

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR EM TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

LILLIAN CRISTINE EVANOSKI
PRISCILA APARECIDA AVILA

**AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES DE CLORETOS
E CONTAGEM DE CELULAS SOMÁTICAS EM LEITE *IN NATURA***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2011

**LILLIAN CRISTINE EVANOSKI
PRISCILA APARECIDA AVILA**

**AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES DE CLORETOS
E CONTAGEM DE CELULAS SOMÁTICAS EM LEITE *IN NATURA***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, da Coordenação de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Luis Alberto Chavez Ayala

PONTA GROSSA

2011



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa

Diretoria de Graduação e Educação Profissional



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES DE CLORETOS E CONTAGEM DE CELULAS SOMÁTICAS EM LEITE *IN NATURA*

Lillian Cristine Evanoski e Priscila Aparecida Avila

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 9 de Novembro de 2011 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos no curso Superior em Tecnologia em Alimentos. Os candidatos foram arguidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Msc. Luis Alberto Chavez Ayala
Prof^o. Orientador

Prof. Dr. Ciro M. Zimmermann
Membro titular

Prof^a. Dra. Sabrina Avila Rodrigues
Membro titular

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nos iluminar em mais esta caminhada.

As Nossa Famílias, por todo apoio e compreensão.

Ao Prof. Msc. Luis Carlos Chavez Ayala, pelos ensinamentos e pela orientação.

A Julio Cesar Barszcz pelas orientações.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela formação.

À Empresa Lactobom, especialmente a Jandir Fausto Bombardelli, pela disponibilização do estudo, dos laboratórios e todo material necessário a essa pesquisa.

Ao Produtor de leite Marcio Braun, por permitir a coleta de todas as amostras em sua propriedade.

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento do presente trabalho, nosso muito obrigado!

RESUMO

EVANOSKI , Lillian Cristine; AVILA, Priscila Aparecida. **Avaliação de presença e ausência de cloretos em leite in natura relacionada a contagem de células somáticas em animais em lactação.** 2011. 36 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso Superior de Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2011.

O leite é um produto alimentar altamente perecível. Dentre os fatores responsáveis pelas alterações na composição e nas propriedades físico-químicas do leite, merecem destaque aquelas decorrentes das mastites. A presença de células somáticas elevadas no leite está associada com alterações nas concentrações de minerais do leite, afetando a qualidade do mesmo. O objetivo deste trabalho foi verificar a interferência de contagem de células somáticas (CCS) sob a presença e ausência de cloretos em leite in natura. Foram realizadas duas análises em um espaço de tempo de 15 dias, sendo realizada análise de CCS E pesquisa de cloretos. Os resultados da primeira coleta mostraram que 43,75% apresentaram resultado positivo para cloretos, sendo 71,43% relacionada à CCS acima de 300mil, e 28,57% com interferência de outros fatores. Na segunda coleta 37,50% apresentaram cloreto positivo, sendo 75% relacionada à CCS acima de 300mil, e 25% relacionados a outros interferentes. A presença ou ausência de cloretos em leite de vaca, não está associada a ações fraudulentas. A Pesquisa de cloretos não pode ser considerada um método confiável no diagnóstico da mastite sub clinica, devido a resultados falsos positivos

Palavras-chave: Leite. Cloretos. Contagem de células somáticas.

ABSTRACT

EVANOSKI , Lillian Cristine; AVILA, Priscila Aparecida. **Evaluation of presence and absence of chloride in raw milk related to somatic cell counts in lactating animals.** 2011. 36 leaves. Work Completion Degree in Food Technology, Federal Technological University of Parana. Ponta Grossa, 2011.

Milk is a highly perishable food product. Among the factors responsible for changes in composition and physicochemical properties of milk, worth mentioning those resulting from mastitis. The presence of high somatic cells in milk is associated with changes in concentrations of milk minerals, affecting the quality. The objective of this study was to evaluate the interference of somatic cell count (SCC) in the presence and absence of chloride in fresh milk. There were two tests in a span of 15 days, with analysis of CCS conducted research and chlorides. The results of the first sample showed that 43.75% were positive for chloride, and 71.43% related to CCS over 300mil, and 28.57% with interference from other factors. In the second collection chloride 37.50% were positive, 75% related to CCS over 300mil, and 25% related to other interferences. The presence or absence of chloride in milk from cows, is not associated with fraudulent actions. The Survey of chlorides can not be considered a reliable method for diagnosis of clinical mastitis due to false positive results.

Keywords: Milk. Chlorides. Somatic cell count

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Composição do leite de vaca	12
Figura 2	Ubere de animal da raça Holandesa	15
Figura 3	Alimentação dos animais em cochos	18
Figura 4	Ordenha mecânica	20
Figura 5	Frascos contendo bronopol	24
Figura 6	Tubos com reação de análise de cloretos	25
Figura 7	Análises de cloretos realizadas no estudo	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados de CCS e análises de cloretos na 1ª e 2ª coleta	26
Tabela 2	Resultados de análises de CCS, pesquisa de cloretos, lactação, período de lactação e identificação dos animais	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. OBJETIVO GERAL	11
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. LEITE	12
2.2. FRAUDES EM LEITE	13
2.3. CLORETOS EM LEITE	14
2.4. CARACTERÍSTICAS DO ANIMAL	15
2.4.1. RAÇA	15
2.4.2. ALIMENTAÇÃO	16
2.4.3. LACTAÇÃO	18
2.4.4. ORDENHA	19
2.5. CÉLULAS SOMÁTICAS	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. MATERIAIS	23
3.2. MÉTODOS	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5. CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

O leite é uma combinação de diversos elementos sólidos em água. Os elementos sólidos representam aproximadamente 12 a 13% do leite e a água, aproximadamente 87%. Os principais elementos sólidos do leite são lipídios (gordura), carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. Esses elementos, suas distribuições e interações são determinantes para a estrutura, propriedades funcionais e aptidão do leite para processamento. (EMBRAPA, 2007)

A busca pela qualidade na cadeia produtiva do leite no Brasil tem sido uma constante, as atividades de controle da qualidade do leite têm se restringido, basicamente, à prevenção de fraudes ou adulterações do produto *in natura*, mediante a adoção de parâmetros físico-químicos e critérios microbiológicos (BARSZCZ, 2005).

