

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFLUÊNCIA DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DA
LACTAÇÃO NA SAÚDE DAS VACAS MISTIÇAS**

Danilo de Oliveira

Médico Veterinário

UBERLÂNDIA – MG – BRASIL

Setembro - 2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFLUÊNCIA DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DA
LACTAÇÃO NA SAÚDE DAS VACAS MISTIÇAS**

Danilo de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Elsen Saut

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para a obtenção de título de mestre em Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

UBERLÂNDIA – MG – BRASIL

Setembro - 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

O48i
2017 Oliveira, Danilo de, 1967-
Influência da indução artificial da lactação na saúde das vacas
mestiças / Danilo de Oliveira. - 2017.
33 f. : il.

Orientador: João Paulo Elsen Saut.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2017.73>
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Lactação (Veterinária) - Teses. 3. Leite -
Produção - Teses. 4. Bovino de leite - Reprodução - Teses. I. Saut, João
Paulo Elsen. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



Ata da defesa de Dissertação de MESTRADO ACADÊMICO junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de mestrado acadêmico nº PPGCV/025/2017

Data: 09/10/2017

Discente: *Daniilo de Oliveira* – Matrícula – 11512MEV008

Título da Dissertação: **INFLUÊNCIA DE UM PROCESSO ARTIFICIAL DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO NA SAÚDE DAS VACAS**

Área de concentração: SAÚDE ANIMAL

Linha de pesquisa: Clínica Médica e Investigação Etiológica

Projeto de Pesquisa de vinculação:

No dia 09 de Outubro do ano de 2017 às 14:00 horas na sala 2D54 – Bloco 2D – Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, composta pelos Professores(as)/Doutores(as): **Antonio Vicente Mundim** – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA; **Francisco de Sales Resende Carvalho** – GAIA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM SAÚDE ANIMAL e **João Paulo Elsen Saut** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão Dr./Dra. João Paulo Elsen Saut concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para uma exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a) APROVADO.

Esta defesa de dissertação de mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar o(a) Presidente encerrou os trabalhos às 16 horas e 00 minutos, lavrou esta ata que será assinada por todos os membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 09 de Outubro de 2017.


Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA


Dr. Francisco de Sales Resende Carvalho
GAIA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM SAÚDE ANIMAL


Prof. Dr. João Paulo Elsen Saut
ORIENTADOR

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DANILO DE OLIVEIRA – Nascido na cidade de Uberlândia, estado de Minas Gerais aos onze dias do mês de outubro de um mil novecentos e sessenta e sete. Ingressou na Faculdade de Medicina Veterinária no ano de 1985, concluindo o curso no primeiro semestre de 1990 na Universidade Federal de Uberlândia (UFU). No segundo semestre de 1990, ingressou na Cooperativa de Produtores Rurais de Itumbiara, Goiás, trabalhando em assistência técnica em fazendas da região do sul de Goiás e Triângulo Mineiro na região de Centralina, Canápolis, Monte Alegre de Minas, Araporã e Tupaciguara. Em 1999, montou uma empresa de Assistência Técnica Veterinária, onde atualmente ocupa o cargo de Médico Veterinário e Diretor Administrativo. Em dezembro de 2014 foi aprovado no processo seletivo de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (Mestrado) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) para início em fevereiro de 2015 e conclusão em outubro de 2017.

AGRADECIMENTOS

Dedico a conclusão deste trabalho a minha família, absolutamente disposta a me ajudar em todas as dificuldades. À minha mãe sempre me apoiando. A meu pai que mesmo em outro plano sempre olhou por mim. Aos meus amados filhos que sempre me orgulharam e me apoiaram. À minha linda e amadíssima esposa que abraçou este sonho por puro amor a mim. A meu orientador Prof. Dr. João Paulo Elsen Saut por ter me proporcionado esta oportunidade de aprender com a capacidade e paciência que só os grandes mestres possuem. As minhas amigas Layane Queiroz Magalhães e Paula Batista Alvarenga pela enorme ajuda. E a Deus, razão de toda a vida.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	9
II. REVISÃO DE LITERATURA	10
1.1. Fisiologia da lactação.....	10
1.2. Alterações metabólicas no periparto e eficiência reprodutiva	11
1.3. Protocolos de indução de lactação e sua utilização	12
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
IV. RESULTADOS.....	18
V. DISCUSSÃO.....	25
VI. CONCLUSÕES.....	28
VII. REFERÊNCIAS	29

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Protocolo de 21 dias para a indução artificial da lactação com Benzoato de Estradiol (Sincrodiol®), Progesterona (Sincrogest®), Prostaglandina (Sincrocio®), Dexametasona (Cortiflan®) e Somatotropina bovina recombinante (Boostin®), utilizado nas vacas mestiças leiteiras deste estudo. Araporã, MG, 2016. 16
- Figura 2.** Médias, desvios padrão e intervalo de referência dos elementos do eritrograma e plaquetograma de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016. 20
- Figura 3.** Comportamento dos elementos do leucograma de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016. 21
- Figura 4.** Médias, desvios padrão e intervalos de referência das proteínas e enzimas séricas avaliadoras da função hepáticas de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016. 22
- Figura 5.** Médias, desvios padrão e intervalos de referência dos metabólitos séricos avaliadores da função renal de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016. 23
- Figura 6.** Médias, desvios padrão e intervalos de referência dos minerais séricos de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016..... 24
- Figura 7.** Comportamento do escore de condição corporal e dos metabólitos energéticos séricos de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação Araporã, MG, 2016. 25

INFLUÊNCIA DA INDUÇÃO ARTIFICIAL DA LACTAÇÃO NA SAÚDE DAS VACAS MISTIÇAS

RESUMO – Protocolos hormonais de indução artificial de lactação constituem uma alternativa para reduzir perdas econômicas decorrentes de baixos índices reprodutivos. Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito da indução artificial de lactação na saúde das vacas, por meio dos exames físico e complementares (hemograma e bioquímica sérica). As vacas foram submetidas ao protocolo de 21 dias de tratamento com aplicações de benzoato de estradiol, progesterona, cloprostenol, dexametasona e somatotropina bovina recombinante. Foi realizado exame físico e coleta de amostras sanguíneas semanalmente. Os animais responderam ao protocolo e apresentaram-se clinicamente saudáveis. No dia vinte e um, todos os animais apresentaram leucograma de estresse, devido à dexametasona. Os valores da enzima sérica aspartato amino transferase estiveram elevados nos momentos dia sete e dia quatorze devido à aplicação excessiva de medicação intramuscular, fosfatase alcalina e gama glutamiltransferase apresentaram valores crescentes, não caracterizando hepatopatia. Os animais mantiveram escore de condição corporal, níveis normais de colesterol, superiores de triglicérides, e tendência de redução do beta hidroxibutirato (BHBA). O protocolo foi eficiente ao ser implantado em vacas leiteiras mestiças e os medicamentos utilizados não interferiram na saúde dos animais.

