et al., 2015).

A diminuição do TR ideal (em média 8 horas/dia) leva à redução do consumo de matéria seca (CMS), ocasionando em um declínio na produção e qualidade do leite (SORIANI et al., 2013). A composição do leite, fornece informações sobre a produção de energia, concentração de proteína na ração e possíveis desequilíbrios metabólicos. O balanço energético negativo (BEN) causa: aumento do teor de gordura do leite e diminuição do teor de proteína do leite (JENKINS et al., 2015; BRANDT et al., 2010).

SORIANI et al. (2013) relataram uma associação positiva entre produção de leite e TR, enquanto KAUFMAN et al. (2018) observaram a mesma associação positiva em vacas leiteiras no início da lactação, mas uma associação negativa com a composição de gordura. Já ANDREEN et al. (2020), descobriram que existe uma fraca correlação entre TR e teor de gordura no leite.

Assim, na tentativa de entender se os dados de TR registrados continuamente para cada animal em uma fazenda podem ser usados para avaliar e melhorar a qualidade e composição do leite, este estudo teve como objetivo examinar a relação entre o TR registrado diariamente por um sensor de colar cervical e a composição do leite de vacas leiteiras.

2. Material e Métodos

2.1 Aprovação Ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS (nº 4329120422).

2.2 Instalações, Manejo e Animais

O estudo foi realizado entre 16 de setembro de 2022 e 01 de fevereiro de 2023, na Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus Realeza* e em uma fazenda leiteira do Brasil (25°47'40.0"S 53°19'37.6"W). Para as avaliações foram selecionadas 178 vacas da raça Holandesa (média 194,5 ± 3,4 dias em lactação). A produção média de leite por vaca foi de 10.500 kg por ano.

A produção e composição do leite no dia da coleta, dias em lactação e registros de paridade de cada animal foram extraídos do *software* da fazenda. Os dados sobre o manejo do rebanho foram fornecidos pelo proprietário. Apenas vacas com mínimo de 5 dias em lactação (DEL) foram incluídas.

As vacas foram mantidas em condições ambientais homogêneas e em sistema de alojamento *FreeStall* durante todo período experimental. Eram submetidas à ordenha e alimentadas com ração mista total (TMR) três vezes ao dia (manhã, tarde e noite), balanceada

para atender ou exceder às necessidades fisiológicas de uma vaca holandesa de 550 kg produzindo 40 kg de leite por dia.

A dieta era baseada em silagem de milho, pré-secado, caroço de algodão, ração 22%, grão úmido, casquinha de soja, farelo de soja, sal mineral e água *ad libitum*. O teor de matéria seca (MS) foi de 35,90%, fibra em detergente ácido (% da MS) foi de 18,8%, fibra em detergente neutro (% da MS) foi de 33,5%, carboidratos não fibrosos (% da MS) foi de 38,00%, proteína bruta (% da MS) foi de 18,9% e energia líquida para lactação foi de 1.7% (Mcal/kg).

2.3 Coleta e análise do leite

Para a coleta de leite, os animais foram conduzidos até a sala de espera, durante a rotina de ordenha da propriedade, e após entrarem na sala de ordenha foi iniciado o procedimento. Inicialmente a glândula mamária foi observada com intuito de identificar alguma alteração para diagnóstico da mastite clínica (ASHRAF; IMRAN, 2020; CUNHA et al., 2016).

Posteriormente os tetos foram higienizados, imergidos em solução pré-*dipping*, seguido pelo teste da caneca de fundo escuro. Para este teste, os três primeiros jatos de leite foram descartados e avaliados conforme os critérios estabelecidos por BIRGEL (2014), observando a cor, consistência e presença de massas ou grumos da secreção.

Novamente os tetos foram imergidos em solução pré-*dipping* e após trinta segundos foram secos com toalha de papel individualmente. As amostras de leite foram colhidas em frascos transparentes com tampa vermelha, adicionado de conservante brononata (padrão) e homogeneizadas. Todas as amostras de leite coletadas foram acondicionadas em caixa isotérmicas, com temperatura controlada de 4°C e encaminhadas em até 24 horas após a coleta ao Laboratório Centralizado de Análise de Leite do PARLPR (Curitiba, Paraná, Brasil).

As amostras foram analisadas quanto a gordura, proteína, lactose, extrato seco desengordurado (infravermelho, ISO 9622/ IDF 141) e contagem de células somáticas (CCS) (citometria de fluxo, ISO 13366-2, IDF 148-2). Outras características (teor de nitrogênio ureico, beta-hidroxibutirato e corpos cetônicos) não foram consideradas no presente estudo.

2.4 Monitoramento do tempo de ruminação

O sistema utilizado para monitorar o comportamento dos animais foi o colar C-TECH (Chip-Inside) em conjunto com o software CowMed®, que captura dados do colar e o registra em intervalos de uma hora. Os sensores do colar C-Tech (Chip inside) possuem um acelerômetro que mede a ruminação, a atividade e o ócio dos bovinos.

O sistema é composto pelo C-Reader e pelo software de gerenciamento, que podem gerar um padrão comportamental para cada animal no rebanho e também um padrão médio para todo o rebanho com base nos dados comportamentais. Foi avaliado os dados captados pelo colar de tempo de ruminação.

A ruminação e outros comportamentos foram registrados continuamente por sensores de ruminação nos sete dias anteriores (ANDREEN et al., 2020) a cada um dos seis dias de coleta de leite (DC), ao longo de um total de seis semanas de experimento.

