



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

EDUARDO PONTALTI ZERBINATTI

**CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE DE
VACAS LEITEIRAS SUPLEMENTADAS COM ZINCO.**

EDUARDO PONTALTI ZERBINATTI

**CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE DE
VACAS LEITEIRAS SUPLEMENTADAS COM ZINCO.**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Área de Concentração: Produção Animal) da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Leandro das Dores Ferreira da Silva.

Londrina
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Z58c Zerbinatti, Eduardo Pontalti.

Contagem de células somáticas no leite de vacas leiteiras suplementadas com zinco / Eduardo Pontalti Zerbinatti. – Londrina, 2014.
72 f. : il.

Orientador: Leandro das Dores Ferreira da Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Bovino de leite – Alimentação e rações – Teses. 2. Suplementos dietéticos – Teses. 3. Sulfato de zinco – Teses. 4. Leite – Qualidade – Teses. 5. Mastite – Teses. I. Silva, Leandro das Dores Ferreira da. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636.085:636.2

EDUARDO PONTALTI ZERBINATTI

**CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE DE VACAS
LEITEIRAS SUPLEMENTADAS COM ZINCO.**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Área de Concentração: Produção Animal) da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Leandro das Dores
Ferreira da Silva.
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Valter Harry Bumbieris Junior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Agostinho Ludovico
Universidade do Norte do Paraná - UNOPAR

Londrina, 28 de novembro de 2014.

Dedico este trabalho à Deus, meus pais Daniel e Suzana, meus irmãos, minha namorada Mariana e meus colegas de trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador Dr. Leandro das Dores Ferreira da Silva, um agradecimento especial, pela orientação para a realização deste estudo, pelo apoio, confiança, amizade e pelos seus valiosos ensinamentos.

Ao amigo Dr. Fernando Antônio Nunes Carvalho, um agradecimento especial pela motivação para a realização deste estudo e pelo incentivo na minha busca pelo saber.

Ao amigo de longa data Marcos Miranda Mori e todos da Fazenda São Bento pela confiança e por concordarem com a realização deste experimento com as suas vacas leiteiras.

A empresa Matsuda, pela confiança e apoio deste estudo.

Aos meus colegas de empresa (Julliano Pompei, Marco Finardi, Gabriel Linares e Danilo Zerbinatti) que sempre me auxiliaram na realização deste trabalho e me deram suporte quando viajei para Londrina – PR.

A minha namorada Mariana que sempre torceu pelo meu sucesso e também pela compreensão dos momentos dedicados a este estudo e não em sua companhia.

A todas as pessoas do Laboratório LANA da UEL, Laboratório de Nutrição Animal Matsuda e Laboratório Primor pelo auxílio nas análises laboratoriais.

A Dr^a. Angelita Xavier dos Santos que por meio de seus ensinamentos engrandeceram os meus conhecimentos científicos.

Aos professores Dr. Édson Luis de Azambuja Ribeiro e Dr. Carlos Eduardo C. O. Ramos (UFRB) pelo auxílio com os dados estatísticos.

A Helenice da secretaria de pós-graduação em Ciência Animal da UEL pelos seus atendimentos durante o curso.

A todos da pousada Tia Neusa, minha casa em Londrina – PR.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste meu sonho e que me deram muita força. Muito obrigado.

“Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe,
eu só levo a certeza de que muito pouco eu sei,
ou nada sei”.

(Almir Sater/ Renato Teixeira)

ZERBINATTI, E. P. **Contagem de células somáticas no leite de vacas leiteiras suplementadas com zinco**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal, área de concentração: Produção Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de vacas em lactação com dietas contendo diferentes teores de zinco (Zn) na contagem de células somáticas (CCS), foram utilizadas 18 vacas, 6 por tratamento, mantidas em pastagem com mais de 90 dias em lactação com produção média de $8 \pm 1,5$ kg/leite/dia, no início do experimento. As vacas foram suplementadas com zinco na forma inorgânica (sulfato de zinco), na ração suplementar. Os tratamentos utilizados foram rações: sem zinco, com 620 ppm/vaca/dia e com 1240 ppm/vaca/dia de zinco. No tratamento sem zinco suplementar, o zinco ingerido pelos animais foi proveniente dos pastos. A suplementação com um kg de ração por vaca por dia foi realizada no momento da ordenha. O período experimental foi de 3 meses, com coletas a cada 30 dias, com períodos P0, P30, P60, P90, respectivamente de 90 a 120; 121 a 150; 151 a 180; 181 a 210 dias de lactação pelas vacas. Foram adotados 10 dias de adaptação antes da primeira avaliação (coleta). As amostras de leite coletadas, representando os 4 períodos experimentais, foram submetidas à contagem eletrônica de células somáticas e determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado. Para inferir sobre as estruturas lineares das variáveis associadas à produção de leite, bem como as variâncias associadas a cada uma delas foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP), definida como uma técnica exploratória de análise multivariada. Como as pressuposições para a ANOVA não foram atingidas, a contagem de células somáticas (CCS) em resposta às diferentes concentrações de zinco nas dietas foram analisadas por meio de Modelos Lineares Generalizados - GLM para uma distribuição gama com função de ligação *log*. Para a comparação entre as médias utilizou-se o teste de *Bonferroni* considerando-se a significância mínima $p < 0,05$. Para as variáveis, gordura e sólidos totais, a correlação foi positiva, sugerindo que, com aumento da quantidade gordura do leite aumenta o teor de sólidos totais. As correlações da lactose com a CCS e CCSlog foram negativas e significativas, sugerindo que o aumento de células somáticas do leite reduz o teor de lactose. Houve correlações positivas entre proteína do leite, CCS e CCSlog, evidenciando que o aumento no número de células somáticas no leite aumenta o teor de proteína. A correlação entre zinco e CCSlog foi negativa, verificando-se que com maior dose de zinco há redução na CCSlog. Concluiu-se que vacas leiteiras de baixa produção de leite mantidas em pastagens apresentam respostas positivas quando suplementadas com 620 ppm de zinco⁻¹vaca⁻¹dia. Sendo assim, a suplementação com zinco apresenta benefícios para a glândula mamária, e como consequência, para a qualidade do leite.

Palavras-chave: Bovinos de leite. Mastite. Microminerais. Qualidade do leite.

ZERBINATTI, E. P. **Somatic Cell Count (SCC) in milk of dairy cows supplemented with zinc**. 2014. 72 p. Dissertation (Animal Science Master Degree, area of concentration: Animal Production) – State University of Londrina, Londrina, 2014.

ABSTRACT

Aiming to evaluate the effect of supplementation of lactating cows fed diets containing different contents of zinc (Zn) in the Somatic Cell Count (SCC), eighteen cows were used, six for treatment, kept in pastures, over 90 days in lactation with an average production of $8 \pm 1,5$ kg/milk/day at the beginning of the experiment. The cows were supplement with zinc in the inorganic form (zinc sulfate), in the ration. The treatments were diets: no zinc, 620 ppm zinc⁻¹cow⁻¹day and 1240 ppm zinc⁻¹cow⁻¹day. In the treatment without supplemental zinc, zinc ingested by animals came from the pastures. Supplementation with one kg of ration per cow per day was realize during the milking. The experimental period was the three months with samples collected each 30 days, with periods P0, P30, P60 and P90, respectively 90 to 120; 121 to 150; 151 to 180; 181 to 210 days of lactation. Were used ten days for adaptation before the first evaluation (collect). The milk sample, representing the four experimental periods, were submitted to electronic somatic cell count and analysis of fat, protein, lactose, total solids and solids non fat. To infer about linear structures of associate variables to milk production, and the variance associate to each one was analyze to principal component analysis (PCA), defined as an exploratory technique multivariate analysis. As the assumptions for ANOVA were not affected, the Somatic Cell Count (SCC) in response to different concentrations of zinc in the diets were analyzed using generalized linear models - GLM for a gamma distribution with a *log* link function. The *Bonferroni* test were used to compare the averages considering the minimum significance level of $p < 0.05$. For fat and total solids variables, was positive correlation, suggesting that, with an increased amount of milk fat increases the total solids. The correlations between lactose and CCS and CCSlog were negative and significant, suggesting that the increase in milk somatic cells reduces the lactose content. There was a positive correlation between milk protein and CCS and CCSlog, showing that the increase in the number of somatic cells increases in the milk protein content. The correlation between zinc and CCSlog was negative and it was verify that with higher doses of zinc the CCSlog reduce. It was conclude that dairy cows with low milk production kept in pastures show positive responses when supplemented with 620 ppm zinc⁻¹cow⁻¹day. Thus, zinc supplementation has benefits for the mammary gland, and as a result, the quality of the milk.

Key- words: Dairy cattle. Mastitis. Micro minerals. Milk quality.

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1 – Enzimas do sistema antioxidante encontradas em células de mamíferos, suas funções e os respectivos nutrientes que as compõe.....20

Artigo – Contagem de células somáticas no leite de vacas leiteiras suplementadas com zinco

Tabela 1 – Composição químico-bromatológico dos pastos46

Tabela 2 – Médias do teor de matéria seca e fibra em detergente neutro de fezes das vacas em lactação.....47

Tabela 3 – Consumo diário de matéria seca de pasto49

Tabela 4 – Ingestão diária dos componentes químicos (pastos e rações suplementares).....50

Tabela 5 – Estatística descritiva contendo os valores de médias, desvios padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) das variáveis (n = 68)53

Tabela 6 – Correlação entre as variáveis transformadas para a ACP (análise fatorial em componentes principais)54

Tabela 7 – Correlação entre as variáveis e as componentes principais (CP1 e CP2)57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	REVISÃO DE LITERATURA	13
1.1.1	Padrões de qualidade do leite no Brasil	13
1.1.2	Imunologia da glândula mamária	16
1.1.3	Estresse oxidativo	18
1.1.4	Mastite e contagem de células somáticas	20
1.1.5	Fatores que afetam a contagem de células somáticas	24
1.1.6	Composição do leite	25
1.1.7	Zinco	27
1.1.8	Suplementação de zinco na redução da contagem de células somáticas	29
1.1.9	Referências	31
2	OBJETIVOS	40
2.1	OBJETIVO GERAL.....	40
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
3	ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	41
	CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE DE VACAS LEITEIRAS SUPLEMENTADAS COM ZINCO.....	41
	Resumo.....	41
	Abstract.....	41
	Introdução	42
	Material e Métodos.....	43
	Local	43
	Seleção e identificação dos animais	43
	Manejo nutricional, tratamentos e delineamento experimental	44
	Análises bromatológicas de rações suplementares, pastos e fezes	45
	Avaliação da degradabilidade ruminal <i>in situ</i>	47
	Ingestão diária de nutrientes	49
	Amostragem de leite para análises	50

	Análises estatísticas	51
	Resultados e Discussão.....	51
	Conclusão	58
	Referências	59
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
5	IMPLICAÇÕES	65
	ANEXOS	66
	ANEXO – Normas da Revista Semina Ciências Agrárias	67

1 INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define leite como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011).

Devido ao seu elevado valor nutricional e a diversidade de derivados que podem ser elaborados, o leite tornou-se um item de grande importância na dieta humana, sendo utilizado e comercializado em todo o mundo (FUQUAY et al., 2011).

O leite e seus componentes são quase insubstituíveis na dieta da maioria dos seres humanos, especialmente para os recém-nascidos e idosos, em função de suas propriedades nutricionais. Além do seu papel nutricional, o leite exerce vários efeitos positivos na saúde. Dentre os constituintes do leite de importante valor funcional, estão o ácido butírico e os esfingolipídeos, que ajudam na redução do câncer de cólon; os polipeptídeos e as proteínas do leite, que contribuem para a diminuição do risco de hipertensão; o ácido linoléico conjugado, que auxilia na função imunológica e na redução de certos tipos de câncer; e o ácido esteárico, que atua no controle dos lipídeos sanguíneos (MONARDES, 2004).

A pecuária leiteira é um setor do agronegócio brasileiro de grande importância econômica e social. O agronegócio do leite e de seus derivados desempenha um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de renda. O mais recente Censo Agropecuário de 2006 identificou a existência de 1,3 milhão de produtores de leite no Brasil, correspondendo a 26% dos 5,2 milhões de estabelecimentos agropecuários (ANUALPEC, 2012).

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de leite e derivados, e sua produção vem apresentando crescimento contínuo. Dados de 2012 apontaram o país como o quarto maior produtor mundial de leite de vaca, com produção aproximada de leite de 32,3 bilhões de quilos, 5,1% do total produzido no mundo (FAO, 2014).

No ano de 2012, a produção média por vaca foi de 1416,6 kg/ano, sendo o número de vacas ordenhadas em todo o País de 22,8 milhões, representando 10,8% do efetivo total de bovinos. Com estes dados, supondo lactações de 305 dias, a média de produção de leite no Brasil em 2012 foi de 4,6 kg/vaca/dia (FAO, 2014).

Nos Estados Unidos da América, maior produtor de leite do mundo em 2012, a produção média por vaca foi de 9841,3 kg/ano, resultando em média de 32,3 kg/vaca/dia em lactações de 305 dias (FAO, 2014). Estes dados evidenciam a importância de melhorar a genética do rebanho leiteiro brasileiro, porém é um caminho lento a ser percorrido. Dados de 1990 apontavam o Brasil como o oitavo maior produtor mundial de leite de vaca com produção aproximada de leite de 14,9 bilhões de quilos e vacas que produziam 783 kg/vaca/ano (média de 2,6 kg/vaca/dia em lactações de 305 dias) (FAO, 2014).

Não há como tentar justificar esta baixa produção de leite por vaca/dia supondo lactações de 270 dias (que exemplifica melhor o gado leiteiro brasileiro), pois, mesmo assim, os valores encontrados (5,2 kg/vaca/dia) seriam semelhantes aos de uma boa vaca de cria de rebanhos de gado de corte.

Assim como outros segmentos agropecuários, a bovinocultura leiteira nacional vem passando por transformações nos últimos anos em decorrência do processo de globalização. A abertura da economia vem forçando os produtores de leite a se tornarem mais competitivos e eficientes. Esse aumento na competitividade, que, em última análise, representa a permanência do pecuarista na atividade, tem por base o aumento da produtividade e a redução dos custos de produção.

Portanto, os sistemas de produção de leite, para ter as características citadas devem ser bem equacionados em todos os manejos necessários para a produção de leite. A falta de atenção técnica e gerencial em um dos manejos na produção dos animais pode significar o insucesso de toda a atividade produtiva.

Neste contexto, a saúde das vacas leiteiras, muitas vezes é negligenciada dentro do processo produtivo em busca de maiores quantidades de leite produzido, algumas vezes, inclusive, esquecendo-se da importância da qualidade do leite produzido.

Desde a década de 1990, a produção de leite no Brasil vem se modernizando. Os produtores adotaram novas tecnologias e passaram a cuidar mais da gestão do negócio. Naquela época, as transformações foram consideradas revolucionárias. A revolução continua, mas seu foco agora não é baseado somente na produção de maiores quantidades de leite, mas também na origem e qualidade do leite produzido.

A mastite é a inflamação da glândula mamária, em resposta a sua invasão por microrganismos patogênicos, seguida de uma série de reações que reduzem a capacidade de produção, altera a composição do leite, e aumenta a contagem de células somáticas (CCS).

Para o produtor, altas CCS significam menor retorno econômico, em decorrência da redução na produção, dos gastos com medicamentos e também das prováveis penalidades aplicadas pelos laticínios. Para a indústria, significam problemas no processamento do leite e redução no rendimento, em razão dos teores inferiores de componentes do leite que resultam em produtos de baixa qualidade e estabilidade.

Devido ao elevado impacto econômico da mastite, esta doença tem sido intensamente pesquisada, buscando aumentar a resistência do animal e ocorrência de novas infecções e, conseqüentemente, da melhoria da qualidade do leite.

O adequado balanceamento da dieta das vacas leiteiras, buscando disponibilizar todos os nutrientes necessários para o perfeito funcionamento do organismo é uma das estratégias de comprovada eficácia para o aumento da resistência da vaca à ocorrência de doenças.

O estudo de estratégias que aumentam os mecanismos de defesa da glândula mamária tem cada vez mais destacado os efeitos da nutrição sobre a resposta imune. Dentre os nutrientes mais estudados está o zinco. A influência do Zn sobre a saúde da glândula mamária e, como consequência, os seus efeitos na melhoria da qualidade do leite com redução da CCS, torna-se uma ferramenta valiosa para a lucratividade do agronegócio do leite e de seus derivados.