Palavras-chaves: exame clínico, hormônios, sanidade, vacas leiteiras mestiças.

INFLUENCE OF LACTATION ARTIFICIAL INDUCTION ON THE CROSSBREED COWS HEALTH

ABSTRACT – Hormonal protocols lactation artificial induction are an alternative to reduce economic losses due to low reproductive rates. There are no studies with clinical evaluation of the animals submitted to the protocols. The objective of this study was to evaluate the effect of lactation artificial induction on the health of the animals, through the physical and complementary exams (hemogram and serum biochemistry). 12 cows were submitted to a 21-day treatment protocol with estradiol benzoate, progesterone, cloprostenol, dexamethasone and recombinant bovine somatotropin. Physical examination and blood sampling were performed weekly. The animals responded to the protocol and were clinically healthy. In D21, all animals showed stress leukogram due to dexamethasone. The AST serum enzyme values were elevated at moments D7 and D14 due to the excessive application of intramuscular medication, AF and GGT presented increasing values, not characterizing liver disease. The animals maintained body condition score, normal cholesterol levels, higher triglycerides, and a tendency to reduce beta hydroxybutyrate (BHBA). The protocol was efficient when it was implanted in crossbred dairy cows and the drugs used did not interfere in the animals health, allowing the pregnancy and the gestation of them.

Keywords: clinical examination, crossbreed dairy cows, hormones, sanity.

I. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de leite tem crescido em decorrência do aumento do rebanho leiteiro, no entanto, os últimos anos têm passado por uma fase de inconsistência da produção, havendo aumento dos custos com consequente redução dos investimentos no setor da pecuária leiteira (CEPEA, 2016). Devido a esses fatores, o sistema de produção de leite exige conhecimento técnico e implantação de algumas tecnologias que garantam a produtividade do rebanho.

Dentre algumas falhas, destacam-se as ocorridas no pós-parto, que interferem significativamente na eficiência reprodutiva destes animais, e consequentemente, na produção leiteira. Animais com baixa eficiência reprodutiva muitas vezes são descartados, o que acarreta em menor rentabilidade das fazendas leiteiras (Magliaro *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2004).

Uma das alternativas encontrada pelos produtores de leite brasileiros, para reduzir as perdas econômicas decorrentes dos baixos índices reprodutivos, foi a utilização de protocolos hormonais de indução artificial de lactação. Tal ferramenta é utilizada principalmente naquelas vacas que estão saudáveis, em boas condições clínicas e bom escore de condição corporal (ECC), mas não conseguem ficar gestantes. Estes protocolos já são relatados há muito tempo na literatura (Erb *et al.*, 1976) e pesquisados com certa frequência (Chakriyarat *et al.*, 1978; Byatt *et al.*, 1996; Magliaro *et al.*, 2004; Freitas *et al.*, 2010; Stark *et al.*, 2015). Entretanto, estas pesquisas concentram-se avaliação da eficiência da indução de lactação (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat *et al.*, 1978), comparação entre protocolos (Byatt *et al.*, 1996;

Freitas *et al.*, 2010) e produção leiteira (Collier *et al.*, 1975; Magliaro *et al.*, 2004).

Na literatura consultada não foi observado relato de morte dos animais durante o protocolo, no entanto, no campo é comum relatos de técnicos e produtores de morbidade e mortalidade decorrentes destes protocolos de indução. Os sinais relatados são inespecíficos como apatia e inapetência e, alguns destes animais, evoluindo ao óbito. A avaliação da sanidade dos animais durante o protocolo não tem sido o foco de pesquisas, portanto, o presente estudo tem o objetivo de avaliar o efeito de um protocolo comercial de indução artificial de lactação na saúde de vacas leiteiras mestiças, por meio dos exames físico e complementares (hemograma e bioquímica sérica).

II. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Fisiologia da lactação

A glândula mamária é uma glândula sudorípara modificada para a produção de leite. A maior parte do desenvolvimento ocorre durante a gestação, sendo controlado inicialmente por hormônios e suas combinações (Anderson, 1985). Nos primeiros meses de gestação, ocorre o desenvolvimento do sistema tubular. Após o quarto mês gestacional, ocorre a formação de lóbulos e tecido alveolar (Akers, 2002). As células e o tecido alveolar passam por alterações estruturais e bioquímicas até o momento do parto, tornando-se então aptas para a secreção do leite (Akers, 2002). Os hormônios esteroides como progesterona e estrógeno são os mais importantes para o desenvolvimento dos lóbulos-alveolares (Akers, 2002). Além destes, outros

como a prolactina, o hormônio do crescimento (GH) e os glicocorticóides são considerados essenciais, pois em bovinos atuam auxiliando os efeitos mamogênicos dos esteroides e dos fatores de crescimento (Topper; Freeman, 1980). Os glicocorticóides apresentam efeito direto no desenvolvimento mamário.

Fisiologicamente o efeito combinado de substâncias (glicocorticóides, GH, prolactina e estrógenos) associado à redução das concentrações circulantes de progesterona determinam o início da lactogênese (Bauman, 1992; Bauman; Currie, 1980; Bauman; Griinari, 2003). Iniciada a produção, o hormônio somatotropina exerce importante função de aumento da capacidade de síntese do leite e manutenção de células secretoras. O número de células mamárias continua aumentando do início da lactação até o pico da mesma (Bath; Dickinson; Tucker, 1985).

