

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI

LUYDE PENA LINHARES

OCITOCINA EXÓGENA E LEITE RESIDUAL

DIAMANTINA – MG
2012

LUYDE PENA LINHARES

OCITOCINA EXÓGENA E LEITE RESIDUAL

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Prof.^a Margarida Maria Nascimento Figueiredo de Oliveira

DIAMANTINA - MG
2012

Ficha Catalográfica - Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária Nathália Machado Laponez Maia
CRB6-3002

L755o	Linhares, Luyde Pena. Ocitocina exógena e leite residual / Luyde Pena Linhares. – Diamantina: UFVJM, 2012. 49 p. : il. Orientadora: Margarida Maria Nascimento Figueiredo de Oliveira Coorientador : Cleube Andrade Boari Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2012. 1. Celularidade. 2. Ejeção do leite. 3. Mastite. 4. Ordenha. 5. Vacas mestiças. I. Oliveira, Margarida Maria Nascimento Figueiredo de. II. Boari, Cleube Andrade. III. Título. CDD 637.12
-------	---

LUYDE PENA LINHARES

OCITOCINA EXÓGENA E LEITE RESIDUAL

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA em 19/11/2012


Prof.^a Margarida Maria Nascimento Figueiredo de Oliveira – UFVJM
Orientadora


Prof.^a Anna Christina de Almeida – UFVJM


Prof.^a Roseli Aparecida dos Santos – UFVJM


Prof. Cleube Andrade Boari – UFVJM

DIAMANTINA – MG
2012

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Geraldo Leopoldo e Silvana,
Ao meu irmão Edwin
Aos meus falecidos avós, Vó Maria e Vô Ulisses.
DEDICO*

AGRADECIMENTO

Primeiramente, a DEUS, pela saúde e perseverança a mim concedidas para o fechamento de mais um ciclo da minha vida.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e aporte financeiro.

Ao Departamento de Zootecnia, principalmente aos professores Aldrin Pires e Cleube Boari, pelo apoio e ajuda nos momentos mais complicados.

À Professora Margarida M. N. Figueiredo, pela oportunidade de crescimento intelectual, pelos conhecimentos transmitidos e orientação.

Aos meus pais, irmão de sangue por todo sacrifício e apoio prestado, sempre confiando em meus ideais.

Aos parceiros de república, em especial ao Pedro Ivo Sodré, irmão de coração, adquirido ao longo de minha vida acadêmica, pela paciência, consideração e conselhos, essenciais no meu enriquecimento pessoal e na execução desse trabalho.

À Suely, funcionária da empresa Nestlé, por possibilitar a realização desse estudo.

Ao proprietário da fazenda leiteira onde foi realizado esse experimento, Sr. José Victor Barcelos, que abriu as portas de sua propriedade, confiando em um desconhecido e imaturo profissional, dando todo apoio e confiança.

Ao Geraldo Ribeiro e Leonardo Paz, funcionários da propriedade onde foi executado esse trabalho, pelo companheirismo e amizade ao longo dos meses de convivência.

BIOGRAFIA

LUYDE PENA LINHARES, filho de Geraldo Leopoldo Martins Linhares e Silvana Maria Pena Linhares, nasceu em 04/05/1986, natural de Sete Lagoas – MG. Em agosto de 2005, iniciou o curso de Zootecnia, na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, graduando-se em dezembro de 2009. Em março de 2010, iniciou o curso de mestrado em Zootecnia, na área de Reprodução Animal, na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – MG. Em 19 de novembro de 2012, submeteu-se aos exames finais de defesa de Dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae* em Zootecnia.

RESUMO

LINHARES, Luyde Pena. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, novembro de 2012. 49p. **Ocitocina exógena e leite residual**. Orientador (a): Margarida Maria Nascimento Figueiredo de Oliveira. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

Objetivou-se avaliar a aplicação suplementar de quatro doses de ocitocina exógena (0, 5, 10, 15 UI) na remoção do leite residual e os parâmetros de produção da ordenha, produção de leite residual, produção total, porcentagem em relação à ordenha total, composição e incidência de mastite através da contagem de células somáticas (CCS). O experimento foi conduzido em uma propriedade particular, tipicamente leiteira, localizada no município de Francisco Sá, região Norte de Minas Gerais, durante os meses de fevereiro a junho de 2012. Foram utilizados 20 vacas mestiças Holandês-Guzerá, mantidas a pasto com suplementação proteica, clinicamente sadias, com grau sanguíneo variando entre animais 3/4 e 7/8, multíparas, com ordem de parto entre segunda a quinta lactação, com 60 dias pós-parto e produção média entre 7 e 13 kg de leite. O delineamento utilizado para as variáveis de produção e composição foram inteiramente casualizado (DIC), com repetição no tempo (nove semanas). Foi feita a regressão na análise de variação. Para verificar a dependência entre a prevalência de mastite e as doses suplementares de ocitocina foram realizadas análises estatísticas com teste de Qui-quadrado, sendo os valores dos resultados considerados significativos quando $P < 0,01$. O volume de leite oriundo da ordenha plena apresentou variância ($P < 0,01$) e comportamento quadrático em relação às doses suplementares, apresentando queda nas doses de ocitocina superiores a 5 UI. A produção de leite residual apresentou comportamento semelhante, sendo a dose de 10 UI a que melhor promoveu a remoção do leite residual e consequente produção. A produção total de leite também foi influenciada ($P < 0,01$) pela administração de ocitocina exógena, com maior produção acima da dose de 5UI, decrescendo abruptamente com as doses de 10 e 15 UI. A porcentagem de leite residual apresentou mesmo significância e distribuição dos dados quadraticamente, com remoção de 12,3 % de leite residual com a maior dose 15 UI. Na composição do leite residual, observou-se significância ($P < 0,05$) somente quanto à gordura, não apresentando variância significativa quanto à lactose e proteína. A gordura, comportando quadraticamente, obteve maior teor no leite residual quando administrado 9,5 UI, bem próximo a dose tratamento proposto de 10 UI. Quanto à celularidade do leite (CCS) através do teste CMT, observou-se relação inversa ao aumento das doses suplementares de ocitocina. Em relação aos tratamentos 0; 5; 10 e 15UI, a dose de 15 UI resultou em leite com baixa celularidade e melhor qualidade. Maior foi o número de tetos que continham até 200.000 células/mL de leite, dentro das normas de produção e qualidade determinadas pela Normativa 62. Evidenciou-se o efeito heterogêneo e dose-dependente da ocitocina exógena quanto a seus efeitos na produção, composição e qualidade do leite.

Palavras-chave: celularidade, ejeção do leite, mastite, ordenha, vacas mestiças

ABSTRACT

LINHARES, Luyde Pena. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, November 2012. 49p. **Exogenous oxytocin and residual milk.** Adviser: Margarida Maria Nascimento Figueiredo. Dissertation (Master's degree in Animal Science).

The objective was to evaluate the application of additional four doses of exogenous oxytocin (0, 5, 10, 15 UI) in removing the residual milk and the production parameters of the milking, residual milk production, production total percentage relative milking total composition and incidence of mastitis through somatic cell counts (CCS). The experiment was conducted in a particular dairy property located in the Francisco Sá town, North of Minas Gerais, from February to June 2012. It was used 20 crossbred Holstein-Guzera (3/4 and 7/8), kept at pasture with protein supplementation, clinically healthy, multiparous with lactation from second to fifth, at 60 days postpartum and producing an average of between 7 and 13 kg of milk. The design variables for production and composition were completely randomized with repetition time (nine weeks). Regression was performed on variance analysis. To check the dependence between the prevalence of mastitis and supplemental doses of oxytocin statistical analyzes were performed with chi-square test, and the values of the results considered significant ($P < 0.01$). The volume of milk coming from the milking full showed variance ($P < 0.01$) and quadratic behavior regarding additional doses, drop with doses above 5 IU oxytocin. Milk production residual showed similar behavior, with the dose of 10 IU that best promoted the removal of residual milk. The total milk production was also influenced ($P < 0.01$) by exogenous administration of oxytocin, with higher production above the dose 5UI abruptly decreasing with doses of 10 and 15 IU. The residual milk percentage had the same significance and data distribution quadratically, with 12.3% removal residual milk with the highest dose 15 IU. Residual milk composition was observed significance ($P < 0.05$) only fat, showing o the no significant variance lactose and protein. The residual milk fat content was greater than behaving quadratically when administered 9.5 UI, next to the proposed treatment dose of 10 IU. Milk cellularity (CCS) across the CMT test, observed an inverse relationship to increased supplemental doses of oxytocin. Regarding treatments 0, 5, 10 and 15 IU, the dose of 15 IU resulted a low cellularity and the best milk quality. Greater the number of teats containing up to 200,000 cells / ml milk, within production and quality standards determined by Normative 62. Demonstrating heterogeneous effect and dose-dependent of exogenous oxytocin about the milk production, composition and quality.

Keywords: cellularity, milk ejection, mastitis, milking, crossbred cows

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1. Glândula mamária.....	12
2.2. Secreção e síntese do leite.....	12
2.2.1. Gordura.....	14
2.2.2. Lactose.....	15
2.2.3. Proteína.....	16
2.3. Ocitocina e ejeção do leite.....	17
2.4. Ocitocina exógena.....	18
2.5. O uso da ocitocina exógena.....	19
2.6. Leite residual.....	20
2.5. Qualidade do leite e a contagem de células somáticas.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1. Produção de leite da ordenha plena.....	28
4.2. Produção de leite residual.....	29
4.3. Produção total de leite.....	31
4.4. Porcentagem de leite residual.....	34
4.5. Composição química do leite residual.....	36
4.6. Qualidade do leite.....	39
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
6. CONCLUSÃO.....	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país tradicionalmente produtor de leite. A pecuária leiteira, atividade inicialmente extrativista, é, atualmente, um dos principais agronegócios do país. Considerando o valor de produção das commodities brasileiras, o leite ocupa o 4º lugar, perdendo para a soja, cana-de-açúcar e o milho (IBGE, 2010).

No ano 2010, segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o Brasil ocupou a quinta posição no ranking mundial de países produtores de leite, com produção de 29,8 milhões de toneladas, equivalente a 4,2% da produção mundial. Destaca-se o estado de Minas Gerais como o maior produtor, sendo responsável por uma parcela de 28% do leite total produzido no país. Tais dados vêm consolidando o país como um dos maiores exportadores de produtos lácteos.

A utilização do gado europeu especializado para produção leiteira apresenta limitações como maior susceptibilidade a doenças, estresse térmico e maior exigência alimentar, o que onera a atividade dificultando sua viabilidade econômica. No melhoramento genético dos rebanhos, observou-se maior participação das raças zebuínas na composição dos cruzamentos. Os cruzamentos entre raças européias e zebuínas têm sido amplamente empregados em virtude da adaptabilidade dos animais resultantes as condições ambientais do Brasil.

Porém, com a modernização e dinamismo da ordenha, vem obrigando os produtores a descartar a presença do bezerro na sala de ordenha, na expectativa de minimizar os custos e complicações de manejo. Tal fato, aliado a essa incorporação da genética zebuína no rebanho leiteiro brasileiro vem ocasionando ineficácia na ejeção do leite, com maior acúmulo de leite retido nos ductos e ácinos glandulares.

Essa retenção láctea vem se tornando alvo de estudos, por atribuí-la como fator etiológico predisponente à colonização e desenvolvimento de mastites. Entre as diversas patologias que afetam o rebanho leiteiro, a mastite bovina é a mais dispendiosa na exploração leiteira, acarretando alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais do leite. Tal fato contribui para uma queda expressiva na produção e eventuais prejuízos econômicos (BIRGEL, 1982; ROSENFELD, 2005).

Na intenção de maximizar os lucros, a prática de aplicações de ocitocina exógena vem ganhando espaço na atividade leiteira. Aliado a falta de fiscalização e controle na obtenção desse fármaco, sua disseminação no manejo da ordenha vem crescendo em proporções preocupantes. Sendo utilizada em substituição à presença do bezerro na sala de

ordenha, seu uso tem sido considerado como a salvação da produção leiteira com rebanho mestiço. Caminhando nessa mesma linha de raciocínio, a aplicação suplementar de ocitocina exógena também pode ser usada como ferramenta para uma maior eficiência na ejeção do leite, pela remoção do leite residual, principalmente, tratando-se de animais de grau sanguíneo mais azebuado, devido sua maior dependência da ocitocina no fenômeno de ejeção do leite.

Em contrapartida, diversos trabalhos têm mostrado heterogeneidade de resultados quanto aos impactos dessa prática no produto final, que é o leite. Variações quanto à produção, qualidade e composição já foram encontradas.