Um desses parâmetros é a determinação de cloretos que é freqüentemente realizada em indústrias de leite. A determinação de cloretos em leite é normalmente realizada por titulação com nitrato de prata.

A pesquisa do teor de cloretos no leite é um método utilizado para o controle de fraudes envolvendo adição de água e cloreto de sódio no leite, podendo ainda auxiliar no diagnóstico da mastite sub clínica. O íon cloreto está presente na circulação sangüínea e, durante os processos inflamatórios, atravessa os capilares venulares e direciona-se ao lúmen dos alvéolos da glândula mamária, devido ao aumento da permeabilidade vascular e a destruição das junções celulares e do sistema de bomba ativa (ZANINELLI; TANGORRA, 2007).

Além desses dois fatores que interferem no teor de cloretos no leite podemos citar ainda, clima, estágio e período de lactação do animal, fornecimento de suplementação mineral em proporção volumosa e o consumo de pastagem verde na fase inicial.

1.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a correlação entre análise de cloretos e contagem de células somáticas em leite *in natura*.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar se a afirmativa da Instrução normativa nº 51/2002 em relação a presença de cloretos em leite é apenas de ação fraudulenta do produtor;
- Verificar a correlação de contagem de células somáticas e a presença de cloretos;
- Verificar a influência da temperatura (°C) no momento da ordenha sobre a análise de cloretos;
- Verificar a correlação entre ausência de fraude e cloretos negativos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. LEITE

De acordo com o regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem Animal (RIISPOA), artigo 475, denomina-se leite sem outra especificação, o produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e interrupta de vacas sadias.

Fluido composto por uma série de nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores derivados da alimentação e do metabolismo. Os componentes incluem água, açúcares (basicamente lactose), gordura, proteína (principalmente caseína e albumina), minerais e vitaminas, como apresentado na figura 1. (CORREIRA, 2010).

Segundo Correia (2010), a composição do leite bovino varia de acordo com diversos fatores como, rebanho, região, ano, mês, período de conservação da amostra e escore de células somáticas. No entanto, além destas variações, a espécie animal, raça, período de ordenha e estágio de lactação também podem alterar a composição do leite.



Figura 1 – Composição do leite de vaca.
Fonte: Venturini, 2007

A Instrução Normativa nº 51/2002 foi criada para melhorar a qualidade do leite produzido no Brasil, estabelecendo critérios de higiene, manejo sanitário, armazenamento, transporte do leite, além de parâmetros para avaliação da qualidade como detecção de fraudes.

2.2. FRAUDES EM LEITE

No Brasil, as atividades de controle da qualidade do leite têm se restringindo, basicamente, à prevenção de fraudes ou adulterações do produto *in natura*, mediante a adoção de parâmetros físico-químicos, como acidez, densidade a 15°C, índice crioscópico, percentual de gordura e de extrato seco desengordurado (ESD), teste de cloretos e outros (QUEIJOS NO BRASIL, 2010).

O teste de cloretos quando realizado no leite, assume importância no controle de qualidade do produto destinado ao consumo humano. Sabe-se que, além de detectar a fraude por adição de sal, permite identificação da mistura de leite mastítico com leite de fêmeas sadias. (TONIN e FILHO, 2002).

O cloreto de sódio é utilizado como meio de reconstituir a densidade do leite fraudado com água (LEOPOLDINO, 2008).

A determinação de fraude no leite por adição de água é a aplicação mais usual da crioscopia em laticínios, realizado no crioscópio, no qual a amostra do leite é congelada e o ponto de congelamento é lido em um termômetro muito preciso. Os valores devem ser superiores a $-0,530^{\circ}\text{H}$ (Horvert) (EMBRAPA,2007).

A determinação de fraude no leite por adição de cloretos é realizada por reação química, a qual fundamenta-se na precipitação dos cloretos sob a forma de cloreto de prata, que em presença de cromato de potássio como indicador, em resultado negativo, formará precipitado vermelho-tijolo (CIENCIA DO LEITE,2011).

2.3. CLORETOS EM LEITE

O Sódio é um elemento de origem mineral que unido a outro elemento, cloro, forma o cloreto de sódio, ou sal, como o conhecemos de forma comum, sendo muito utilizado na alimentação animal (ALIMENTAÇÃO SAUDAVEL, 2008).

O cloreto de sódio é imprescindível na vida dos animais em lactação, pois desempenham papel importante no metabolismo, sendo geralmente o único mineral que os pequenos criadores fornecem ao gado. A adição desse mineral é muito importante, pois a quantidade de cloreto de sódio encontrada nas forragens é quase sempre insuficiente para as necessidades fisiológicas do animal (AGRIPECUS).

Nos animais em lactação saudáveis, os íons cloretos são metabolizados e não são permeabilizados no leite. A passagem dos cloretos para o leite somente ocorrerá durante processos inflamatórios, como a mastite sub clínica, devido as alterações das células secretoras (ZAFALON et al , 2005).