2.5 Organização dos dados

Para o estudo, foram utilizados dados de TR, dos DC e informações individuais de 178 vacas, relacionados ao período de observação. Os dados TR, foram resumidos em intervalos de 24 h pelo *software* Cowmed (Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil), foram primeiramente verificados quanto a possíveis valores ausentes. As vacas com dados faltantes durante os 7 dias anteriores aos DC foram removidas. Um valor único de RT para cada vaca em cada DC foi calculado: os dados dos 8 dias foram somados e, em seguida, foi calculada a média entre os dias (7 dias anteriores e dia de cada coleta).

2.6 Análise de Dados e Estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism 9.0[®] (GraphPad Software, Dotmatics, Boston, Massachusetts, EUA). Todos os dados foram digitados em uma base de dados e verificados duas vezes para erros de entrada. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Estatísticas descritivas para TR e dados de composição (7 dias anteriores e DC) foram calculadas. O desenho do estudo utilizou medições repetidas, incluindo medições (períodos de tempo) do mesmo indicador (ruminação de acordo com os dias do experimento). A média e o desvio padrão da média foram calculados para as variáveis estimadas. Para a obtenção do coeficiente de correlação ($r = \rho$) entre o TR nos diferentes dias e cada uma das variáveis da composição do leite foi realizada a correlação de Pearson.

3 Resultados

As estatísticas descritivas de TR diário (calculado como a média de TR durante um período de 7 dias antes e DC) e produção de leite e características de composição no DC para todos os registros do conjunto de dados (Tabela 1).

Tabela 1

Estatísticas resumidas da produção e composição química do leite das vacas da raça Holandesa pertencentes ao estudo

Variável	Média	Desvio Padrão
TR	492,9 min/d	± 46,66 min/d
Produção de leite	29,6 kg	± 0,3 kg
Gordura do Leite	1,92%	± 1,43%
Proteína do Leite	3,48%	± 0,32%
Sólidos Totais	10,96%	± 1,32%
Lactose do Leite	4,56%	± 0,35%
CCS do Leite	1101 mil células/mL	± 359,5 mil células/mL

Legenda: min-minutos. d-dia. kg-quilograma. mL-mililitro.

Os resultados revelaram correlações significativas entre o tempo de ruminação e certos componentes do leite. Foi observada uma correlação positiva entre o tempo de ruminação e a gordura do leite ($r = 0,1555$, $p = 0,0371$), assim como com os sólidos totais ($r = 0,1486$, $p = 0,0464$), indicando que um aumento no tempo de ruminação pode estar associado a níveis mais elevados desses componentes no leite. Além disso, uma correlação negativa significativa foi encontrada entre o tempo de ruminação e a lactose do leite ($r = -0,1714$, $p = 0,0214$), sugerindo que um aumento no tempo de ruminação pode estar associado a uma diminuição nos níveis de lactose. Entretanto, não foram encontradas correlações significativas entre o tempo de ruminação e a proteína ($r = 0,1015$, $p = 0,1754$), o erro padrão da diferença (ESD) ($r = -0,05083$, $p = 0,4980$) e a contagem de células somáticas (CCS) do leite ($r = -0,002989$, $p = 0,9682$), indicando que esses parâmetros podem não ser diretamente influenciados pelo comportamento de ruminação das vacas (Tabela 2).

Tabela 2

Resultados obtidos da Correlação de Pearson entre o Tempo de Ruminação e Composição do Leite das vacas avaliadas no estudo

Parâmetro	Pearson r	P valor
Gordura	0.1555	0.0371*

Proteína	0.1015	0.1754
Lactose	-0.1714	0.0214*
Sólidos totais	0.1486	0.0464*
ESD	-0.05083	0.4980
CCS	0.9682	-0.002989

Legenda: coeficientes de correlação (r) e valores de significância (p).*-p é significativo.

4 Discussão

Os resultados obtidos na pesquisa revelaram correlações positivas significativas entre o tempo de ruminação e algumas características da composição do leite das vacas avaliadas. A correlação positiva significativa entre o tempo de ruminação e a gordura do leite pode ser atribuída, em parte, ao papel da ruminação na digestão da fibra e no metabolismo dos ácidos graxos no rúmen. Estudos têm demonstrado que o aumento do TR está associado a uma maior produção de ácidos graxos voláteis (AGVs), especialmente o ácido acético, os quais são os principais precursores da síntese de gordura do leite (HUMER et al., 2018; HUHTANEN et al., 2019).

A ruminação prolongada também pode estar relacionada a uma maior taxa de passagem da fibra no rúmen, o que pode aumentar a disponibilidade de substratos para a síntese de gordura no tecido mamário (BACH et al., 2008). Ademais, um maior TR aumenta o tempo de exposição da fibra à ação dos microrganismos ruminais, resultando em uma maior degradação da fibra e maior produção de ácido acético (HUHTANEN et al., 2019). Esses mecanismos fisiológicos podem explicar a associação positiva entre o tempo de ruminação e a gordura do leite, destacando a importância desse comportamento para a síntese de ácidos graxos no rúmen e, conseqüentemente, para a composição lipídica do leite.

Além disso, o aumento da produção de gordura do leite relacionada ao TR pode ter implicações econômicas e nutricionais para a indústria leiteira. A gordura é um componente essencial do leite, conferindo densidade energética e sabor ao produto final (MOYES et al., 2021). Portanto, vacas que apresentam maior TR e, conseqüentemente, uma maior síntese de

gordura do leite, podem produzir leite com maior valor agregado em termos de qualidade nutricional e sensorial.