O conhecimento da composição do leite é essencial para a determinação de sua qualidade, pois define diversas propriedades sensoriais e industriais, fator que vem sendo utilizada para detecção de falhas nas práticas de manejo, servindo como referência na valorização da matéria-prima.

Neste sentido, pesquisas vêm sendo desenvolvidas, com o intuito de verificar possíveis causas de variação na produção e qualidade do leite da cadeia produtiva brasileira, para consolidação de suas exportações. As preocupações sobre a segurança e eficácia da administração de ocitocina exógena são o cerne de vários debates sobre o esquema terapêutico que deve ser instituído para essa prática. Ainda existem discrepâncias quanto às doses, via de administração e intensidade de utilização desse hormônio sintético.

É perceptível que esse novo papel da ocitocina exógena no pré-dipping das ordenhas, demonstra a carência de mais pesquisas nos diferentes níveis celular, tecidual e animal, para que se possa categorizar os possíveis eventos que esse hormônio esteja envolvido e utilizá-lo a favor da eficiência produtiva, sem agressão ao animal.

Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a influencia de quatro doses suplementares de ocitocina exógena, na remoção do leite residual, produção total, composição e a qualidade do leite de vacas mestiças leiteiras.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Glândula mamária

A glândula mamária é um tecido especializado, que passou por mudanças anatomorfológicas que possibilitaram a produção de leite. São originadas de invaginações do ectoderma com um aspecto tubuloalveolar (FRANDSON et al., 2005).

No aspecto anatômico estrutural, cada glândula pode ser dividida em duas porções principais: porção cisternal e alveolar. A parte cisternal da glândula é uma grande cavidade composta basicamente pelos grandes ductos e cavidades menores, cisternas dos tetos e sua função é o armazenamento de secreção láctea. Já a porção alveolar é constituída por um conjunto de alvéolos e pequenos ductos (DYCE et al., 1997) e sua função é a síntese e secreção do leite.

Os alvéolos são considerados unidades secretoras das glândulas mamárias e são constituídos por uma linha de células epiteliais, que são circundadas por vasos sanguíneos e células musculares contráteis denominadas mioepiteliais. Estas contraem para a expulsão do leite em resposta a liberação da ocitocina, num fenômeno chamado de ejeção do leite (SWENSON et al., 1984).

O úbere da vaca é composto de duas metades, possuindo cada uma um par de tetos. Cada metade é parcialmente independente da outra metade, com suprimento sanguíneo, suprimento nervoso e aparelho suspensor integrados (FRANDSON et al., 2005). Segundo Swenson et al. (1996), o teto bovino apresenta pequena cisterna que, na extremidade comunica com o exterior, através de um canal que possui seu fechamento e abertura controlado por um esfíncter muscular, responsável pela retenção de leite.

2.2. Secreção e síntese do leite

A glândula mamária, com sua alta atividade metabólica, possui capacidade de biossintetizar todos os seus componentes maiores, tais como proteínas, lactose e gorduras, dentro das células epiteliais, a partir de precursores. Já os componentes menores como vitaminas, sais minerais e imunoglobulinas acopladas à água, são secretados através das mesmas células para o interior do lúmen mamário, sem alterações em seus perfis químicos por passagem seletiva (HAFEZ, 1988).

Os compostos intermediários que participam da síntese desses constituintes maiores são originados de pontos distintos nas células secretoras, como o citossol e organelas citoplasmáticas, como o retículo endoplasmático e complexo de Golgi. Os precursores do leite entram em cada célula através da membrana basal, enquanto os componentes do leite são ejetados através da membrana apical (GONZÁLEZ, 2001).

Segundo Baldi et al. (2008), a glândula mamária é densamente irrigada com vasos, artérias e veias fornecendo, de maneira contínua, nutrientes para suas células secretoras. Os nutrientes são originados, diretamente da dieta, ou resultados de modificações no metabolismo, antes de chegarem à glândula. Para a produção de 1 litro de leite é necessário circular pelo úbere cerca de 500 litros de sangue.

O resultado de uma complexa interação fisiológica entre nutrientes e células secretoras é um fluido composto, altamente nutritivo, denominado de leite. Apesar de ser uma fonte de alimentação que consiste basicamente de água, compostos orgânicos e inorgânicos, apresenta variações em virtude de diversos fatores extrínsecos e intrínsecos ao animal, como: clima, temperatura ambiente, umidade do ar, idade da vaca, número de partos, período de lactação, genética, alimentação, fermentação ruminal, alterações na glândula mamária, raça, ciclo estral, estado sanitário do animal, fisiologia individual (PECHOVÁ et al., 2008).

O conhecimento da composição do leite é essencial para a determinação de suas propriedades organolépticas e industriais, imprescindíveis no processamento dessa matéria prima em seus derivados como queijo, manteiga, iogurte entre outros (GLANTZ et al., 2009).

O leite possui em média 3,5% de proteínas, 3,8% de gordura, 5,0% de lactose, 0,7% de minerais (cinzas) e 87% de água. Esses valores médios podem apresentar desvios, visto que a variação da composição do leite é grande e em todos os componentes a fração que mais varia é a constituída pela gordura. Os sólidos não gordurosos, que compreendem todos os elementos do leite exceto água e gordura, representam, em média, 8,9% do total do leite (BEHMER, 1999).

No Brasil, a gordura do leite é um componente que merece destaque devido a estímulo econômico pelo setor industrial. O interesse em produzir maior quantidade de gordura por litro de leite tem motivado produtores na mobilização de técnicas com esse objetivo. Já em países da Europa, desde os anos 80, a proteína vem se destacando devido, principalmente, à mudança dos hábitos alimentares, que reduziu a preferência pela gordura e pelo papel

determinante do rendimento industrial de derivados lácteos. A lactose, apesar de ser considerada o constituinte do leite de maior estabilidade quanto sua proporção, destaca-se pela função osmótica atribuída, sendo relacionada diretamente pelo volume de leite produzido no animal. De fato considera-se a gordura, a proteína e a lactose como os principais componentes do leite (BURCHARD & BLOCK, 1998).

2.2.1. Gordura

A gordura do leite é um dos constituintes de maior abundância e o mais variável. Sua concentração e composição sofrem mais influencia pela nutrição e condições ambientais do que as demais frações. Para sua síntese são necessários alguns precursores como glicose, acetato, β -hidroxibutirato e triglicerídeos (GONZÁLEZ, 2001). Segundo Hafez (1988), os triglicerídeos correspondem a 98% da composição total da gordura do leite e são elaborados dentro do retículo endoplasmático epitelial, sob a forma de gotas de gordura.

As células epiteliais mamárias são as responsáveis pela secreção da gordura do leite na forma de glóbulos graxos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de dupla camada lipídica semelhante à membrana apical das células epiteliais (GONZÁLEZ, 2001).

O acetato e o β -hidroxibutirato são utilizados para a formação de ácidos graxos que permanecem aderidos ao glicerol. Aproximadamente 17 a 45% da gordura são originadas do acetato e 8 a 25% do butirato. Cerca de 50 % dos triglicerídeos são sintetizados por ácidos graxos que provem do sangue, enquanto que os outros 50% são sintetizados dentro das células epiteliais mamárias, ganhando a denominação de novo. As gorduras do leite (triglicerídeos) produzidas pelos próprios alvéolos possuem em sua constituição até 16 carbonos (ácidos graxos de cadeia curta), já a outra porção oriunda dos lipídios da dieta possui mais de 16 carbonos (ácidos graxos de cadeia longa) (WATTIAUX, 2004).

A gordura da dieta chega ao rúmen e é transformada por três principais processos. Inicialmente, os triglicerídeos passam pelo processo de hidrólise resultando em ácidos graxos livres ou ácidos graxos não esterificados e glicerol. Uma parte desses ácidos graxos livres será absorvida pelo intestino como resultado de uma biohidrogenação. Outra parte passa por uma esterificação, transformando estes ácidos graxos, novamente, em triglicerídeos que serão absorvidos pelo sangue e direcionados à glândula mamária (ORTOLANI, 2002).

Já o “novo” (parcela de triglicerídeos sintetizados no citoplasma das células epiteliais alveolares) são dependentes dos esqueletos carbônicos oriundos dos ácidos graxos voláteis, acetato e β -hidroxibutirato, aliado a outros precursores absorvidos diretamente no sangue pelas células secretórias (ORTOLANI, 2002).

Os triglicerídeos sintetizados na superfície externa do retículo endoplasmático vão sendo agrupados e formando gotículas lipídicas. Estas gotículas dispersas no citoplasma das células epiteliais alveolares se fundem em glóbulos maiores e seguem, posteriormente em direção à superfície apical onde serão lançados ao lúmen alveolar (GONZÁLEZ, 2001).

2.2.2. Lactose

A lactose é o constituinte do leite considerado mais estável quanto à sua proporção, mais simples e mais abundante. É um dissacarídeo formado a partir de moléculas de glicose nas células epiteliais que envolvem os alvéolos. Possui influência direta no volume de leite devido seu importante papel regulatório em conjunto com o cloro, o potássio e o sódio na pressão osmótica da glândula mamária (SCHALM et al. 1971).

A lactose é peculiar ao leite, não sendo encontrado em outros tecidos dos mamíferos, sendo responsável por pelo menos 50% do efeito de pressão osmótica encontrada na glândula mamária. Essa ação regulatória a relaciona com a presença da água no leite, uma vez apresentando concentração mais constante, quanto maior sua capacidade de secreção pelo animal, maior será o volume de leite produzido (HAFEZ, 1988).

Normalmente, a menos que os animais estejam muito subnutridos, a concentração de lactose no leite não é afetada por fatores nutricionais (GONZÁLEZ; DÜRR, 2001).

Para sua síntese são necessárias duas moléculas de glicose: uma molécula é utilizada sem sofrer alterações bioquímicas, enquanto a outra passa por reações até transformar-se em galactose. A maioria dessas reações ocorre no citosol enquanto a formação da lactose ocorre no Complexo de Golgi, em associação com as proteínas. A maior parte da glicose (79%) proveniente do sangue vai para a síntese de lactose e o restante para a síntese de glicerol e fornecimento de energia para o processo biossintético (GONZÁLEZ, 2001).

De acordo com Barros (2001), o ácido propiônico, principal fonte de glicose para ruminantes, é responsável pela formação de 45-60% da lactose, sendo oriundo em sua maioria pelo amido e carboidratos da dieta, seguidos de aminoácidos e lipídeos.

A enzima lactose sintetase, composta pelas subunidades α -Lactalbumina e galactosil transferase, no Complexo de Golgi, catalisa a transferência de UDP-galactose à lactose. As vesículas oriundas do Complexo de Golgi contendo lactose e íons se movem através de microtubulações para a porção apical, posteriormente as membranas das vesículas e das células se unem e se abrem ao lúmen alveolar liberando lactose, íons e água em proporções constantes (GONZÁLEZ, 2001).

2.2.3. Proteína

A origem dos possíveis precursores para a síntese da proteína do leite são peptídeos, proteínas do plasma e aminoácidos livres. Os aminoácidos utilizados em grandes quantidades contribuem com a maior parte do nitrogênio para a síntese proteica. Esses aminoácidos são provenientes da dieta, que passam intactos pela degradação ruminal, sendo absorvidos no intestino ou oriundos de proteínas que sofreram processo de fermentação e são incorporadas às proteínas microbianas (CUNNINGHAN, 2004).

As três principais proteínas sintetizadas são β -Lactoglobulina, α -Lactalbumina e as caseínas α , β , γ e κ que correspondem a 95% das proteínas totais do leite. Já a soroalbumina e as imunoglobulinas não são sintetizadas, mas sim, provenientes do sangue e incorporadas diretamente no leite sem qualquer alteração química. Os outros 5% compõem o nitrogênio de compostos não-protéicos como uréia, amônia e ácido úrico (GONZÁLEZ, 2001).

Descrito por Hafez (1988), a concentração de aminoácidos no sangue, o fluxo sanguíneo para o úbere e o fluxo dos aminoácidos para os tecidos são os fatores predisponentes para uma eficiência na síntese de proteínas do leite, visto que essa síntese ocorre através da captação celular da glândula mamária. Nas células epiteliais da glândula mamária, os aminoácidos absorvidos são agrupados pelos ribossomos em pequenas cadeias peptídicas, migrando para o complexo de Golgi, onde sofrem condensação culminando na formação de grânulos insolúveis de caseína e solúveis de β -Lactoglobulina. Os grânulos insolúveis de caseína migram para a superfície apical da célula em vesículas oriundas do complexo de Golgi que se fundem à membrana plasmática pelo processo de pinocitose reversa, liberando os grânulos de proteína para o lúmen do alvéolo.