Após este período inicia-se o declínio da produção de leite que geralmente coincide com uma nova gestação, onde a produção de progesterona inibe a lactogênese, suprimindo a prolactina e a atividade lactogênica dos glicocorticóides (Tucker, 2000).

1.2. Alterações metabólicas no periparto e eficiência reprodutiva

Vacas no período de transição, que compreende três semanas antes e três semanas após o parto, são expostas ao estresse metabólico e alterações hormonais que as predispõem a estados patológicos. Mudanças significativas são observadas nas concentrações hormonais nas últimas semanas de gestação, além da queda acentuada na ingestão de matéria seca (IMS) (Grummer, 2004). Mesmo ocorrendo um aumento na IMS após o parto, este

não é suficiente para atender às necessidades nutricionais para produção de leite adequada. Por este motivo, ocorre o balanço energético negativo (BEN), onde o animal metaboliza as reservas corpóreas para atender às necessidades nutricionais e produção leiteira (Bauman; Currie, 1980). A exacerbação do BEN resulta em altas concentrações séricas de ácidos-graxos não esterificados (NEFA) e, quando a concentração de NEFA excede a capacidade hepática em metabolizá-los ocorre aumento na concentração de corpos cetônicos, como o beta-hidróxido butirato (BHBA) (Grummer, 2004).

Os teores séricos de NEFA e BHBA são indicadores úteis da capacidade das vacas para lidar com os desafios metabólicos no periparto, eles medem a mobilização e oxidação de gorduras, respectivamente, e refletem o sucesso da vaca na adaptação ao BEN (Herdt, 2000).

Alterações metabólicas associadas com BEN comprometem a função imunológica e predispõe vacas a doenças infecciosas e não infecciosas como retenção de placenta, cetose, hipocalcemia, metrite, endometrite e mastite (Dubuc, J.; Duffield, T. F.; Leslie, K. E.; Walton, J. S.; Leblanc, 2010; Hammon *et al.*, 2006; Ospina *et al.*, 2010).

Dentre os problemas na reprodução que se destacam no pós-parto são: retenção de placenta, metrite, endometrite clínica, cervicite e endometrite citológica (Deguillaume *et al.*, 2012; Leblanc; Osawa; Dubuc, 2011; Sheldon *et al.*, 2008, 2009).

1.3. Protocolos de indução de lactação e sua utilização

A eficiência reprodutiva reflete, em grande parte, o sucesso de um rebanho bovino. Longos intervalos entre partos, geralmente relacionados com

infecções uterinas, representam um dos principais fatores de queda na fertilidade do rebanho (Sheldon, 2004).

As falhas reprodutivas estão entre as maiores causas de descarte involuntário nos rebanhos leiteiros no Brasil e em todo o mundo, podendo atingir taxas próximas a 26,3 (USDA, 2007) e 27,7% (Silva *et al.*, 2008).

O uso dos protocolos de indução de lactação aumenta a possibilidade de recuperação da atividade reprodutiva dessas vacas, prolongando sua vida produtiva (Magliaro *et al.*, 2004). Na literatura são relatados diferentes resultados em relação ao desempenho reprodutivo de vacas que foram submetidas à indução artificial de lactação. Freitas *et al.*, (2010), observaram que 41,4% das vacas ficaram prenhes ao serem submetidas ao protocolo de IATF após a indução artificial da lactação, Mellado *et al.*, (2006) tiveram resultado de 71,43%, e Collier, Bauman e Hays (1975) de 45%.

Estes protocolos vêm sendo utilizados há mais de 60 anos (Jewell, 2002) e eram inicialmente longos que poderiam chegar a 180 dias de tratamento (Freitas *et al.*, 2010). Smith e Schanbacher (1973) conseguiram induzir a lactação em vacas utilizando um tratamento com sete dias de 1mg/kg 17 beta-estradiol e de 0,25mg/kg de progesterona reproduzindo altas concentrações de esteroides no último mês de gestação, quando ocorre maior desenvolvimento da glândula mamária.

Outras drogas foram sendo introduzidas aos protocolos como a dexametazona, o bST (Chakriyarat *et al.*, 1978; Collier; Bauman; Hays, 1975; Erb *et al.*, 1976; Mellado *et al.*, 2006; Mollett *et al.*, 1976), a reserpina que induz a liberação de prolactina (Lembowicz; Rabek; Skrzeczkowski, 1982), e as

prostaglandinas (Akers, 2002), com a intensão de melhorar a produção, aumentar o volume do úbere, prolongar o tempo de produção e a lactogênese.

Atualmente a maioria dos protocolos são realizados com 20 a 21 dias de duração, com sucesso satisfatório em relação ao seu objetivo de recuperar produtiva e reprodutivamente as vacas induzidas à lactação, podendo contribuir assim para a permanência de vacas de alto potencial genético no rebanho.

Vários estudos têm sido realizados com a utilização de hormônios exógenos na tentativa de resolver as infecções uterinas pós-parto, reduzindo os intervalos entre partos, colaborando para melhoria dos índices reprodutivos dos rebanhos (Neto *et al.*, 2011). A PGF2 α é utilizada há bastante tempo com a finalidade luteolítica, provocando a queda nos níveis de progesterona circulantes e com isso aumentando a resposta imune do endométrio (Dhaliwal; Murray; Woldehewet, 2001; Ferreira, 1980, 2003; Heuwieser *et al.*, 2000).

O estrógeno leva a regressão do corpo lúteo, inibição do hormônio luteinizante (LH) e estimula a síntese de prostaglandinas (Burke; Macmillan; Boland, 1996; Pratt *et al.*, 1991; Roberts, 1983), com tempo de resposta menor do que a PGF2 α .

III. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma propriedade particular do município de Araporã (Latitude 18° 26' 10" S; Longitude 49° 11' 06" W), Minas Gerais. Foram selecionadas 12 vacas mestiças Girolando, adultas, múltíparas, saudáveis no exame clínico proposto, não gestantes, com (ECC) entre 2,75 e 3,5 (Ferguson

e Thomsen, 2010), com histórico de produção diária média entre 15 e 22 litros de leite. Os animais foram alojados em piquetes com pastagem de *Brachiaria decumbens*, sendo fornecido diariamente silagem de milho e sal mineral. O estudo foi conduzido no mês junho de 2016, com temperaturas máximas médias de 30 °C e mínimas de 18 °C.

O exame físico foi realizado semanalmente (quatro avaliações), no período da manhã, imediatamente antes ao fornecimento da alimentação e procedido de acordo com o recomendado por Feitosa (2014), no qual se avaliaram: nível de consciência, postura, condição corporal, mucosas aparentes e os parâmetros vitais: temperatura retal (T^oC); frequência cardíaca (FC); frequência respiratória (FR) e frequência ruminal (FRum). O ECC foi avaliado de 1 a 5 com subunidades de 0,25, de acordo com Ferguson e Thomsen (2010). O diagnóstico de gestação foi realizado por meio da palpação retal e exame ultrassonográfico.

O protocolo comercial utilizado constituiu-se de 21 dias de tratamento, conforme descrito na figura 1. As drogas utilizadas no protocolo foram benzoato de estradiol (SINCRODIOL[®], benzoato de estradiol, Ourofino Saúde Animal, Brasil) 30 mg (D0 a D7) e 20 mg (D8 a D14), progesterona (SINCROGEST[®], progesterona, Ourofino Saúde Animal, Brasil) 300 mg (D0 a D7), cloprostenol sódico (SINCROCIO[®], cloprostenol, Ourofino Saúde Animal, Brasil) 0,5 mg (D15), dexametasona (CORTIFLAN[®], fosfato sódico de dexametasona, Ourofino Saúde Animal, Brasil) 40 mg (D18 a D20) e somatotropina bovina recombinante (BOOSTIN[®], somatotropina bovina recombinante, MSD Saúde Animal, Brasil) 500 mg (D0, D7, D14 e D21). De acordo com o protocolo proposto, o início da lactação ocorre no 20^o dia de

tratamento, e caracteriza-se pela presença de secreção de leite pela glândula mamária e ordenha mecânica produtiva.

PROTOCOLO PARA INDUÇÃO DE LACTAÇÃO	
Momento	Fármacos
D0	BsT (500mg) + Benzoato de Estradiol (30 mg) + Progesterona (300 mg)
D1	Benzoato de Estradiol (30mg) + Progesterona (300 mg)
D2	Benzoato de Estradiol (30mg) + Progesterona (300 mg)
D3	Benzoato de Estradiol (30mg) + Progesterona (300 mg)
D4	Benzoato de Estradiol (30mg) + Progesterona (300 mg)
D5	Benzoato de Estradiol (30mg) + Progesterona (300 mg)
D6	Benzoato de Estradiol (30mg) + Progesterona (300 mg)
D7	BsT (500mg) + Benzoato de Estradiol (30 mg) + Progesterona (300 mg)
D8	Benzoato de Estradiol (20 mg)
D9	Benzoato de Estradiol (20 mg)
D10	Benzoato de Estradiol (20 mg)
D11	Benzoato de Estradiol (20 mg)
D12	Benzoato de Estradiol (20 mg)
D13	Benzoato de Estradiol (20 mg)
D14	BsT (500mg) + Benzoato de Estradiol (20 mg)
D15	Prostaglandina (0,5 mg)
D16	Início à adaptação à ordenha
D17	-
D18	Dexametasona (40 mg)
D19	Dexametasona (40 mg)
D20	Dexametasona (40 mg) + Início da Ordenha
D21	BsT (500mg)

Figura 1. Protocolo de 21 dias para a indução artificial da lactação com Benzoato de Estradiol (Sincrodiol®), Progesterona (Sincrogest®), Prostaglandina (Sincrocio®), Dexametasona (Cortiflan®) e Somatotropina bovina recombinante (Boostin®), utilizado nas vacas mestiças leiteiras deste estudo. Araporã, MG, 2016.

NOTA: Protocolo comercial Ouro Fino® Saúde Animal.

As amostras de sangue para análises bioquímicas foram colhidas em tubos a vácuo, sem anticoagulante contendo gel separador e ativador de coágulo (BD Vacutainer®, Brasil), enquanto aquelas destinadas à análise do perfil hematológico foram colhidas em tubos próprios, contendo como anticoagulante EDTA K₃ (BD Vacutainer®, Brasil). As colheitas foram realizadas por punção da veia caudal mediana nos momentos D0, D7, D14 e D21, e encaminhadas resfriadas ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

No laboratório, realizou-se imediatamente o hemograma em analisador automático de hematologia veterinário pochH-100iV Diff[®] (Sysmex do Brasil, São José do Rio Preto/SP) para determinar as concentrações de hemoglobina, volume globular, hematimetria, volume corpuscular médio (VCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), amplitude de variação dos eritrócitos [*red cell distribution width* (RDW)], plaquetometria e leucometria. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada por microscopia óptica, em extensões sanguíneas coradas pelo May Grünwald Giemsa (Ferreira Neto *et al.*, 1982).

Para análise bioquímica as amostras foram centrifugadas em centrífuga sorológica INBRAS[®] e o soro armazenado a -20°C em microtubos do tipo eppendorf para posterior análise, não ultrapassando cinco dias após a coleta. Utilizou-se o analisador automático multicanal ChemWell[®] (Awareness Technology Inc) a 37°C previamente calibrado (Calibra H) e aferido com soro controle (Qualitrol 1). Os parâmetros bioquímicos séricos, analisados por diferentes métodos por meio do kit diagnóstico comercial Labtest[®], com o objetivo de avaliar as funções hepática e renal, o metabolismo proteico, energético e mineral, foram: proteínas totais (método Biureto), albumina (método verde de bromocresol), ureia (método enzimático UV), creatinina (método colorimétrico cinético), triglicerídeos e colesterol (método enzimático-Trinder), aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT) (método cinético UV-IFCC), fosfatase alcalina (FA) (método cinético IFCC), cálcio (método cresolftaleína), fósforo (método UV), magnésio (método colorimétrico Magon-sulfonado) utilizando kit comercial da Randox[®], pelo método enzimático determinou-se as concentrações séricas de betahidroxibutirato (BHBA).