Durante os processos inflamatórios, as paredes dos vasos sanguíneos ficam mais permeáveis, permitindo que diversas substâncias, como íons de sódio e cloro, passem para o leite, aumentando assim sua concentração (CPT, 2011).

Portanto a pesquisa do teor de cloretos em leite pode ser utilizada como um dos métodos auxiliares no diagnóstico da mastite sub clínica (ZAFALON,2005). Além das alterações patológicas, outros fatores podem influenciar no teor de cloretos no leite, tais como diferenças individuais, número de lactações, variações diurnas, estágio de lactação e sazonalidade. A não consideração desses pode resultar em testes com resultados falso-positivos, com graves consequências econômicas, representadas principalmente por tratamentos desnecessários e pelo descarte do leite (NADER & TONIN,2002).

A concentração do íon cloreto no leite proveniente de vacas saudáveis oscila entre 800 e 1200 mg/L, podendo contudo aumentar para valores muito superiores em leites provenientes de vacas com mastite. O valor de 1400mg/L é normalmente usado como limite entre leite normal e adulterado. (LIMA et al, 2000)

Segundo a IN nº 51/2002, quando realizada análise qualitativa de cloretos em leite, esse resultado deve ser ausente sem reações de íons de cloretos.

2.4. CARACTERÍSTICAS DO ANIMAL

2.4.1. Raça

A raça Holandesa também é conhecida em todo o mundo como Holstein Frisian. Sua principal característica, que a destaca em relação às demais raças, é a sua excelente capacidade leiteira, fazendo com que seja considerada uma das melhores raças leiteiras de todo o mundo, podendo atingir mais de 50 litros de leite por dia, em três a quatro ordenhas. O seu leite, em geral, apresenta pouca gordura, com uma média de 3% desse produto (OLEITE, 2010).

O gado holandês apresenta úbere bem formado com tetas simétricas, macias, flácidas e separadas (figura 2). A rede venosa é aparente, abundante; veia mamária sinuosa, ramificada, volumosa e com grande orifício de inserção. Apresenta uma boa rede de irrigação do úbere, o que é importante para a produção leiteira (OLEITE, 2010).



Figura 2 – Úbere de animal da raça Holandesa

Fonte: OLEITE 2005

O peso de uma vaca holandesa em lactação pode variar de 550 a 600kg, a idade para o primeiro parto varia de vinte e cinco a vinte e sete meses e o tempo de gestação leva em média 280 dias (GADO HOLÂNDESE, 2008).

A faixa da zona de conforto térmico para vacas holandesas em lactação, em função da umidade relativa do ar e radiação solar, pode ser restringida de 7°C a 21°C. A zona de conforto térmico ou termoneutralidade é determinada pela faixa de temperatura efetiva ambiental, na qual o animal mantém constante sua temperatura corporal entre 38,6°C e 39,3°C, com mínimo esforço dos mecanismos termorregulatórios (GADO HOLÂNDES, 2008).

2.4.2. Alimentação

A exigência diária em nutrientes e energia pelo animal é determinada pelo seu nível de produção, pelo seu peso corporal, seu estágio fisiológico e pela interação com o ambiente (ambiente climático, instalações e equipamentos, manejo, tipo de alimento) (MARTINEZ, 2010).

Quando se pensa em alimentação de bovinos leiteiros, imediatamente deve-se ter em mente que esses animais necessitam, na composição de sua dieta, de água, volumosos, concentrados, suplementos, vitamínicos e minerais. O equilíbrio entre esses fatores fará com que os animais exteriorizem todo o potencial produtivo que possuem (BRITO, 2009).

Os alimentos volumosos são aqueles de baixo teor energético, com altos teores de fibra. Podem ser divididos em secos e úmidos. Os mais usados para os bovinos são as pastagens nativas ou artificiais, capineiras (capim elefante), silagens (capim, milho, sorgo), cana-de-açúcar, bagaço de cana hidrolisado e fenos de gramíneas (BRITO, 2009).

Na época da estação seca, onde os pastos já estão ruins, se faz um manejo alimentar intensivo, isto é, o volumoso disponível na fazenda, será fornecido em cochos (figura 3), em geral será de 2,5-3,0% do peso vivo do animal (FILHO, 2006).

Os alimentos concentrados (farelos, grãos) são aqueles com menos de 18% de fibra bruta e alto teor de energia (mais de 60% de nutrientes digestivos totais) e podem ser divididos em concentrados energéticos e protéicos. Os concentrados energéticos possuem menos de 20% de proteína bruta como o milho e o sorgo, já os concentrados protéicos possuem mais de 20% de proteína bruta como exemplo podemos citar farelo de soja, farelo de algodão, de peixe e carne. Em geral, eles

possuem 85 a 95% de matéria seca. A sua fração de energia compreende, principalmente, o amido, seguido de açúcares mais simples e das gorduras (BRITO, 2009).

Todas as vitaminas e minerais essenciais são necessárias para a reprodução, devido às suas funções no metabolismo, manutenção e crescimento (FUCK, 2007).

Muitas pastagens cultivadas no Brasil, são deficientes em fósforo (P), zinco (Zn), cobre (Cu), cobalto (Co), iodo (I), sódio (Na) e selênio (Se), o que ocasiona redução no consumo e no aproveitamento do alimento fornecido ao animal; assim, os transtornos reprodutivos são causados indiretamente (BARCELOS, 2010).

Em vacas leiteiras, o fornecimento de sal mineral tem como prioridade a melhora no desempenho reprodutivo, que consiste na diminuição do intervalo entre partos e aumento na taxa de concepção. Além dos efeitos na reprodução, aumenta a produção e o consumo de alimento pelos animais, melhorando a qualidade do leite (BARCELOS, 2010).