O Brasil apresenta muitas vantagens competitivas no mercado internacional do leite, e novas informações geradas para o setor leiteiro contribuem para a produção de leite com eficiência e qualidade, podendo refletir diretamente na remuneração aos produtores.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 PADRÕES DE QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL

A cadeia produtiva do leite está exigindo cada vez mais, matéria-prima de qualidade, que apresente bom rendimento e que não comprometa o processamento industrial. Desta forma, para a produção de derivados lácteos com qualidade e maior segurança alimentar para o consumidor, é importante que o setor produtivo e as indústrias de processamento tenham conhecimento da composição, grau de contaminação e estabilidade do leite, que são aspectos importantes no destino da matéria-prima, para o processamento mais adequado, evitando problemas durante a industrialização e armazenamento dos derivados lácteos (SILVA et al., 2012).

A agricultura familiar é um segmento que cada vez mais vem ganhando espaço no cenário nacional. Prova disto é a existência, segundo o censo agropecuário do IBGE 2006, de mais de 4,3 milhões de estabelecimentos da agricultura familiar espalhados pelo Brasil, produzindo, aproximadamente, 58% do leite gerado no país (SILVA et al., 2013).

Todavia, vale ressaltar, que um dos fatores limitantes, indubitavelmente, para a melhoria na qualidade do leite nacional passa pela eficiência destas pequenas propriedades. No entanto, sabe-se que o acesso à informação por esses produtores é limitado, o que dificulta consideravelmente a qualificação da produção leiteira (ZAFALON et al., 2008).

A qualidade do leite é determinada por aspectos de composição e higiene, que podem ser resumidos em qualidade higiênica ou inocuidade, qualidade nutricional, sensorial e tecnológica (MONARDES, 2004). Assim, o termo qualidade do leite ganhou contornos diferentes e abrange não apenas as características nutricionais do produto como também as características de seu processo produtivo, quanto à higiene na ordenha, refrigeração (no tempo máximo de até 3 horas após o término da ordenha) e manutenção do leite em temperaturas de 4°C que garantem a qualidade global do alimento (RANGEL et al., 2009; GALVÃO JÚNIOR et al., 2010; BRASIL, 2011).

Além do aspecto sanitário, a busca por aumento dos rendimentos em produtos lácteos vem norteando ações de seleção genética dos rebanhos, políticas de pagamento por qualidade e agregação de valor ao leite com maior teor de sólidos. Dessa forma, o conhecimento dos fatores que influenciam a produção e, principalmente, a composição do leite são preponderantes para o sucesso da empresa rural produtora de leite (ARAÚJO, 2009).

O leite deve apresentar composição química, composta por sólidos totais, gordura, proteína, lactose, minerais. A composição microbiológica é baseada na contagem total de bactérias, a qual auxilia na avaliação dos procedimentos de ordenha, uma vez que a ocorrência de resultados elevados pode indicar a existência de falhas na ordenha e refrigeração do leite na propriedade (SORIANO et al., 2001).

A composição sensorial do leite é relacionada ao sabor, odor, aparência e número de células somáticas (CS) que atendam aos parâmetros exigidos pela legislação (ZANELA et al., 2006).

A compreensão da composição do leite é importante para o produtor que precisa planejar a lactação da vaca para maximizar os lucros. Isto envolve a compreensão do efeito da alimentação, do manejo reprodutivo e da genética sobre a lactação. O conhecimento da composição do leite também é importante para a indústria processadora que depende da manipulação das características físicas e químicas do leite para a elaboração de diferentes produtos lácteos. A mudança na composição do leite pode alterar significativamente o seu valor como material bruto para a fabricação de derivados. Para ilustrar este fato, podemos apontar que uma diminuição de 0,5 unidades percentuais de sólidos totais ou 0,1 unidade percentual em proteínas pode significar uma perda de até 5 toneladas de leite em pó ou 1 tonelada de queijo, respectivamente, para cada milhão de litros de leite processados (SANTOS; FONSECA, 2001).

Para Mezzadri (2011) o elevado potencial produtivo do país deve-se, principalmente, à disponibilidade de área e de insumos e à vocação para a produção leiteira. Apesar disso, segundo Paiva et al. (2012), a presença de contaminantes e a baixa qualidade do leite são hoje os maiores entraves ao aumento das exportações brasileiras de produtos lácteos.

A contagem de células somáticas (CCS) é um importante indicador de saúde da glândula mamária e de qualidade do leite em rebanhos leiteiros. Uma das principais razões para o uso da CCS como critério de qualidade do leite cru é que existe uma relação inversa entre CCS e rendimento industrial para a fabricação de derivados lácteos.

Até 2005, o Brasil não possuía qualquer legislação contendo normas de produção e qualidade do leite. Os limites de CCS do leite foram inicialmente definidos pela Instrução Normativa nº 51 (IN 51) de 18 de setembro de

2002, a qual previa que a partir de julho de 2005 (regiões CO, SE e S) e julho de 2007 (regiões N e NE), os limites de CCS seriam no patamar de 1.000.000 células/mL (BRASIL, 2002). Foi um importante avanço para a cadeia produtiva do leite, já que até então o país não tinha limites para CCS do leite.

De acordo com a IN51, a redução gradativa da CCS iniciou-se a partir de julho de 2008 (regiões CO, SE e S) e julho de 2010 (regiões N e NE), na qual o limite de CCS foi reduzido de 1.000.000 células/mL para 750.000 células/mL.

Em janeiro de 2011 (regiões CO, SE e S) e julho de 2012 (regiões N e NE) haveria a redução da CCS para 400.000 células/mL. Porém, apesar do trabalho de técnicos e associações, a qualidade do leite no Brasil está melhorando em um ritmo inferior ao previsto pelas legislações (BELOTI, 2012). Por isso, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou no Diário Oficial da União em 30 de dezembro de 2011, a Instrução Normativa nº 62 (IN 62) (BRASIL, 2011), como uma resposta às dificuldades ocorridas para a implantação da IN 51.

A legislação IN62 começou a valer em 1º de janeiro de 2012, ditando novo parâmetro para CCS (limite máximo 600 mil/mL), refletindo negociações entre governo e setor produtivo. Com a medida, o Ministério alinhou o pedido de produtores que não conseguiram cumprir o prazo para redução dos limites previstos à proposta do Plano Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite. Os produtores das regiões CO, SE e S passaram a cumprir a determinação a partir de 1º de janeiro de 2012, os do N e NE do país seguiram a mesma exigência a partir de janeiro de 2013.

A edição da norma IN62 passou a escalonar os prazos e limites para a redução de CCS até o ano de 2016, sendo que nas regiões N e NE os limites entram em vigor um ano após estarem vigorando nas regiões CO, SE e S. O limite de 600 mil/mL para CCS foi válido até 30/06/2014. A partir de 01/07/2014 e até 30/06/16 o valor limite de CCS é de 500 mil/mL. Já a partir 01/07/2016, o valor máximo de CCS será de 400 mil/mL (BRASIL, 2011).

1.1.2 IMUNOLOGIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A glândula mamária é um órgão protegido por mecanismos de defesa que podem ser separados em duas categorias distintas: imunidade inata e

imunidade específica. A imunidade inata, mais conhecida como resposta inespecífica, é predominante durante os estágios iniciais da infecção, e é mediada por barreiras físicas na extremidade do teto, macrófagos, neutrófilos, células “natural killer”, e por alguns fatores solúveis (SORDILLO, 2005), como proteínas e peptídeos antimicrobianos (lisozimas, lactoferrinas) (PICCININI et al., 2007). Além dessa classificação, os componentes da resposta inata podem ainda ser subdivididos em imunidade celular e humoral (RAINARD; RIOLLET, 2006).

Quando o agente patógeno é capaz de invadir ou não é completamente eliminado pelo sistema de defesa imune inato, o sistema imune específico ou adquirido é acionado. São reconhecidos fatores antigênicos do patógeno e, quando em contato mais de uma vez com o mesmo antígeno, ocorre forte reação em função da memória imunológica (SORDILO; STREICHER, 2002). O reconhecimento dos fatores patogênicos é mediado por anticorpos, macrófagos e por várias populações de linfócitos (SORDILLO et al., 1997). Assim, com o mecanismo de memória, após a primeira exposição, a resposta vai se tornando mais rápida, longa e mais efetiva na destruição do patógeno (SORDILO; STREICHER, 2002).

O canal do teto é a primeira linha de defesa contra a mastite, por esta ser a rota pela qual os patógenos entram na glândula mamária. O canal encontra-se fechado entre as ordenhas e durante o período seco ocorre oclusão por queratina que é derivada do epitélio estratificado que reveste o canal (RAINARD; RIOLLET, 2006). Na queratina estão presentes ácidos graxos esterificados e não esterificados (como: mirístico, palmitoléico e linoléico) e proteínas catiônicas que tem a capacidade de se ligar eletrostaticamente aos agentes patógenos, alteram a parede celular, e os tornam mais susceptíveis à pressão osmótica (SORDILO; STREICHER, 2002). Além da queratina, o teto possui o músculo esfíncter que mantém o canal fechado, entre as ordenhas, e impede a penetração das bactérias (SORDILLO, 2005).

A bactéria que ultrapassa a defesa anatômica do canal do teto tem que contornar também as atividades antimicrobianas da glândula mamária para estabelecer a doença. Citoquinas pró-inflamatórias induzem a migração de leucócitos (neutrófilos, macrófagos e linfócitos). O rápido influxo de neutrófilos para o sítio de infecção, a capacidade de fagocitar e eliminar a bactéria pode ser a chave para uma rápida recuperação da infecção (RABOT et al., 2007). Os neutrófilos

fazem a ingestão de bactérias em fagossomos, os quais se fundem com lisossomos, estimulando a produção de agentes oxidativos em processo denominado explosão respiratória, no qual são gerados radicais de oxigênio que servem como precursores para vários oxidantes antimicrobianos (LIPPOLIS et al., 2006).

Enquanto os neutrófilos polimorfonucleares ativam seus fagócitos, ocorre contínua exposição a fatores inibitórios do leite, como glóbulos de gordura e caseína, o que altera a morfologia dos neutrófilos e reduz a fagocitose. Durante o processo de fagocitose, os neutrófilos polimorfonucleares liberam substâncias que destroem os patógenos, no entanto também causam injúrias na delicada estrutura da glândula mamária, o que resulta na redução no número de células secretórias. Para minimizar os danos ao tecido mamário, os neutrófilos polimorfonucleares são submetidos ao processo de morte celular programada chamado apoptose, no qual macrófagos os englobam e fagocitam (PAAPE et al., 2003).

A função dos macrófagos é fagocitar os microrganismos e destruí-los sob a ação de proteases e espécies reativas de oxigênio (ERO). Entretanto, o número de macrófagos mamários tende a ser menor devido ao baixo número de receptores, que diminui sua capacidade de fagocitar quando comparado aos neutrófilos (SORDILLO, 2005). Em adição a essa função, os macrófagos desempenham papel importante no processamento e apresentação de antígenos resultantes da ingestão de bactérias (SORDILLO et al., 1997).

Os mecanismos de defesa da glândula mamária devem interagir de forma coordenada visando obter a máxima eficiência na proteção contra patógenos e mínimos danos do tecido mamário.

1.1.3 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo ocorre quando metabólitos reativos ao oxigênio são produzidos em excesso, devido ao processo inflamatório em resposta a invasão de patógenos. Esses metabólitos, tais como peróxidos e superóxidos, são produzidos pelas células imunes durante a fagocitose de microrganismos. Quando a capacidade antioxidante é limitada, a meia vida da célula imune é reduzida e a infecção pode estabilizar ou se tornar mais grave (WEISS; SOCHA, 2005).

O desbalanço no sistema antioxidante pode ocasionar danos ao tecido mamário. Quando a bactéria penetra no canal do teto, ocorre influxo de glóbulos brancos para destruir a infecção e peróxidos são produzidos para auxiliar na destruição de patógenos. No entanto, se em concentração elevada, os peróxidos, podem causar perdas na produção de leite, e em casos mais severos, a perda permanente do quarto mamário (LAUZON et al., 2006).

O estresse oxidativo ocorre quando a produção de ERO (espécies reativas de oxigênio) excede os mecanismos de defesa antioxidantes do organismo animal (SPEARS; WEISS, 2008). As ERO são erroneamente denominadas de radicais livres que são átomos ou moléculas altamente reativos com número ímpar de elétrons na sua última camada de elétrons (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). A terminologia ERO são átomos ou moléculas que, embora não possuam elétrons desemparelhados, são muito reativas (RIBEIRO et al., 2005). Segundo Nockels (1996), durante o metabolismo potentes oxidantes são produzidos, como os radicais livres, superóxido (O_2^-), radical peróxido (ROO^-), radical hidroxila (HO^-) e outros oxidantes não radicais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio (O_2).

O dano oxidativo é resultado do desbalanço e inclui modificação oxidativa de macromoléculas celulares, morte celular por apoptose e necrose, bem como o dano estrutural no tecido (LYKKESFELDT; SVENDSEN, 2007). Células imunes são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo por ter em suas membranas altas concentrações de ácidos graxos polinsaturados que são muito sensíveis a peroxidação, além disso, são grandes produtoras de ERO quando estimuladas (SPEARS; WEISS, 2008).

O desbalanço no sistema antioxidante pode causar danos a todos os tipos de biomoléculas (DNA, proteínas, lipídios e carboidratos) e ocasionalmente induzir a injúrias tissulares. Em casos de mastite aguda por coliformes a quantidade de ERO liberada por neutrófilos polimorfonucleares, em adição ao processo inflamatório, pode ocasionar grandes danos no tecido da glândula mamária, perdas na produção de leite, e perda permanente do quarto mamário em casos mais graves (LAUZON et al., 2006).

Devido ao efeito tóxico das ERO, existe um sofisticado sistema antioxidante (WEISS, 2005a) (Tabela 1), dos quais alguns micro-minerais e

vitaminas são componentes. O sistema possui antioxidantes lipo e hidrossolúveis, uma vez que as ERO são presentes em diversos compartimentos celulares.

Tabela 1 – Enzimas do sistema antioxidante encontradas em células de mamíferos, suas funções e os respectivos nutrientes que as compõe

Componente (localização na célula)	Nutriente envolvido	Função
Superóxido Dismutase (citossol)	Cobre e zinco	Enzima que converte superóxido a peróxido de hidrogênio
Superóxido Dismutase (mitocôndria)	Manganês e zinco	Enzima que converte superóxido a peróxido de hidrogênio
Ceruloplasmina (fase aquosa)	Cobre	Proteína antioxidante que impede o cobre e o ferro de participar das reações oxidativas
Glutathione Peroxidase (citossol)	Selênio	Enzima que converte peróxido de hidrogênio em água
Catalase (citossol)	Ferro	Enzima (primeiramente no fígado) que converte peróxido de hidrogênio em água
Ácido Ascórbico (citossol)	Vitamina C	Reage com diversos tipos de ERO
Tocoferol (membranas)	Vitamina E	Quebra as reações de peroxidação em cadeia de ácidos graxos
Caroteno (membranas)	Caroteno	Previne as reações de peroxidação em cadeia de ácidos graxos

Fonte: Adaptado de (WEISS, 2005a).

O metabolismo oxidativo é um complexo sistema necessário para auxiliar células imunes no combate a patógenos, no entanto, quando ocorre desequilíbrio entre os agentes oxidantes e antioxidantes, danos celulares e teciduais podem ocorrer. Portanto, torna-se imprescindível a manutenção de adequada capacidade antioxidante durante os episódios de mastite.

1.1.4 MASTITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

A mastite é a mais comum e onerosa doença infecciosa que afeta os rebanhos leiteiros. A inflamação na glândula mamária pode ser definida como mastite e é normalmente causada por microrganismos, sendo as bactérias os principais agentes etiológicos (FONSECA; SANTOS, 2000). De acordo com a intensidade e severidade do processo inflamatório, pode ser dividida em clínica e subclínica (ELIAS et al., 2005). Além de acarretar diminuição na secreção de leite, a

mastite subclínica está entre as principais doenças que causam perdas na qualidade do leite por provocar alterações na sua composição.

Segundo Miller et al. (1993) e Sharma et al. (2012) a mastite resulta em perdas econômicas significativas que estão associadas com redução na produção de leite (mais de 70%), custo com tratamento e serviços médico-veterinários (7%), descarte de leite durante o período de tratamento (9%), aumento da mão-de-obra (1%) e descarte prematuro de animais (14%).

A mastite é a doença com maior impacto econômico sobre a produção de leite mundial (HOGVEEN et al., 2011) e gera perdas por redução da produtividade que oscilam entre o 3% e 4% da produção mundial (GUSTAVSSON et al., 2011).

Porém, os produtores têm dificuldade para perceber o impacto negativo da doença sobre seu negócio. Essa dificuldade existe porque 70% das perdas financeiras consistem em redução da produção de leite, o que diminui a receita potencial do produtor, mas não gera um fluxo de caixa negativo tangível (LEHENBAUER; OLTJEN, 1998; HOGVEEN et al., 2011).

A etiologia da mastite bovina está relacionada ao manejo do animal, principalmente na ordenha, onde o animal está mais susceptível à exposição aos agentes bacterianos (SILVA et al., 2011).