Posteriormente, por cálculos matemáticos simples, foram calculadas as concentrações séricas das globulinas, relação albumina/globulinas e relação cálcio/fósforo.

Os dados foram analisados ao longo do tempo utilizando-se o software GraphPad Prism 6.0. Para a definição do teste estatístico a ser empregado na análise, foi utilizado previamente o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Para as análises de múltiplas comparações dos dados não paramétricos foi empregado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de Dunn. Para as amostras paramétricas, utilizou-se o teste One Way ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. Para todas as análises foi considerada significância de 5%.

IV. RESULTADOS

Todos os animais responderam ao protocolo de indução de lactação, produzindo leite na quantidade semelhante à produção anterior e apresentaram-se clinicamente saudáveis, estando alertas, em estação, com condição corporal dentro do estabelecido (2,75-3,5), bem como com as mucosas aparentes róseas em todos os momentos.

Em relação aos parâmetros vitais, apenas a temperatura apresentou variação significativa, apresentando-se diferente entre D0 e D21, sendo este último o momento de maior valor, em que as médias diárias de temperatura ambiental também apresentaram valores superiores. Em nenhum momento a média de temperatura ultrapassou os limites de referência estabelecidos. As frequências cardíacas e respiratórias oscilaram próximas aos limites superiores de referência (Feitosa, 2014). A frequência ruminal apresentou valores

inferiores aos citados na literatura, achado que já era esperado pelo fato de ter realizado o exame anterior à primeira alimentação diária (Tab. 1).

Tabela 1. Médias e desvio-padrão dos parâmetros vitais avaliados por meio de exame físico em vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã , MG, 2016.

Dias do protocolo	Freq. Cardíaca (bpm)	Freq. Respiratória (mpm)	Temperatura (°C)	Freq. Ruminal (mov/3min)
0	70,5 ±19,2	32,7 ± 12,2	38,2 ±0,5 ^a	2,6 ± 0,5
7	70,0 ±13,1	33,1 ± 7,4	38,5± 0,3 ^{ab}	2,1 ± 0,9
14	75,8 ± 8,4	24,0 ± 2,3	38,4± 0,2 ^{ab}	2,3 ± 0,5
21	82,4 ± 11,8	34,8 ± 10,0	38,8 ±0,3 ^b	2,3 ± 0,9
Referência*	60 a 80	10 a 30	37,8 a 39,2	4 a 7
<i>P</i> -valor	0,1437	0,0843	0,0108	0,7545

Nota: * Feitosa (2014). Bpm, batimentos por minuto; mpm, movimentos por minuto; mov/ 3 min, movimentos ruminais completos em 3 minutos. Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) e pós-teste de Bonferroni. Todos os testes com significância de 5% ($P<0,05$).

Quanto aos exames complementares, o hemograma, manteve-se com a maioria dos parâmetros dentro dos limites estabelecidos por Smith (2014). Não foram observadas alterações no eritrograma na maioria dos animais durante o período experimental (Fig. 2), apenas valores próximos ao limite inferior ($5 \cdot 10^6/L$) de hemácias no último dia de avaliação (D21), seguidos de valores mais altos no plaquetograma ao final do experimento.

O leucograma apresentou-se dentro dos padrões de referência do D0 a D14 (Fig. 3), e no D21 evidenciou leucocitose com neutrofilia e desvio nuclear de neutrófilos à esquerda ($P<0,0001$) (Fig. 3A, 3D, 3E e 3F) com leve queda de linfócitos, que se mantiveram dentro dos limites e com valores semelhantes durante o experimento (Fig. 3B),. Os eventos caracterizam um leucograma de

estresse, justificado pela administração prévia de dexametasona (40 mg, durante 3 dias).