É recomendável que os animais sejam alimentados de acordo com suas exigências nutricionais, evitando deficiência ou mesmo excesso em seu fornecimento (BRITO, 2009).

Estudos indicam que em média, para cada litro de leite produzido, a vaca precisa ingerir de 2 a 4 litros de água. Em um litro de leite contém 87% de água, portanto garantir que o animal tenha acesso a água com quantidade e qualidade satisfatória torna-se extremamente necessário, para se alcançar elevada produção leiteira (CARARETO, 2011).

O aumento da temperatura ambiente eleva o consumo de água, sendo de 27 a 30°C a faixa em que ocorre diferença marcante de consumo. O aumento da umidade relativa do ar, diminui o consumo de água, reduzindo a evaporação corporal. Dietas com alto conteúdo de fibra indigestível promovem grandes perdas de água nas fezes, o que aumenta a ingestão de água (NUNES, 1998).

A água participa de vários processos vitais como o transporte de nutrientes, controle da temperatura (por isso é muito importante em dias de elevadas temperaturas), solventes para transporte de excrementos, nutrientes e ainda manutenção do balanço de íons e fluídos (BRITO, 2009).



Figura 3 – Alimentação dos animais em cochos
Fonte: do autor,2011

2.4.3. Lactação

O sistema mamário da vaca é um órgão complexo que foi desenvolvido para utilizar os nutrientes absorvidos no trato gastrointestinal ou das reservas corporais do animal. Esses nutrientes encontram-se disponíveis na corrente sangüínea para a síntese de leite pela glândula mamária (VEIGA, 2001).

O úbere é a glândula mamária das vacas, sendo o local onde o leite é produzido. Essas glândulas são compostas por um grande número de células responsáveis pela secreção do leite. O úbere é dividido em quatro quartos ou quatro glândulas mamárias sendo as anteriores responsáveis pela produção de aproximadamente 40% do leite e os 60% restantes produzidos pelas posteriores (VENTURINI, 2007).

O peso do úbere é variável, e no caso da vaca em lactação é de 14 a 32 kg (SILVA, 1997).

A síntese de leite requer uma grande quantidade de nutrientes, os quais têm origem na corrente sangüínea. Para cada litro de leite produzido, estima-se que seja necessário o bombeamento de aproximadamente 500 litros de sangue para a glândula mamária. O suprimento sangüíneo da glândula mamária aumenta

rapidamente após o início da lactação, ocorrendo também um aumento de duas a seis vezes no fluxo sanguíneo para a glândula mamária no terceiro dia após o parto (VEIGA, 2001).

A secreção do leite é feita pelas células epiteliais que revestem os alvéolos mamários. Estas células sintetizam e secretam as proteínas e a gordura do leite (VEIGA, 2001).

A ejeção do leite é a resposta ao estímulo da mamada do bezerro, massagem manual dos tetos ou com equipamento mecânico (ordenhadeira). Trata-se de um reflexo inato, isto é, uma resposta involuntária, inerente ao animal. Da estimulação pelo tato até o aumento da pressão intra-mamária transcorrem trinta a sessenta segundos. Esta ação hormonal tem uma curta duração, de cinco a sete minutos, por isso deve-se dar importância para colocar as teteiras o mais rápido possível após ter ocorrido o estímulo, caso contrário o efeito hormonal desaparece, deixando leite residual (VENTURINI, 2007).

No início da lactação o leite secretado é o colostro, uma rica fonte de nutrientes, especialmente de vitamina A, lipídios e proteínas. O colostro além de nutrir a cria, protege contra os agentes infecciosos (MORAES, 2002).

A produção de leite tende a aumentar nas primeiras três a oito semanas de lactação e então começa a declinar lentamente até o final da mesma. O período de lactação ideal é de 305 dias. A maioria das vacas estará seca após 305 dias de período de lactação. (SILVA, 1997).

2.4.4. Ordenha

Considera-se ordenha o ato de realizar a extração do leite da glândula mamária, podendo ser feita de forma manual quando realizada pelo ordenhador, mecânica quando utilizada ordenhadeira (figura 4) ou então pelo bezerro no caso da amamentação. É uma prática que deve ser efetuada com cuidados, pois dependendo das condições com que é executada, proporcionará a obtenção de maior quantidade e qualidade do produto (NETTO, 2006).



Figura 4 – Ordenha mecânica
Fonte: CPT 2010

O local onde é realizada a ordenha deve ser projetado de forma que as vacas fiquem bem acomodadas e tranqüilas, além de ser higiênico e oferecer segurança e de preferência em horários fixos e períodos com temperatura mais amena (ROSA, 2009).

O correto manejo de ordenha inclui procedimentos de desinfecção dos tetos antes da ordenha, estimulação da ejeção do leite, extração eficiente e rápida do leite e desinfecção dos tetos após a ordenha (VEIGA, 2001).

O manejo de ordenha é de extrema importância para o controle de mastite independente do tamanho do rebanho ou do tipo de equipamento de ordenha. Além de reduzir o risco de novas infecções intra-mamárias, tem a função de promover um bom estímulo de ejeção do leite para que se tenha uma ordenha completa, rápida e com baixo risco de lesões aos tetos das vacas (VEIGA, 2001).

Antes de realizar a ordenha propriamente dita deve ocorrer o “teste da caneca”, realizado em caneca de fundo preto, que consiste em avaliar a formação de grumos dos primeiros jatos de leite, sendo uma prática necessária para auxiliar a detecção de mastite clínica (EMBRAPA,2007). Após o fluxo de leite ter cessado a

ordenha pode ser retirada, pois além de causar desconforto para o animal, a incidência de mastite pode aumentar (ZAFALON, 2008).