Em relação ao agente infeccioso, a mastite pode ser classificada como ambiental ou contagiosa (BLOWEY; EDMONDSON, 2010). Os patógenos contagiosos da mastite podem ser considerados microrganismos adaptados ao hospedeiro, pois dependem da glândula mamária para sua sobrevivência e multiplicação. Os microrganismos contagiosos têm potencial de estabelecer infecções intramamárias subclínicas, as quais tipicamente se manifestam por aumentos na CCS do leite dos quartos afetados. A transmissão dos patógenos contagiosos normalmente ocorre de vaca para vaca, ou de um teto lesionado para uma vaca sadia por meio das mãos dos ordenhadores, equipamentos de ordenha ou toalhas de uso comum (BRADLEY, 2002).

A maior parte dos casos de mastite bovina é de etiologia bacteriana e, em aproximadamente 80% deles, cinco espécies (*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus agalactiae*) são responsáveis pelo estabelecimento da enfermidade (BRADLEY, 2002). Uma vez acometido, o quarto mamário com mastite pode evoluir

para cura espontânea ou, na maioria das vezes, para um quadro crônico, tornando-se necessária a identificação do agente causador para adequar as medidas de controle e tratamento (OLIVER et al., 2004).

Staphylococcus aureus e *Streptococcus agalactiae* são considerados os principais agentes contagiosos e são responsáveis por redução da produção e da qualidade do leite em rebanhos leiteiros (KEEFE, 2012).

Um estudo realizado na Noruega relatou que o jarrete das vacas é um local comum de colonização de *S. aureus* e que sua proximidade com os tetos quando as vacas estão deitadas poderia aumentar o risco de transmissão de novas infecções intramamárias (CAPURRO et al., 2010).

Em contraste, os patógenos ambientais são descritos como invasores oportunistas da glândula mamária. Normalmente, os patógenos ambientais invadem a glândula mamária, multiplicam-se, desencadeiam uma resposta imune no hospedeiro e são rapidamente eliminados (BRADLEY, 2002).

A mastite subclínica, por ser assintomática, exige o emprego de métodos específicos de diagnóstico para ser detectada, como os métodos que quantificam as células somáticas no leite secretado. Um sinal clássico desta enfermidade é a elevação no número destas células, que incluem células de descamação do epitélio glandular secretor e células de linhagem leucocitária responsáveis pela defesa do organismo frente a um processo infeccioso, que passam para o leite devido ao aumento da permeabilidade vascular (BARRETO et al., 2010; MÜLLER, 2002),

Segundo Philpot; Nickerson (2002), em uma glândula infectada as células de defesa podem corresponder de 98 a 99% das células presentes no leite.

TSENKOVA et al. (2001) relataram que a contagem de células somáticas (CCS) presente na secreção láctea é um indicador geral da saúde da glândula mamária, amplamente utilizado como indicador de mastite subclínica, sendo aceita, também, como medida padrão para determinar a qualidade do leite. Quando há infecção bacteriana ou processo inflamatório afetando o tecido mamário o número de contagem de células somáticas aumenta drasticamente no leite. Este aumento da contagem de células somáticas resulta de uma migração de glóbulos brancos do sangue para a glândula mamária com a função de protegê-la do desafio bacteriano (DONG et al., 2012).

Além disso, o aumento da contagem de células somáticas está associado com reduções na caseína, gordura e lactose do leite, aumento da atividade enzimática e redução da qualidade e rendimento dos produtos lácteos (REIS et al., 2013).

Vacas com contagem de células somáticas no leite superiores a 200.000 células/mL são consideradas com mastite subclínica (KEEFE, 2012), a qual reduz a quantidade de leite produzido pelo animal e causa redução na concentração dos componentes nobres do leite (gordura, caseína e lactose), assim como aumento nas concentrações de sódio, cloro e proteínas do soro.

A presença de altas contagens de células somáticas no leite afeta também a composição do leite e o tempo de prateleira dos derivados, causando enormes prejuízos na indústria de laticínios. (SANTOS; FONSECA, 2007).

Vários fatores podem influenciar a variação da contagem de células somáticas de vacas em lactação, como idade, ordem de parto, período de lactação, mês e estação do ano, entre outros, porém o estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da contagem de células somáticas (SOUZA et al., 2009).

A vida de prateleira do leite e derivados, alterações de composição e sensoriais, como rancidez, estão associados ao aumento na contagem de células somáticas. Isto ocorre devido à ação de lipases, provenientes dos neutrófilos e macrófagos, sobre os triglicerídeos, mesmo após o processo de pasteurização (SANTOS et al., 2007). Na fabricação de queijos, além de comprometer a qualidade sensorial, a elevada contagem de células somáticas interfere no rendimento, consistência e perdas de gordura e caseína no soro (BARBANO et al., 2006).

Cabe ressaltar, no entanto, que o primeiro impacto negativo do aumento da contagem de células somáticas para a cadeia produtiva do leite é sobre a produção, independente da alteração na composição (SANTOS; FONSECA, 2007).

No Brasil, devido à alta prevalência de mastite, estima-se uma perda de 15% na produção de leite do país (SANTOS; FONSECA, 2007).

1.1.5 FATORES QUE AFETAM A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

A contagem de células somáticas do leite pode variar segundo diversos fatores (MAGALHÃES et al., 2006). O fator mais importante que interfere na CCS no leite é a presença ou não de infecção na glândula mamária (SOUZA et al., 2005). Quando um organismo adentra a glândula mamária, os mecanismos de defesa da vaca são mobilizados e enviam grande número de células brancas (leucócitos) para o leite, na tentativa de combater a infecção. Se o microrganismo é eliminado, a contagem de células retorna aos valores normais. Entretanto, se os leucócitos não forem aptos para eliminar o agente causador, a infecção pode tornar-se crônica, e continuamente essas células de defesa são eliminadas para o leite, levando a altas contagens de células somáticas (SANTOS; BOTARO, 2008; SANTOS, 2009).

Outros fatores podem ter efeito indireto sobre a CCS. Geralmente, têm sido observados aumentos na CCS, à medida que avançam a idade da vaca e estágio de lactação. Entretanto, pesquisas revelaram que tanto a idade quanto o estágio de lactação não alteram a CCS em vacas não infectadas e que o aumento da CCS observado no final da lactação está relacionado à maior probabilidade de o animal ter-se infectado ao longo da lactação e à medida que ele fica mais velho (THOMAZ, 2006).

A estação do ano e o estresse térmico também têm sido apontados como causas de elevadas CCS. Um aumento da CCS observado no verão está sempre associado a aumento da susceptibilidade do animal e maior concentração de células somáticas, devido à menor produção de leite (THOMAZ, 2006).

Outros fatores que afetam a CCS no leite dos quartos de uma vaca são o número de quartos infectados, o tipo de infecção (o *Streptococcus agalactiae* é mais potente na estimulação da reação celular que o *Staphylococcus aureus*), o rigor com que o leite das vacas com mastite clínica é descartado e a produção média do rebanho (a contagem das células reduz-se, à medida que o rendimento aumenta) (RADOSTITS et al., 2002).

Além disso, outros fatores podem ser relacionados com a incidência de mastite subclínica e a contagem de células somáticas: condição

climática regional, ingestão diária de nutrientes, produção de leite durante toda a lactação, e ausência do bezerro no momento da ordenha das vacas.

1.1.6 COMPOSIÇÃO DO LEITE

Vários são os componentes do leite, sendo a água o constituinte em maior proporção (87,3%). Os sólidos totais (12,7%) são assim distribuídos: em média a gordura representa 3,6%, as proteínas 3,3%, lactose 4,9% e minerais 0,9%. Existem também pequenas quantidades de substâncias hidrossolúveis transferidas diretamente do plasma sanguíneo, proteínas específicas do sangue e traços de enzimas (TRONCO, 2008). As proteínas do leite podem ser agrupadas em caseínas e proteínas do soro, sendo a caseína a proteína de maior interesse para indústria láctea (SGARBIERI, 2005; SANTOS; FONSECA, 2007).

A água é o componente em que os demais constituintes irão formar uma solução. Alguns minerais apresentam-se na forma de solução iônica, a lactose e a albumina se apresentam na forma de solução verdadeira, a caseína e os fosfatos no estado de dispersão coloidal e a gordura no forma de emulsão (TRONCO, 2008).

O leite contém mais de 100 substâncias nutritivas. A caseína, principal proteína do leite, está dispersa como um grande número de partículas sólidas tão pequenas que permanecem em suspensão e são chamadas micelas, compondo a fase coloidal. A gordura e as vitaminas lipossolúveis estão na forma de uma emulsão que são uma suspensão de pequenos glóbulos líquidos que não se misturam com a água do leite. A lactose (açúcar do leite), algumas proteínas (do soro), sais minerais e outras substâncias estão inteiramente dissolvidas na água (WATTIAUX, 2008).

A composição do leite afeta sua qualidade nutricional e propriedades tecnológicas. Os componentes do leite são os responsáveis pelo valor nutritivo e pelas propriedades como sabor e cor característica do leite, como também possibilitam manufatura dos derivados do leite como queijos, manteigas, cremes, e iogurtes, influenciando assim, no rendimento desses produtos (WALSTRA et al., 2006).

A Instrução Normativa nº 62 (IN62) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece com relação à composição química

que os teores mínimos de sólidos totais devem ser de 11,4%, proteína 2,9%, gordura 3,0% e extrato seco desengordurado 8,4%. A legislação não impõe limites para o teor de lactose.

Os valores máximos preconizados para CCS (contagem de células somáticas) e UFC (unidades formadoras de colônia) são decrescentes, em três etapas, até 30/06/2014, até 30/06/2016 e após esta data, para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do país com valores máximos de 600 mil CCS/mL, 500 mil CCS/mL e 400 mil CCS/mL e 600 mil UFC/mL, 300 mil UFC/mL e 100 mil UFC/mL, respectivamente (BRASIL, 2011).

A composição do leite varia de acordo com fatores como raça, idade, saúde da glândula mamária, estágio de lactação, manejo nutricional, estações do ano e período da conservação da amostra (HURLEY, 2002; DOBRANIC et al., 2008).

Essa composição, bem como a quantidade de leite produzida, também pode ser influenciada pelo número de lactações dos animais (NORO et al., 2006; WALSTRA et al., 2006). Dentro de cada raça o conteúdo ou a composição do leite pode variar como resultado da seleção genética, da qualidade e da dieta fornecida aos animais (JENKINS; McGUIRE, 2006).

A porcentagem de componentes do leite geralmente é inversamente proporcional ao volume de leite produzido. De acordo com Hurley (2006), acréscimos no volume de produção de leite são geralmente acompanhados por redução na concentração de gordura e proteína do leite. Assim, os teores destes componentes são mais elevados no início e no final da lactação e mais baixos no pico de produção.

Até mesmo a presença do bezerro durante a ordenha pode ser discutida como um fato que pode diminuir a incidência de mastite subclínica, e como consequência afetar a composição do leite. Brandão et al. (2008) avaliaram a incidência de mastite em animais com e sem a presença do bezerro na ordenha, verificando que no grupo de animais com bezerro durante a ordenha a incidência de mastite foi estatisticamente menor, justificando a ausência de leite residual no úbere, pela mamada do bezerro, como determinante para essa menor incidência.

Goldberg et al. (1992) afirmam que o pastejo intensivo está diretamente relacionado com menor exposição à patógenos ambientais e infecções do úbere, sendo que esta prática pode ser uma alternativa para o controle de

mastites, redução da necessidade de antibióticos e melhora da qualidade do leite; portanto pode afetar a composição do leite.

A contagem de células somáticas (CCS), por sua vez, tem sua relevância, pois não só pode inferir sobre a prevalência da mastite no rebanho, como também fornece informações sobre a qualidade do leite da propriedade (GIGANTE; COSTA, 2008). Segundo Schäellibaum (2000) há uma relação direta entre a CCS e a concentração dos componentes do leite.

Alta CCS no leite reduz a qualidade e o rendimento dos produtos lácteos (REIS et al., 2013), assim como a vida de prateleira. O aumento na CCS do leite está relacionado com alterações nos componentes do leite, como redução dos teores de lactose, gordura, caseína, cálcio e fósforo, aumento da albumina sérica e ácidos graxos livres de cadeia curta, e incremento da atividade proteolítica e lipolítica no leite (GARGOURI et al., 2013).

Leite com alta CCS possui atividade enzimática elevada, resultando em maior proteólise e lipólise, que são processos importantes de deterioração do leite cru durante o armazenamento. A lipólise é espontânea, quando causada por enzimas naturais no leite (lipases), ou induzida, quando causada por enzimas lipolíticas originadas de células somáticas ou bactérias (GARGOURI et al., 2013).

1.1.7 ZINCO

O zinco é essencial para a vida, pois ele é necessário em muitos processos fisiológicos, exercendo funções variadas no organismo, estando presente em mais de 300 metaloenzimas, na replicação do DNA e RNA, na síntese de proteínas, carboidratos e lipídeos e na regulação do apetite (KOURY; DONANGELO, 2003; PUSCHNER et al., 2004). Também, é essencial para a integridade do sistema imunológico, tornando os animais mais resistentes às doenças infecciosas (CARVALHO; BARBOSA; MCDOWELL, 2003).

O zinco é um metal leve, de cor azulada, sendo um cátion bivalente, com o número atômico 30 (MCDOWELL, 2003). É o micro-mineral mais abundante no meio intracelular, está envolvido em funções catalíticas, estruturais, regulatórias (PECHOVA et al., 2006), e participa do metabolismo de carboidratos, proteínas e ácidos nucléicos (NRC, 2001). No sistema antioxidante, o Zn está

presente na superóxido dismutase (Cu-ZnSOD), que é uma forma de estocagem desse mineral e está presente no fígado (MCDOWELL, 2003).

Além disso, o Zn desempenha importante papel no sistema imune por ser componente essencial de mais de 300 enzimas, incluindo as envolvidas na síntese de DNA e RNA, e conseqüentemente na replicação e proliferação das células imunes (SPEARS; WEISS, 2008).

A absorção do zinco pode variar de 15 a 60% (MCDOWELL, 2003), e nos mecanismos envolvidos na absorção intestinal, estão presentes pelo menos 4 proteínas que transportam o zinco para dentro dos enterócitos. No rúmen, a absorção do Zn ainda não está bem esclarecida, uma vez que não se sabe quanto dessas proteínas transportadoras estão presentes no epitélio ruminal e omasal, além disso, os microorganismos ruminais podem reduzir o potencial de ionização ou dissociação do zinco ligado a compostos orgânicos (WRIGHT et al., 2008).

A enzima metalotioneína representa a maior reserva de zinco no organismo animal e está presente em altas concentrações no fígado, rins, pâncreas e intestino. Apesar do Zn estar distribuído e estocado em diversos tecidos, há considerável dificuldade em mobilizar rapidamente essas reservas em casos de deficiência.

A excreção do zinco é realizada pelas fezes, secreções pancreáticas, biliares e muito pouco pela urina (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; MCDOWELL, 2003). A utilização da via de excreção urinária aumenta quando são fornecidas fontes quelatadas com EDTA. O total excretado é influenciado pelos requerimentos do animal e pela absorção (MCDOWELL, 2003).

As exigências diárias de vacas leiteiras em lactação, segundo o NRC (2001), variam de 43 a 73 ppm de zinco.

O zinco é tradicionalmente suplementado com fontes inorgânicas, sendo mais comuns o óxido de zinco (ZnO) e o sulfato de zinco (ZnSO₄), podendo ser utilizados também carbonato de zinco (ZnCO₃) e cloreto de zinco (ZnCl₂) (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; MACDOWELL, 2003).

De acordo com Oliveira et al. (2005), o Zn pode ser fornecido aos animais sob as formas inorgânica ou orgânica. As fontes inorgânicas compreendem o metal em si nas formas de carbonato, cloreto, óxido e sulfato de Zn. Para os bovinos, as duas últimas são mais utilizadas, sendo o sulfato de Zn mais frequentemente encontrado nas formulações de misturas minerais no Brasil. Já as

fontes orgânicas podem ser fornecidas na forma de quelatos de componentes orgânicos, como aminoácidos, especialmente o complexo zinco-metionina (Zn-Met) e o complexo zinco-lisina (Zn-Lis).

Na defesa da glândula mamária contra infecções por patógenos, o zinco está ligado ao mecanismo de reconstrução da queratina presente no canal do teto entre as ordenhas (KINAL et al., 2007), além de seu envolvimento com o metabolismo oxidativo. Este micronutriente também é essencial para manter a integridade da pele, primeira linha de defesa da glândula mamária (SORDILLO et al., 1997).

1.1.8 SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NA REDUÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Segundo Cope (2008), vacas em lactação que foram suplementadas com zinco em teores recomendados pelo National Research Council (NRC, 2001) apresentaram redução na contagem de células somáticas (CCS) em comparação com vacas suplementadas abaixo das exigências.