Por outro lado, a correlação negativa significativa entre o TR e a lactose do leite pode estar relacionada principalmente com a genética e a fisiologia da glândula mamária do animal, bem como com sua dieta. Quando as vacas dedicam mais tempo à ruminação, há uma maior fermentação de carboidratos fibrosos e uma maior produção de AGVs (AZEVEDO et al., 2015; COOKE et al., 2020).

Em contrapartida, não foram encontradas correlações significativas entre o TR e a proteína, o ESD e a CCS do leite. Esses resultados podem ser atribuídos a outras variáveis que podem afetar esses parâmetros independentemente do tempo de ruminação, como fatores genéticos, nutricionais ou de saúde individual de cada animal (STOOP et al., 2017).

A ausência de correlações significativas sugere que o comportamento de ruminação pode ter um impacto mais direto na composição lipídica do leite, enquanto outros fatores podem desempenhar um papel mais proeminente nas características proteicas e da saúde mamária. É importante destacar que a produção de leite é um processo complexo e multifatorial, e é necessária uma abordagem holística para compreender completamente suas determinantes.

5 Considerações Finais

Esses achados têm implicações significativas para a indústria leiteira, uma vez que identificar correlações entre o tempo de ruminação e a composição do leite pode fornecer insights valiosos para o manejo nutricional e de comportamento animal. O estímulo ao comportamento de ruminação pode ser explorado como uma estratégia para otimizar a qualidade do leite, buscando alcançar uma composição ideal em termos de gordura e sólidos totais.

6 Financiamento

Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná. Convênio nº 79.

7 Referências

ABENI, F.; GALLI, A. Monitoring cow activity and rumination time for an early detection of heat stress in dairy cow. **Int. J. Biometeorol.**, v. 61, p. 417–425, 2017.

ADIN, G.; SOLOMON, R.; NIKBACHAT, M.; ZENOU, A.; YOSEF, E.; BROSH, A.; SHABTAY, A.; MABJEESH, S.J.; HALACHMI, I.; MIRON, J. Effect of feeding cows in early

lactation with diets differing in roughage-neutral detergent fiber content on intake behavior, rumination, and milk production. **J. Dairy Sci.**, v. 92, p. 3364–3373, 2009.

ANDREEN, D. M. et al. Determination of relationships between rumination and milk fat concentration and fatty acid profile using data from commercial rumination sensing systems. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 8901–8917, ago. 2021.

ASHRAF, A.; IMRAN, M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. **Animal Health Research Reviews**, p. 1–14, 13 fev. 2020.

AZEVEDO, R. A. et al. Rumen fermentation and microbial community structure in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in linoleic and linolenic acid. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 42-51, 2015.

BACH, A.; IGLESIAS, C.; & DEVANT, M. Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 142, n. 3-4, p. 205-217, 2008.

BEAUCHEMIN, K.A. Effects of dietary NDF concentration and alfalfa hay quality on chewing, rumen function, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 439-463, 2008.

BENAISSA, S. et al. On the use of on-cow accelerometers for the classification of behaviours in dairy barns. **Research in Veterinary Science**, 2017.

BIRGEL, E. H. **Semiologia da glândula mamária de ruminantes**. In: FEITOSA, F. L. F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. São Paulo: Editora Roca, 2014. 1406 p.

BRANDT, M.; HAEUSSERMANN, A.; HARTING, E. Invited review: Technical solutions for analysis of milk constituents and abnormal milk. **J. Dairy Sci.**, v. 93, p. 427–436, 2010.

COOKE, R. F. et al. Effect of forage quality and grain processing on rumen fermentation and digesta fatty acid composition. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 1, p. 972-984, 2020.

CUNHA, A. F. et al. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 9, n. 2, p. 160-166, 2015.

CUNHA, A. F. et al. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite clínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 10, n. 1, p.48-54, 2016.

GRANT, R.J.; DANN, H.M.; WOOLPERT, M.E. Time required for adaptation of behavior, feed intake, and dietary digestibility in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 98, suppl. 2, p. 312, 2015.

HANSEN, S. S. et al. The effect of subclinical hypocalcaemia induced by Na₂EDTA on the feed intake and chewing activity of dairy cows. **Vet. Res. Commun.**, v. 27, p. 193–205, 2003.

HEERSCHKE, G. et al. Behavioral and physiological changes around estrus events identified using multiple automated monitoring technologies. **J. Dairy Sci.**, v. 98, p. 8723–8731, 2015.