O controle da síntese proteica é realizada por meio de *feedback* mediante ao acúmulo dos produtos finais, causando uma inibição das atividades enzimáticas (GONZÁLEZ, 2001).

2.3. Ocitocina e ejeção do leite

Dentre os hormônios envolvidos na lactação, destaca-se a ocitocina que é sintetizada no hipotálamo e armazenada na neurohipófise, sendo secretada por estímulos aferentes como o parto e a lactação (SWENSON et al., 1984).

A neurohipófise é composta por células do tipo glial ou pituícitos, que não sintetizam e secretam hormônios, mas estão envolvidas na estrutura de sustentação de terminais nervosos que originam dos núcleos supra-ópticos e paraventriculares do hipotálamo. Estes feixes nervosos vão em direção à neurohipófise e são responsáveis pelo reflexo da secreção dos hormônios da hipófise posterior como a ocitocina (GUYTON & HALL, 1997).

Após a síntese, a ocitocina é transportada pelos axônios do eixo hipotalâmico hipofisário para terminações nervosas na neurohipófise, onde são liberados no leito capilar sanguíneo (GUYTON & HALL, 1997).

A ocitocina é um hormônio peptídico que possui, na sua constituição, nove aminoácidos de natureza hidrossolúvel, que permite a dissociação no plasma sanguíneo, favorecendo seu transporte até as células alvo. Possui uma ponte cis-cis nas posições 1-6, importante no reconhecimento do receptor. São sintetizados pelos núcleos hipotalâmicos, o supra-óptico e paraventricular podendo ser encontrada tanto no plasma como no líquido cefalorraquidiano (LCR) (SWENSON et al., 1996).

Esse nonapeptídeo é transportado pelo sangue até os tetos onde se liga a seus receptores nas células que circundam os alvéolos, células mioepiteliais, provocando contração ativa (FRANDSON et al., 2005). Segundo Swenson et al. (1996), o número de receptores atinge o número máximo durante a primeira lactação e então, provavelmente, persiste por toda a vida das células mioepiteliais.

A liberação de ocitocina normalmente ocorre como uma onda entre 1-2 minutos após o início do reflexo de estimulação tátil ou ambiental. Segundo Lolliver et al. (2002) esse hormônio peptídico de cadeia curta possui uma meia-vida plasmática muito baixa, cerca 10 a 15 minutos.

A “descida do leite” é o resultado de um reflexo neuro-hormonal envolvendo o hipotálamo, a hipófise e a ocitocina onde o leite deixa os alvéolos e segue em direção as cisternas dos tetos (HAFEZ, 2004). De acordo com Berne et al. (2004) o reflexo de ejeção do leite pode ser inibido por estímulos estressantes. O estresse ativa o eixo-hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA) liberando grandes quantidades do hormônio adenocorticotrópico (ACTH) que atua na porção medular das glândulas supra-renais aumentando a descarga das catecolaminas. Essas catecolaminas provocam contração da musculatura lisa, ocluindo os ductos mamários e vasos sanguíneos, inibindo a atuação da ocitocina nas células mioepiteliais. Esse fato ocorre com maior frequência em primíparas devido ao estresse gerado pela primeira ordenha (SWENSON et al., 1996).

Se houver deficiência do estímulo à liberação da ocitocina, o período de lactação pode ser encurtado por retenção de leite no úbere acarretando possível queda da produtividade (FRANDSON et al., 2005).

Para maior produção de leite é necessário otimizar a ordenha procurando o esvaziamento completo do úbere do animal. Diante disso, práticas como a administração de ocitocina exógena no pré-dipping da ordenha vem sendo utilizada.

2.4. Ocitocina exógena

Os peptídeos são biomoléculas que possuem de dois a dezenas de aminoácidos em sua constituição, unidos entre si através de ligações peptídicas. Sendo bastante diversificados em termos funcionais, atuando como hormônios quando se refere à ocitocina. Nonapeptídeo indispensável na lactação e no fenômeno do parto (SWENSON et al., 1984).

Deparando com a necessidade de se estudar os peptídeos, aliada a dificuldade no isolamento frente a suas fontes naturais, vê-se indispensável a sinterização dos mesmos por vias artificiais. A ocitocina foi o primeiro hormônio polipeptídico a ser sequenciado e sintetizado. Ela foi sintetizada por Vincent du Vigneaud e colaboradores nos anos de 1950 (DEN HERTOOG et al., 2001).

Atualmente, os métodos passíveis de serem empregados na síntese de peptídeos são basicamente três: síntese química (formação das ligações peptídicas entre os aminoácidos por utilização de reagentes químicos), síntese biocatalisada (formação das ligações peptídicas por intermédio de enzimas) e síntese via DNA recombinante (clonagem e expressão gênica via

microorganismos). Sendo posteriormente purificados por técnicas cromatográficas (MACHADO et al., 2004).

A ocitocina exógena sintética possui as mesmas propriedades químicas e farmacológicas do hormônio natural. Além de atuar na contração da musculatura lisa do útero também desempenha um papel na glândula mamária esvaziando as células lactíferas, estimulando o fluxo do leite, impulsionando o conteúdo dos alvéolos para os canais galactóforos e as cisternas.

2.5. O uso da ocitocina exógena

Na busca por maior eficiência e lucratividade da atividade leiteira vem obrigando pecuaristas a buscar artifícios, muitas vezes farmacológicos, para a otimização da produção. Prática que vem se tornando rotineira na pré-ordenha são as aplicações da ocitocina sintética.

Inicialmente, as aplicações de ocitocina exógena indicadas como prática auxiliar no trabalho de partos distócicos (JOHNSTON et al., 2001), retenção de placenta (PRESTES & ALVARENGA, 2006) e no tratamento de mastites (SPANEMBERG et al., 2009), vem sendo amplamente empregadas com outro propósito. Em vacas leiteiras, seu uso indiscriminado vem substituindo o estímulo do bezerro na ejeção do leite.

Essa prática se tornou mais comumente utilizada pela crescente tecnificação da produção com a implantação de ordenhas mecânicas e pelo maior grau de sangue zebuíno nos cruzamentos dos rebanhos leiteiros (TEODORO, 1996).

Existe menor dependência das vacas taurinas quanto ao reflexo à ejeção do leite do que raças zebuínas. Isso pode ser explicado pela intensa seleção genética para a produção de leite que vem ocorrendo nas raças taurinas a várias gerações em comparação com as raças zebuínas (TANCIN & BRUCKMAIER, 2001).

A retirada artificial do leite através pelas mãos de pessoas desconhecidas ou de ordenhadeiras mecânicas ainda não é muito bem aceita em vacas zebuínas. As condições adversas de ordenha (amamentação de bezerro estranho, remoção do bezerro durante a ordenha, ordenha de vacas sem a presença do próprio bezerro, local de ordenha desconhecido) afetam a regulação da ejeção do leite (TANCIN & BRUCKMAIER, 2001). No caso de animais com maior grau de sangue zebuíno isto é agravado devido a necessidade de maiores

níveis de ocitocina para causar uma resposta eficiente na ejeção do leite (POLLOCK & HURNIK, 1978).

No entanto, quando se utiliza a ordenha mecânica, a presença do bezerro na sala de ordenha requer mais mão-de-obra e instalações adequadas, o que acaba onerando o sistema de produção. Na tentativa de minimizar estes inconvenientes, tem-se adotado a aplicação de ocitocina exógena para estimular a ejeção do leite sem a necessidade da presença do bezerro durante a ordenha mecânica.

Pelo uso veterinário, as vias de administração da ocitocina exógena, variam entre endovenosa, intramuscular e subcutânea. As doses propostas pelas bulas deste fármaco encontram-se em 2 a 5 mL, variando quanto a espécie animal, peso corporal, idade e via de aplicação. A administração endovenosa apresenta efeito imediato e dura cerca de 10 minutos. Na aplicação intramuscular ou subcutânea, o efeito se manifesta dentro de 6 a 10 minutos.

A adoção desta prática requer a avaliação dos riscos de transmissão de doenças veiculadas por meio de agulhas contaminadas, devendo estar associada ao manejo adequado e o monitoramento periódico da condição sanitária do rebanho. Além de possíveis interações metabólicas da ocitocina exógena no organismo animal.

2.6. Leite residual

Segundo Birgel (2006) o leite oriundo de uma ordenha pode ser dividido em quatro frações distintas: leite de retenção, leite da ordenha plena, leite residual e leite complementar. O leite de retenção corresponde à fração láctea acumulada entre ordenhas nas cisternas da glândula e na cisterna dos tetos, usada nos testes para detecção de mastite. O leite da ordenha plena é o de maior volume caracterizado pelo leite total produzido pelo animal. O leite residual é a fração que permanece na glândula mamária mesmo com uma ordenha em condições ideais, volume variável, sendo sua obtenção feita através de aplicações de ocitocina exógena. Por fim, o leite complementar é a fração do leite residual que não pode ser removida da glândula mamária independente dos artifícios utilizados, ela permanece na glândula.

O leite residual vem se tornando alvo de pesquisas devido seu efeito na produção leiteira, sendo considerado fator predisponente a mastite e reducional a secreção láctea (ROSENFELD, 2005).

Para a obtenção e possível mensuração do volume do leite residual recorre-se à administração suplementar de ocitocina por via intravenosa, intramuscular ou subcutânea, permitindo nova ejeção do leite e uma nova ordenha (SCHALM et al., 1971; BIRGEL, 2006). O volume desta fração láctea pode variar de 12% (SCHALM et al., 1971) a 30% (BRUCKMAIER & BLUM, 1998) que representa um adicional na produção bastante expressivo.

Vários fatores influenciam a quantidade de leite residual após a ordenha tais como: produção leiteira (GRÖHN et al., 1995), estágio de lactação (KNIGHT et al., 1994), idade e o tipo de ordenha, manual ou mecânica (SCHMIDT et al., 1988), estresse durante a ordenha (RUSHEN et al., 2001), qualidade das relações humanos-animais (RUSHEN et al., 1999). Estes fatores podem acarretar aumento no volume residual em até 70% (RUSHEN et al., 2001).

Estudos têm sido realizados com o objetivo de investigar os possíveis efeitos que uma retenção láctea possa alterar na produção, composição e qualidade do leite. Porém, ainda pouco se sabe sobre a ação das aplicações de ocitocina na remoção dessa fração láctea, fisiologicamente retida no úbere e o que essa retirada possa contribuir para a qualidade e produção leiteira.

2.5. Qualidade do leite e a contagem de células somáticas

A qualidade do leite é o conjunto de características e/ou serviços que tornam o leite um produto seguro e adequado para satisfazer as exigências de seus consumidores. Um leite de qualidade é aquele produzido por vacas bem nutridas e sadias, aliados a práticas que permitem a conservação das qualidades nutritivas desta matéria-prima em todas as fases de sua obtenção e armazenamento (RIBEIRO, 2008).

Leite de boa qualidade é fator primordial para a competitividade e sucesso da produção leiteira. Afinal, é matéria prima para diversos subprodutos industriais importantes à alimentação humana (DÜRR, 2001).

A contagem de células somáticas (CCS) no leite vem sendo usada com indicador geral na determinação da saúde da glândula mamária e da qualidade do leite (TRONCO, 2008). As células somáticas são normalmente, 98% células de defesa do organismo (leucócitos) que

migram do sangue em direção à glândula mamária, para combater agentes agressores que poderão causar infecção comumente chamada de mastite. Os demais 2% representam células descamadas do epitélio secretor, processo fisiologicamente normal para renovação celular (MACHADO, 2000).

A mastite é uma doença multifatorial comum em vacas leiteiras, caracterizada por processo inflamatório da glândula mamária acarretando alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais do leite gerando grandes prejuízos ao setor leiteiro. A doença pode se manifestar nas formas clínica ou subclínica. A mastite clínica pode ser identificada por alterações macroscópicas do leite pelo método da caneca de fundo preto (BIRGEL, 2004).

A mastite subclínica, por apresentar alterações em nível de composição, é identificada por testes indicativos.

O método indicativo, mais difundido, para a identificação da celularidade do leite é denominado de California Mastitis Test (CMT). O teste CMT estima, indiretamente, o número de células somáticas em amostras de leite pela liberação de DNA nuclear dessas células decorrente da ação de agentes tensoativos aniônicos resultando em aspecto viscoso da mistura leite e reagente. O grau de viscosidade permite uma classificação quanto à possível infecção mamária (SCHALM & NOORLANDER, 1957).

O número de células somáticas tem sido empregado como um eficiente marcador qualitativo indireto da condição fisiológica do úbere e a qualidade do leite utilizando como referência uma possível resposta imunológica do animal frente a um estímulo provocado geralmente por um patógeno (SCHALM et al., 1971; MACHADO et al., 2000).