2.5. CÉLULAS SOMÁTICAS

A mastite é definida como uma inflamação da glândula mamária, a qual na sua grande maioria tem origem bacteriana. Esta resposta inflamatória da glândula mamária apresenta como consequência direta o aumento no número de leucócitos de origem do sangue que são transportados para dentro do lúmen alveolar. Desta forma, o termo células somáticas no leite é utilizado para designar todas as células presentes no leite, que incluem as células de origem do sangue (leucócitos) e células de descamação do epitélio glandular secretor (VEIGA, 2001).

As infecções da glândula mamária podem apresentar-se sob duas formas, a clínica e a sub clínica. A clínica é a que apresenta sinais evidentes, tais como edema, hipertermia, endurecimento e dor da glândula mamária e ou aparecimento de grumos de pus ou outras alterações das características do leite (PELEGRINO, 2008).

Epidemiologicamente, a forma sub clínica é mais importante, pois pode permanecer silenciosa no rebanho, sem alterações macroscópicas do úbere e secreção (ZAFALON, 2005).

Os seus efeitos na composição do leite são significativos, embora o leite possa parecer normal ao exame visual, ele apresenta a CCS elevada. A lactose pode estar reduzida em 5 a 20%, enquanto que a principal proteína do leite, a caseína, pode estar diminuída em 6 a 18%, e os sólidos totais têm um decréscimo de 3 a 12%. O conteúdo em minerais também se encontra alterado, já que minerais como cálcio, fósforo e potássio estão diminuídos, enquanto o sódio e cloro estão aumentados (ELIAS et al, 2005).

A contagem eletrônica de células somáticas (CECS) de animais individuais ou do tanque de expansão tem sido utilizada em países desenvolvidos há mais de 25 anos, desde o surgimento de equipamentos eletrônicos que tornou esta prática acessível aos produtores (VEIGA, 2001).

Segundo VEIGA, 2001 a CCS do leite normal de origem de animais sadios é normalmente menor que 300.000 células por ml de leite. Entretanto, quando há invasão do úbere por bactérias os níveis estão acima de 300.000 células/ml indicando uma condição anormal no úbere.

Segundo a Instrução normativa nº 51/2002, os limites aceitáveis para contagem de células somáticas deve ser de no máximo 750.000 células/mL.

A presença de células somáticas elevadas no leite está associada com alterações nas concentrações de minerais do leite, afetando significativamente a qualidade do leite e dos derivados lácteos. O potássio, que é o mineral mais abundante no leite, sofre diminuição devido a sua passagem do leite para o sangue através do epitélio lesado. De maneira inversa, o sódio e o cloro encontram-se aumentados, uma vez que as concentrações no sangue são normalmente maiores que as do leite (VEIGA, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

As amostras de leite utilizadas no presente estudo foram cedidas por um produtor de leite da região de Teixeira Soares (PR) com uma produção aproximada de 500 litros/dia, e é de conhecimento que o mesmo não tem prática fraudulenta de adição de água e sal ao leite de sua propriedade.

A realização das análises de cloretos e outras foram realizadas nas dependências da empresa Lactobom, assim como a análise de células somáticas foi financiada pela mesma.

Em julho de 2011 foram coletadas amostras de leite de 32 vacas da raça holandesa, as quais são submetidas à ordenha mecânica duas vezes ao dia.

Foram realizadas duas análises no mês, num espaço de tempo de 15 dias, sendo realizada a primeira coleta das amostras na ordenha da manhã por volta das 6 horas, e a segunda coleta das amostras na ordenha da tarde, as 17 horas.

Além da coleta das amostras, foram coletados dados como estágio de lactação, período de lactação, ordenha e temperatura naquele dia.

3.2. MÉTODOS

As amostras foram coletadas após higienização e eliminação dos primeiros quatro jatos, para que não apresentassem interferentes no estudo.

Foram coletadas 64 amostras em recipientes apropriados e limpos, sendo 32 para realização de pesquisa de cloretos e 32 amostras para análise de contagem de células somáticas.

A coleta para análise de células somáticas foi realizada em frascos contendo bronopol, conservante utilizado para garantir a integridade da amostra, desde a coleta até a realização da análise (figura 5).



Figura 5 – Frascos contendo bronopol
Fonte: do autor,2011

As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo. As análises de cloreto foram realizadas na empresa Lactobom, já as amostras para contagem de células somáticas foram encaminhadas para o Laboratório da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), cuja técnica utilizada é por método de citometria de fluxo.

A metodologia utilizada na pesquisa de cloretos foi segundo a Instrução Normativa n° 68/2006, sendo realizada a partir de 10 mL da amostra, colocadas em tubos de ensaio e adicionado 0,5 mL de solução de cromato de potássio a 5 % e 4,5 mL de solução de nitrato de prata 0,1 N, sob agitação.

O resultado negativo apresentava coloração marrom tijolo, já o resultado positivo, coloração amarela, o qual indica a presença de cloretos em quantidades superiores à faixa normal (0,07 a 0,1 %) (figura 6).



Figura 6 - Tubos com reação de análise de cloretos
Fonte: do autor, 2011

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta os resultados de contagem de células somáticas e da pesquisa de cloretos na 1ª e 2ª coleta. Para interpretação dos resultados de cloretos, P indica presença de cloretos e N, ausência de cloretos. Para contagem de células somáticas, os valores acima de 300 mil segundo Marcos Veiga 2011, já apresentam indicativo de contaminação do úbere por mastite.