- HUHTANEN, P., CABEZAS-GARCIA, E. H., UTSUMI, S. A., & ZIMMERMAN, S. Effect of the fiber matrix and its rumen degradability characteristics on the efficiency of N utilization in ruminants: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 9, p. 7758-7772, 2019.
- HUMER, E. et al. Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 872-888, 2018.
- JENKINS, N. T. et al. Utility of inline milk fat and protein ratio to diagnose subclinical ketosis and to assign propylene glycol treatment in lactating dairy cows. **Can. Vet. J.**, v. 15, p. 56–58, 2015.
- KAUFMAN, E. I. et al. Association of rumination time and health status with milk yield and composition in early-lactation dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 101, p. 462–471, 2018.
- LARSEN, M.; WANG, M.; NORTON, T. Information Technologies for Welfare Monitoring in Pigs and Their Relation to Welfare Quality®. **Sustainability**, v. 13, p. 692, 2021.
- MARINO, R. et al. Unraveling the Relationship between Milk Yield and Quality at the Test Day with Rumination Time Recorded by a PLF Technology. **Animals**, v. 11, p. 1583, 2021.
- MARTISKAINEN, P.; JÄRVINEN, M.; SKÖN, J.-P.; TIIRIKAINEN, J.; KOLEHMAINEN, M.; MONONEN, J. Cow behaviour pattern recognition using a three-dimensional accelerometer and support vector machines. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 119, n. 1-2, p. 32-38, 2009.
- MOYES, K. M. et al. Milk fat: current concepts of genetic factors that contribute to variation. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 6528-6546, 2021.
- REITER, S. et al. Evaluation of an ear-tag-based accelerometer for monitoring rumination in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 3398-3411, 2018.
- SCHIRMANN, K. et al. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 3212- 3217, 2012.
- SCHIRMANN, K. et al. Technical note: Validation of a system for monitoring rumination in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 6052–6055, 2009.
- SORIANI, N.; PANELLA, G.; CALAMARI, L. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. **J. Dairy Sci.**, v. 96, p. 5082–5094, 2013.
- STOOP, W. M. et al. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 1435-1444, 2017.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mudanças no comportamento de ruminção, ofegação, atividade e ócio podem ser usadas como indicadores da mastite subclínica em vacas leiteiras. Os veterinários podem se beneficiar muito com este método para reconhecer vacas afetadas e tratar a inflamação do úbere em um estágio inicial. Além disso, o estímulo ao comportamento de ruminção pode ser explorado como uma estratégia para otimizar a qualidade do leite, buscando alcançar uma composição ideal em termos de gordura e sólidos totais.

Produtores rurais devem considerar o uso sistemas de sensores *online* que registrem variáveis de comportamento para o monitoramento dos seus animais. Esses sistemas permitiriam a identificação, prevenção e tratamento precoce de vacas doentes, medidas que reduziriam as perdas econômicas para as fazendas devido a essa doença.

6. REFERÊNCIAS

- AGHAMOHAMMADI, M. *et al.* Herd-level mastitis-associated costs on Canadian dairy farms. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, p. 100, 2018.
- ALSAAOD, M. *et al.* Development and validation of a novel pedometer algorithm to quantify extended characteristics of the locomotor behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 9, p. 6236–6242, 1 set. 2015.
- ANTANAITIS, R. *et al.* Identification of Changes in Rumination Behavior Registered with an Online Sensor System in Cows with Subclinical Mastitis. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 9, p. 454, 1 set. 2022.
- ASHRAF, A.; IMRAN, M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. **Animal Health Research Reviews**, p. 1–14, 13 fev. 2020.
- AUBERT, A.E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart rate variability in athletes. **Sports Medicine**, v.33, n.12, p.889-919, 2003.
- AUSTIN, A.R.; PAWSON, L.; MEEK, S.; WEBSTER, S. Abnormalities of heart rate and rhythm in bovine spongiform encephalopathy. **Veterinary Record**, v. 141, p. 352–357, 1997.
- BARKEMA, H. W. *et al.* Invited review: Changes in the dairy industry affecting dairy cattle health and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7426–7445, nov. 2015.
- BARREIRO, J. R. *et al.* Identification of subclinical cow mastitis pathogens in milk by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 12, p. 5661-5667, 2010.

- BEAUCHEMIN, K.A. Effects of dietary NDF concentration and alfalfa hay quality on chewing, rumen function, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 439-463, 1991.
- BENAÏSSA, S. et al. On the use of on-cow accelerometers for the classification of behaviours in dairy barns. **Research in Veterinary Science**, v. 125, p. 425–433, ago. 2019.
- BERNTSON, G.; BIGGER, J.; ECKBERG, D.; GROSSMAN, P; KAUFMANN P; MALIK, M.; NAGAJARA, H.; PORGES, S.; SAUL, J.; STONE, P.; VAN DER MOLEN, M. Heart Rate Variability: Origins, methods and interpretive caveats. **Psychophysiology**, v.34, p. 623-648, 1997.
- BEXIGA, R.; PEREIRA, H.; PEREIRA, O.; LEITÃO, A.; CARNEIRO, C.; ELLIS, K, A.; VILELA, C. Observed reduction in recovery of *Corynebacterium* spp. From bovine milk samples by use of a teat cannula. **Journal of Dairy Research**, v. 78, p. 9-14, 2011.
- BIAN, Y.; LV, Y.; LI, Q. Identification of Diagnostic Protein Markers of Subclinical Mastitis in Bovine Whey Using Comparative Proteomics. **Bull Vet Ins. Pulawy**, v. 58, n. 3, p. 385–392, 1 out. 2014.
- BOISSY, A.; BOUISSOU, M.F. Effects of early handling on heifers' subsequent reactivity to humans and unfamiliar situations. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 20, p. 259–273, 1998.
- BORCHERS, M. R. et al. A validation of technologies monitoring dairy cow feeding, ruminating, and lying behaviors. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7458–7466, 2016.
- BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J.; & SWAINSON, H. M. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 8, p. 3803-3811, 2007.
- BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v. 142, n. 6, p. 524–526, nov. 1986.
- BROOM, D.M. Land and water usage in beef production systems. **Animals**, v. 9, p. 286, 2019.
- FRASER, A.F.; BROOM, D.M. Farm Animal Behaviour and Welfare: **Bailliere Tindall**: London, UK, 1990. 437p.
- BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. Stress and animal welfare. Londres: **Lower Academic**, 1993. 228p.
- BURFEIND, O. et al. Technical note: Evaluation of a system for monitoring rumination in heifers and calves. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p. 426–430, 1 jan. 2011.
- CARVALHO, L. A. et al. **Sistema de Produção de Leite (Zona da Mata Atlântica)**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003.