Ainda neste contexto, Whitaker et al., (1997), compararam os efeitos da suplementação de Zn proveniente de uma mistura de proteinato de Zn (250mg de zinco/dia) e Zn inorgânico (140mg/dia), ou somente de fontes inorgânicas (390mg de Zn/dia), em vacas holandesas durante o intervalo de três semanas pré-parto aos 100 dias de lactação. As dietas continham no total, aproximadamente 50 ppm de Zn (25 ppm de Zn suplementar e 25 ppm proveniente da dieta normal). As diferentes fontes do mineral não tiveram diferença significativa ($p > 0.05$) no número de casos clínicos e subclínicos de mastite, novas infecções, tipo de microrganismo isolado e CCS.

Os resultados obtidos por Cunha Filho et al. (2007), mostraram que ocorreu redução na CCS com a utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como fonte de Zn orgânico, contudo não foram utilizadas outras fontes de zinco para suplementar o grupo controle, o que sugere que a baixa contagem de CCS possa ter sido causada pelo maior aporte de zinco para o grupo tratamento. Da mesma forma, Pechova et al. (2006) observaram alteração na CCS das vacas sem suplementação.

Cortinhas et al. (2009) forneceram Zn, Cu e Se orgânicos para um grupo de 9 vacas leiteiras e Zn, Cu e Se inorgânicos (sulfatos) para um grupo

composto por 10 vacas. A CCS média durante os 80 primeiros dias de lactação tendeu a ser menor ($P=0,056$) para o grupo de vacas que recebeu Zn, Cu e Se como fontes orgânicas.

Entretanto, alguns estudos sobre o efeito da suplementação de fontes orgânicas de micro-minerais sobre a CCS, produção e composição do leite têm apresentado resultados variáveis.

Diferentemente dos resultados gerados por Cunha Filho et al. (2007), Griffiths et al. (2007) e Cortinhas et al. (2009) não observaram efeito do fornecimento de fonte orgânica de Zn, Mn e Cu sobre a CCS de vacas manejadas em pastejo dos 35 dias pré parto aos 230 dias pós parto. Ballantine et al. (2002), ao utilizarem fonte orgânica de Zn, Mn, Cu para vacas de alta produção dos 21 dias antes do parto aos 250 dias de lactação, também não observaram redução da CCS, entretanto, foi identificado aumento significativo sobre a produção, proteína e gordura do leite. Siciliano-Jones et. al., (2008) não encontraram diferença na CCS, produção e composição do leite de vacas primíparas entre 21 dias pré-parto e 35 dias de lactação, com o fornecimento de fontes orgânicas de Zn, Mn, Cu e Co.

Desta forma, de maneira similar, diversos autores também não relataram efeito da suplementação de diferentes fontes orgânicas de micro-minerais para vacas leiteiras sobre a contagem de células somáticas (HARDIN; THORNE, 1993; CAMPBELL et al., 1999; UCHIDA et al., 2001; NOCEK et al., 2006). Porém, tais trabalhos não consideraram a ausência destes elementos na dieta, mas sim uma substituição na fonte de matéria prima (orgânica por inorgânica) ou ainda variações nas quantidades fornecidas destes elementos.

Estudando os efeitos da quantidade e da forma de zinco na dieta sobre o desempenho e a saúde de vacas leiteiras, Cope et al. (2008) concluíram que a suplementação de Zn em qualquer forma no nível recomendado levou a uma diminuição da contagem de células somáticas, ocorrendo mesmo quando as contagens iniciais eram baixas.

1.1.9 REFERÊNCIAS

ANUALPEC. 2012. Informa Economics: FNP, São Paulo. p. 225-256.

ARAÚJO, V. M. **Monitoramento da qualidade do leite**. In: BRITO, A. C.; NOBRE, F. V.; FONSECA, J. R. R. (Org.) Bovinocultura leiteira: Informações técnicas e de gestão. Natal: SEBRAE/RN, p. 239-246, 2009.

BALLANTINE, H. T.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; JOHNSON, A.B.; FIELDING, A.S.; SHEARER, J.K.; VAN AMSTEL, S.R. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. **The Professional Animal Scientist**, v. 18, p. 211-218, 2002.

BARBANO, D. M.; MA, Y.; SANTOS, M. V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. E15-E19, 2006.

BARRETO, M.L.J.; RANGEL, A.H.N.; ARAÚJO, V.M.; BEZERRA, K. V.; MEDEIROS, H.R.; OLIVEIRA, J. P. F.; ANDRADE, K. D. Análise de correlação entre a contagem de células somáticas (CCS), a produção, o teor de gordura, proteína e extrato seco total do leite bubalino. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.06, n.02, p.47-53, 2010.

BELOTI, V.; RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; TAMANINI, R.; SILVA, L.C.C. Impacto da implantação de boas práticas de higiene na ordenha sobre a qualidade microbiológica e físico-química do leite cru resfriado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 388, p. 05-10, 2012.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The Veterinary Journal**, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

BRANDÃO, F. Z.; RUAS, J. R. M.; SILVA FILHO, J. F.; BORGES, L. E.; FERREIRA, J. J.; CARVALHO, B. C.; MARCATTI NETO, A.; AMARAL, R. Influência da presença do bezerro no momento da ordenha sobre o desempenho produtivo e incidência de mastite subclínica em vacas mestiças holandês-zebu e desempenho ponderal dos bezerros, **Revista Ceres**, v. 55, n. 6, p. 525 – 531, 2008.

_____. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e do Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, seção 1, p.13, 21 set. 2002.

_____. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, seção 1, n. 251, p.6, 30 dez. 2011.

BLOWEY, R.W., EDMONDSON, P. Mastitis control in dairy herds. 2. ed. Falta local: **CAB International**, 2010. p. 266.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: An evolving disease. **Veterinary Journal**, v.164, n. 2, p. 116-128, 2002.

CAMPBELL, M. H.; MILLER, J. K.; SCHIRCK, F. N. Effect of additional cobalt, copper, manganese, and zinc on reproduction and milk yield of lactating dairy cows receiving bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1019-1025, 1999.

CAPURRO, A.; ASPAN, A.; UNNERSTAD, H. E.; WALLER, K. P.; ARTURSSON, K. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 1, p. 180-191, 2010.

CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F.A.; MCDOWELL, L.R. **Nutrição de bovinos a pasto**. Belo Horizonte: PapelForm, 2003. 438 p.

COPE, C. M.; MACKENZIE, A. M.; WIDE, D.; SINCLAIR, L.A. Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.24, n.1, p.66-71, 2008.

CORTINHAS, C.S. **Fornecimento de zinco, cobre e selênio orgânicos para vacas leiteiras e efeitos sobre a qualidade do leite e saúde da glândula mamária**. 2009. 89 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veteriária). Universidade de São Paulo, Pirassununga – São Paulo, 2009.

CUNHA FILHO, L.F.C.; CHIACCHIO, B.S.; GONÇALVES, R.C.; PARDO, P.E.; GASTE, L.; OKANO, W.; CROCCI, A.J.. Avaliação da produção de leite e contagem de células somáticas em bovinos leiteiros suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* como fonte de zinco orgânico. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n.4, p.685-694, out./dez. 2007.

DOBRANIĆ, V.; NJARI, B.; SAMARDŽIJA, M.; MIKOVIĆ, B.; RESANOVIĆ, R. The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. **Veterinarski Arhiv**, v. 78, p. 235-242, 2008.

DONG, F.; HENNESSY, D. A.; JENSEN, H. H. Factors determining milk quality and implications for production structure under somatic cell count standard modification. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, p. 6421- 6435, 2012.

ELIAS, A.O.; VICTORIA, C.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Características físico-químicas e contagem de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus* spp. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.8, n.2, p.165-170, 2005.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>>. Acesso em: 23/04/2014.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 8, 1997.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos, 2000. 175p.

FUQUAY, J.W.; P.F. FOX; MCSWEENEY, P.L.H. *Encyclopedia of Dairy Sciences* **Academic Press, Elsevier Ltd.** LONDON, U.: 3875 p. 2011.

GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS, H. R.; SILVA, J. B. A.; AGUIAR, E. M.; MADRUGA, R. C.; LIMA JÚNIOR, D. M. Efeito da produção diária e da ordem de parto na composição físico-química do leite de vacas de raças zebuínas. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.1, p.25-30, 2010.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Analysis of Raw Milk Quality at Reception and During Cold Storage: Combined Effects of Somatic Cell Counts and Psychrotrophic Bacteria on Lipolysis. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 9, p. 1405-1411, 2013.

GIGANTE, M. L.; COSTA, M. R. Influencia das células somáticas nas propriedades tecnológicas do leite e derivados. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 3., 2008, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2008, p.161-174.

GOLDBERG, J. J., WILDMAN, E. E. PANKEY, J. W. KUNKEL, J. R. HOWARD, D. B., MURPHY, B. M. The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, p. 96-104. 1992.

GRIFFITHS, L. M.; LOEFFLER, S. H.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; JOHNSON, A. B. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 1-2, p. 69-83, 2007.

GUSTAVSSON, J.; CEDERBERG, C.; SONESSON, U.; VAN OTTERDIJK, R.; MEYBECK, A. **Global food losses and food waste**. Rome: FAO, 2011. 29 p.

HARDIN, D.K.; THORNE, J.G. *Effects of bioplex zinc or zinc oxide on mastitis incidence in lactating dairy cows*. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY,9.,1993, Lexington. **Proceedings...** Lexington: editora, 1993. p.

HOGVEEN, H.; HUIJPS, K.; LAM, T. Economic aspects of mastitis: New developments. **New Zealand Veterinary Journal**, Oxfordshire, v. 59, n. 1, p. 16-23,

2011/01/01. 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2011.547165> >. Acesso em: 10 jan. 2014.

HURLEY, W.L. **Lactation Biology**, 2002. Disponível em:< <http://www.classesaces.uiuc.edu/ansci308> >. Acesso em 20 de agosto de 2009.

HURLEY, W. L. **Milk Composition & Synthesis: Physicochemical properties**. Illinois: Resource Library, University of Illinois, 2006.

JENKINS, T. C.; McGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 89, n. 4, p. 1302-1310, 2006.

KEEFE, G. Update on Control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for Management of Mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 28, p. 203-216, 2012.

KINAL, S.; KORNIWICZ, D.; JAMROZ, D.; KORNIWICZ, A.; SLUPCZYNSKA, M.; BODARSKI, M.; ZIEMINSKI, R.; OSIEGLOWSKI, S.; DYMARSKI, I. The effectiveness of zinc, copper and manganese applied in organic forms in diets of high Milk yielding cows. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 5, n. 2, p. 189-193, 2007.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.4, p.433-441, 2003.

LAUZON, K.; ZHAO.; LACASSE,P. Deferoxamine reduces tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.10, p.3846-3857, 2006.

LEHENBAUER, T. W.; OLTJEN, J. W. Dairy Cow Culling Strategies: Making Economical Culling Decisions. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 81, n. 1, p. 264-271, 1998. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030298755754> >. Acesso em: 11 jan. 2014.

LIPPOLIS, J.D.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 113, n. 1-2, p. 248-255, 2006.

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. **Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 502-511, 2007.

MAGALHÃES, H. R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V.L.; PAZ, C.C.P.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Influência de fatores ambientais sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 415-421, 2006.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003. 644 p.

MEZZADRI, F. P. **Análise da conjuntura agropecuária Safra 2010/11 – Leite.** Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural. Maio de 2011.

MILLER, G. Y.; BARTLETT, P. C.; LANCE, S. E.; ANDERSON, J.; HEIDER, L. E. Costs of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 8, p. 1230-1236, 1993.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: O COMPROMISSO COM A QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL, 2004, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: UFP, 2004, p.11-37.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2002. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/qualidadeleitem.pdf>>. Acesso em: 03/05/2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.rev.ed. Washinton, D.C.: National Academy Press. 2001. 381 p.

NOCEK, J. E.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J. The Effect of Trace Mineral Fortification Level and Source on Performance of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 7, p. 2679-2693, 2006.

NOCKELS, C. F. Antioxidants improve cattle stress immunity following. **Animal Feed Science and Technology**, v. 62, p. 10, 1996.

NORO, G.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.

OLIVEIRA, A. L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne: alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 122-134, abr./jun. 2005.

OLIVER, S. P.; GILLESPIE, B. E.; IVEY, S. J.; LEWIS, M. J.; JOHNSON, D. L.; LAMAR, K. C.; MOOREHEAD, H.; DOWLEN, H. H.; CHESTER, S. T.; HALLBERG, J. W. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality.** Verona, WI: National Mastitis Council, 2004.

PAAPE, M. J.; BANNERMAN, D. D.; ZHAO, X.; LEE, J. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and Milk. **Veterinary Research**, v. 34, p. 31, p. 31, 2003.

PAIVA, C. A. V.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R. S.; LANA, A. M. Q. Evolução anual da qualidade do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Minas Gerais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 2, p. 471-478, 2012.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L.; LOKAJOVA, E. Zinc supplementation and somatic cell count in Milk o dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 75, n. 3, p. 355-361, 2006.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite**. São Paulo: Milkbizz/Westfalia Surge, 2002. 192p.

PICCININI, R.; BINDA, E.; BELOTTI, M.; DAPRA, V.; ZECCONI, A. Evaluation of Milk components during whole lactation in healthy quarters. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 2, p. 226-232, 2007.

PUSCHNER, B.; CHOI, Y.; TEGZES, J. H.; THURMOND, M. C. Influence of age, sex, and production class on liver zinc concentration in calves. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 16, n. 4, p. 278-282, 2004.

RABOT, A.; WELLNITZ, O.; MEYER, H. H. D.; BRUCKMAIER, R. M. Use and relevance of bovine mammary gland explant model to study infection responses in bovine mammary tissue. **Journal os Dairy Research**, v. 74, n. 1, p. 93-99, 2007.

Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W. 2002. **Clínica Veterinária**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RAINARD, P.; RIOLLET, C. Innate immunity of the bovine mammary gland. **Veterinary Research**, v. 37, p. 369-400, 2006.

RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS H. R.; SILVA, J. B. A.; BARRETO, M. L. J.; LIMA JUNIOR, D. M. Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. **Revista Verde de Agricultura e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 4, n. 3, p. 57-60, 2009.

REIS, C. B. M.; BARREIRO, J. R.; MESTIERI, L.; PORCIONATO, M. A. F.; SANTOS, M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **Veterinary Research**, v. 9, p. 67, 2013.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELÚZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Journal of Bioscience**, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

SANTOS, M. V.; BOTARO, B. **A mastite e os outros fatores que afetam a CCS**. 2008. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em 19/11/2014.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Composição e propriedades físico-químicas do leite**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Curso de Qualidade de Leite. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001. Disponível em: <<http://www.unitins.br/ates/arquivos/Pecuaria/Bovinocultura/BovinoculturadeLeite/QualidadedoLeite2Curso/QualidadedoLeite01.pdf>>. Acesso em 11 de novembro de 2010.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007. 314 p.

SANTOS, M. V. **Leite com CCS elevada tem menor rendimento para a fabricação de queijo Mussarela.** Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/noticialID=35209&actA=7&areaID=61&secaoID=180>>.2009. Acesso em 27 de abril de 2013.

SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, Y. V. R.; BOTARO, B. G. Efeito da remoção de células somáticas pela microfiltração sobre a lipólise do leite. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 315-321, 2007.

SCHÄELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, p. 21-26, 2000.

SGARBIERI, V.C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico- Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, p.43-56, 2005.

SHARMA, N.; RHO, G. J.; HONG, Y. H.; KANG, T. Y.; LEE, H. K.; HUR, T. Y.; JEONG, D. K. Bovine Mastitis: An Asian Perspective. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n. 6, p. 454-476, 2012.

SICILIANO-JONES, J. L.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; DEFRAIN, J. M. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw Integrity, and fertility of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 91, n. 5, p. 1985-1995, 2008.

SILVA, C. I., LOMBA, R.M., FILOCREÃO, A.S.M. Assistência técnica e extensão rural na agricultura familiar do estado do Amapá. In: REENCONTRO DE SABERES TERRITORIALES LATINOAMERICANOS, 1, **Anais...** Amapá- Brasil. 2013.

SILVA L.C.C.; BELOTI V.; TAMANINI R.; OVIDIO L.; MATTOS R.M.; ARRUDA A.M.C.T.; PIRES E.M.F. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano, **Semina: Ciências Agrárias**, 32:267-276, 2011.

SILVA, L. C. C.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; YAMADA, A. K.; GIOMBELLI, C. J.; SILVA, M. R. Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 67, p. 55-60, 2012.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1851-1865, 1997.

SORDILLO, L.M. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Livestock Production Science**, v. 98, n. 1-2, p. 89-99, 2005.

SORDILO, L.M.; STREICHER, K. L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 7, n. 2, p. 12, 2002.