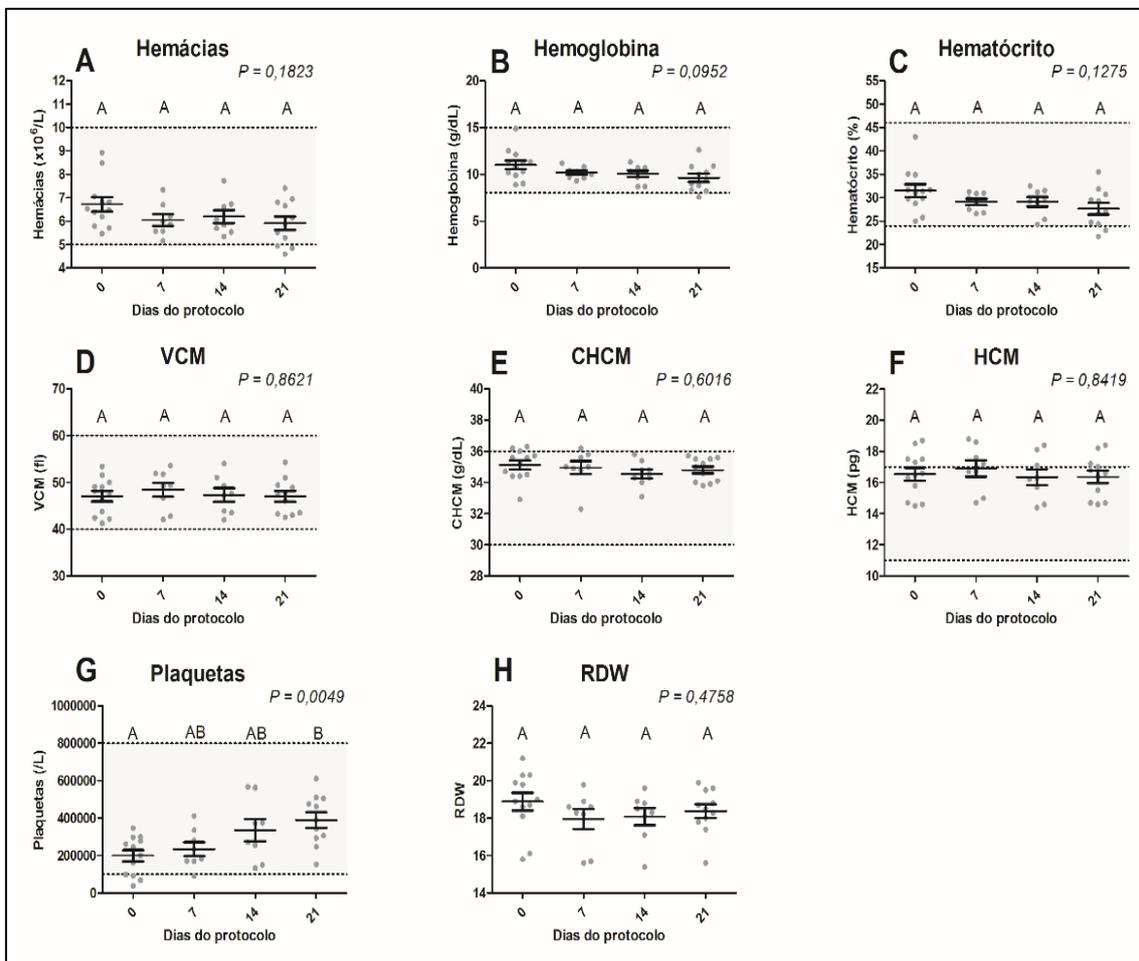


Figura 2. Médias, desvios padrão e intervalo de referência dos elementos do eritograma e plaquetograma de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016.

Nota: Valores de referência de acordo com Smith (2014). Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) e pós-teste de Bonferroni. Todos os testes com significância de 5% ($P < 0,05$). VCM, volume celular médio; CHCM, concentração de hemoglobina celular média; HCM, hemoglobina celular média; RDW, "red cell distribution width".

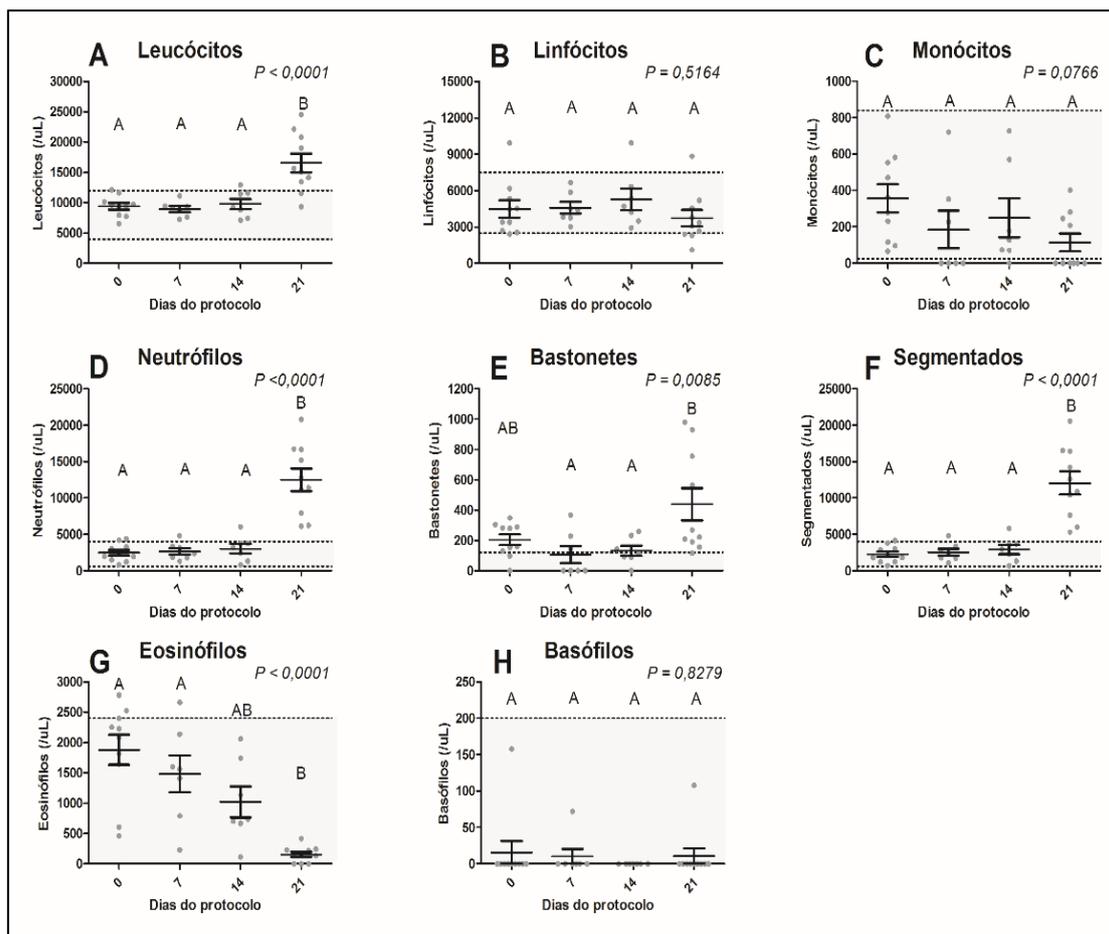


Figura 3. Médias, desvios padrão e intervalo de referência dos elementos do leucograma de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016.

Nota: Valores de referência de acordo com Smith (2014). Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) com pós-teste de Bonferroni (A, B, D, F, G) e Teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Comparação Múltipla de Dunn (C, E, H). Todos os testes com significância de 5% ($P < 0,05$).

Apesar de identificada normoproteinemia, houve hiperglobulinemia e hipoalbuminemia no decorrer de todo o experimento, estando os valores das globulinas significativamente mais elevados no momento D14 e D21 (Fig. 4B e 4C), em relação ao D7 ($P = 0,0003$). Estes momentos foram marcados pelo período extenso de doses de estradiol e dexametasona, respectivamente. Devido à hiperglobulinemia e a hipoalbuminemia, a relação albumina/globulina foi menor do que o esperado (Smith, 2014).