Por meio de pesquisas foi observada alta correlação entre contagem de células somáticas e a intensidade de reação do exame California Mastitis Test, CMT, permitindo utilizá-lo como ferramenta de baixo custo e fácil acesso no diagnóstico qualitativo higiênico do leite e na triagem de vacas leiteiras com possíveis distúrbios de secreção láctea (BRITO et al., 1997).

Segundo Pales et al. (2005) a enfermidade mais comum em vacas leiteiras, a mastite, provoca mudanças nas concentrações dos componentes do leite como a gordura, proteína e lactose. Isso se deve principalmente a lesões nas células epiteliais produtoras de leite e no aumento da permeabilidade vascular, acarretando um descompasso no fluxo de substâncias do sangue para o leite, tais como o sódio, cloro, imunoglobulinas e outras proteínas.

Outros fatores além da mastite também podem influenciar na CCS como: época do ano, clima, manejo, estágio e número de lactação, problemas nutricionais, produção de leite, (MÜLLER, 2002).

A elevada CCS pode afetar consideravelmente o tempo de prateleira dos produtos e sub-produtos lácteos, além de ocasionar a inibição do crescimento de culturas bacterianas importantes na fabricação de derivados lácteos gerando prejuízos nas indústrias de laticínio (TRONCO, 2008). Assim, muitos laticínios vêm utilizando um sistema de bônus e penalizações, com objetivo de estimular a produção de leite com baixa CCS.

Neste contexto, animais considerados saudáveis são aqueles que produzem leite com uma CCS abaixo de 200.000 células/mL. Acima desse valor é considerado anormal, indicativo de inflamação do úbere e passível de penalizações (HARMON, 2001). A Normativa 62, que entrou em vigor 01 de janeiro de 2012, determina que produtores das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste devem produzir leite com CCS máxima permitida de $6,0 \times 10^5$ células/mL (MAPA, 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma propriedade particular, tipicamente leiteira, localizada no município de Francisco Sá, região Norte de Minas Gerais, durante os meses de fevereiro a junho de 2012. A região é caracterizada por clima semi-árido com temperatura média anual de 24°C.

Foram utilizadas 20 vacas mestiças Holandês-Guzerá, constituindo cinco vacas por tratamento, com grau sanguíneo variando entre animais 3/4 e 7/8. Eram multíparas, com ordem de parto entre segunda a quinta lactação, com 60 dias pós-parto (após o pico de lactação) e produção média entre 7 e 13 kg. Animais clinicamente sadios sem antecedentes de mastites ou de tratamentos intramamários.

O rebanho foi mantido sem bezerro ao pé, em regime à pasto, sendo estes formados por capim *Andropogon* (*Andropogon gayanus* cv. Planaltina), suplementados no cocho uma vez ao dia após a ordenha da manhã, com concentrado proteico (24%) a base de caroço de algodão, soja, milho, ureia, sal comum, núcleos pré-formulados mineral, vitamínicos e proteico, caracterizando uma dieta total de 20% de PB e também água limpa e sal mineral *ad libitum*.

As vacas foram encaminhadas ao curral de espera onde permaneciam até o momento da ordenha. A sala de ordenha é do tipo *tandem* com fosso central e quatro conjuntos de teteiras, totalmente mecanizada e canalizada com o encaminhamento da produção direto para o tanque de resfriamento.

A propriedade adotava a prática de duas ordenhas diárias com a primeira iniciando às 5:00 h e a segunda às 15:30 h. A fim de assegurar que a ejeção do leite seja atribuída à ação da ocitocina exógena e não devido à liberação condicionada de ocitocina e para minimizar o estresse antes da ordenha precauções foram tomadas. Os ordenhadores foram os mesmos e as atividades próximas às vacas começaram, pelo menos, 30 minutos antes da ordenha real. Os dados experimentais foram coletados somente na ordenha da manhã.

Antes da ordenha, as medidas de higienização e controle de mastite consistiam na imersão dos tetos em solução anti-séptica de hipoclorito de sódio a 2%, secagem com papel toalha individual (*pré-dipping*) e em seguida dois a três jatos de leite foram inspecionados, realizando a prova macroscópica do leite com a caneca de fundo escuro, segundo recomendações de Birgel (2004). Após a ordenha, os tetos foram imersos agora em solução viscosa antisséptica à base de clorexidina 0,5 % (*pós-dipping*).

O processo da ordenha foi dividido basicamente em dois momentos: período pré-experimental (manejo rotineiro da propriedade, antecede as aplicações suplementares de ocitocina e remoção do leite residual) e período experimental (momento da remoção do leite residual pela administração de doses suplementares de ocitocina exógena).

O período pré-experimental compreende o início da ordenha, em que todo rebanho foi submetido à prática de aplicação, por via endovenosa na veia epigástrica caudal superficial (veia do leite), uma dose de três UI de ocitocina sintética. Essa dose foi proposta por profissionais que prestavam assistência à propriedade, baseando-se nos conhecimentos técnicos e uso na região, aliados à indicação pelo fabricante do produto. Esse procedimento foi realizado, rotineiramente, antecedendo a colocação das teteiras (até um minuto) e consistia em substituir à presença do bezerro estimulando a ejeção do leite. Diariamente, a produção desta fração láctea liberada foi estimada e quantificada pelo medidor portátil acoplado ao circuito de canalização da ordenhadeira. Esta fração correspondeu ao volume de leite produzido pelo animal antecedendo a remoção do leite residual pelas doses suplementares de ocitocina exógena.

Posteriormente, no período experimental que marcou o início do experimento propriamente dito, caracterizou-se pelas doses adicionais de ocitocina sintética administrada

via endovenosa (veia do leite) no intuito de remoção da fração láctea correspondente do leite residual. Após o esgotamento do animal, no período pré-experimental, aconteceu a retirada do conjunto das teteiras e num prazo máximo de dois minutos ocorreu a aplicação das doses suplementares de ocitocina exógena que variaram entre 0, 5, 10 e 15 UI. As teteiras eram novamente colocadas e, diariamente, o volume de leite removido era estimado. Cada vaca, escolhida aleatoriamente, permaneceu no mesmo tratamento durante todo o período experimental.

Destaca-se que cada ml de solução do hormônio sintético utilizado nessa pesquisa apresentou uma concentração de 10 UI de ocitocina. Sendo assim, os tratamentos propostos nesse estudo: 0, 5, 10 e 15 UI equivalem em mL a 0; 0,5; 1,0 e 1,5, respectivamente. A dose controle, 0 UI não continha qualquer solução placebo. Foi figurado objetivando descartar o possível efeito da picada da agulha na ejeção do leite. Estas doses tratamentos foram propostas baseando-se no uso da ocitocina nas propriedades leiteiras da região do norte de Minas Gerais.

Durante o período experimental de 60 dias, nove coletas semanais de amostras do leite residual foram realizadas para análise de composição. Antecedendo a coleta e posteriormente à higienização dos tetos e do exame da caneca de fundo preto foi realizada a avaliação indireta da celularidade do leite (CCS) de cada quarto mamário, pelo teste CMT, como descrito por Schalm e Noorlander (1957).

Para a realização deste procedimento utilizou-se raquetes específicas contendo quatro receptáculos e neles foram adicionados dois mL de leite e mais dois mL do reagente de CMT (FATEC®). A mistura foi homogeneizada com movimentos circulares por 10 segundos. Após a homogeneização realizou-se a avaliação do grau de intensidade da viscosidade desenvolvida. A interpretação está apresentada no Quadro 1, adaptando às recomendações preconizadas por Schalm et al., (1971).

Quadro1. Adaptado da Interpretação da prova *California Mastitis Test* – CMT (SCHALM et al., 1971)

Escore		Descrição da reação	Interpretação dos resultados
11	Negativo	Sem a presença de reação entre o reagente e o leite. A mistura permanece líquida após homogeneização.	0 a 200.000 células/mL, das quais 0 a 25% são leucócitos polimorfonucleares

22	Traços	Reação suspeita. Discreto aumento da viscosidade, mas sem tendência a formação de gel. A viscosidade desaparece com a movimentação.	150.000 a 550.000 células/mL, das quais 0 a 25% são leucócitos polimorfonucleares
	Fracamente positiva	Há aumento da viscosidade sem tendência de formação de gel, permitindo a visualização do fundo do receptáculo durante a movimentação da mistura. A interrupção dos movimentos circulares faz com que a mistura se espalhe no receptáculo cobrindo seu fundo.	400.000 a 1.500.000 células/mL, das quais 40 a 60% são leucócitos polimorfonucleares
33	Nitidamente positiva	A mistura torna-se viscosa com formação imediata do gel que deixa o centro do receptáculo descoberto durante a movimentação circular. Interrompida essa movimentação, a mistura se espalha homogeneamente sobre o receptáculo, evidenciando estrias viscosas.	800.000 a 5.000.000 células/mL, das quais 60 a 70% são leucócitos polimorfonucleares
	Fortemente positiva	Com os movimentos circulares ocorre gelificação imediata com abaulamento convexo da superfície da mistura no	Contagem celular maior do que 5.000.000/ml, das quais 70 a 80% são leucócitos polimorfonucleares

		centro do receptáculo. Geralmente esse abaulamento se mantém mesmo com o cessar dos movimentos. A viscosidade da mistura é tão espessa que adere ao fundo do receptáculo	
--	--	--	--

Foram coletados os 50 mL iniciais de leite residual, após as aplicações suplementares de ocitocina, em frascos plásticos estéreis e acondicionados em caixas isotérmicas refrigeradas com gelo reciclável durante o transporte, até o momento de serem processadas. Antes de 1:30 h de conservação das amostras, previamente identificadas por animal, foram analisadas pelo Analisador ultrassônico de leite modelo (Master Classic ®) para determinação de multiparâmetros do leite (gordura, proteína e lactose).

As variáveis observadas do leite residual foram: produção, porcentagem em relação à ordenha total, incidência de mastite através da CCS e composição química. Para a determinação da porcentagem de leite residual foi utilizada a seguinte fórmula:

$$(\%LR) = (LR * 100) / (L_{total})$$

em que:

LR = leite residual obtido após a aplicação suplementar de ocitocina e a nova ordenha;

Ltotal = é o somatório de (LR+LO);

LO = leite liberado durante a ordenha que antecede as aplicações suplementares de ocitocina.

Foi realizada análise de variância para as variáveis: leite residual, leite total, porcentagem de leite residual, composição do leite residual (gordura, proteína, lactose) utilizando-se o procedimento do *Statistical Analysis System SAS*® (1985). Além do efeito da ocitocina, o efeito de número de partos (2 a 5) foi incluído como covariável no modelo. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com repetição no tempo (nove semanas). Foi feita a regressão na análise de variância. Para verificar a dependência entre a

prevalência de mastite e as doses suplementares de ocitocina foram realizadas análises estatísticas com teste de Qui-quadrado, sendo os valores dos resultados considerados significativos quando $P < 0,01$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Produção de leite da ordenha plena

O volume de leite proveniente da ordenha plena foi influenciado ($P < 0,01$) pelas doses de ocitocina exógena estudadas, apresentando um comportamento quadrático na distribuição dos dados. Observou-se queda de produção com a aplicação de doses de ocitocina acima de 5 UI, sendo a dose tratamento de 15 UI a que apresentou menor produção. A maior produção seria representada por aplicações de 4,5 UI, bem próxima de um dos tratamentos propostos (5UI) (Figura 1).

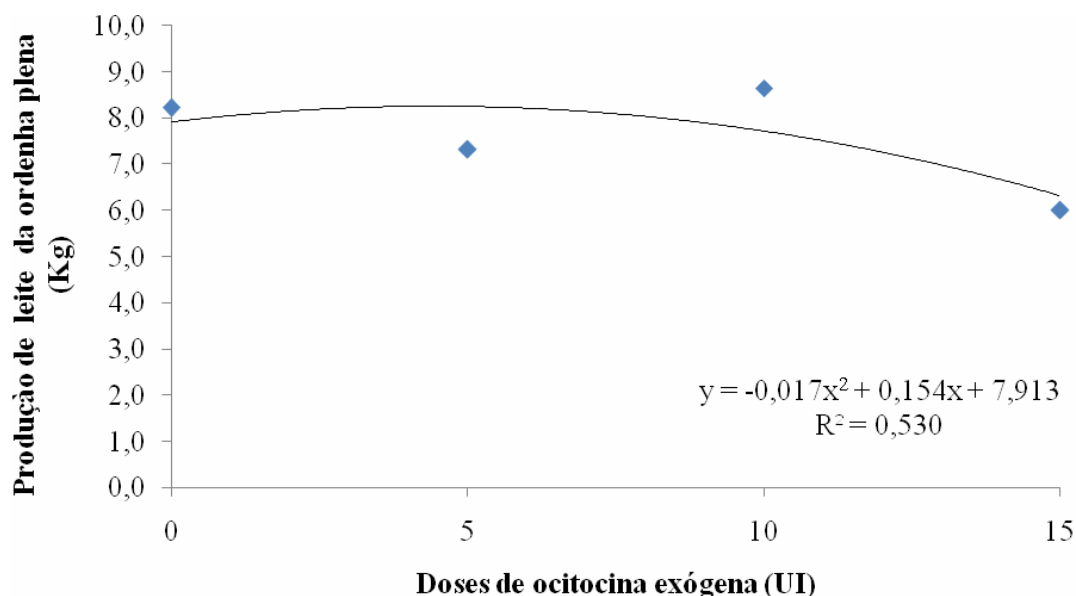


Figura 1. Efeito das aplicações de ocitocina exógena na produção de leite da ordenha plena

Os resultados acima correspondem à produção de leite produzido pelo animal no intervalo entre ordenhas. Observou-se influencia significativa das doses exógenas de ocitocina na produção desta fração láctea que não submeteu ao efeito direto das doses tratamento proposto, uma vez que, esta fração de leite caracteriza-se por anteceder às aplicações suplementares de ocitocina na remoção do leite residual.