SORIANO, C.; MICHEO, C.; MENDIEIRA, V. A.; TABERA, A.; STEFANO, A.; CASASNOVAS, G.; PURRÁN, P.; CORRADETTI, A.; CARABAJAL, S. Evaluación de

la calidad de leche de tanque de tambos de la Cuenca Mar y Sierras. **Veterinária Argentina**, v. 18, n. 179, p. 654-667, 2001.

SOUZA, G. N.; SILVA, M. R.; SOBRINHO, F. S.; COELHO, R. O.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J. R. F. Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento sobre a contagem de células somáticas no leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, 2005.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C.; BRITO, M.A.V.P.; SILVA, M.V.G.B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p.1015- 1020, 2009.

SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 70-76, 2008.

THOMAZ, L. W. MAPA – **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Conhecimentos Específicos para Médico Veterinário. Brasília: VESTCON, 2006. 901p.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

TSENKOVA, R.; ATANASSOVA, S.; KAWANO, S. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: A new diagnostic tool. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 2550-2557, 2001.

UCHIDA, K.; MANDEBVU, P.; BALLARD, C.S.; SNIFFEN, C.J.; CARTER, M.P. Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 93, n. 3-4, p. 193-203, 2001.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. (Ed.). **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford Oxon: CABI Publishing, 1999. 624 p.

ZAFALON, L. F.; POZZI, C. R.; CAMPOS, F. P.; ARCARO, J. R. P.; SARMENTO, P.; MATARAZZO, S. V. **Boas práticas de ordenha**. São Carlos (SP): Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA, 2008.

ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R. Unstable non acid milk and milk composition of Jersey cows on feed restriction. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 835–840, 2006.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press; London: Taylor & Francis, 2006. 782 p.

WATTIAUX, M.A. Milk **Composition and nutritional value**. Madison: University of Wisconsin, 2008. Disponível: www.babcock.cals.wisc.edu. Acesso em 25 de março de 2009.

WEISS, W. P. Antioxidant nutrients, cow health, and milk quality. **In: PENN STATE DAIRY CATTLE NUTRITION WORKSHOP**, 2005, Grantville, PA, p. 11-18. 2005a.

WEISS, W.P; SOCHA, M.T. Dietary Manganese for Dry and Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.7, p.2517-2523, 2005.

WHITAKER, D. A.; EAYRES, H. F.; AITCHISON, K.; KELLY, J. M. No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate, recovery rate and somatic cell count in dairy cows. **The Veterinary Journal**, [S.l.], v. 153, n. 2, p. 197-203, 1997.

WRIGHT, C. L.; SPEARS, J. W.; WEBB JR., K. E. Uptake of zinc from zinc sulfate and zinc proteinate by ovine ruminal and omasal epithelia. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 6, p. 1357-1363, 2008.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a suplementação com zinco para vacas leiteiras.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o número de células somáticas no leite de vacas leiteiras suplementadas com diferentes teores de zinco.

3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO¹

Contagem de células somáticas no leite de vacas leiteiras suplementadas com zinco.

Somatic Cell Count (SCC) in milk of dairy cows supplemented with zinc.

Resumo: Com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de vacas em lactação com dietas contendo diferentes teores de zinco (Zn) na contagem de células somáticas (CCS), foram utilizadas 18 vacas, 6 por tratamento, mantidas em pastagem com mais de 90 dias em lactação com produção média de $8 \pm 1,5$ kg/leite/dia, no início do experimento. Os tratamentos utilizados foram rações: sem zinco, com 620 ppm/vaca/dia e com 1240 ppm/vaca/dia de zinco. A suplementação com um kg de ração por vaca por dia foi realizada no momento da ordenha. O período experimental foi de 3 meses, com coletas a cada 30 dias, com períodos P0, P30, P60, P90, respectivamente de 90 a 120; 121 a 150; 151 a 180; 181 a 210 dias de lactação pelas vacas. As amostras de leite foram submetidas à contagem eletrônica de células somáticas e determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado. Foi utilizada análise multivariada dos componentes principais e para a contagem de células somáticas em resposta às diferentes concentrações de zinco nas dietas, utilizaram-se modelos lineares generalizados a 0,05 de significância. Para as variáveis, gordura e sólidos totais, a correlação foi positiva, sugerindo que, com aumento da quantidade gordura do leite aumenta o teor de sólidos totais. As correlações da lactose com a CCS e CCSlog foram negativas e significativas, sugerindo que o aumento de células somáticas do leite reduz o teor de lactose. Houve correlações positivas entre proteína do leite, CCS e CCSlog, evidenciando que o aumento no número de células somáticas no leite aumenta o teor de proteína. A correlação entre zinco e CCSlog foi negativa, verificando-se que com maior dose de zinco há redução na CCSlog. Concluiu-se que vacas leiteiras de baixa produção de leite mantidas em pastagens apresentam respostas positivas quando suplementadas com 620 ppm de zinco⁻¹vaca⁻¹dia. Sendo assim, a suplementação com zinco apresenta benefícios para a glândula mamária, e como consequência, para a qualidade do leite.

Palavras-chave: bovinos de leite, mastite, microminerais, qualidade do leite.

Abstract: Aiming to evaluate the effect of supplementation of lactating cows fed diets containing different contents of zinc (Zn) in the Somatic Cell Count (SCC), eighteen cows were used, six for treatment, kept in pastures, over 90 days in lactation with an average production of $8 \pm 1,5$ kg/milk/day at the beginning of the experiment. The treatments were diets: no zinc, 620 ppm zinc⁻¹cow⁻¹day and 1240 ppm zinc⁻¹cow⁻¹day. Supplementation with one kg of ration per cow per day was realized during the milking. The experimental period was the three months with samples collected each 30 days, with periods P0, P30, P60 and P90, respectively 90 to 120; 121 to 150; 151 to 180; 181 to 210 days of lactation. The milk sample were submit to electronic somatic cell count and analysis of fat, protein, lactose, total solids and solids non-fat. Multivariate principal component analysis was use and the somatic cell count in response to different concentrations of zinc in the diet, was use generalized linear models the 0.05 significance. For fat and total solids variables, was positive correlation, suggesting that, with an increased amount of milk fat increases the total solids. The correlations between lactose and CCS and CCSlog were negative and significant, suggesting that the increase in milk somatic cells reduces the lactose content. There was a positive correlation between milk protein and CCS and CCSlog, showing that the increase in the number of somatic cells increases in the milk protein content. The correlation between zinc and CCSlog was negative and it was verify that with higher doses of zinc the CCSlog reduce. It was conclude that dairy cows with low milk production kept in pastures show positive responses when supplemented with 620 ppm zinc⁻¹cow⁻¹day. Thus, zinc supplementation has benefits for the mammary gland, and as a result, the quality of the milk.

Key words: dairy cattle, mastitis, micro minerals, milk quality.

Introdução

O elevado potencial de produção de leite no Brasil deve-se, principalmente, à disponibilidade de área e de insumos e à vocação para a produção leiteira (MEZZADRI, 2011). Apesar disso, a presença de contaminantes e a baixa qualidade do leite são hoje os maiores entraves ao aumento das exportações brasileiras de produtos lácteos (PAIVA et al., 2012).

A mastite é a inflamação da glândula mamária, em resposta a sua invasão por microrganismos patogênicos, seguida de uma série de reações que reduzem a capacidade de produção, alteram composição do leite, e aumentam contagem de células somáticas.

Quando um organismo adentra a glândula mamária, os mecanismos de defesa da vaca são mobilizados e grande número de células brancas (leucócitos) são enviadas para o leite, na tentativa de combater a infecção. Se o microrganismo é eliminado, a contagem de células retorna aos valores normais. Entretanto, se os leucócitos não forem aptos para eliminar o agente causador, a infecção pode tornar-se crônica, e continuamente essas células de defesa são eliminadas para o leite, levando a altas contagens de células somáticas (SANTOS; BOTARO, 2008; SANTOS, 2009; DONG et al., 2012).

Além disso, o aumento da contagem de células somáticas está associado com reduções na composição do leite, aumento da atividade enzimática e redução da qualidade e rendimento dos produtos lácteos (REIS et al., 2013; GARGOURI et al., 2013).

Dessa forma, a contagem de células somáticas (CCS), além de ser um indicador da saúde da glândula mamária e utilizada como indicador de mastite subclínica nos rebanhos, também é aceita como medida padrão para determinar a qualidade do leite em muitos países.

Devido ao elevado impacto econômico da mastite, esta doença tem sido uma das mais pesquisadas na busca de ferramentas para aumentar a resistência do animal em relação às novas infecções e, conseqüentemente, da melhoria da qualidade do leite.

O adequado balanceamento da dieta das vacas leiteiras, buscando disponibilizar todos os nutrientes necessários para o perfeito funcionamento do organismo é uma das estratégias de comprovada eficácia para o aumento da resistência da vaca à ocorrência de doenças.

O estudo de estratégias que aumentam os mecanismos de defesa da glândula mamária tem cada vez mais destacado os efeitos da nutrição sobre a resposta imune. Dentre os nutrientes mais estudados está o zinco (SANTOS; FONSECA, 2007). As exigências diárias de vacas leiteiras em lactação, segundo o NRC (2001), variam de 43 a 73 ppm. A influência do Zn sobre a saúde da glândula mamária e como consequência os seus efeitos na melhoria da qualidade do leite com redução da CCS, torna-se uma ferramenta valiosa para a lucratividade do agronegócio do leite e de seus derivados.

O Brasil apresenta muitas vantagens competitivas no mercado internacional do leite, e novas informações geradas para o setor leiteiro contribui para maiores condições de produzir leite de maneira eficiente e de boa qualidade, refletindo diretamente na remuneração aos produtores.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com zinco sobre a contagem de células somáticas no leite, em vacas leiteiras com baixa produção criadas em pastagem.

Material e Métodos

Local

O estudo foi conduzido na propriedade rural produtora de leite, Fazenda São Bento, situada no município de Nova Andradina, localizado no sudeste do Mato Grosso do Sul (latitude 22° 14'00'' Sul, longitude 53° 20'35'' Oeste e altura 380 m), cerca de 320 Km de Londrina - PR. Nova Andradina apresenta solo predominante latossolo vermelho-escuro de textura média a arenosa, vegetação natural representada pelo cerrado (SEPLAN, 1990), e está sob influencia do clima tropical com estação seca no inverno (KÖPPEN, 1948).

O período experimental ocorreu nos meses de maio a agosto de 2013, com duração de 100 dias, dividido em 3 períodos de 30 dias, sendo os primeiros 10 dias para adaptação dos animais às condições experimentais e os demais para coleta de dados.

Posteriormente, nas instalações da Unidade de Estudo em Ruminantes da Universidade Estadual de Londrina foi realizada a avaliação da degradabilidade ruminal *in situ*.

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina sob nº 078-2013.

Seleção e identificação dos animais

Os animais experimentais foram selecionados para não apresentar mastite clínica. Para isso, as vacas leiteiras em produção foram examinadas antes da ordenha fazendo-se o teste da caneca de fundo negro (BLOOD; RADOSTOSIS, 1991).

Os animais que não apresentaram mastite clínica foram submetidos ao exame do California Mastitis Test – CMT (SCHALM; NOORLANDER, 1957), na qual se considerou como positivas as reações a partir de uma cruz (+) para a detecção de mastite subclínica.

Ainda, para seleção dos animais participantes do estudo, foi realizada a contagem de células somáticas do leite. A vaca foi considerada com mastite subclínica quando sinais clínicos não estiveram presentes e apresentasse mais de 200 mil células por mililitro de leite.

Após a seleção de vacas multíparas e com mastite subclínica, foram selecionadas para compor o experimento 18 vacas leiteiras da raça Girolando. As vacas estavam entre 90 e 180 dias em lactação, criadas a pasto, produzindo $8 \pm 1,5 \text{ kg}^{-1} \text{ leite}^{-1} \text{ dia}$, com idade entre 3 e 6 anos, com peso médio corporal no início do experimento de $450 \pm 31,5 \text{ kg}$ de peso vivo. No início do presente estudo a contagem de células somáticas média foi $283,13 \pm 89,87$ células por mL de leite.

Os animais foram identificados com brincos e colares de corda de polipropileno para identificar os tratamentos do estudo. As vacas do tratamento 1 usaram colar vermelho, as do tratamento 2 colar azul e as do tratamento 3 colar amarelo.

Manejo nutricional, tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos utilizados foram rações suplementares sem zinco, com $620 \text{ ppm}^{-1} \text{ vaca}^{-1} \text{ dia}$ de zinco e com $1240 \text{ ppm}^{-1} \text{ vaca}^{-1} \text{ dia}$ de zinco, sendo o número de vacas por tratamento 6 animais.

O manejo nutricional consistiu na criação em regime de pastagem (*Panicum maximum* cv. Mombaça com irrigação e *Braquiária decumbens* cv. Basilisk sem irrigação), acesso irrestrito a água e com fornecimento de ração suplementar diariamente no momento da ordenha realizada as 05h00.

Ao longo do dia as vacas permaneceram aproximadamente 12 horas (05h00 as 17h00) no pasto de *Brachiária decumbens* e 12 horas no pasto de *Panicum maximum* cv. Mombaça (17h00 as 05h00). No pasto de *Brachiária decumbens* (área de 6 alqueires) o sistema de pastejo foi com lotação contínua, sendo que não existiam divisões do pasto. Já no pasto de capim Mombaça (área de 3 alqueires) o sistema de pastejo foi rotativo, onde existiam 28 piquetes que foram manejados com 27 dias de descanso e 1 dia de ocupação.

Os 18 animais selecionados para o estudo foram divididos aleatoriamente para formarem três grupos com 6 animais cada, que correspondiam aos tratamentos respectivamente. Os três grupos ficaram assim dispostos quanto à dieta: Grupo 1 (controle), animais que não receberam suplementação de zinco (Zn), Grupo 2, animais que receberam suplementação de $620 \text{ ppm}^{-1} \text{ vaca}^{-1} \text{ dia}$ de Zn sob forma inorgânica (sulfato de zinco) e Grupo 3 que receberam suplementação de $1.240 \text{ ppm}^{-1} \text{ vaca}^{-1} \text{ dia}$ de Zn sob forma inorgânica (sulfato de zinco).

A dieta atendeu as exigências nutricionais, sugeridas no NRC (2001), com exceção para o zinco do tratamento 1 (sem suplementação com zinco), no qual a única fonte de zinco ingerida pelos animais foi proveniente da concentração deste mineral nos pastos. A suplementação dos três grupos foi realizada diariamente durante a ordenha pela manhã com o fornecimento de 1 kg de ração suplementar⁻¹vaca⁻¹dia.

O período experimental foi de 3 meses, com coletas a cada 30 dias (18 de maio, 17 de junho, 17 de julho e 16 de agosto de 2013), que corresponderam aos períodos P0, P30, P60, P90,

respectivamente de 90 a 120; 121 a 150; 151 a 180; 181 a 210 dias de lactação pelas vacas. Foram adotados 10 dias de adaptação antes da primeira avaliação (coleta).

No local onde as vacas ficavam contidas na sala de ordenha foram instalados cochos individuais (na altura da boca dos animais) para o fornecimento da ração suplementar. Os cochos eram metade de baldes plásticos de 20 litros.

As rações suplementares utilizadas foram armazenadas em tambores plásticos de 100 litros com tampa e identificados para diferenciar os três tipos de tratamento.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com três tratamentos e quatro repetições que foram medidas no tempo (18-05-13, 17-06-13, 17-07-13, 16-08-13).

Análises bromatológicas de rações suplementares, pastos e fezes

Antes do início do experimento, foram encaminhadas amostras das três rações suplementares para análise bromatológica no Laboratório Primor de São Paulo – SP.

As análises das rações suplementares em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e zinco (Zn), foram realizadas de acordo com metodologia descrita no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (SINDIRAÇÕES, 2009). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados pela equação $NDT = 40,3227 + 0,5398(\%PB) + 0,4448(\%ENN) + 1,4218(\%EE) - 0,7007(\%FB)$ (Kearl, 1982).

A composição químico-bromatológico (%) média das rações suplementares foi: MS = 90,17; (MO = 85,12; PB = 30; NDT = 70,28; FDN = 21,41; FDA = 8,98) base na matéria seca.

Os ingredientes utilizados nas rações suplementares foram: carbonato de cálcio, cloreto de sódio, enxofre ventilado (flor de enxofre), fosfato bicálcico, iodato de cálcio, óxido de magnésio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de manganês, sulfato de zinco, farelo de glúten de milho (Refinazil®), farelo de milho, uréia pecuária, levedura seca de cana de açúcar e parede celular de levedura.

A Composição mineral das rações concentradas (níveis de garantia-¹kg) foi: Cálcio – 36g, Fósforo – 9g, Sódio – 14g, Enxofre – 3.000ppm, Magnésio – 3.000ppm, Cobalto – 8ppm, Cobre – 75ppm, Iodo – 6ppm, Manganês – 77ppm, Selênio – 2,5 ppm, Zinco – 0ppm (tratamento 1), 620ppm (tratamento 2) ou 1.240ppm (tratamento 3), Ferro – 150ppm, Flúor – 90ppm.