A avaliação da função hepática por meio das enzimas séricas AST, GGT e FA mostrou certa dispersão de valores, sobretudo quanto à AST, mas se mantiveram dentro dos limites de referência (Fig. 4D, 4E e 4F) (Smith, 2014). A AST apresentou valores mais elevados nos momentos D7 e D14, marcados pela intensa administração intramuscular de benzoato de estradiol (20 mL) e progesterona (2 mL) nos primeiros 14 dias. Já a FA e a GGT mostraram aumento gradativo ($P < 0,0001$), não caracterizando lesão hepática, apesar das altas doses de benzoato de estradiol e progesterona.

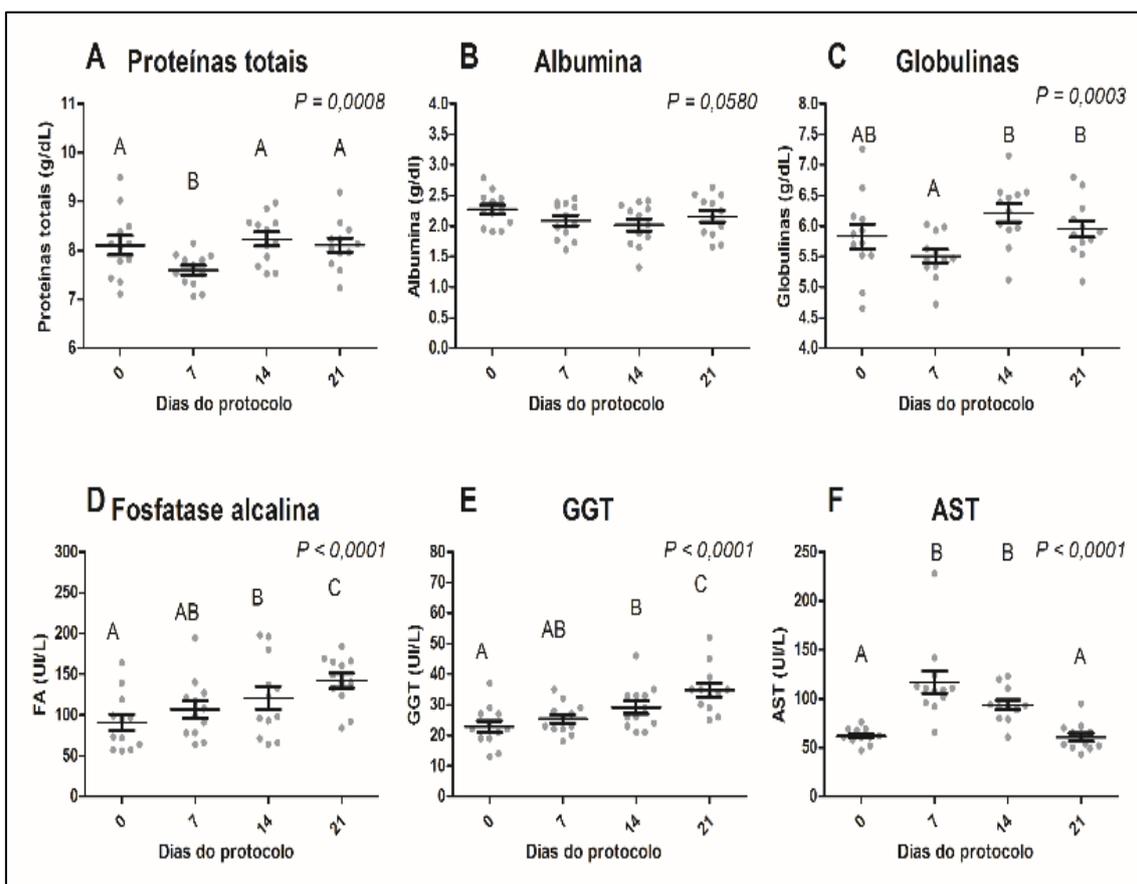


Figura 4. Médias, desvios padrão e intervalos de referência das proteínas e enzimas séricas avaliadoras da função hepáticas de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016.

Nota: Valores de referência de acordo com Smith (2014). Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) com pós-teste de Bonferroni (A, B, C, D, E) e Teste de Friedman com pós-teste de Comparação Múltipla de Dunn (F). Todos os testes com significância de 5% ($P < 0,05$). FA, fosfatase alcalina; AST, aspartato aminotransferase; GGT, gama-glutamil transferase.

A função renal foi avaliada por meio dos metabólitos séricos ureia e creatinina. A ureia apresentou elevação significativa no momento D21 ($P < 0,0001$), no entanto, os valores apresentaram concentrações inferiores aos de referência (Smith, 2014) (Fig. 5A), enquanto a creatinina teve valores elevados em relação à literatura confrontada (Smith, 2014), mas sem variações ao longo do período avaliado (Fig. 5B).