Não esperava-se esta variação, pois para que isto ocorresse um efeito acumulativo ou prolongado da ocitocina exógena seria necessário. Porém, na literatura pesquisada, tais efeitos têm sido descartados por não encontrarem meios científicos que os expliquem. A ação da ocitocina exógena vem sendo, comumente atribuída, como pontual e temporária.

Seguindo a metodologia da pesquisa, os procedimentos de análises, pesagens e coleta de amostras só foram realizados nas ordenhas da manhã, ou seja, num intervalo de aproximadamente 24 horas. Este período é muito superior ao de ação e meia-vida da ocitocina que é de aproximadamente 10 a 15 minutos segundo Lolliver et al. (2002). Tal afirmação, teoricamente, permite descartar qualquer efeito acumulativo ou prolongado das aplicações suplementares de ocitocina exógena.

Essa variação, analisada separadamente, poderia ser atribuída a fatores outros como: hierarquia social, fisiologia individual, nutricional, idade e manejo, ressaltando que a produção de leite é um parâmetro influenciado por vários fatores.

Entretanto, tal efeito em longo prazo não pode ser descartado totalmente. Em estudo com infusões contínuas de ocitocina exógena durante um período de cinco dias, foi verificada uma alteração na espontaneidade da ejeção do leite no período pós-tratamento (GRAF et al., 1973). Adicionalmente, aplicações contínuas de 50 UI de ocitocina antecedendo a ordenha, também foram capazes de reduzir a ejeção do leite uma semana após o término das aplicações. Atribuindo um efeito de dependência (vício) nos animais avaliados (BRUCKMAIER, 2003).

Segundo Mac'uhová et al. (2004) o tratamento prolongado com doses elevadas de ocitocina reduz a responsividade da glândula mamária à própria ocitocina expressando uma queda considerável na produção, semelhante efeito observado nesse estudo frente as doses de 10 e 15 UI.

Ressalta-se que as aplicações de 3 UI, na pré-ordenha, no intuito de substituir o estímulo do bezerro na ejeção do leite, tiveram seu efeito anulado estatisticamente.

4.2. Produção de leite residual

A produção de leite residual representativo ao volume de leite removido, após as aplicações suplementares de ocitocina também apresentou significância ($P < 0,01$) e comportamento quadrático. A produção foi menor com a dose controle, seguida de aumento nas sucessivas doses (5 e 10 UI), decrescendo de forma expressiva frente a maior dose de 15

UI de ocitocina exógena. A dose de 10 UI possibilitou a maior e melhor eficiência na remoção da fração láctea residual, com volume de leite retirado próximo de 1Kg. (Figura 2).

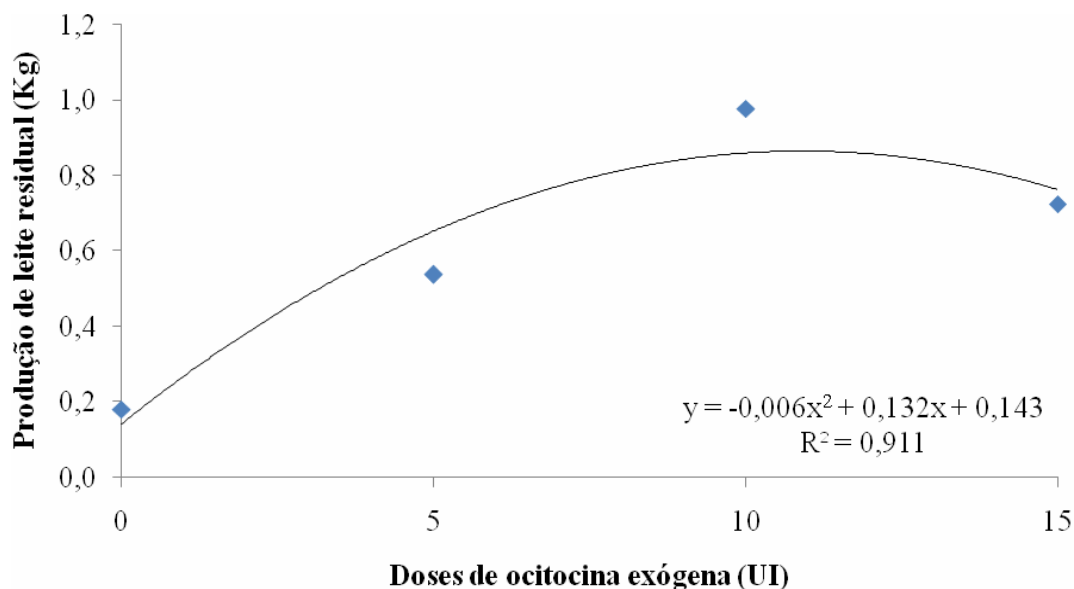


Figura 2. Efeito das aplicações de ocitocina exógena na produção do leite residual

O leite residual representa uma parcela não retirável da glândula mamária, mesmo após realização de uma ordenha em condições ideais. Para sua obtenção é necessário a utilização de artifícios farmacológicos suplementares, como a aplicação de ocitocina, determinando uma nova ejeção do leite (BIRGEL, 2006; BRUCKMAIER & BLUM, 1998). Tal afirmação pode ser confirmada pelo resultado desse estudo que apresentou uma maior eficácia na remoção dessa porção de leite com uma dosagem considerada suprafisiológica 10UI. Uma vez que, doses acima de 5UI já podem ser consideradas como superior a fisiologicamente produzida pelo animal (GOREWIT et al., 1983).

As doses de 5 e 10 UI de ocitocina exógena favoreceram a contração das células mioepiteliais e formação de um gradiente de pressão ativo que facilitou a expulsão do leite do lúmen alveolar para a cisterna da glândula num esvaziamento satisfatório do úbere. Isto corrobora com o descrito por Fleet et al. (1993) frente a adição de ocitocina exógena na corrente sanguínea acarretando numa melhor ejeção do leite.

De outro modo, a contínua aplicação suplementar de doses de ocitocina exógena superiores a 10 UI, passaram a atuar de forma incoerente e prejudicial à remoção do leite, como averiguado na dose tratamento de 15 UI. Neste contexto, a dose de 10 UI apresentou-se

como a dose limiar de eficiência na produção do leite residual, sendo que doses superiores estariam reduzindo a espontaneidade na ejeção do leite.

Esse efeito também foi relatado por Graf et al. (1973), com infusões contínuas de 200 UI elucidando significativo aumento na pressão intramamária alveolar, fora dos padrões normais, prejudicando a contração das células mioepiteliais. Este aumento de pressão exacerbado também foi relatado por Allen (1990) com doses mais elevadas (100 UI e 1000 UI), antecedendo a ordenha em vacas Holandesas. A magnitude desta pressão estaria ocasionando rupturas das células mioepiteliais atrapalhando a ejeção leite.

Segundo Bruckmaier (2003), a redução na espontaneidade de ejeção do leite foi verificada após as aplicações crônicas de 50 UI de ocitocina antecedendo a ordenha. Diante disso, duas possíveis razões foram propostas: redução na liberação de ocitocina pela neurohipófise ou efeito de *feedback* negativo nos próprios receptores de ocitocina na glândula mamária.

Já em outros estudos, as mesmas aplicações de 50 UI de ocitocina exógena prolongaram a contração alveolar por até 25 minutos após as injeções, não influenciando a liberação endógena do hormônio. No entanto, apresentou decréscimo da remoção espontânea do leite atribuída à redução da contratilidade das células mioepiteliais com as concentrações basais de ocitocina, permitindo afirmar que o tratamento prolongado com doses elevadas desse hormônio reduziu a responsividade da glândula mamária à ocitocina (MAC'UHOVÁ et al., 2004).

Contrariando os resultados exposto nessa pesquisa, Morag e Griffin (1968) afirmaram que mesmo doses menores que 0,5 UI de ocitocina foram tão eficazes como as maiores (16 UI) na ejeção do leite e, conseqüentemente, aumentando a produção na ordenha. Além disso, ressaltou que a intensidade da ejeção do produto lácteo pode ser proporcional e influenciada pela duração e a intensidade de exposição à ocitocina exógena. Já segundo Gorewit e Sagi (1984) doses de 2 a 3 UI de ocitocina exógena por via intravenosa tiveram maior eficiência de extração do leite residual, quando comparadas a doses menores.

4.3. Produção total de leite

A produção total de leite, soma do volume de leite obtido na ordenha com a fração láctea residual, apresentou variância significativa ($P < 0,01$) quanto às doses de ocitocina exógena e distribuição de dados expressados quadraticamente. Observou-se produção de leite dose-dependente com maior produção frente à dose suplementar de 6 UI de ocitocina exógena

para a remoção do leite residual, decrescendo de forma rápida com as aplicações das maiores doses 10 e 15 UI. A dose tratamento de 15 UI apresentou a pior produção (Figura 3).

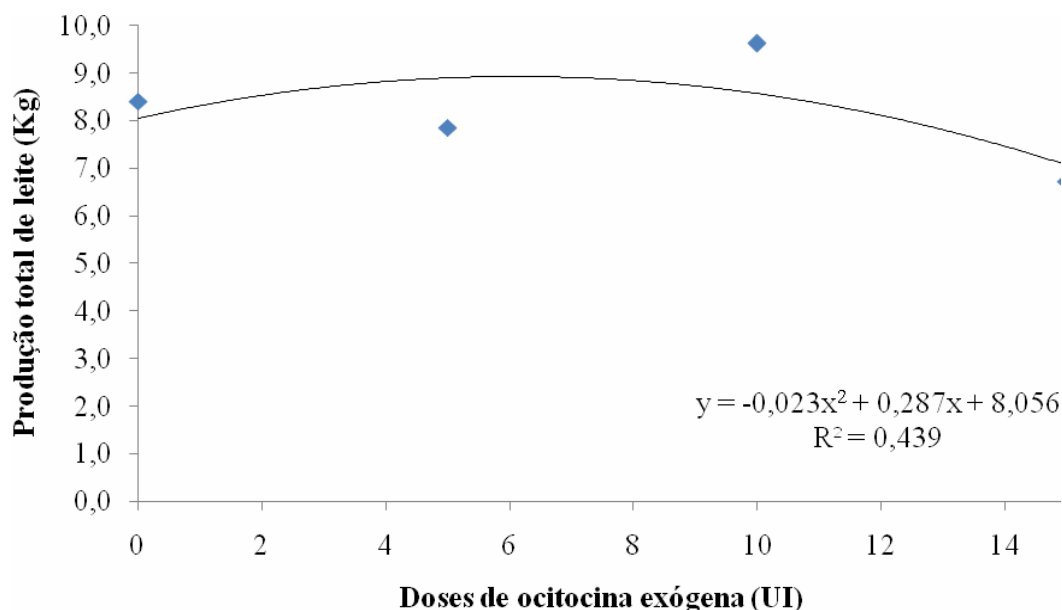


Figura 3. Efeito das aplicações de ocitocina exógena na produção total de leite

Como descrito pelas variáveis que compõem a produção total de leite, as doses suplementares de ocitocina exógena apresentaram um certo limiar de eficácia na ejeção do leite. Neste caso, a dose de 6 UI, considerada suprafisiológica (GOREWIT et al., 1983) apresentou a máxima responsividade da glândula mamária à ocitocina, favorecendo o melhor esvaizamento do úbere. Doses superiores passaram a agir de modo prejudicial ao efeito fisiológico da ocitocina na contração alveolar removendo menores volumes de leite, como observado às doses de 10 e 15 UI. Devido ao comportamento diferenciado entre a produção de leite da ordenha plena e do leite residual a dose ideal ficou entre as doses de 4,5 UI e 10 UI.