Para a realização das análises bromatológicas dos pastos foram coletadas amostras pelo método da simulação manual de pastejo conforme Johnson (1978), identificando-se o tipo de material consumido e coletando-se uma amostra semelhante ao alimento ingerido. A coleta foi realizada por um único amostrador em todo o período experimental, a fim de se evitar variações em cada amostragem.

As amostras dos pastos foram coletadas nos períodos P0, P30, P60 e P90 do experimento, respectivamente 18 de maio, 17 de junho, 17 de julho e 16 de agosto de 2013, sendo coletadas nestas datas 20 pontos⁻¹ hectare de cada piquete ocupado pelas vacas.

As amostras coletadas de pastos foram encaminhadas para o Laboratório de Nutrição Animal da empresa Matsuda, onde foram pré-secadas a 55°C ± 5°C durante 72 horas. Metade de cada amostra foi triturada em moinho estacionário, utilizando-se peneira com malha de 1mm de diâmetro, sendo posteriormente enviada para o Laboratório Primor de São Paulo – SP para análise bromatológica. Já a outra metade de cada amostra foi triturada em moinho, utilizando-se peneira com malha de 2 mm de diâmetro e armazenada em potes plásticos para posterior avaliação da degradabilidade ruminal *in situ* na Unidade de Estudo em Ruminantes da Universidade Estadual de Londrina.

As análises dos pastos para determinação da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e zinco (Zn), foram realizadas de acordo com metodologia descrita no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (SINDIRAÇÕES, 2009) (Tabela 1). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados pela equação $NDT = - 21,7656 + 1,4284 (\% PB) + 1,0277 (\% ENN) + 1,2321 (\% EE) + 0,4867 (\% FB)$ (Kearl, 1982).

Tabela 1. Composição químico-bromatológico dos pastos (DEC = *Brachiária decumbens* e MOM = capim Mombaça)

Data de coleta	Pasto	Composição bromatológica (% da MS) ¹						
		MS	MO	PB	NDT	FDN	FDA	Zn ppm
18-05-13	DEC	55,36	94,43	5,32	59,75	75,03	42,17	24,30
18-05-13	MOM	44,47	90,44	10,90	59,53	68,31	37,71	10,30
17-06-13	DEC	32,02	92,20	9,22	61,04	73,74	40,63	41,27
17-06-13	MOM	24,5	91,96	14,51	61,28	71,71	36,97	26,83
17-07-13	DEC	55,12	93,24	8,63	61,31	75,48	41,57	39,75
17-07-13	MOM	29,32	91,01	16,40	63,47	68,46	34,46	23,99
16-08-13	DEC	90,32	92,97	5,75	58,75	75,78	45,22	82,55
16-08-13	MOM	52,04	91,94	15,75	63,26	66,68	37,66	63,38

¹ Análises realizadas no Laboratório Primor de São Paulo – SP.

18-05-13; 17-06-13; 17-07-13; 16-08-13 – datas de coleta de pastos, P0; P30; P60 e P90, respectivamente.

DEC = *Brachiária decumbens*; MOM = capim Mombaça; MS = matéria seca; (MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; NDT = nutrientes digestíveis totais; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; Zn = zinco) base na matéria seca;

NDT = - 21,7656 + 1,4284 (% PB) + 1,0277 (% ENN) + 1,2321 (% EE) + 0,4867 (% FB) (Kearl, 1982);

Fonte: Elaboração dos autores.

As amostras de fezes foram coletadas no momento da ordenha, diretamente do reto de cada animal com uso de luva de palpação retal, nos períodos P0, P30, P60 e P90 do experimento,

respectivamente 18 de maio, 17 de junho, 17 de julho e 16 de agosto de 2013. Em cada período foram coletadas 4 amostras de fezes por tratamento. As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos identificados com o número do animal e a data da coleta. Em seguida foram armazenadas em caixa de isopor com gelo e enviadas por correio para o Laboratório Primor em São Paulo – SP. As amostras foram pré-secadas a $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas e divididas em duas porções, sendo uma para análise bromatológica neste mesmo laboratório e outra para posterior avaliação da degradabilidade ruminal *in situ* na Unidade de Estudo em Ruminantes da Universidade Estadual de Londrina. As amostras para análise bromatológica foram trituradas em moinho estacionário, utilizando-se peneira com malha de 1 mm de diâmetro, e para a degradabilidade ruminal *in situ* com malha de 2 mm.

As análises das fezes para determinação da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN), foram realizadas de acordo com metodologia descrita no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (SINDIRAÇÕES, 2009) (Tabela 2).

Tabela 2. Médias do teor de matéria seca e fibra em detergente neutro de fezes das vacas em lactação

Tratamento	Composição bromatológica (% da MS) ¹	
	MS	FDN
P0 - 18-05-13	15,64	72,65
P30 - 17-06-13	15,37	73,57
P60 - 17-07-13	14,41	72,35
P90 - 16-08-13	20,18	77,20

¹ Análises realizadas no Laboratório Primor de São Paulo – SP.

P0; P30; P60; P90 – datas de coleta de fezes, 18-05-13; 17-06-13; 17-07-13 e 16-08-13, respectivamente.

MS = matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro base na matéria seca;

Fonte: Elaboração dos autores.

Avaliação da degradabilidade ruminal *in situ*

A avaliação da degradabilidade ruminal *in situ* das amostras de pastos e fezes foi realizada nas instalações da Unidade de Estudo em Ruminantes da Universidade Estadual de Londrina. Foram utilizados 3 bovinos machos cruzados, castrados, pesando em média 554 kg, providos de cânula ruminal e identificados. Os animais foram alojados em baias com cobertura, providas de bebedouros e comedouros individuais. A ração volumosa dos animais foi a base de silagem de sorgo, numa relação volumoso: concentrado de 85:15. Foi seguido o requerimento sugerido pelo NRC (1989), para bovinos em manutenção. Os animais foram alimentados às 8h00 e às 17h00, diariamente, e padronizou-se uma sobra de 10% da MS fornecida.

Os sacos utilizados para incubação ruminal foram confeccionados em náilon 100% poliamida, não resinado, com poros de 50 micrômetros, nas dimensões de 14,00 x 7,00 cm, selados por infusão com resistência elétrica. Para estabilização do peso, eles foram secos a $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante

24 horas e foram registrados os pesos. Posteriormente, foram cheios com aproximadamente 7 g da amostra (pasto ou fezes) pré-secada e moída.

Os sacos com amostras foram numerados e atados por uma borracha elástica a um aro metálico que por sua vez prendia-se a uma presilha de contenção. As presilhas estavam ligadas por uma corrente de aço (50 cm de comprimento), com peso aproximado de 500 g, preso por um cordão de seda à tampa da cânula. Cada animal recebeu os sacos com amostras sob o mesmo tempo de incubação, de modo que todos os sacos em um mesmo rúmen fossem retirados de uma só vez.

O tempo de incubação utilizado foi de 144 horas. O total de sacos incubados foi de 384, sendo 1 período dividido em 3 semanas, na qual em cada semana eram incubados 128 sacos divididos para 3 animais (foram usados até 43 sacos por animal por semana).

Imediatamente após serem retirados do rúmen, ainda presos às correntes, os sacos eram lavados em água fria corrente e imersos em água gelada, durante 30 minutos, para interromper a atividade dos microorganismos ruminais. Em seguida, eram retirados das correntes e lavados em máquina de lavar, tipo “tanquinho” (sendo que a água da máquina era trocada três vezes com intervalo de 10 minutos), até que a água ficasse clara. Após a lavagem, os sacos foram pendurados em um suporte de ferro para secar em estufa com ventilação de ar forçada, com temperatura de $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, durante 72 horas.

Os sacos foram enviados para serem pesados no Laboratório de Avaliação de Alimentos e Nutrição Animal – LANA, do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina. Descontando-se o peso dos sacos vazios e limpos, determinou-se o desaparecimento da matéria seca no rúmen.

Os resíduos de incubação ruminal foram acondicionados em sacos plásticos identificados e enviados para análise bromatológica no Laboratório Primor, onde foram moídos com uso de peneira de 1 mm e realizadas as análises de MS(%) e FDN(%), que correspondem a MSI (matéria seca indigestível) e FDN_{ir} (fibra em detergente neutro indigestível do resíduo). As análises para determinação da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN), foram realizadas de acordo com metodologia descrita no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (SINDIRAÇÕES, 2009).

Posteriormente foram realizados os cálculos para estimativa de consumo diário de matéria seca de pasto (Tabela 3).

A digestibilidade (%) da MS dos pastos foi calculada utilizando-se como indicador interno a FDN, de acordo com as seguintes fórmulas (SILVA; LEÃO, 1979):

Digestibilidade da MS (%) = $100 - [100(\% \text{ do indicador na MS do alimento} / \% \text{ do indicador na MS das fezes}) \times (\% \text{ do nutriente nas fezes} / \% \text{ do nutriente no alimento})]$.

Matéria seca fecal excretada (kg) = $(100 \times \text{quantidade (kg) de indicador fornecido}) / (\% \text{ do indicador na MS fecal})$.

Indigestibilidade (%) = $100 - \% \text{ digestibilidade da MS}$.

Consumo de FDN (kg) = Indigestibilidade (%) da MS / (MS fecal excretada (em kg) x 100).

Ingestão de matéria seca (kg) = kg de FDN consumido / % de FDN.

Tabela 3. Consumo diário de matéria seca de pasto

Data de coleta	Pasto	Digestibilidade da MS (%)	MS fecal excretada (kg)	Ingestão (kg)	
				FDN	MS dos pastos
18-05-13	DEC	70,82	1,03	3,54	4,72
18-05-13	MOM	66,93	0,94	2,84	4,16
17-06-13	DEC	51,90	1,00	2,08	2,83
17-06-13	MOM	38,87	0,97	1,59	2,22
17-07-13	DEC	72,73	1,04	3,83	5,07
17-07-13	MOM	53,51	0,95	2,04	2,97
16-08-13	DEC	78,06	0,98	4,47	5,91
16-08-13	MOM	66,50	0,86	2,58	3,87

18-05-13; 17-06-13; 17-07-13; 16-08-13 – datas de coleta de pastos, P0; P30; P60 e P90, respectivamente.

DEC = *Brachiária decumbens*; MOM = capim Mombaça; MS = matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro;

Fonte: Elaboração dos autores.

Ingestão diária de nutrientes

A ingestão diária dos componentes químicos da ração completa (pasto e rações suplementares) de cada período e tratamento, foi calculada de acordo com a estimativa de consumo de matéria seca dos pastos, quantidade fornecida de ração suplementar e análises bromatológicas realizadas de pastos e rações suplementares (Tabela 4).

Tabela 4. Ingestão diária dos componentes químicos (pastos e rações suplementares)

Data de coleta	Tratamentos			MS (kg)	MO (kg)	PB (kg)	NDT (kg)	FDN (kg)	FDA (kg)
	Zn (ppm)								
18-05-13	152,0			9,36	8,61	0,82	5,29	6,42	3,67
	711,1								
	1270,1								
17-06-13	169,6			5,81	5,28	0,82	3,37	3,77	2,04
	728,7								
	1287,7								
17-07-13	282,2			9,23	8,49	1,17	5,20	6,36	3,42
	841,3								
	1400,3								
16-08-13	750,1			10,51	9,72	1,08	5,88	7,33	4,40
	1309,1								
	1868,2								

18-05-13; 17-06-13; 17-07-13; 16-08-13 – datas de coleta de pastos, P0; P30; P60 e P90, respectivamente.

Pastos = *Brachiária decumbens* e capim Mombaça; Rações suplementares (sem zinco, 620 ppm ou 1.240 ppm vaca⁻¹dia⁻¹zinco);

MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; NDT = nutrientes digestíveis totais; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido.

Fonte: Elaboração dos autores.

Amostragem de leite para análises

Amostras de leite para determinações das contagens de células somáticas e dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, foram coletadas individualmente, mensalmente, na ordenha realizada pela manhã.

O sistema de ordenha adotado na propriedade foi do tipo balde ao pé montado no fosso, onde oito vacas permaneceram em contenção com a presença do bezerro ao lado da mãe e quatro vacas foram ordenhadas de cada vez.

As amostras de leite corresponderam aos períodos P0, P30, P60 e P90 do experimento, respectivamente 18 de maio, 17 de junho, 17 de julho e 16 de agosto de 2013. Primeiramente foi realizado o teste da caneca de fundo negro para detecção de eventuais casos de mastite clínica, retirando-se os primeiros jatos de leite. Em seguida os tetos foram higienizados e secos. Foi coletado leite de todos os quartos de cada vaca e após homogeneização foram retiradas amostras que posteriormente foram acondicionadas em frascos estéreis padronizados (40 mL), utilizando o conservante Bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol). As amostras de leite foram identificadas, homogeneizadas e acondicionadas em caixas apropriadas para o posterior transporte.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Fisiologia da Lactação, da Clínica do Leite, do Departamento de Zootecnia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ-USP, para análise dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas (CCS). Para a determinação da CCS (em 1000 células⁻¹mL) foi utilizado o método de contagem eletrônica de células somáticas por citometria de fluxo, por intermédio do equipamento Somacount 300®, da Bentley Instruments Inc.

O prazo para recebimento das amostras na Clínica do leite da ESALQ-USP foi de 3 dias com temperatura abaixo de 10 °C. Segundo Cassoli et al. (2010), as amostras de leite devem ser analisadas até o quinto dia após a coleta.

Análises estatísticas

Para inferir sobre as estruturas lineares das variáveis associadas à produção de leite, bem como as variâncias associadas a cada uma delas foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP), o qual é uma técnica exploratória de análise multivariada.

Como as pressuposições para a ANOVA não foram atingidas, a contagem de células somáticas (CCS) em resposta às diferentes concentrações de zinco nas dietas foi analisada por meio de Modelos Lineares Generalizados - GLM para uma distribuição gama com função de ligação *log*. Para a comparação entre as médias utilizou-se o teste de *Bonferroni* considerando-se a significância mínima $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o Software SPSS 17.0 (SPSS, 2008).

Resultados e Discussão

A suplementação com zinco (Zn) apresentou efeito no número de células somáticas (CCS_{log}) no leite. No tratamento controle (sem suplementação com zinco) em que a única fonte de zinco ingerida pelos animais foi proveniente dos pastos, a ingestão de zinco totalizou 338,47 ppm (Zn 338,47) (Figura 1). Os tratamentos com 620 ppm⁻¹vaca⁻¹dia de Zn e 1240 ppm⁻¹vaca⁻¹dia de Zn corresponderam as ingestões diárias de 897,55 ppm (Zn 897,55) e 1456,57 ppm de zinco (Zn 1456,57), respectivamente (Figura 1).

A CCS_{log} foi superior ($p < 0,01$) quando as vacas receberam tratamento sem zinco suplementar em relação aos demais tratamentos. Contudo, não houve diferença significativa quando os animais receberam suplementação de zinco de 620 ppm⁻¹vaca⁻¹dia e 1240 ppm⁻¹vaca⁻¹dia na CCS_{log} (Figura 1).

Os valores médios de CCS_{log} foram de 2,73 para as vacas do tratamento sem zinco, 2,36 para as vacas suplementadas com 620 ppm⁻¹vaca⁻¹dia de zinco e 2,15 para vacas suplementadas com 1240 ppm⁻¹vaca⁻¹dia de zinco (Figura 1).

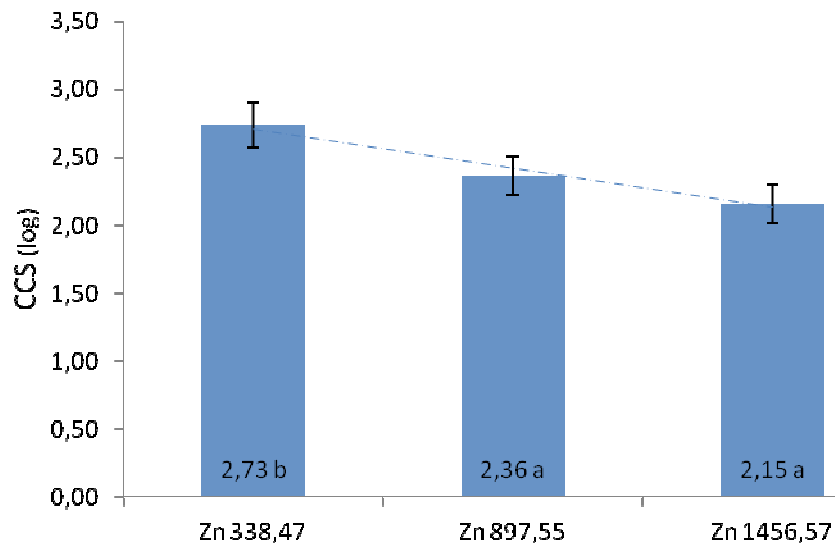


Figura 1. CCS(log) em função dos teores de zinco.