Tabela 1 – Resultados de CCS e análises de cloretos na 1ª e 2ª coleta

Identificação do animal	1ª Coleta		2ª Coleta	
	CCS (X1000/mL)	Análise de cloreto	CCS (X1000/mL)	Análise de cloreto
1	11	P	13	N
2	127	P	116	P
3	2031	P	2303	P
4	1985	N	3333	N
5	133	N	1375	N
6	2525	P	9500	P
7	312	P	3836	P
8	9	N	9	N
9	10	N	9	N
10	106	N	506	N
11	10	N	5	N
12	10	N	11	N
13	10	N	13	N
14	182	N	24	N
15	11	N	10	N
16	2	N	31	N
17	17	N	5	N
18	60	N	235	N
19	173	N	62	N
20	2	N	23	N
21	2791	P	572	P
22	1044	P	1812	P
23	535	N	286	N
24	705	P	98	P
25	885	P	522	P

26	2883	P	2297	P
27	222	P	260	P
28	13	P	19	N
29	438	P	5910	P
30	3058	P	8174	P
31	89	N	47	N
32	19	N	24	N

Os resultados na 1ª coleta mostraram que 43,75%(14 vacas) apresentaram resultado positivo para cloretos, sendo 71,43%(10 vacas) relacionados a CCS acima de 300mil, e 28,57%(4vacas) com interferência de outros fatores.

Na segunda coleta 37,50%(12 vacas) apresentaram cloreto positivo, sendo 75%(9 vacas) relacionada a CCS acima de 300mil, e 25%(3 vacas) relacionados a outros interferentes.

Os animais com interferência de CCS, foram os mesmos na 1ª e 2ª coleta, exceto do animal nº 24, que teve redução na CCS, porém apresentou resultado positivo para cloretos, tendo interferência de outros fatores nesse resultado.

Os animais que apresentaram valores de CSS superiores a 300 mil nas duas coletas caracterizam-se em estado de mastite com presença de cloretos. Quando avaliada a condição de CCS verifica a tendência em apresentar esse resultado. Esses resultados segundo TONIN 2002, ocorrem durante processos inflamatórios da glândula mamária, onde os íons cloretos atravessam os capilares aumentando, sua concentração no leite. Tal situação ocorre em função do aumento da permeabilidade vascular, em função da destruição de parte das células secretoras.

Em estudos realizados por Zafalon, 2005 e Gomes et al 2005, a concentração elevada dos íons cloro, sódio ao leite é indicativo de alteração capilar dos alvéolos, aumentando a concentração dos íons cloro e sódio no leite. E ainda confirmam a sensibilidade de cloretos em quartos mamários com presença de mastite sub-clínica, podendo a análise de cloretos ser utilizada como um método auxiliar de detecção de rebanhos acometidos por mastite.

Segundo o Nascimento et al 2007, os íons de cloreto e sódio são transportados pelas células da glândula mamária a partir do sangue em condições normais, entretanto quando as células secretoras estão lesionadas, esses íons são

transmitidos para o leite. Por isso afirma-se que detecção de cloretos pode ser utilizada no diagnóstico de mastite.

Em relação aos resultados positivos de cloretos sem interferência de CCS, verificou-se que ocorreu a presença de cloretos em animais com CCS baixa, estando no mínimo na 3ª lactação e acima de 40 dias de secreção de leite, confirmando a interferência de características individuais de cada animal ou de outros fatores.

Na 1ª coleta eram 14 animais com cloretos positivos, e na 2ª segunda 12 animais, essa redução de 2 animais com CCS baixa, pode ter ocorrido devido a interferência de variações climáticas, pois a 1ª coleta foi procedida na ordenha da manhã, onde a temperatura relativa do ar estava amena (15°C), já na 2ª coleta foi realizada na ordenha da tarde onde a temperatura estava mais elevada (24°C). Esse fato já foi verificado por Marcos Veiga 2001, que em temperatura elevadas, os animais tendem a consumir maiores quantidades de água, contudo, eliminam diversas substâncias do organismo pelo suor, urina e saliva, podendo assim eliminar sais em excesso.

E por fim FILHO, 2001, afirma que além das alterações patológicas, outros fatores podem influenciar no teor de cloretos presente no leite, tais como diferenças individuais, número de lactações, variações diurnas, estágio de lactação e sazonalidade.

Quando avaliada a CCS em relação a presença de cloretos, verifica-se na 1ª coleta que 37,50%(12animais), apresentam CCS acima de 300 mil, sendo 83,33%(10 animais) com presença de cloretos e 16,67%(2 animais) com ausência de cloretos.

Já na 2ª coleta, verificou-se 37,50%(12 animais) das amostras com CCS acima de 300 mil, sendo 75%(9 animais) com presença de cloretos e 25 %(3 animais) com ausência de cloretos.

Quando avaliada sobre o prisma de CCS X Cloretos, nem sempre a CCS elevada pode apresentar resultados positivos para cloretos, podendo assim ser um teste falso positivo na avaliação da mastite sub clínica.

Um dos principais fatores é a contagem de células somáticas elevada nos animais, e ainda podem existir demais interferentes principalmente características

individuais de cada animal, além de fatores climáticos, sazonalidade, estágio e período de lactação.

A literatura científica atual sobre cloretos ainda não é completa, mas o que se tem relatado até hoje demonstrou de forma bastante conclusiva a importância dessa análise tanto nos laticínios como na propriedade de leite.

Tratando-se da importância da presença de cloretos, esse tema poderia ser maior explorado, realizando um estudo mais aprofundado, por um período de tempo maior, para que se avalie interferências de sazonalidade, variações climáticas intensas e todo o período de lactação do animal.