Quanto as doses de ocitocina exógena propostas, a dose de 5UI apresentou a melhor eficiência na produção total de leite. Esse efeito pode ser atribuído à manutenção da integridade das junções celulares da glandula mamária pela ocitocina exógena. Perda de integridade esta que ocorre fisiologicamente com o avançar da lactação, principalmente após o pico da lactação como observado por CARUOLO, (1971).

Estas junções localizadas no ápice das membranas basolaterais das células epiteliais são responsáveis pela coesão entre células e por garantir relativa permeabilidade ao epitélio mamário, participando da regulação de canais iônicos, bombas como a sódio-potássio atpase

(Na⁺-K⁺-ATPase) e carreadores na membrana plasmática influenciando assim, na extração de nutrientes pela glândula mamária (DELAMAIRES & GUINARD-FLAMENT, 2006).

Um outro efeito benéfico e direto seria sobre o fluxo sanguíneo. A ocitocina exógena possuiria efeito similar à vasopressina estimulando o fluxo sanguíneo nas células mioepiteliais aumentando suas atividades e favorecendo um maior aporte de hormônios lactogênicos e nutrientes essenciais na produção de leite (FLEET et al., 1993; BALLOU et al., 1993).

Uma hipótese refere-se a uma glicoproteína sintetizada dentro das células alveolares denominada de “*Feedback Inhibitor of Lactations*” FIL. Inicialmente descrita em cabras, essa proteína sintetizada pelas células secretoras possui ação de inibição sobre as mesmas limitando assim a secreção posterior do leite. A FIL só é ativo nos alvéolos em contato com as células secretoras e seu efeito é influenciado positivamente com sua concentração. A melhor remoção de leite, como observado neste estudo frente a dose de 5 UI, evitaria seu possível acúmulo impedindo a queda no fluxo sanguíneo e metabolismo celular o que favoreceria maior produção de leite total (WILDE & PEAKER, 1990).

Aplicações de 20 UI intramuscular antecendendo cada ordenha em vacas com 60 dias pós-parto foi capaz de aumentar a média de produção total de leite de uma lactação em 11,6% (NOSTRAND et al., 1991). A mesma dose e via de aplicação também possibilitou aumento (P<0,06) da produção total em 3% (BALLOU et al., 1993).

Na presente pesquisa, além de agir na glândula como citado acima, o incremento do volume de leite produzido também é atribuído à adição do volume retirado da fração láctea residual.

Em contrapartida, segundo Sagi et al. (1980), pequenas doses de ocitocina exógena (0,10 e 0,30 UI) apesar de induzirem a ejeção de leite nos animais estudados, não mostraram variação significativa quanto ao possível aumento de produção total de leite. Apesar de doses maiores (2 e 3 UI), semelhantes resultados foram observados por Gorewit e Sagi, (1984) enfatizando que, mesmo não sendo significativo esse acréscimo, verificou-se uma tendência de aumento pelas maiores dosagens.

Em relação ao declínio da produção total de leite frente aos tratamentos de maiores dosagens de ocitocina (10 UI e 15 UI) no presente estudo pode ser explicado a um efeito inibitório dessas doses suprafisiológicas na ejeção do leite. Esse bloqueio na ejeção pode ser atribuído à falta de responsividade da glândula mamaria, aliada à auto-regulação da sua liberação nos respectivos receptores nos alvéolos mamários durante as aplicações de ocitocina

exógena ocasionando essa queda na produção total de leite. Essas doses mais elevadas também podem atuar, diretamente, na bomba-sódio-potássio-atpase ocasionando um descompasso no fluxo de nutrientes para a glândula mamária, alterando o volume de leite produzido.

Tal hipótese foi pronunciada por Deis (1971), em que a administração permanente de doses suprafisiológicas de ocitocina em ratas lactantes, 90 minutos antes da mamada, apresentou queda na ejeção do leite. Porém, a aplicação de pequena dose, imediatamente antes da mamada, resultou na indução normal na ejeção do leite. Em vacas holandesas foi elucidado por Graf et al. (1973) que infusões contínuas de 200 UI durante 5 dias provocaram queda de produção total de leite, durante e após o período experimental.

Após as aplicações crônicas de 50 UI de ocitocina antecedendo a ordenha notou-se redução na produção de leite (BRUCKMAIER, 2003), como ocorrido com as doses de 10 e 15 UI de ocitocina exógena averiguadas neste estudo. Relatos semelhantes foram descritos por Mac'uhová et al. (2004), que com aplicações de 50 UI de ocitocina exógena observaram prolongamento da contração alveolar por até 25 minutos após as injeções, não influenciando a liberação endógena do hormônio. No entanto, observou-se redução da remoção espontânea do leite, permitindo afirmar que o tratamento prolongado com doses elevadas desse hormônio reduz a responsividade da glândula mamária à ocitocina e uma queda expressiva na produção.

Declínio da produção total de leite ($P<0,05$) também foi observado como resultado de aplicações de doses suprafisiológicas de ocitocina (100 UI e 1000 UI) antecedendo a ordenha em vacas, semelhante ao observado neste estudo com as doses de 10 e 15 UI. Neste contexto, as altas doses influenciaram negativamente a permeabilidade da bomba sódio-potássio-atpase alterando a osmolaridade do leite e uma expressiva queda na produção de leite das vacas (ALLEN, 1990).

4.4. Porcentagem de leite residual

Os resultados obtidos para a variável porcentagem de leite residual em relação à produção total apresentou variância significativa ($P<0,01$) e padrão quadrático. Porém, o tratamento referente à dose de 15 UI foi de maior relevância, resultando em remoção aproximada de 12,3% de leite total. Essa proporção apresentou redução com a diminuição das dosagens chegando ao nível de 2,2% com o tratamento controle (Figura 4).

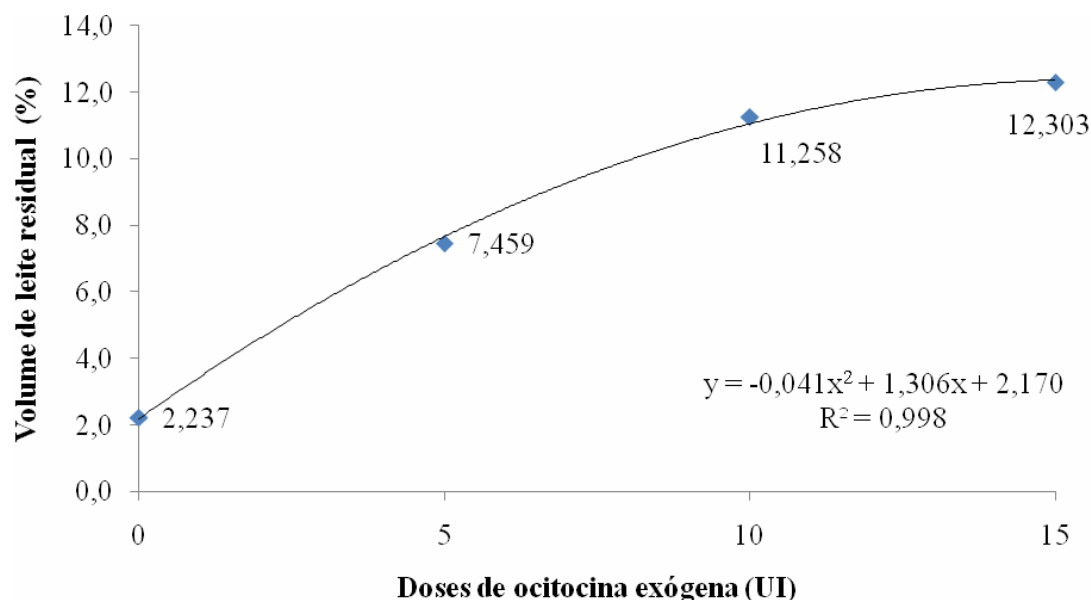


Figura 4. Efeito das aplicações de ocitocina exógena na porcentagem de leite residual em relação ao volume total de produção.

Ressalta-se que apesar da íntima ligação da variável, porcentagem do leite residual, com as outras variáveis: produção total de leite, produção de leite da ordenha plena e produção de leite residual, não se observaram queda frente às doses de 10 e 15UI de ocitocina exógena (Figuras 1,2 e 3). Sendo a variável porcentagem de leite residual, inversamente proporcional à produção de leite da ordenha plena, a maior diminuição dessa última variável em relação à queda apresentada pela produção de leite residual frente às maiores doses de ocitocina (10 e 15 UI), pode ter mascarado esse efeito de declínio esperado para porcentagem de leite residual.

A quantificação do volume ainda não é consenso entre pesquisas. A porcentagem de leite que permanece na glândula mamária varia de 10-30% do volume total de leite produzido numa ordenha (BRUCKMAIER & BLUM, 1998). Intervalo condizente com os achados desta pesquisa.

Nesse estudo fica evidente a ação da ocitocina exógena na sua remoção. Percebem-se valores condizentes com a literatura entre as aplicações de maiores doses (11 e 12%, respectivamente aos tratamentos 10UI e 15 UI). O tratamento equivalente a 5 UI obteve uma taxa de remoção inferior a 7,5%, em virtude de uma deficiente contração alveolar e remoção desta fração láctea. Enfatiza-se uma resposta dose-dependente desta eficiência de remoção às

concentrações de ocitocina aplicada. Sugere-se que para uma efetiva retirada do leite residual seriam necessárias doses suprafisiológicas de ocitocina exógena, superiores a 10 UI.

Segundo Bruckmaier & Blum (1998) para obtenção do leite residual são necessárias doses suprafisiológicas de ocitocina exógena. Considerando que doses suprafisiológicas sejam aquelas superiores a 5 UI, observa-se semelhante efeito de eficiência com os resultados expostos nessa pesquisa.

Porém, Schalm et al. (1971) afirmam que a porcentagem de leite residual de uma vaca estaria num intervalo ínfimo de 12-14%, o que vem a corroborar, mais precisamente, com as doses de 10 e 15 UI apresentada nesse estudo. Isso enaltece a necessidade de doses suprafisiológicas para a remoção do leite residual.

Paradoxalmente, Gorewit e Sagi (1984) sugerem que doses de 2 a 3 UI de ocitocina exógena por via intravenosa já resultariam maior eficiência de extração do leite residual, discordando com a ineficácia na ejeção do leite frente às aplicação de 5UI de ocitocina, apresentada nesse estudo.

4.5. Composição química do leite residual

A administração de ocitocina exógena como o objetivo de remoção do leite residual apresentou pequenas alterações quanto à composição do leite dessa fração láctea. Determinou-se uma variação quadrática e significativa ($P < 0,05$) nos percentuais de gordura (Figura 5) apresentando maiores teores no leite com a dose equivalente a 9,5 UI, bem próxima ao tratamento de 10 UI proposto. Em contrapartida, não evidenciou-se efeito significativo das doses suplementares de ocitocina exógena na porcentagem das outras variáveis do leite: proteína e lactose ($P > 0,05$).

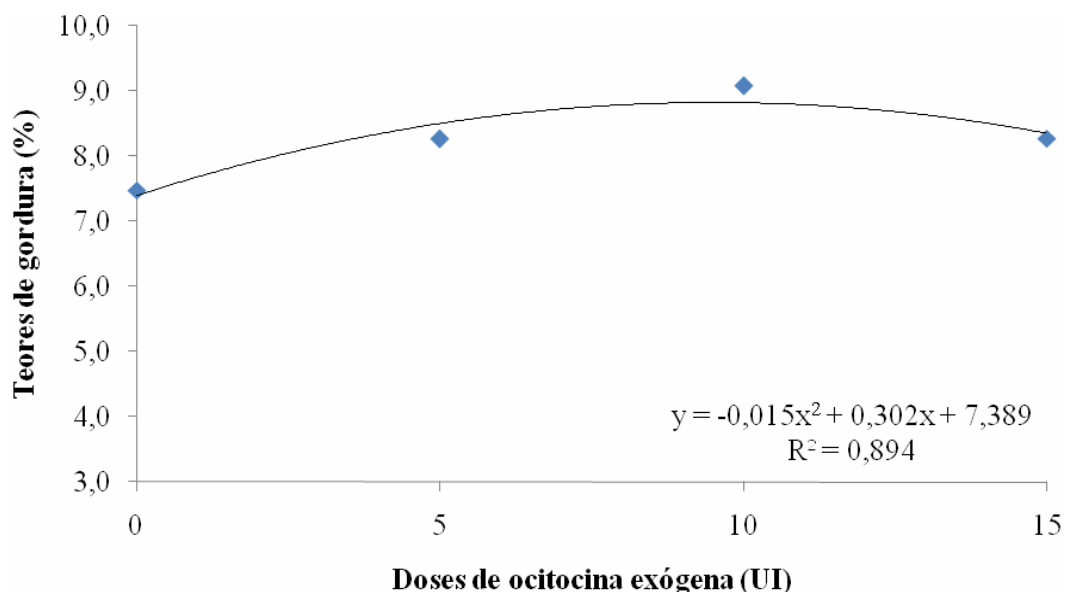


Figura 5. Efeito das aplicações de ocitocina exógena na porcentagem de gordura do leite residual

Inicialmente, vale ressaltar o elevado teor de gordura do leite residual. Isto se deve à metodologia empregada para a coleta das amostras de leite. Como na propriedade a ordenha utilizada é do tipo mecanizada canalizada, ao iniciar o processo de retirada do leite seria inviável economicamente para o produtor e fisiologicamente para a vaca interrupções da ordenha para a retirada de amostras ao transcorrer do processo para a representação de uma amostra composta. Optou-se pelo volume de leite inicial após o efeito da aplicação das doses de ocitocina. A explicação científica para esses teores de gordura estaria vinculada às suas propriedades físicas e químicas, além da distribuição irregular das gotículas de gordura na glândula mamária.