Fonte: Elaboração dos autores.

Na Figura 1, há indícios da redução da CCS(log) em função da suplementação com zinco.

O valor médio de CCS neste estudo foi de 433,65 (em 1000 células⁻¹mL) (Tabela 5), portando evidencia a ocorrência de mastite subclínica no rebanho. Contudo este valor está de acordo com o padrão da Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011), que dita os parâmetros da qualidade do leite brasileiro.

Vacas em final de lactação normalmente apresentam aumento na CCS, porém foi observado neste estudo, que mesmo no período P90 (181 a 210 dias de lactação), que coincide com o final da lactação de vacas com baixa produção de leite, houve controle da CCS com a suplementação com zinco.

Barbosa et al. (2007) avaliaram a CCS utilizando 172.304 amostras de leite no estado do Paraná, onde observaram efeito linear do estágio de lactação em relação à CCS, isto é, à medida que ocorreu um avanço nos dias de lactação, houve um aumento na CCS.

De acordo com Voltolini et al. (2001) e Rossi et al. (2012), o aumento da CCS no final da lactação pode ser devido ao menor volume de leite produzido ou a existência de fatores relacionados com a maior probabilidade de infecção intramamária.

Na Tabela 5 pode verificar as variáveis estudadas neste estudo. Justifica-se, a necessidade de discutir os resultados obtidos, utilizando-se o dado transformado CCSlog para normalização da distribuição dos dados, pois para a variável CCS o coeficiente de variação (CV) foi de 105,1%, já para CCSlog foi de 18% (Tabela 5).

Tabela 5. Estatística descritiva contendo os valores de médias, desvios padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) das variáveis (n = 68)

Variáveis*	Média	DP	CV (%)
Zn (ppm)	862,38	510,89	59,2
GOR (%)	3,73	1,51	40,4
PROT (%)	3,80	0,82	21,5
LACT (%)	4,38	0,59	13,4
ST (%)	12,88	1,68	13,1
ESD (%)	9,15	0,45	5,0
CCS (células ⁻¹ mL)	433,65	455,59	105,1
CCSlog	2,44	0,44	18,0

* Zinco (Zn), Gordura (GOR), Proteína (PROT), Lactose (LACT), Sólidos totais (ST), Extrato seco desengordurado (ESD), Contagem de células somáticas (CCS), Contagem de células somáticas log (CCSlog).

Fonte: Elaboração dos autores.

Na matriz de correlação (Tabela 6), podem-se destacar algumas variáveis no estudo, entre elas: a gordura (GOR) que apresentou elevada correlação (96,6%) com sólidos totais (ST). Observa-se, desta maneira que, quanto maior o teor de gordura no leite, maior o teor de sólidos totais. A lactose (LACT) com contagem de células somáticas (CCS) e contagem de células somáticas log (CCSlog), a qual apresentaram correlações de -81,8% e -58,3%, respectivamente. Essas correlações negativas evidenciam que as variáveis CCS e CCSlog tem relação com a lactose no leite.

A proteína (PROT) no leite correlacionada com as variáveis contagem de células somáticas (CCS) e contagem de células somáticas log (CCSlog), apresentaram correlações de 65,2% e 50,9%, respectivamente (Tabela 6).

A correlação zinco (Zn) com a CCSlog foi negativa (-35,0%) e altamente significativa ($p < 0,01$) verificando-se, desta maneira, que maior dose de zinco reflete em menor CCSlog (Tabela 6), ou seja, influenciou na qualidade do leite.

Corroborar com esse entendimento as afirmações de Fonseca; Santos (2000) quando asseveraram que o zinco possui função essencial na integridade da pele, em especial da glândula mamária e na proteção das membranas celulares contra a ação oxidativa dos radicais livres.

Na defesa da glândula mamária contra infecções por patógenos, o zinco está ligado ao mecanismo de reconstrução da queratina presente no canal do teto entre as ordenhas (KINAL et al., 2007).

Além das funções desempenhadas no metabolismo normal, o zinco tem sido associado à função imune (FONSECA; SANTOS, 2000). Outros autores também destacaram efeitos benéficos do zinco sobre a imunidade do animal durante o período de lactação (SANTOS; JUCHEN, 2000; ASHMEAD; SAMFORD, 2004; GRIFFITHS et al., 2007; SICILIANO-JONES et al., 2008; CORTINHAS et al., 2009).

Contudo, é importante ressaltar que os resultados de contagens de células somáticas, observados neste estudo, podem ter sofrido influência das pastagens, provavelmente pelo fato da diminuição nos valores nutricionais dos pastos que ocorrem tipicamente no Mato Grosso do Sul nos meses quando o experimento foi realizado. Nas Tabelas 3 e 4, podem ser visualizados que o consumo de matéria seca dos pastos, principalmente no mês de junho, pode ter reduzido a ingestão diária de nutrientes, e dessa forma, pode ter afetado a contagem de células somáticas.

Para as variáveis, gordura e sólidos totais, como se observa na Tabela 6, a correlação foi positiva ($r=0,966$) e significativa ($p<0,01$) sugerindo que, à medida que aumenta a quantidade gordura do leite, há aumento no teor de sólidos totais, o que corrobora com os dados de literatura, pois sólidos totais são todos os componentes do leite exceto a água. Sabedot et al. (2011) observaram correlação positiva entre gordura e sólidos totais do leite ($r = 0,97$), o qual está próximo do valor encontrado na presente pesquisa.

A análise da relação entre os constituintes do leite mostra que a gordura é o principal fator que interfere sobre os ST ($r = 0,966$, $p<0,01$), depois a proteínas ($r = 0,430$, $p<0,01$), e em seguida a lactose ($r = -0,241$, $p<0,05$) (Tabela 6). Os resultados aqui observados são, no mesmo sentido, semelhantes aos relatados por Reis (2012), que afirmaram que a gordura é o principal fator que interfere sobre os ST ($r = 0,845$, $p<0,01$), depois a proteínas ($r = 0,57$, $p<0,01$), e em seguida a lactose ($r = 0,1$, $p<0,01$).

Tabela 6. Correlação entre as variáveis transformadas para a ACP (análise fatorial em componentes principais)

Variáveis*	Zn	GOR	PROT	LACT	ST	ESD	CCS	CCSlog
Zn	1							
GOR	-0,015	1						
PROT	-0,110	0,290	1					
LACT	0,169	-0,245*	-0,817**	1				
ST	-0,004	0,966**	0,430**	-0,241*	1			
ESD	0,035	0,259*	0,633**	-0,078	0,501**	1		
CCS	-0,242*	0,409**	0,652**	-0,818**	0,381**	0,051	1	
CCSlog	-0,350**	0,391**	0,509**	-0,583**	0,388**	0,140	0,812**	1

* Zinco (Zn), Gordura (GOR), Proteína (PROT), Lactose (LACT), Sólidos totais (ST), Extrato seco desengordurado (ESD), Contagem de células somáticas (CCS), Contagem de células somáticas log (CCSlog), ** ($P\leq 0,01$) e * ($P\leq 0,05$).

Fonte: Elaboração dos autores.

Ribas et al. (2004), trabalhando com leite proveniente dos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo, encontraram altas correlações entre sólidos totais e seus componentes, o que

indica a possibilidade das indústrias adotarem a porcentagem de ST como um dos parâmetros nos programas por qualidade de leite.

A média geral da concentração percentual de sólidos totais do leite dos animais analisados da raça Girolando no presente estudo foi de 12,88% (Tabela 5), similar ao encontrado por Reis (2012) que foi 12,48%, em animais desta mesma raça. Considerando a raça Girolando, a literatura descreve valores médios de sólidos totais de 13,02% (FONSECA; SANTOS, 2000), 12,2% (FUKUMOTO et al., 2010) e 11,96% (BOTARO et al., 2011).

Com relação à lactose, observa-se na Tabela 6 que as correlações dessa característica com a CCS ($r = -0,818$) e o CCS log ($r = -0,583$) foram negativas e significativas ($p < 0,01$), sugerindo que, à medida que aumenta a quantidade de células somáticas do leite, há redução no teor de lactose.

Alberton et al. (2012) também observaram correlação negativa entre CCS e porcentagem de lactose ($r = -0,449$, $p < 0,01$). Reis (2012) observou correlação negativa moderada da CCS em relação à lactose ($r = -0,39$). No estudo de Montanhini et al. (2013) a lactose apresentou correlação negativa com a CCS ($r = -0,383$, $p < 0,05$). Rajcevic et al. (2003) observaram correlação negativa entre Log de CCS e porcentagem de lactose ($r = -0,423$). Freitas et al. (2011), também encontraram diminuição na concentração de lactose, relacionada ao aumento da CCS, na qual foi observada correlação negativa ($P < 0,05$) entre a CCS e os teores de lactose ($r = -0,36840$). Salomão (2012) observou que o constituinte do leite mais afetado pela contagem de células somáticas foi a lactose ($r = -0,7180$).

Esta redução no teor de lactose no leite com elevada CCS é causada pela inflamação da glândula mamária, que promove lesões nas células alveolares levando a diminuição da síntese deste carboidrato (ARASHIRO et al., 2006).

Durante a mastite, a porcentagem de lactose do leite é reduzida devido à menor síntese ocasionada pela destruição de tecido secretor, pela perda de lactose da glândula para a corrente sanguínea decorrente do aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue e pela utilização da lactose pelos patógenos intramamários (SILVA et al., 2000; RANGEL et al., 2009). A lactose está relacionada à regulação da pressão osmótica da glândula mamária, de forma que maior produção de lactose determina maior produção de leite (PERES, 2001).

Segundo Fonseca; Santos (2000), o percentual médio para lactose no leite de animais da raça Girolando é em torno de 4,80%. No presente estudo a média percentual de lactose, para os animais da raça Girolando foi de 4,38% (Tabela 5). Resultado semelhante foi encontrado por Botaro et al. (2011), em estudo realizado em leite produzido por rebanho comercial no estado de São Paulo (4,41% de lactose), enquanto que Paiva (2010), trabalhando com 6169 análises, obteve média de 4,2%. Fukumoto et al. (2010), encontraram teor de lactose médio de 4,26%.

Com relação à proteína, observa-se na Tabela 6 que as correlações dessa característica com a CCS ($r = 0,652$) e o CCS log ($r = 0,509$) foram positivas e significativas ($p < 0,01$), evidenciando

que com o aumento no número de células somáticas no leite aumenta-se também a porcentagem de proteína.

Segundo Montanhini et al. (2013), os resultados experimentais relatados na literatura são conflitantes com relação à influência da CCS no teor de proteína.

No presente estudo, a proteína apresentou correlação significativa com a CCS, ou seja, sofreu influência em função desta variável. Estes dados discordam dos relatados por Machado et al. (2000), Gonzalez et al. (2003), Bueno et al. (2005) e Salomão (2012), que encontraram menores percentuais de proteína em leite com elevado teor de CCS. Em contrapartida, outros autores relatam um aumento no teor de proteína em leite com elevada CCS (RIBAS et al. (2004); VENTURA et al. (2006); CUNHA et al (2008); FREITAS et al. (2011); SABEDOT et al. (2011); REIS (2012)). Já Rangel et al. (2009) não observaram diferença significativa entre a CCS e o teor de proteína ($P > 0,05$).

De acordo com Santos (2003), o efeito final da mastite sobre o teor de proteína total geralmente é pequeno, o que muda são as proporções entre as proteínas do soro e caseína. De acordo com o autor, a síntese de caseína é diminuída e há um aumento no teor de proteínas do soro, em função do influxo aumentado de substâncias do sangue para o leite.

Neste sentido, Bansal et al. (2005) relataram que a proteína total do leite consiste de diferentes frações como, por exemplo, as originadas do sangue representadas pela soroalbumina bovina e as imunoglobulinas, que aumentam com a resposta inflamatória. Além destas, há aquelas sintetizadas na glândula mamária como a caseína, a lactalbumina e as lactoglobulinas que diminuem devido à secreção alveolar prejudicada. Dessa maneira, tipo e a magnitude da resposta patológica têm papel fundamental nos valores de proteínas totais do leite.

A média percentual de proteínas totais do leite dos animais da raça Girolando neste estudo (Tabela 5) foi de 3,80%, estando esse valor maior do que o descrito por Botaro et al. (2011), que foi de 3,22%. De acordo com Fonseca; Santos (2000), o percentual médio de proteínas no leite de animais da raça Girolando é em média 3,52%, valor este inferior ao encontrado neste estudo.

A correlação observada entre CCS e proteína do leite (Tabela 6 e Figura 2), deve ser analisada com cuidado. Cabe ressaltar que o aumento no teor de proteína do leite em função do aumento da CCS, observado neste estudo, não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois pode ser resultado do aporte de proteínas plasmáticas para a glândula mamária a fim de combater a infecção. Além disso, a redução do teor de lactose observado, supostamente pode ter reduzido a produção de leite dos animais, resultando em maior concentração de proteína presente no leite.

Independentemente da influência que a elevada contagem de células somáticas exerce sobre os componentes do leite, este fator tem impacto negativo sobre a qualidade do leite, uma vez que promove outras alterações indesejáveis, tais como, alterações enzimáticas que reduzem a qualidade dos derivados lácteos (SANTOS, 2003; ARASHIRO et al., 2006).

Conforme os valores apresentados na Tabela 7 pode-se verificar a importância que cada variável tem sobre os componentes principais.

Tabela 7. Correlação entre as variáveis e as componentes principais (CP1 e CP2)

Variáveis*	CP1	CP2
Zn	-0,4529	-0,0188
GOR	0,1765	0,9676
PROT	0,7148	0,1111
LACT	-0,8936	-0,0086
ST	0,1696	0,9395
ESD	0,0425	0,2701
CCS	0,9082	0,2518
CCSlog	0,8083	0,3259

* Zinco (Zn), Gordura (GOR), Proteína (PROT), Lactose (LACT), Sólidos totais (ST), Extrato seco desengordurado (ESD), Contagem de células somáticas (CCS), Contagem de células somáticas log (CCSlog).

Fonte: Elaboração dos autores.

Para a componente principal 1, os maiores valores são para CCS e LACT, embora negativo para LACT, delegando correlação negativa entre estas variáveis. Na componente principal 2, os maiores valores positivos são para GOR, ST e CCSlog (Tabela 7).

Na Figura 2, o que caracterizou o eixo x (componente principal 1) foram as variáveis CCS, LACT e CCSlog; em menor grau PROT e Zinco.

O eixo y (componente principal 2) foi assinalado pela GOR e ST, e em menor grau pela CCSlog e ESD (Figura 2).

Nota-se a correlação forte entre ST e GOR e/ou ESD; LACT e Zinco; e também entre CCS e PROT. Figurando em quadrantes opostos, com ângulo próximo a 180°, presume-se que, quanto maior o Zinco menor a CCS e/ou CCSlog (Figura 2).

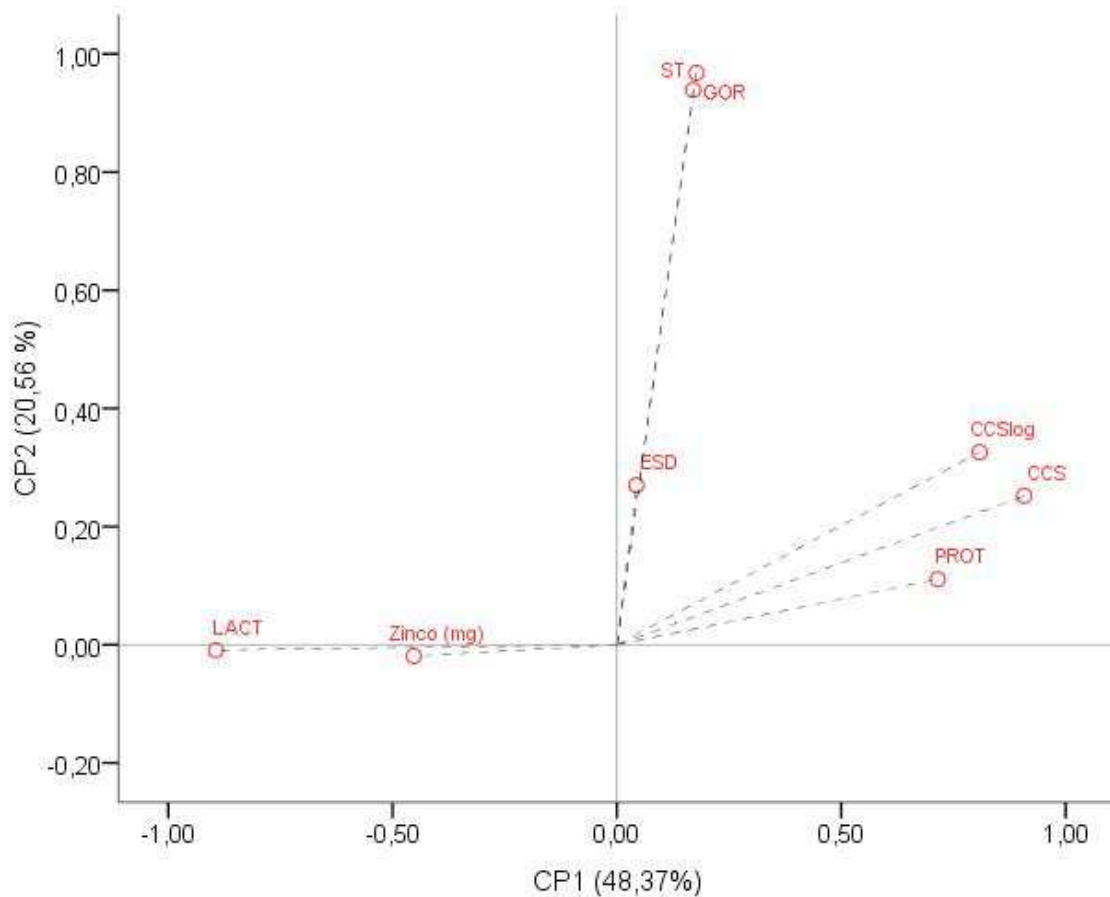


Figura 2. Representação das variáveis e suas contribuições para formação dos componentes principais
Fonte: Elaboração dos autores.