A Figura 7 apresenta tubos de ensaios contendo as amostras de leite, após a análise de cloretos.



Figura 7 – Análises de cloretos realizadas no estudo.

Fonte: do autor,2011

5. CONCLUSÃO

Nesse estudo foi possível concluir que a presença ou ausência de cloretos em leite de vaca, não está associada a ações fraudulentas, conforme menciona a legislação vigente. Está relacionada a outros fatores que poderiam ser melhores investigados na propriedade leiteira.

A pesquisa de cloretos não pode ser considerada um método confiável no diagnóstico da mastite sub clínica, devido a resultados falsos positivos.

A correlação de cloretos positivos e contagem elevada de células somáticas é relevante, porém a presença de cloretos pode estar associada a outros interferentes tais como: hora da ordenha, clima, características individuais dos animais, lactações.

REFERÊNCIAS

AGRIPECUS. **O sal na alimentação diária dos animais.** Disponível em: <<http://www.agripecus.com.br>> Acesso 10 Out, 2011.

ALIMENTAÇÃO SAUDÁVEL. **Sódio.** 2008. Disponível em: <<http://www.alimentaosaudavel.org/sodio>>. Acesso 10 Out,2011

BARBOSA, P.F.; et al. **Vacas em lactação.** Disponível em: <<http://www.emprapa.br>>. Acesso em 13 Jul, 2011.

BARCELOS, V.B; **Suplementação mineral e transtornos reprodutivos em vacas leiteiras.** Disponível em:<<http://www.ufpel.edu.br>>. Acesso em 25 de setembro de 2011.

BARSZCZ, J.C.; LIMA, I.A.; KOVALESKI, J.L. **A qualidade do leite com base na contagem de células somáticas e na instrução normativa nº. 51.** XXV Encontro Nac. de Eng. de Produção – Porto Alegre, RS, Brasil, 29 out a 01 de nov de 2005.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. (2002) – **Instrução Normativa nº. 51** de 12 de julho de 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 13 de julho de 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de origem animal – RIISPOA, artigo 475.** DISPONÍVEL em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 29 Out,2011.

BRITO, J. R.; et al. **Qualidade higiênica do leite.** Disponível em:<<http://www.emprapa.br>>. Acesso em 22 de jul, 2011.

BRITO,A.S.; et al. **Bovino cultura leiteira informações técnicas e de gestão.** Disponível em:<<http://www.sebrai.com.br>>. Acesso em 7 de setembro de 2011.

CARARETO, R. **Água o nutriente esquecido.** Disponível em: <http://www.milkproduction.com>>. Acesso em 29 de setembro de 2011.

CIÊNCIA DO LEITE. **Teste de Cloretos no Leite - Prova quantitativa.** 2011. Disponível em <<http://www.cienciadoleite.com.br>>. Acesso em 10 Out,2011

COLDEBELLA, A.; et al. **Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas.** n.3, p.623-634, 2004 Disponível em:<<http://www.scielo.br>>. Acesso em 13 de jul, 2011.

CORRÊA, A.M. **Variação na produção e qualidade do leite de vacas da raça holandesa em função da ordem de parto.** Disponível em:<<http://www.holandeparana.com.br>>. Acesso em 4 agost, 2011.

ELIAS, A.O.; VICTORIA, C.; DA SILVA, A.V.; LANGONI, H. **Características físico-químicas e contagem de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus spp.*** Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR, p. 165-170, 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Crioscopia.** 2005-2007. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em 17 Set,2011.

ENGENHARIA DA SAÚDE PÚBLICA. **Manual prático de análise de água.** Disponível em:<<http://www.funasa.gov.br>>. Acesso em 25 de agosto de 2011.

FILHO, C.V. **Manejo de leiteiros bovinos adultos.** Disponível em:<<http://www.foa.unesp.br>>. Acesso em 3 set, 2011.

FUCK, E.J; **Fatores nutricionais na reprodução de vacas leiteiras.** Disponível em:<<http://www.uem.com.br>>. Acesso em 1 outubro de 2011.

GADO HOLANDÊS. **A raça holandesa.** Disponível em:<<http://www.gadoholandes.com.br>>. Acesso em 20 de setembro de 2011.

LEOPOLDINO K. J. M. **Determinação físico-química do leite pasteurizado da usina do ctq do queijo cefet/uned/currais novos-RN.** Currais Novos – RN Janeiro/2008.

LIMA J. F. L. C. et al. **Uso de um detector potenciométrico de sensibilidade aumentada para a determinação de cloretos em leite e produtos lácteos por FIA.** Ciencia y Tecnología Alimentaria, Vol 2, Nº 5. pp. 234-239, 2000.

MORAIS, I.A. **Glândulas mamárias.** Disponível em:<<http://www.nupea.esalq.usp.br>>. Acesso em 20 de setembro de 2011.

MÜLLER, E.E. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite.** Disponível em:<<http://www.nupel.uem.br>>. Acesso em 1 de agosto, 2011.

NETTO, F.G.; et al. **A ordenha da vaca leiteira.** Disponível em:<<http://www.embrapa.br>>. Acesso em 8 de setembro de 2011.

NORO,G. Síntese da secreção do leite. Disponível em:<<http://www.ufrgs.com.br>>. Acesso em 20 de setembro de 2011.

O LEITE. **Gado da raça holandesa: maior produtora de leite.** Disponível em:<<http://www.oleite.com.br>>.Acesso em 13 set, 2011.

PELEGRINO et al, **Mastite em vacas leiteiras.** Revista científica eletrônica de medicina veterinária – issn: 1679-7353. Ano VI – Número 10 – Janeiro de 2008 – Periódicos Semestral.