Segundo Hafez (1988) a gordura é constituída, majoritariamente (98%), pelos triglicerídeos e estes elaborados sob a forma de gotas que podem se unir formando glóbulos. Os glóbulos de gordura por estarem suspensos na água e apresentarem densidade inferior, antes da ejeção do leite, ascendem no interior do lúmen alveolar concentrando na camada superior da massa de leite. Isto permite que as gotículas de gordura agreguem-se nos alvéolos por forças capilares e adesivas retardando sua passagem para o teto, enquanto a porção mais fluida move mais prontamente. Portanto, as frações com concentração mais elevada de gordura são removidas ao final da ordenha (ONTSOUKA et al., 2003).

Já é de conhecimento que este constituinte possui variações percentuais ao longo da ordenha (DÜRR et al., 2001; GONZÁLEZ, 2001; ONTSOUKA et al., 2003;

BRUCKMAIER & WELLNITZ, 2008). O primeiro leite contém menos gordura (1 a 2%) do que o leite removido ao final da ordenha (7 a 9%) (DÜRR et al., 2001).

A gordura apresentou aumento concomitante ao acréscimo das dosagens de ocitocina (0 UI; 5UI; 10UI). Caracterizando o leite residual como a fração láctea acumulada fisiologicamente na glândula mamária e removível após a ordenha plena com administração de ocitocina exógena, constitui-se a última porção removida de uma ordenha. Desta forma, quanto maior a eficiência da contração ativa das células mioepiteliais, maior será a remoção dos possíveis glóbulos de gordura, que casualmente, estejam aderidas nos alvéolos aumentando, concomitantemente, os teores de gordura desta fração de leite. Outro efeito da ocitocina, por ser atribuído a uma similaridade com a vasopressina aumentando o aporte de nutrientes para a glândula mamária, favorecendo a formação dos constituintes do leite.

O efeito de queda frente ao tratamento de 15UI refere-se a possível efeito inibitório dessa dose supra fisiológica na responsividade dos receptores da ocitocina à própria ocitocina circulante, além dos efeitos diretos no fluxo sanguíneo e de nutrientes para a glândula mamária. Tais fatos comprometeram a ação da ocitocina, e por consequência, uma menor eficiência na ejeção do leite e retirada da gordura.

Rosenfeld (2005) avaliando a influência da retenção láctea em 10, 15 e 20 % do leite total nas características físico-químicas do leite, observou diminuição significativa dos teores de gordura com o aumento do volume de leite retido, condição que mais se aproxima dos resultados encontrados no presente estudo.

Já Sagi et al. (1980) observou que doses menores de ocitocina (0,10 e 0,30 UI) foram suficientes para a remoção de gordura nos ácinos mamários, discordando da necessidade proposta de doses mais elevadas de ocitocina exógena (9,5 UI) para melhor remoção de gordura dos alvéolos, e consequente maior teor de gordura no leite.

Em contrapartida, outro estudo utilizando a dose de 10 UI de ocitocina exógena, no intuito de remoção do leite residual, não foi capaz de variar significativamente os teores de gordura desta fração láctea (GOREWIT & SAGI, 1984).

Pesquisas também mostram que não houve variação dos teores de gordura com o uso de ocitocina quanto à aplicação de ocitocina antecedendo o leite da ordenha plena, com doses de 20 UI (NOSTRAND et al., 1991; BALLOU et al., 1993) e doses de 1, 10, 100 e 1000 IU (ALLEN, 1990).

Quanto às variáveis, proteína total e lactose há poucos relatos na literatura da influência das aplicações de ocitocina em seus teores. Sabe-se que contrariamente à gordura, a

remoção da proteína do leite e da lactose são bastante consistentes durante uma ordenha e suas alterações são influenciadas principalmente pela nutrição, idade e fases de lactação dos animais (LOLLIVER et al., 2002), confirmando a não significância na variação desses constituintes nessa pesquisa.

Os fatores que influenciam o teor de proteína e lactose no leite têm sido ainda pouco estudados, talvez pela menor importância na produção de derivados lácteos ou menor variação de acordo com fatores nutricionais e ambientais.

Dentre os poucos estudos que avaliaram os efeitos das doses de ocitocina exógena nos parâmetros do leite, proteína e lactose, não apresentaram variações significativas. Submetidos à doses de 10 UI (GOREWIT & SAGI, 1984) e de 20 UI (NOSTRAND et al., 1991; BALLOU et al., 1993) o que corrobora com os resultados apontados nesta pesquisa.

Em relação a uma retenção láctea de 10, 15 e 20%, semelhante aos volumes de leite residual removido no presente estudo, também não apresentaram variações significativas nos teores proteicos e de lactose do leite que pudesse atribuir a essas retenções (ROSENFELD, 2005).

Já Allen (1990), administrando doses de ocitocina exógena (1, 10, 100 e 1000 IU) observou declínio dos teores de proteína e lactose com o aumento das doses. Atribuindo este fato, a uma instabilidade causada por estas altas dosagens na regulação da bomba sódio-potássio atpase ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$) alterando as concentrações de Na^+ e K^+ no citosol e no leite. Sendo a lactose o principal impermeante osmótico do leite, esta redução na força de condução para a fração aquosa do leite provoca decréscimo nas taxas de secreção e movimentação deste constituinte através das junções celulares para o leite.

4.6. Qualidade do leite

A Figura 6 mostra os resultados obtidos para a classificação de CMT1, CMT2 e CMT3 quanto aos tetos dos animais. A qualidade do leite foi influenciada pelas diferentes dosagens de ocitocina exógena, através das variações da contagem de célula somáticas (CCS) correlacionadas com os escores de CMT. Observou-se que com o aumento das dosagens de ocitocina houve um aumento expressivo no número de tetos negativos, à reação do reagente para o CMT.

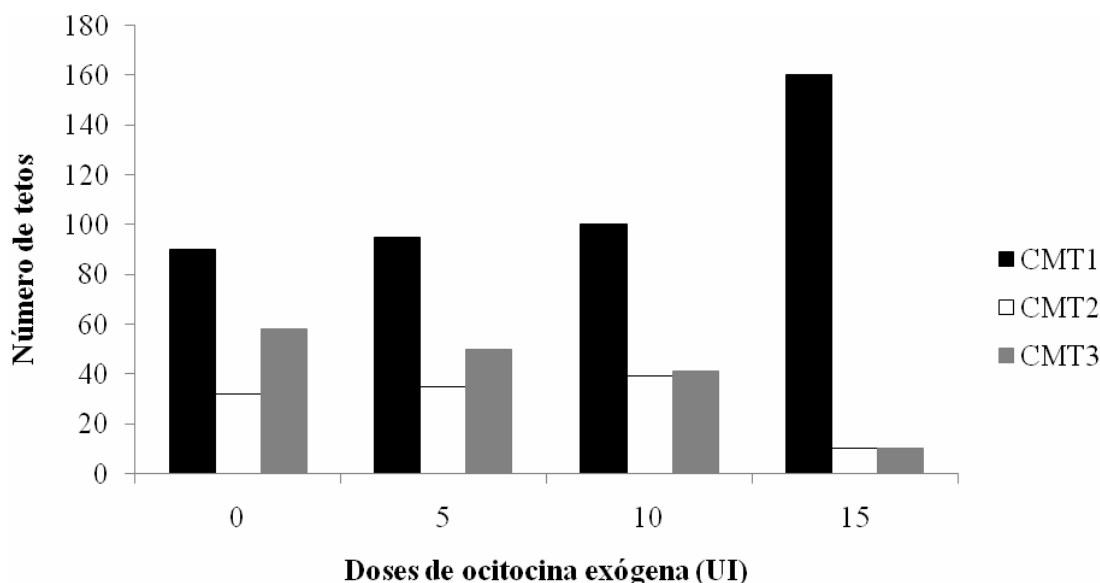


Figura 6. Número de tetos e suas classificações quanto a prova de CMT, durante os 60 dias experimentais (Qui-quadrado; DF=6; $p < 0,01$).

Elucida-se uma relação inversamente proporcional entre a celularidade do leite e o aumento das concentrações da ocitocina exógena. A dose de 15 UI possibilitou a obtenção de um leite de melhor qualidade quanto a CCS. Com essa dose, maior foi o número de tetos que continham até 200.000 células/mL de leite, dentro das normas de produção e qualidade determinadas pela Normativa 62, proposta pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Em que a CCS máxima permitida seria de 600.000 células/mL.

A maior dose de ocitocina exógena (15 UI) aplicado, por via endovenosa objetivando a retirada da fração láctea residual mostrou menor contagem de células de defesa quando comparada aos demais tratamentos, por favorecer maior contração das células mioepiteliais que revestem os alvéolos permitindo um aumento de pressão capaz de gerar melhor esgotamento da glândula mamária. Considerando o leite um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de bactérias, seu menor volume implica em redução de uma potencial fonte de contaminação intramamária e consequentemente a susceptibilidade à mastite.

Corroborando com este resultado, Gorewit e Sagi (1984) administrando por via endovenosa, doses de dois e três UI em 15 vacas holandesas um minuto antes do acoplamento das teteiras, observaram maior eficiência no esvaziamento da glândula mamária pela extração do leite residual contribuindo para a redução dos riscos de novas infecções mamárias.

Em contrapartida, Nostrand et al. (1991) não observaram efeito aparente da aplicação de 20 UI antecedendo a fixação das teteiras, na CCS do leite. Apesar de se perceber uma eficiente contração alveolar, com este resultado, percebe-se que o uso da ocitocina exógena pode favorecer uma menor celularidade do leite, como prática auxiliar e não como único artifício, na busca de melhor qualidade láctea.

É importante ressaltar que a sanidade do leite depende de outros fatores além de condições ligadas à fisiologia da glândula, como: nível de produção, estágio de lactação, hereditariedade, fatores climáticos. Os resultados satisfatórios quanto a essa prática medicamentosa só foram validados graças a cuidadoso manejo higiênico das instalações e ordenha, atendendo as normativas de qualidade.

Salienta-se que a variação da CCS também possui comportamento diferenciado nas diferentes frações do leite de uma ordenha, aumentando com o decorrer da ordenha. Isto evidencia maior CSS fisiologicamente normal no leite residual quando comparada ao leite da ordenha plena (HAMANN e GYODI, 2000), como observado nessa pesquisa.

No entanto, esta prática deve ser adotada com cautela, junto com um manejo sanitário adequado do rebanho, devido aos riscos de transmissão de doenças veiculadas por fômites, como agulhas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca de maior produtividade e eficiência leiteira utilizando a prática de administração da ocitocina exógena requer estudos mais especializados e aprofundados. A problemática inerente à definição de um esquema terapêutico consensual para as administrações de ocitocina exógena são a cerne das discussões quanto ao seu uso.

Até que se comprove cientificamente os possíveis malefícios e benefícios do uso da ocitocina exógena na pré-ordenha seu uso inspira cuidados. Ressalta-se que não há nenhuma legislação vigente que auxilie no controle da prescrição e venda desse fármaco. Esse livre acesso vem facilitando a incoerência na disseminação dessa prática e certa dependência pelos pecuaristas e ordenhadores.

Adicionalmente, o uso rotineiro desse hormônio sintético pode vir a mascarar possíveis falhas de manejo e bem estar animal que afetariam negativamente o fluxo normal de leite. Isto vem em divergência às exigências preconizadas pelo novo perfil do mercado consumidor, preocupado com uma cadeia produtiva que respeite os animais.