CEBALLOS, M. C. et al. Reliability of qualitative behavior assessment (QBA) versus methods with predefined behavioral categories to evaluate maternal protective behavior in dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 236, p. 105263, mar. 2021.

CERQUEIRA, J.L.; ARAÚJO, J.P.; CANTALAPIEDRA, J.; BLANCO-PENEDO, I. How is the association of teat-end severe hyperkeratosis on udder health and dairy cow behavior? **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 169, n. 1-3, 2018.

CORNISH, A.; RAUBENHEIMER, D.; MCGREEVY, P. What we know about the public's level of concern for farm animal welfare in food production in developed countries. **Animals**, v. 6, p. 74, 2016.

CYPLES, J. A.; FITZPATRICK, C. E.; LESLIE, K. E.; DEVRIES, T.J.; HALEY, D. B.; CHAPINAL, N. Short communication: The effects of experimentally induced *Escherichia coli* clinical mastitis on lying behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2571–2575, maio 2012.

DADO, R.G.; ALLEN, M.S. Variation in and relationships among feeding, chewing, and drinking variables for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.132-144, 1994.

DERETTI, R.M.; RIBEIRO, A.R.B.; FISCHER, V. Bem-estar animal em sistemas de produção de leite. In: VILELA, D.; FERREIRA, R.P.; FERNANDES, E.N.; JUNTOLLI, F.V. **Pecuária de leite no Brasil: cenários e avanços tecnológicos**. Brasília, DF: EMBRAPA, p. 265-284, 2016.

DE VliegHER, S. et al. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1025–1040, mar. 2012.

DIPPEL, S.; DOLEZAL, M.; BRENNINKMEYER, C.; BRINKMANN, J.; MARCH, S.; KNIERIM; WINCKLER, C. Risk factors for lameness in freestall-housed dairy cows across two breeds, farming systems, and countries. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5476-5486. 2009.

DITTRICH, I.; GERTZ, M.; KRIETER, J. Alterations in sick dairy cows' daily behavioural patterns. **Heliyon**, v. 5, n. 11, p. e02902, nov. 2019.

DUNCAN, I. J.; PETHERICK, J. C. The implications of cognitive processes for animal welfare. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 12, p. 5017–5022, 1 dez. 1991.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: A arte do diagnóstico**. Editora Roca, 2ªed, p. 201–211, 2008.

FISHER, M. Defining animal welfare — does consistency matter? **New Zealand Veterinary Journal**, v. 57, n. 2, p. 71–73, abr. 2009.

FITZPATRICK, J.L.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. **Small Ruminant Research**, v.62, p.55-61, 2006.

FOGSGAARD, K. K.; RØNTVED, C.M.; SØRENSEN, M. S. Herskin Sickness behavior in dairy cows during *Escherichia coli* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 2, p. 630–638, 1 fev. 2012.

FONTANA, L. I.; PINTO, A. T. Bem-estar de vacas leiteiras na visão dos consumidores: uma revisão sistemática. **Zootecnia: pesquisa e práticas contemporâneas**, v. 2, n. 1, p. 14–31, out. 2021.

FRASER, D. Assessing animal well-being: common sense, uncommon science. In: ALBRIGHT, J.L. (Ed.). **Food animal well-being West Lafayette**, USDA: Purdue University, p.37-54, 1993.

FRASER, D. Assessing Animal Welfare at the Farm and Group Level: The Interplay of Science and Values. **Assessment of Animal Welfare Collection**, 1 nov. 2003.

FRASER, D. et al. General Principles for the welfare of animals in production systems: The underlying science and its application. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 1, p. 19–27, out. 2013.

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

GONÇALVES, P.E.M.; ANDRADE, V.J. Comportamento animal: uma revisão geral. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n. 67, p. 09-13, 2012.

GONZÁLEZ, L.A.; TOLKAMP, B.J.; COEY, M.P.; FERRET, A.; KYRIAZAKIS, I. Changes in Feeding Behavior as Possible Indicators for the Automatic Monitoring of Health Disorders in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 3, p. 1017–1028, 1 mar. 2008.

GONZÁLEZ, F, H, D. **A vaca leiteira do século 21: lições de metabolismo e nutrição**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, 2021.

GRANDIN, T. Animal welfare and society concerns finding the missing link. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 461–469, 2014.

GRANT, R.J.; DANN, H.M.; WOOLPERT, M.E. Time required for adaptation of behavior, feed intake, and dietary digestibility in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.98, suppl.2, p.312, 2015.

GRUPPI, C. J.; ANTELMÍ, I. **Avaliação Autônômica pelo ECG: Variabilidade da Frequência Cardíaca – Medidas e Utilidade Clínica**. In: PASTORE, C. A., et. al. *Eletrocardiografia Atual: curso do Serviço de Eletrocardiografia do InCor*. 3º ed, Editora Athneu, p. 225 – 232, 2016.