PIRES, M.F.; et al **Comportamento alimentar de vacas holandesas em sistemas de pastagens ou em confinamento.** Disponível em:< <http://www.cnpqgl.embrapa.br> >. Acesso em 4 set, 2011.

QUEIJOS NO BRASIL. **Obtenção de leite de qualidade.** Disponível em: <<http://www.queijosnobrasil.com.br>>. Acesso em 25 set,2011.

RODRIGUES, M.P.; et al. **Curvas de lactação em vacas leiteiras.** Disponível em:<<http://www.nucleoestudo.ufba.br> >. Acesso em 8 agost, 2011.

ROSA, M.S. **Boas práticas de manejo.** Disponível em:<<http://www.funep.gov.br>>. Acesso em 25 de agosto de 2011.

SILVA, P.H. **Leite aspecto de composição e propriedades.** Disponível em:<<http://www.químicaesociedade.com>>. Acesso em 20 de setembro de 2011.

TONIN F. B. , FILHO N. A. **Influência do estágio de lactação, hora e número de ordenhas sobre o teor de cloretos no leite caprino.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.54 no.1 Belo Horizonte Fev. 2002.

TRISTÃO, P. **Mastite x qualidade do leite.** Artigo publicado em 30 Mar,2011 Disponível em <<http://www.cpt.com.br>>. Acesso em 22 Out,2011.

VEIGA et al, **Estratégias para redução de células somáticas no leite. Requisitos de qualidade na bovinocultura leiteira** – Anais do 6º simpósio sobre bovinocultura leiteira. 6ª edição. Piracicaba-SP: FEALQ, 2008. V.1, p. 65-80.

VEIGA, M S., FONSECA L.F.L. **Qualidade do leite e controle de mastite** 2ª ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2001, v.01. p.176.

VENTURINI, K. S.; et al. **Obtenção do leite.** Disponível em:<<http://ww.uff.br>>. Acesso em 20 de setembro de 2011.

VENTURINI K. S.; SARCINELLI M. F. ; SILVA L. C. de ; **Características do Leite.** Boletim Técnico - PIE-UFES:01007 - Editado: 26.08.2007. Disponível em http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf acessado em 30/11/11.

ZAFALON, L.F.; et al. **Boas práticas de ordenha.** Disponível em:<<http://www.agrozootec.com.br/>>. Acesso em 8 set, 2011.

ZAFALON, L.F.; et al **Alterações da composição e da produção de leite oriundo de Quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.72, n.4, p.419-426, out./dez., 2005.

ZAFALON, L.F.; et al **Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina.** Pesq. Vet. Bras. 25(3):159-163, jul./set. 2005.

ANEXO A - Resultados de análises de contagem e células somáticas, pesquisa de cloretos, lactação, período de lactação e identificação dos animais

Tabela 2 – Resultados de análises de CCS, pesquisa de cloretos, lactação, período de lactação e identificação dos animais

Nº do Animal	Lactação	1ª coleta			2ª coleta		
		Período de lactação	CCS (X1000/mL)	Análise de cloreto	Período de lactação	CCS (X1000/mL)	Análise de cloreto
1	6ª	40 dias	11	Positivo	55 dias	13	Negativo
2	4ª	80 dias	127	Positivo	95 dias	116	Positivo
3	8ª	200 dias	2031	Positivo	215 dias	2303	Positivo
4	5ª	120 dias	1985	Negativo	135 dias	3333	Negativo
5	3ª	100 dias	133	Negativo	115 dias	1375	Negativo
6	3ª	60 dias	2525	Positivo	75 dias	9500	Positivo
7	3ª	50 dias	312	Positivo	65 dias	3836	Positivo
8	2ª	90 dias	9	Negativo	105 dias	9	Negativo
9	2ª	100 dias	10	Negativo	115 dias	9	Negativo
10	2ª	200 dias	106	Negativo	215 dias	506	Negativo
11	1ª	90 dias	10	Negativo	105 dias	5	Negativo
12	1ª	150 dias	10	Negativo	165 dias	11	Negativo
13	2ª	65 dias	10	Negativo	80 dias	13	Negativo
14	1ª	160 dias	182	Negativo	175 dias	24	Negativo
15	1ª	90 dias	11	Negativo	105 dias	10	Negativo
16	1ª	110 dias	2	Negativo	125 dias	31	Negativo
17	1ª	130 dias	17	Negativo	145 dias	5	Negativo
18	2ª	100 dias	60	Negativo	115 dias	235	Negativo
19	2ª	140 dias	173	Negativo	155 dias	62	Negativo
20	5ª	270 dias	2	Negativo	285 dias	23	Negativo
21	5ª	20 dias	2791	Positivo	35 dias	572	Positivo
22	7ª	230 dias	1044	Positivo	245 dias	1812	Positivo
23	6ª	290 dias	535	Negativo	305 dias	286	Negativo
24	5ª	45 dias	705	Positivo	60 dias	98	Positivo
25	5ª	35 dias	885	Positivo	50 dias	522	Positivo
26	6ª	30 dias	2883	Positivo	45 dias	2297	Positivo
27	4ª	240 dias	222	Positivo	255 dias	260	Positivo
28	3ª	70 dias	13	Positivo	85 dias	19	Negativo
29	5ª	90 dias	438	Positivo	105 dias	5910	Positivo
30	4ª	80 dias	3058	Positivo	95 dias	8174	Positivo
31	3ª	80 dias	89	Negativo	95 dias	47	Negativo
32	1ª	120 dias	19	Negativo	135 dias	24	Negativo

Fonte: do autor 2011