O primeiro componente principal explicou 48,37% e o segundo 20,56%, ou seja, os dois componentes principais explicaram 68,93% da variação total dos dados (Figura 2).

Conclusão

Vacas leiteiras de baixa produção de leite mantidas em pastagens apresentam respostas positivas quando suplementadas com 620 ppm de zinco⁻¹vaca⁻¹dia. Sendo assim, a suplementação com zinco apresenta benefícios para a glândula mamária, e como consequência, para a qualidade do leite.

Referências

- ALBERTON, J.; ALBERTON, L. R.; PACHALY, J. R.; OTUTUMI, L. K.; ZAMPIERI, T. M.; AGOSTINIS, R. O. Estudo da qualidade do leite de amostras obtidas de tanques de resfriamento em três regiões do estado do Paraná. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 5-12, jan./jun. 2012.
- ARASHIRO, E.K.N.; TEODORO, V.A.M.; MIGUEL, E.M. Mastite bovina: importância econômica e tecnológica. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.61, n.352, p.32-36, 2006.
- ASHMEAD, H. D.; SAMFORD, R. A. Effects of metal amino acid chelates or inorganic minerals on three successive lactations in dairy cows. **International Journal Applied Reserch Veterinary Medicine**, v. 2, n. 3, p. 181-188, 2004.
- BANSAL, B.K.; HAMANN, J.; GRABOWSKI, N.T.; SINGH, K.B. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis. **Journal of Dairy Research**, v.72, p.144-152, 2005.
- BARBOSA, S. B. P.; MONARDES, H. G.; CUE, R. I.; RIBAS, N. P.; BATISTA, Â. M. V. Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 94–102, 2007.
- BLOOD, D.C.; RADOSTOSIS, O.M. **Veterinary medicine**. 7.ed. London: Baillière Tindall, 1991. p.501-559.
- BOTARO, B. G.; CORTINHAS, C. S.; MESTIERI, L.; MACHADO, P. F.; SANTOS, M. V. Composição e frações protéicas do leite de rebanhos bovinos comerciais. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 81-91, 2011.
- _____. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, seção 1, n. 251, p.6, 30 dez. 2011.
- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 848-854, 2005.
- CORTINHAS, C.S..**Fornecimento de zinco, cobre e selênio orgânicos para vacas leiteiras e efeitos sobre a qualidade do leite e saúde da glândula mamária**. 2009. 89 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veteriária). Universidade de São Paulo, Pirassununga – São Paulo, 2009.
- CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A. Métodos de conservação de amostras de leite para determinação da contagem bacteriana total por citometria de fluxo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.434-439, 2010.
- COSTA, E.O.; RIBEIRO, A.R.; GARINO JR., F.; SILVA, J. A. B.; THAIERS, F. O. Avaliação da condutibilidade elétrica do leite de glândula mamária com mastite: correlação com CMT e exames microbiológicos. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, v.1, n.1, p.3-8, 1998.

COSTA, E.O.; WATANABE, E.T. Tratamento de mastite In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE, 3., 1999. Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1999. p.87-101.

CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. V.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; GENTILINI, M. B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com o número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.19-24, 2008.

DOMINGUES, P.F; LANGONI, H.; ROCHA, N.S. et. al. Concentração plasmática de cobre, ferro, zinco, vitamina C e Beta caroteno em vacas com mastite subclínica. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE, 3., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1999. p.143.

DONG , F.; HENNESSY, D. A.; JENSEN, H. H. Factors determining milk quality and implications for production structure under somatic cell count standard modification. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, p. 6421- 6435, 2012.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos, 2000. 175p.

FREITAS, J.A.; NETO, A. F. G.; SILVA, J.; SANTOS, T. M.; SOUZA, V. L.; PINTO, P. H. N.; TOGNON, R. Contagens de células somáticas e seus efeitos sobre a composição e qualidade do leite em vacas Holandesas, XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia, **Anais...** Maceió, 2011.

FUKUMOTO, N. M.; DAMASCENO, J. C.; DERESZ, F.; MARTINS, C. E.; CÓSER, A. C.; SANTOS, G. T. Produção e composição do leite, consumo de matéria seca e taxa de lotação em pastagens de gramíneas tropicais manejadas sob lotação rotacionada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1548-1557, 2010.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Analysis of Raw Milk Quality at Reception and During Cold Storage: Combined Effects of Somatic Cell Counts and Psychrotrophic Bacteria on Lipolysis. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 9, p. 1405-1411, 2013.

GONZALEZ, S. G.; MÜLLER E. E.; RIBEIRO, E. L. A.; FREITAS, J. C.; GODOY, A. L. Influência defatores raciais e manejo nutricional na contagem de células somáticas e nos constituintes do leite de vacas Holandesas e mestiças no norte do estado do Paraná. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 323-329, 2003.

GRIFFITHS, L. M.; LOEFFLER, S. H.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; JOHNSON, A. B. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 1-2, p. 69-83, 2007.

JOHNSON, A.D. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: MANETJE, L. t' (Ed.) **Measurement of grassland vegetation and animal production**. Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1978. p.96-102.

KEARL, L.C. **Nutrient requirements of ruminants in developing countries**. Logan: International Feedstuffs Institute. Utah State University, 1982. 381p.

KINAL, S.; KORNIWICZ, D.; JAMROZ, D.; KORNIWICZ, A.; SLUPCZYNSKA, M.; BODARSKI, M.; ZIEMINSKI, R.; OSIEGLOWSKI, S.; DYMARSKI, I. The effectiveness of zinc,

copper and manganese applied in organic forms in diets of high Milk yielding cows. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 5, n. 2, p. 189-193, 2007.

KÖPPEN, W. Climatologia tradicional. Traduzida para o Espanhol por Pedro Henchiehs Pérez. México: Fundo de Cultura Econômica, p. 1948. 479.

LANGONI, H. Complexidade etiológica da mastite bovina. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 3., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1999. p.3-18.

MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.29, n.6, p.1883-1886, 2000.

MEZZADRI, F. P. **Análise da conjuntura agropecuária Safra 2010/11 – Leite**. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural. Maio de 2011.

MONTANHINI, M.T.M.; MORAES, D.H.M.; MONTANHINI NETO, R. Influência da contagem de células somáticas sobre os componentes do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.68, n.392, p.18-22, 2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, D.C.: National Academy Press. 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.rev. ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 1989. 157 p.

PAIVA, C. A. V.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R. S.; LANA, A. M. Q. Evolução anual da qualidade do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Minas Gerais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 2, p. 471-478, 2012.

PAIVA, L. C. **Programa de melhoramento genético da raça Girolando – PMGG**. Origem do Programa Girolando, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. 2010. Disponível em:<<http://www.cigeneticabovina.com.br/downloads/49800f4cLeandro%20de%20Carvalho%20Paiva.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2012.

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

PETIM-BATISTA, M.F.S. **Células somáticas em fêmeas bovinas leiteiras portuguesas – perspectivas da sua alteração quantitativa**. 1996. 108 p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – UTAD, Vila Real, Portugal, 1996.

PHILPOT, W.N; NICKERSON, S.C. **Mastitis: counter attack**. Babson Bros Co, 1991. 150p.

RAJCEVIC, M.; POTOČNIK, K.; LEVSTEK, J. Correlations between somatic cells count and Milk composition with regard to the season. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 68, p. 221-226, 2003.

RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS H. R.; SILVA, J. B. A.; BARRETO, M. L. J.; LIMA JUNIOR, D. M. Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e

extrato seco desengordurado do leite. **Revista Verde de Agricultura e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 4, n. 3, p. 57-60, 2009.

REIS, A.M. Efeito do grupo racial e do número de lactações sobre a produtividade e a composição do leite bovino. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 33, sup. 2, p. 3421-3436, 2012.

REIS, C. B. M.; BARREIRO, J. R.; MESTIERI, L.; PORCIONATO, M. A. F.; SANTOS, M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **Veterinary Research**, v. 9, p. 67, 2013.

RIBAS, N. P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H. G.; ANDRADE, U. V. C. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 2343-2350, 2004.

ROSSI, A. P.; SILVA-KAZAMA, D. C. DA; LINO-LOURENÇO, D. A.; ANDRESSA, D.; SANTOS, F.S.; SANTOS, G.T.; DAMASCENO, J.C.; RIBAS NETO, P.G. Composição e qualidade do leite em função da fase e ordem de lactação. **Revista Colombiana de Ciência Animal**, v. 4, n. 1, p. 4-23, 2012.

SABEDOT, M. A.; POZZA, M. S. S. dos; POZZA, P. C.; ALMEIDA, R. Z. de; NUNES, R. V.; ECKSTEIN, I. I. Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras de leite *in natura*. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 14, n. 2, p. 101-106, jul./dez. 2011.

SALOMÃO, V. S. C. Influência de diferentes tipos de micro-organismos na contagem bacteriana total e de células somáticas por citometria de fluxo e na composição centesimal do leite cru. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

SANTOS, F. A. P; JUCHEN, S.O. **Nutrição de vacas de alta produção de leite**. Simpósio Internacional Sobre Produção de Bovinos Leiteiros. Fundação ABC. Carambeí – PR. Ago/2000.

SANTOS, M. V.; BOTARO, B. **A mastite e os outros fatores que afetam a CCS**. 2008. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em 19/11/2014.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, 2007. 314p.

SANTOS, M. V. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das células somáticas. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL J. A. B. (Org.). Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos. **Anais... Juiz de Fora**, v. 1, p. 139-149, 2003. Disponível em: < [http://cbql.com.br/biblioteca/diagnosticos-qualidade-leite/ Diagqualid139.pdf](http://cbql.com.br/biblioteca/diagnosticos-qualidade-leite/Diagqualid139.pdf) >. Acesso em: 15 dez. 2012.

SANTOS, M. V. **Leite com CCS elevada tem menor rendimento para a fabricação de queijo Mussarela**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/noticiaID=35209&actA=7&areaID=61&secaoID=180>>.2009. Acesso em 27 de abril de 2013.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of California Mastitis Test. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.130, n.5, p.199-207, 1957.

SEPLAN, Atlas Multirreferencial. Secretaria de Planejamento e Coordenação Geral, Fundação IBGE, 1990.

SICILIANO-JONES, J. L.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; DEFRAIN, J. M. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw Integrity, and fertility of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 91, n. 5, p. 1985-1995, 2008.

SILVA, J.F.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Livrocere, 1979. 380 p.

SILVA, L. A. F.; SILVA, C. A.; BORGES, J. R. J.; FIORAVANTI, M. C. S.; BORGES, G. T.; ATAYDE, I. B. A clinical trial to assess the use of sodium hypochlorite and oxytetracycline on the healing of digital dermatitis lesions in the cattle. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.46, n.4, p.345-348, 2005.

SILVA, L. F. P.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II-lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 330-333, 2000.

SINDIRAÇÕES. **Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal**. 3. ed. São Paulo: Sindirações/Anfal. 2009. 390 p.

SPSS Inc. Released 2008. **SPSS Statistics for Windows**, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.

VENTURA, R. V.; LEME, T. A. R. P.; MENDONÇA, L. C.; DIAS, M. S.; AMORIM, M. A. Contagem de células somáticas e seus efeitos nos constituintes do leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite, 2006. p. 187-189.

VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, G. T. DOS; ZAMBOM, M. A.RIBAS, N.P.; MÜLLER, E.E.; DAMASCENO, J.C.; ÍTAVO, L.C.V.; VEIGA, D.R. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 961-966, 2001.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se observar que a suplementação de zinco na dieta de vacas em lactação influenciou na contagem de células somáticas, ou seja, influenciou a qualidade do leite.

A correlação zinco (Zn) com a CCSlog foi negativa (-35,0%) e altamente significativa ($p < 0,01$) verificando-se, desta maneira, que maior dose de zinco reflete em menor CCSlog.

A suplementação com rações com 620 ppm de zinco é suficiente na redução significativa da contagem de células somáticas no leite de vacas com baixa produção de leite. É evidente que o teor de zinco suplementar, assim como a dieta, deve suprir as exigências nutricionais dos animais, considerando o seu estágio lactacional e produção de leite, ou seja, de acordo com cada rebanho em questão. Entretanto, os resultados obtidos neste experimento, podem servir de orientação para outros estudos.

Prevenção é a palavra-chave para o controle da mastite subclínica. Esse assunto merece especial atenção dos produtores de leite, pois por sua ocorrência não ser tão evidente como o da mastite clínica, pode resultar em prevalências mais altas, acarretando grande ônus para o sistema de produção de leite.

O uso da suplementação de minerais na dieta deve ser aplicado de maneira conjunta com as demais medidas de higiene e sanidade.

A suplementação de microminerais para vacas leiteiras, entre eles o zinco, é um tema de extrema importância. Representa mais uma opção de profilaxia à incidência de mastite, uma vez que está relacionada com a saúde da glândula mamária e como consequência com a qualidade do leite produzido.

5 IMPLICAÇÕES

Sabendo-se da grande importância do leite na alimentação humana e da necessidade fornecer um produto com boa qualidade aos consumidores, a mastite subclínica motivou a realização do presente estudo.

Salienta-se que a condução experimental teve como objetivo verificar possíveis efeitos da suplementação com zinco (na forma de sulfato) sobre a contagem de células somáticas, em vacas leiteiras com baixa produção de leite criadas em pastagem. Isso é relevante, pois grande parte do leite produzido e consumido no Brasil é proveniente de rebanhos com vacas leiteiras com baixa produção de leite, criadas em pastagens.

Além disso, outros fatores podem ser relacionados com a incidência de mastite subclínica e a contagem de células somáticas: condição climática regional, estação do ano, valor bromatológico do pasto, ingestão diária de nutrientes, estágio produtivo das vacas, produção de leite durante toda a lactação, agente etiológico causador da mastite e ausência do bezerro no momento da ordenha das vacas. Além do zinco, a suplementação com outros microminerais e os teores de minerais suplementares, também podem influenciar a saúde da glândula mamária, e conseqüentemente refletir na contagem de células somáticas.

Portanto, estes fatores podem ser temas importantes para novos estudos. Sugere-se ainda, estudos futuros, nos quais a variável unidades formadoras de colônia (UFC) do leite também seja estudada, devido a possível influência na composição do leite, em especial o teor de gordura no leite.

Cabe ressaltar que a produção de leite de cada animal, do presente estudo, não foi mensurada no decorrer de todo o experimento. Sabe-se que pode ocorrer concentração de células somáticas devido à menor produção de leite, principalmente no estágio final da lactação. Desse modo, a investigação desta variável permite maiores discussões dos resultados.

Já em relação à suplementação de microminerais, entre eles o zinco, mais estudos devem ser realizados sobre as quantidades fornecidas aos animais, principalmente em animais criados em pastagens. É necessário maior conhecimento sobre a resposta imunológica da glândula mamária de bovinos, para torná-las mais eficazes, para resultar na produção de leite em maior quantidade e, sobretudo com melhor qualidade.

ANEXOS

ANEXO

Normas da Revista Semina Ciências Agrárias

Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;

b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em "Docs Supl." na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos**... *Áreas de estudo*... 1. *Área rural*... 2. *Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos. Opcionalmente, as conclusões podem estar no final da discussão.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem spacejamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologias completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.

2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.

5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

6. *Numero de autores*: Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO.**
3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.**

Utilize o botão "incluir autor"

1. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação Cega por Pares.
2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.
2. **Efetuar o pagamento da Taxa de Submissão de artigos e anexar o comprovante como documento suplementar “Docs. Sup.”**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br