HALEY, D. B.; DE PASSILLÉ, A. M.; RUSHEN, J. Assessing cow comfort: effects of two floor types and two tie stall designs on the behaviour of lactating dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 71, n. 2, p. 105–117, fev. 2001.

HARRISON, R. **Animal machines: the new factory farming industry**. Londres: Vincent Stuart, 1964. 215p.

HEMSWORTH, P.H.; MELLOR, D.J.; CRONIN, G.M.; TILBROOK, A.J. Scientific assessment of animal welfare. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 63, n. 1, p. 24–30, 11 dez. 2014.

HILL, C. T. et al. Effect of stocking density on the short-term behavior of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 244, 2009.

HIITIO, H.; SIMOJOKI, H.; KALMUS, P.; HOLOPAINEN, J.; PYORALA, S.; TAPONEN, S. The effect of sampling technique on PCR-based bacteriological results of bovine milk samples. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 6532-6541, 2016.

JAMES, A.F.; CHOISY, S.C.; HANCOX, J.C. Recent advances in understanding sex differences in cardiac repolarization. **Prog Biophys Mol Biol**, v. 94, p. 265-319, 2007.

KAPPES, R. **Comportamento ingestivo, atividade, produção e qualidade do leite de vacas holandês e mestiças holandês x jersey em sistema baseado em pastagem**. 2020, 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Pós Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC – Lages, Santa Catarina.

KING, M. T. M. et al. Behavior and productivity of cows milked in automated systems before diagnosis of health disorders in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4343–4356, maio 2018.

VAN ERP-VAN DER KOOIJ, E. Using precision farming to improve animal welfare. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 15, n. 051, 1 nov. 2020.

KOK, A. et al. Technical note: Validation of sensor-recorded lying bouts in lactating dairy cows using a 2-sensor approach. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7911–7916, nov. 2015.

KOVÁCS, L. et al. Welfare implication of measuring heart rate and heart rate variability in dairy cattle: literature review and conclusions for future research. **Animal**, v. 8, n. 2, p. 316–330, 2014.

KOVÁCS, L.; TÓZSÉR, J.; KÉZÉR, F.L; RUFF, F.; AUBIN-WODALA, M.; ALBERT, E.; CHOUKEIR, A.; SZELÉNYI, Z.; SZENCI, O. Heart rate and heart rate variability in multiparous dairy cows with unassisted calvings in the periparturient period. **Physiology & Behavior**, v. 139, p. 281-289, 2015.

KRAWCZEL, P.; GRANT, R. Effects of Cow Comfort on Milk Quality, Productivity and Behavior. **Proceedings of the 48th National Mastitis Council Annual Meeting**, Charlotte, North Carolina, p. 15-24, 2009.

LAGO, A. et al. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk with holding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 9, p. 4441-4456, 2011.

LEEB, C. et al. **Bristol welfare assurance programme: cattle assessment**. Bristol: University of Bristol, 2004. 17p.

- LEDGERWOOD, D. N.; WINCKLER, C.; TUCKER, C. B. Evaluation of data loggers, sampling intervals, and editing techniques for measuring the lying behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p. 5129–5139, nov. 2010.
- LEHTOLAINEN, T.; RONTVED, C.; PYORALA, S. Serum amyloid A and TNF alpha in serum and milk during experimental endotoxin mastitis. **Veterinary Research**, v. 35, n. 6, p. 651–659, nov. 2004.
- LIBOREIRO, D.N.; MACHADO, K.S.; SILVA, P.R.B.; MATURANA, M.M.; NISHIMURA, T.K.; BRANDÃO, A.P.; ENDRES, M. I.; CHEBEL, R.C. Characterization of peripartum rumination and activity of cows diagnosed with metabolic and uterine diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 6812–6827, 2015.
- LIMA, S.F; TEIXEIRA, A.G; LIMA, F. S; GANDA, E.K; HIGGINS, C.H; OIKONOMOU, G; BICALHO, R.C. The bovine colostrum microbiome and its association with clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 4, p. 3031-3042, 2017.
- LOVARELLI, D.; BACENETTI, J.; GUARINO, M. A review on dairy cattle farming: Is precision livestock farming the compromise for an environmental, economic and social sustainable production? **Journal of Cleaner Production**, v. 262, p. 121409, jul. 2020.
- MARTINS, T. G. L. **Monitoramento Estatístico e Predição de Mudanças Comportamentais em Bovinos**. 2020, 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Pós-graduação em Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM – Santa maria, Rio Grande do Sul.
- MARTISKAINEN, P.; JÄRVINEN, M.; SKÖN, J.-P.; TIIRIKAINEN, J.; KOLEHMAINEN, M.; MONONEN, J.. Cow behaviour pattern recognition using a three-dimensional accelerometer and support vector machines. **Applied Animal Behaviour Science**, v.119, n.1-2, p.32-38, 2009.
- MEDRANO-GALARZA, C. et al. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 6994–7002, dez. 2012.
- MOHR, E.; LANGBEIN, J.; NÜRNBERG, G. Heart rate variability. **Physiology & Behavior**, v. 75, n. 1-2, p. 251–259, fev. 2002.
- MULLEN, K. A. E. et al. Comparisons of milk quality on North Carolina organic and conventional dairies. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6753–6762, out. 2013.
- MUNKSGAARD, L. et al. Quantifying behavioural priorities—effects of time constraints on behaviour of dairy cows, *Bos taurus*. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 92, n. 1, p. 3–14, 1 jul. 2005.
- NIELEN, M.; SCHUKKEN, Y.H.; BRAND, A.; DELUYKER, H.A.; MAATJE, K. Detection of Subclinical Mastitis from On-Line Milking Parlor Data. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 5, p. 1039–1049, maio 1995.