Apesar da ação e secreção da ocitocina ter sido alvo de muitos estudos, ainda faz-se necessário um melhor conhecimento e entendimento de diversos mecanismos fisiológicos e endócrinos que a ocitocina exógena possa estar envolvida. O entendimento destes mecanismos pode esclarecer se esta corrida pela produtividade está aliada ou não a uma melhor eficiência animal.

6. CONCLUSÃO

Percebe-se efeito dose-dependente da ocitocina exógena na ejeção do leite, principalmente, quanto à remoção da fração láctea residual. Nesse estudo doses inferiores a 4,5 UI não são suficientes para eficiente extração do leite residual.

Ressalta-se possível efeito inibitório na ejeção do leite pela administração contínua de doses superiores a 10 UI de ocitocina exógena.

Há evidências que a administração prolongada de doses elevadas de ocitocina provoque uma queda na espontaneidade da remoção do leite residual.

O volume de leite retido fisiologicamente pelo animal variou entre 7 a 12%. A dose de 10 UI de ocitocina exógena possibilitou a remoção de maior volume de leite residual.

Em relação à composição do leite, observa-se uma relação proporcional entre remoção do leite residual e o teor de gordura.

Quanto à celularidade do leite, observa-se uma relação inversamente proporcional as doses suplementares de ocitocina. Quanto maior a remoção das frações lácteas, menor é a predisposição à mastite e melhor é a qualidade atribuída ao leite. A dose suplementar de 15 UI apresentou o melhor resultado.

De forma geral, a dose de 10 UI ou 1 mL de ocitocina exógena aplicada, por via endovenosa, num rebanho mestiço com ordenha mecânica foi a que melhor aliou eficiência na ejeção do leite, favoráveis teores de sólidos totais e celularidade do leite que atendessem aos padrões preconizados pela normativa governamental vigente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, J.C. Milk synthesis and secretion rates in cows with milk composition changed by oxytocin. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.975-984, 1990.

BALDI, A.; CHELI, F.; PINOTTI, L.; PECORINI, C. Nutrition in mammary gland health and lactation: advances over Eight Biology of Lactation in Farm Animals meetings, **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 3–9, 2008.

BALLOU L.U.; BLECK, J.L.; BLECK G.T.; BREMEL, R.D. The effects of daily oxytocin injections before and after milking on milk production, milk plasmin, and milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1544-1549, 1993.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZÁLES, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELLI, R.S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, p.44-57, 2001.

BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite**: queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise. 13ed. São Paulo: Nobel, 1999.

BERNE, R.M.; LEVY, M.N.; KOOPPEN, B.M.; STANTON, B. **Anatomia e Fisiologia**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1082p, 2004.

BIRGEL, E.H. Avaliação das provas utilizadas no diagnóstico da mamite bovina. In: BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J. **Patologia Clínica Veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, p.177-213, 1982.

BIRGEL, E.H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Gir e Girolando, criados no estado de São Paulo**. 335f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BIRGEL, E.H. Semiologia da Glândula mamária de Rumiantes. In: FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária – A arte do diagnóstico**. São Paulo: Editora Roca, p.353-398, 2004.

BRITO, J.R.F.; CALDEIRA, G.A.V.; VERNEQUE, R.S.; BRITO, M.A.V.P. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p.49-53, 1997.

BRUCKMAIER, R.M. Chronic oxytocin treatment causes reduced milk ejection in dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v.70, p.123-126, 2003.

BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Oxytocin release and milk removal in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.939–949, 1998.

BRUCKMAIER, R.M.; WELLNITZ, O. Induction of milk ejection and milk removal in different production systems. **Journal of Animal Science**, v.86, p.15-20, 2008.

BURCHARD, J.F.; BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. **Anais**. Curitiba: Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa/Universidade Federal do Paraná, p.16-19, 1998.

CARUOLO, E.V. Exogenous oxytocin and lactation in the mouse. **Journal of Dairy Science**, v.54, p.1207, 1971.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 579p, 2004.

DEIS, R.P. Inhibition of milk ejection by exogenous oxytocin in lactating rats. **Journal of Dairy Science**, v.137, p.1006–1012, 1971.

DELAMAIRE, E.; GUINARD-FLAMENT, J. Longer milking intervals alter mammary epithelial permeability and udder's ability to extract nutrients. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.2007-2016, 2006.

DEN HERTOOG C.E.C, DE GROOT A.N.J.A, VAN DONGEN P.W.J: History and use of oxytocics **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology** v.94, n.1, p.8-12, 2001.

DÜRR J.W.; FONTANELI R.S.; MORO D.V. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p5-22, 2001.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 668p, 1997.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Homepage da FAO, 2010. Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 20 ago. 2012.

FLEET, I.R.; DAVIS A.J.; RICHARDSON M.; HEAP R.B. The stimulation of mammary blood flow by oxytocin and the potential role of locally release nitric oxide in the goat. **Journal of Reproduction & Fertility**, v.11, p.104, 1993.

FRANDSON, R.D.; WILKE, W.LEE; FAILS, ANNA DEE. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 454 p, 2005.

GLANTZ, M.; LINDMARK MÅNSSON, H.; STÅLHAMMAR, H.; BÅRSTRÖM, L.O.; FRÖJELIN, M.; KNUTSSON, A.; TELUK, C.; PAULSSON, M. Effects of animal selection on Milk composition and processability. **Journal of Dairy Science**, v.92, n. 9, p.4589-4603, 2009.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, p.5-22, 2001.

GOREWIT, R.C.; SAGI, R. Effect of exogenous oxytocin on production and milking variables of cows. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.2050-2054, 1984.

GOREWIT, R.C.; WACHS, E.A.; SAGI, R.; MERILL, W.G. Current concepts on the role of oxytocin in milk ejection. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p.2236–2250, 1983.

GRAF G.C.; ELLIOT, C.S.; RANDY, H.A. Inhibitory effect of continuous infusion of oxytocin on lactation in cows. **Journal of Dairy Science**, v.56, p.181–183, 1973.

GRÖHN, Y.T.; EICKER, S.W.; HERTL, J.A. The association between previous 305-day milk yield and disease in New York State dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, p. 1693-1702, 1995.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 9.ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1014p, 1997.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 4.ed. São Paulo: Manole, 541p, 1988.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7.ed. São Paulo: Manole, 513p, 2004.

HAMANN, J.; GYODI, P. Somatic cells and electrical conductivity in relation to milking frequency. **Milchwissenschaft**, v.55, n.6, p.303-307, 2000.

HARMON, R.J. Somatic cell counts: a primer. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 40. Reno, 2001. **Proceedings**. Madison: National Mastitis Council, p.3-9, 2001.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema de recuperação de informações – SIDRA. Homepage IBGE, Brasília, 2010. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 01 ago. 2012.

JOHNSTON, S.D.; KSTRITZ, M.V.R.; OLSON, P.N.S. Canine Parturition – Eutocia and Dystocia. In: JOHNSTON, S.D. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. 592p.

KNIGHT, C.H.; HIRST, D.; DEWHURST, R.J. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. **Journal of Dairy Research**, v.61, n.2, p.167-177, 1994.

LOLLIVIER, V.; FLAMENT, J.G.; BOUSQUET, M.O.; MARNET, P.G. Oxytocin and removal: two important sources of variation in milk production and milk quality during and between milkings. **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, p.173-186, 2002.

MAC’UHOVÁ, J.; TACIN, V; BRUCKMAIER, R.M. Effects of Oxytocin Administration on Oxytocin Release and Milk Ejection. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1236–1244, 2004.

MACHADO, A.; LIRIA, C.W.; PROTI, P.B.; REMUZGO, C.; MIRANDA, M.T.M. Síntese química e enzimática de peptídeos: princípios básicos e aplicações. **Química Nova**, v.27, n. 5, p.781-789, 2004.

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 de Zootecnia**, v.29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n.62. Diário Oficial da União. Brasília: MAPA, 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 20 ago.2012.

MARQUES, D.C. **Criação de Bovinos**. 7.ed. revisão, atual e ampliada, Belo Horizonte, CVP Consultoria Veterinária e publicações, p. 435 a 450, 2006.

MORAG, M.; GRIFFIN, T.K. Galactokinetic responses to oxytocin and other solutions in the cow. **Annales of Biologie Animale, Biochimie Biophysique**, v.8, p.235, 1968.

MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. **Anais do II Sul- Leite**: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil. Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, p. 206-217, 2002.

NOSTRAND, S.D.; GALTON, D.M.; ERB, H.N. Effects of Daily Exogenous Oxytocin on Lactation Milk Yield and Composition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.211-2127, 1991.

ONTSOUKA, C.E.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Fractionized Milk composition during removal of colostrum and mature milk. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2005–2011, 2003.

ORTOLANI, E.L.; GONZÁLEZ, F.H.D.; BARROS, L.; CAMPOS, R. Transtornos metabólicos que podem ser detectados por meio do leite. In: Avaliação metabólico-nutricional em vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). 29º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Anais**. Gramado, RS, p.27-39, 2002.

PALES, A.P.; SANTOS, K.J.G.; FIGUEIRAS, E.A.; MELO, C.S. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v.1, n.2, p. 162-173, 2005.

PECHOVÁ, A.; PAVLATA, L.; DVOŘÁK, R.; LOKAJOVÁ, E. Contents of Zn, Cu, Mn and Se in milk in relation to their concentrations in blood, milk yield and stage of lactation in dairy cattle. **Acta Veterinaria Brno**, v.77, p.523–531, 2008.

PFEILSTICKER, H.U.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Cisternal milk in the dairy cow during lactation and after preceding teat stimulation. **Journal Dairy Research**, v.63, p.509–515, 1996.

POLLOCK, W.E.; HURNIK, J.F. Effect of calf calls on rate of milk release of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.61, p.1624-1626, 1978.

PRESTES, N.C., ALVARENGA, F.C.L. **Obstetrícia Veterinária**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara, p.123 - 125, 2006.

RIBEIRO R. T. Implantação de uma unidade leiteira em sistema de semi-confinamento no município de Unaí – MG. Planaltina – DF: Faculdades Integradas Departamento de Agronomia, **Boletim Técnico**, n.23, 23p. 2008.

ROSENFELD, A. M. F. **Retenção láctea: Fator etiológico predisponente às inflamações da glândula mamária de bovinos. Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite.** Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, 129pp, 2005.

RUSHEN, J.; DE PASSILLE, A.M.B.; MUNKSGAARD, L. Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.4, p.720-727, 1999.

RUSHEN, J.; MUNKSGAARD, L.; MARNET, P. G.; DE PASSILLE, A. M. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. **Applied Animal Behaviour Science**, v.73, n.1, p.1-14, 2001.

SAGI, R.; GOREWIT, R.C.; WILSON, D.B. Role of Exogenous Oxytocin in Eliciting Milk Ejection in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.12, p.2006-2011, 1980.

SAS. 1985. **SAS User's Guide: statistics**. SAS Institute, 5.ed. Cary, USA.

SCHALM, O.W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N.C. Bovine mastitis. Philadelphia: **Lea & Febiger**, 360 p, 1971.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, B.S. Experiments and observations leadind to development of the California Mastitis Test. **Journal Americal Veterinary Medical Association**, v. 30, n.5, p. 199-204, 1957.

SCHMIDT, G.H.; VAN VLECK, L.D.; HUTJENS, M.F. **Principles of Dairy Science**. 2.ed. New Jersey, 466pp, 1988.

SPANAMBERG, A.; SANCHES, E.M.C. ; SANTURIO, J. M. ; FERREIRO,L. Mastite micótica em ruminantes causada por leveduras. **Ciência Rural**, v.39, p.282-298, 2009.

SWENSON, M.J.D. **Fisiologia dos animais domésticos**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 973p, 1984.

SWENSON, M.J.D. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856p, 1996.

TANCIN, V. & BRUCKMAIER, R.M. Factors affecting milk ejection and removal during milking and suckling of dairy cows. **Veterinary Medicine – Czech** v.46, n.4, p.108-118, 2001.

TEODORO, R.L. Pesquisa em cruzamentos: resultados zootécnicos. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**, n.18, p. 11-18, 1996.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3.ed. Santa Maria: UFSM, 206p, 2008.

WATTIAUX, M. A.; ARMENTO, L.E. O metabolismo de carboidratos em bovino de leite. Essenciais em Gado de Leite. **Madison Department of Dairy Science**, cap 3, 2004.

WELLNITZ, O.; BRUCKMAIER, R. Central and peripheral inhibition of milk ejection. **Livestock Production Science**, v.70, p.135-140, 2001.

WILDE, C.; PEAKER, M. Autocrine control in Milk secretion. **Journal Agricultural Science**, v.114, p.235-238, 1990.