OIKONOMOU, G. et al. Microbiota of Cow's Milk; Distinguishing Healthy, Sub-Clinically and Clinically Diseased Quarters. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e85904, 20 jan. 2014.

OLIVEIRA, A.C.D.; SOUZA, F.N.; SANTÁNNA, F.M.; FAÚLA, L.L.; CHANDE, C.G.; CORTEZ, A.; DELLA LIBERA, A.M.M.P.; COSTA, M.; SOUZA, M.R.; HEINEMANN, M.B.; CERQUEIRA, M.O.P. Temporal and geographical comparison of bulk tank milk and water microbiota composition in Brazilian dairy farms. **Food Microbiology**, v. 98, p. 103793, set. 2021.

PAUDYAL, S.; MAUNSELL, F.; RICHESON, J.; RISCO, C.; DONOVAN, A.; PINEDO, P. Periparturient rumination dynamics and health status in cows calving in hot and cool seasons. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1–12, 2016.

European Food Safety Authority Panel on Animal Health and Welfare. **Scientific report on the effects of farming systems on dairy cow welfare and disease**. EFSA-Q-2006-113:Parma, Italy, 2009

PHILLIPS, C. J. C.; MOLENTO, C. F. M. Animal Welfare Centres: Are They Useful for the Improvement of Animal Welfare? **Animals**, v. 10, n. 5, p. 877, 18 maio 2020.

PIMENTEL, A.S.; ALVES, E.S.; ALVIM, R.O.; NUNES, R.T.; COSTA, C.M.A.; LOVISI, J.C.M.; LIMA, J.R.P. Polar S810 como recurso alternativo ao eletrocardiograma no teste de exercício de 4 segundos. **Arquivo Brasileiro Cardiolgia**, v. 94, p. 580-584, 2010.

PLESCH, G. et al. Reliability and feasibility of selected measures concerning resting behaviour for the on-farm welfare assessment in dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 126, n. 1-2, p. 19–26, ago. 2010.

POMFRETT, C.J.D.; GLOVER, D.G.; BOLLEN, B.G.; POLLARD, B.J. Perturbation of heart rate variability in cattle fed BSE-infected material. **Veterinary Record**, v.154, p. 687–691, 2004.

PROUDFOOT, K. L. et al. Dairy cows seek isolation at calving and when ill. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2731–2739, maio 2014.

PUMPRLA, J.; HOWORKA, K.; GROVES, D.; CHESTER, M.; NOLAN, J. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **Int. J. Cardiolgia**, v.84, n.1, p.1-14, 2002.

PYÖRÄLÄ, S.; HOVINEN, M.; SIMOJOKI, H.; FITZPATRICK, J.; ECKERSALL, P. D.; ORRO, T.; TAPONEN, S. Acute phase proteins in milk in naturally acquired bovine mastitis caused by different pathogens. **Veterinary Record**, v. 164, p. 11, 330-336, 2009.

QIAO, Y.; KONG, H.; CLARK, C.; LOMAX, S.; SU, D.; EIFFERT, S.; SUKKARIEH, S. Intelligent perception for cattle monitoring: A review for cattle identification, body condition score evaluation, and weight estimation. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 185, p. 106143, jun. 2021.

REIS, E.M.B.; LOPES, M.A. Métodos automatizados de diagnóstico de mastite em vacas leiteiras: Uma revisão. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, v. 17, p. 199–208, 2014.

REITER, S. et al. Evaluation of an ear-tag-based accelerometer for monitoring rumination in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 3398–3411, 2018.

ROSENBERGER. **Exame Clínico dos Bovinos**. 3a ed. Guanabara. Rio de Janeiro. p. 98-101;139-144. 1993.

RUSHEN, J.; HALEY, D.; DE PASSILLÉ, A. M. Effect of Softer Flooring in Tie Stalls on Resting Behavior and Leg Injuries of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 8, p. 3647–3651, ago. 2007.

SANDOE, P. Animal and human welfare—Are they the same kind of thing? **Acta Agric. Scand. Anim. Sci.** 27, 11–15, 1996.

SCHALM, O. W; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the *California Mastitis Test*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.

SCHIRMANN, K.; CHAPINAL, N.; WEARY, D.M.; HEUWIESER, W.; KEYSERLINGK, M.A.G. VON. Short-term effects of regrouping on behavior of prepartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 2312–2319, 2011.

SCHIRMANN, K.; NÚRIA, C.; DANIEL, M. WEARY.; WOLFGANG, H.; MARIAN, A. G. V. K. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 3212- 3217, 2012.

SCHIRMANN, K.; VON KEYSERLINGK, M.A.G.; WEARY, D.M.; VEIRA, D.M.; HEUWIESER, W. Technical note: Validation of a system for monitoring rumination in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 6052–6055, 2009.

SCHMIDT, A.P.; VIEIRA, L.V.; BARBOSA, A.A.; MARINS L.; CORRÊA, M.N.; PINO F.A.B.D.; BRAUNER, C.C.; RABASSA, V.R.; FEIJÓ, J.D.O.; SCHMITT, E. SCHMIDT. Use of the Rumination Profile Through Collar Sensors for Mastitis Diagnosis in Dairy Cows. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 49, 1 jan. 2021.

SCHÜTZ, K. E. et al. Effects of 3 surface types on dairy cattle behavior, preference, and hygiene. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1530–1541, fev. 2019.

SIIVONEN, S.; TAPONEN, M.; HOVINEN, M.; PASTELL, B.J.; LENSINK, S. PYÖRÄLÄ, L.; HÄNNINEN. Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v. 132, pp. 101-106, 2011.

SORIANI, N.; TREVISI, E.; CALAMARI, L. Relationships between rumination time, metabolic conditions, and health status in dairy cows during the transition period. **Journal of Animal Science Champaign**, v. 90, p. 4544-4554, 2012.

STANGAFERRO, M.L.; WIJMA, R.; CAIXETA, L.S.; AL-ABRI, M.A; GIORDANO, J.O. Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part I. Metabolic and digestive disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 7395-7410, 2016.

STUBSJØEN, S.M.; FLO, A.S.; MOE, R.O.; JANCZAK, A.M.; SKJERVE, E.; VALLE, P.S.; ZANELLA, A.J. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep. **Physiology & Behavior**, v. 98, p. 640-648, 2009.

STYGAR, A.H.; GÓMEZ, Y.; BERTESELLI, G.V.; COSTA, E.D.; CANALI, E.; NIEMI, J.K.; LLONCH, P.; PASTELL, M. A. Systematic Review on Commercially Available and Validated Sensor Technologies for Welfare Assessment of Dairy Cattle. **Front. Veter. Sci.**, v. 8, p. 177, 2021.

SUMNER, L.W. **Welfare, Happiness, and Ethics**. Clarendon Press: Oxford, UK, 1996.

DAWKINS, M.S. Behavioral deprivation: A central problem in animal welfare. **Appl. Anim. Behav. Sci.** V. 20, p. 209–225, 1988.

SUTTON, G. A. et al. A behaviour-based pain scale for horses with acute colic: Scale construction. **The Veterinary Journal**, v. 196, n. 3, p. 394–401, jun. 2013.

TAPONEN, S. et al. Bovine milk microbiome: a more complex issue than expected. **Veterinary Research**, v. 50, n. 1, 6 jun. 2019.

TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; & FRASER, D. Performance-based standards for dairy cows: What are they and how should they be applied? **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3466-3474, 2020

TUCKER, C. B. et al. Invited review: Lying time and the welfare of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, nov. 2020.

TUCKER, C.B.; JENSEN, M.B.; DE PASSILLÉ, A.M.; HÄNNINEN, L.; RUSHEN, J.; Invited review: Lying time and the welfare of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, nov. 2020.

VANDERLEI, L.C.M.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A.; CARVALHO, T.D.; GODOY, M.F. Noções Básicas de variabilidade de frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Revista Brasileira Cirurgia Cardiovascular**, v. 24, n.2, p.205-217, 2009.

VANHONACKER, F.; VERBEKE, W.; VAN POUCKE, E.; TUYTTENS, F.A.M. Do citizens and farmers interpret the concept of farm animal welfare differently? **Livest. Sci.**, v. 116, p. 126–136, 2008,

VARGAS, D. P. *et al.* Correlações entre contagem de células somáticas e parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, p. 473-483, 2014.

VASSEUR, E. et al. Sampling cows to assess lying time for on-farm animal welfare assessment. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 4968–4977, set. 2012.

VAPNEK, J.C.; CHAPMAN, M. **Legislative and Regulatory Options for Animal Welfare**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Rome, Italy, 2010.

BULLER, H. et al. Towards Farm Animal Welfare and Sustainability. **Animals**, v. 8, n. 6, p. 81, 25 maio 2018.

VÁZQUEZ DIOSDADO, J. A. et al. Classification of behaviour in housed dairy cows using an accelerometer-based activity monitoring system. **Animal Biotelemetry**, v. 3, n. 1, p. 1–14, 2015.

VON BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J. ; et al. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals: a review. **Physiol Behav**, v. 92, p. 293-316, 2007.

VON KEYSERLINGK, M.A.; WEARY, D.M. A 100-Year Review: Animal welfare in the Journal of Dairy Science—The first 100 years. **J. Dairy Sci.**, v. 100, p. 10432–10444, 2017.

WEARY, D. M.; HUZZEY, J. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. BOARD-INVITED REVIEW: Using behavior to predict and identify ill health in animals¹. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 2, p. 770–777, 1 fev. 2009.

WEARY, D.M.; NIEL, L.; FLOWER, F.C.; FRASER, D. Identifying and preventing pain in animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v.100, p.64-76, 2006.

WEBB, L. A. et al. Changes in tissue abundance and activity of enzymes related to branched-chain amino acid catabolism in dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 4, p. 3556–3568, abr. 2019.

WHAY, H. R.; SHEARER, J. K. The Impact of Lameness on Welfare of the Dairy Cow. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 33, n. 2, p. 153–164, jul. 2017.

ZAMBELIS, A. et al. Development of scoring systems for abnormal rising and lying down by dairy cattle, and their relationship with other welfare outcome measures. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 220, p. 104-858, nov. 2019.

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: Causes and control. **Journal of Animal Science**, v. 86, n.13, p. 57–65, 1 mar. 2008.

ZIMOV, J. L. et al. Associations among behavioral and acute physiologic responses to lipopolysaccharide-induced clinical mastitis in lactating dairy cows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 5, p. 620–627, maio 2011.