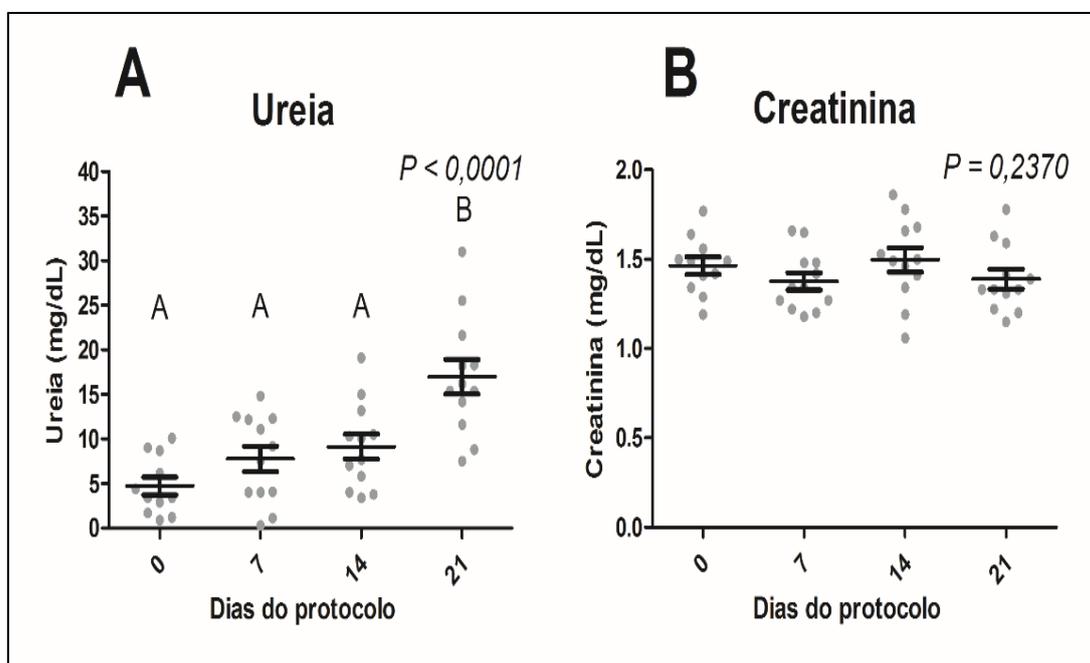


Figura 5. Médias, desvios padrão e intervalos de referência dos metabólitos séricos avaliadores da função renal de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016.

Nota: Valores de referência de acordo com Smith (2014). Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) e pós-teste de Bonferroni. Todos os testes com significância de 5%.

No que se refere aos minerais avaliados, foram identificados valores de cálcio significativamente inferiores aos intervalos de referência no momento de início do protocolo ($P < 0,0001$) (Chapinal et al., 2012), caracterizando hipocalcemia subclínica (Fig. 6A). Com relação aos valores de fósforo, foi

constatado hipofosfatemia no último momento de avaliação (D21) ($P < 0,0001$) (Fig. 6B) (Smith, 2014). A relação cálcio/fósforo apresentou dispersão de valores, mas manteve-se dentro da normalidade (Fig. 6D). Houve normomagnesemia, porém, os valores oscilaram durante o protocolo (Fig. 6C).

Os animais mantiveram a condição corporal durante o protocolo, acompanhado por níveis séricos de colesterol dentro dos limites de 80-120 mg/dL (Fig. 7C) e de triglicerídeos superiores a 14 mg/dL relatados por Smith (2014), com redução significativa no último momento de colheita em função da demanda energética para a produção leiteira ao final do protocolo. Os valores médios de BHBA apresentaram tendência ($P = 0,061$) em reduzir ao longo do período experimental (Fig. 7B).

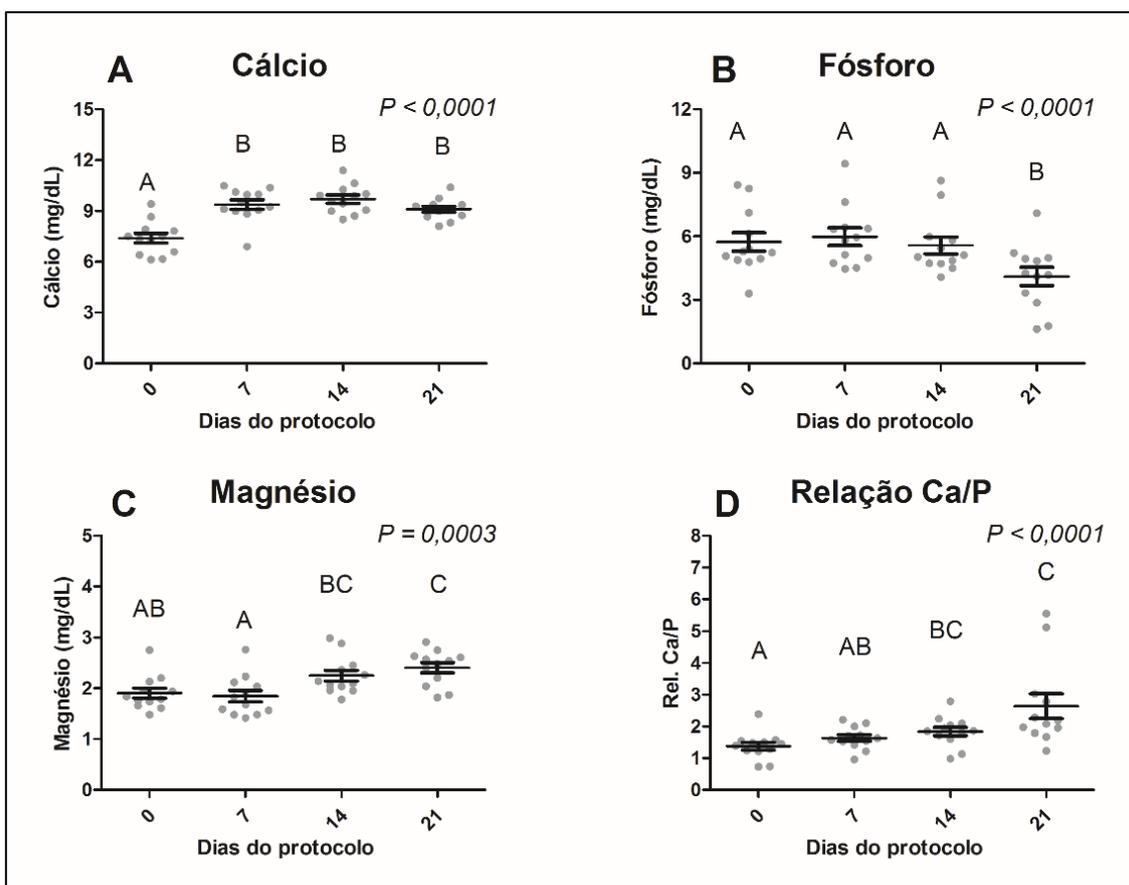


Figura 6. Médias, desvios padrão e intervalos de referência dos minerais séricos de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação, Araporã, MG, 2016. Nota: Valores de referência de acordo com Smith (2014) e Chapinal et al. (2012). Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por

meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) com pós-teste de Bonferroni (A, B, C) e Teste de Friedman com pós-teste de Comparação Múltipla de Dunn (D). Todos os testes com significância de 5% ($P < 0,05$).

Ca, cálcio; P, fosforo.

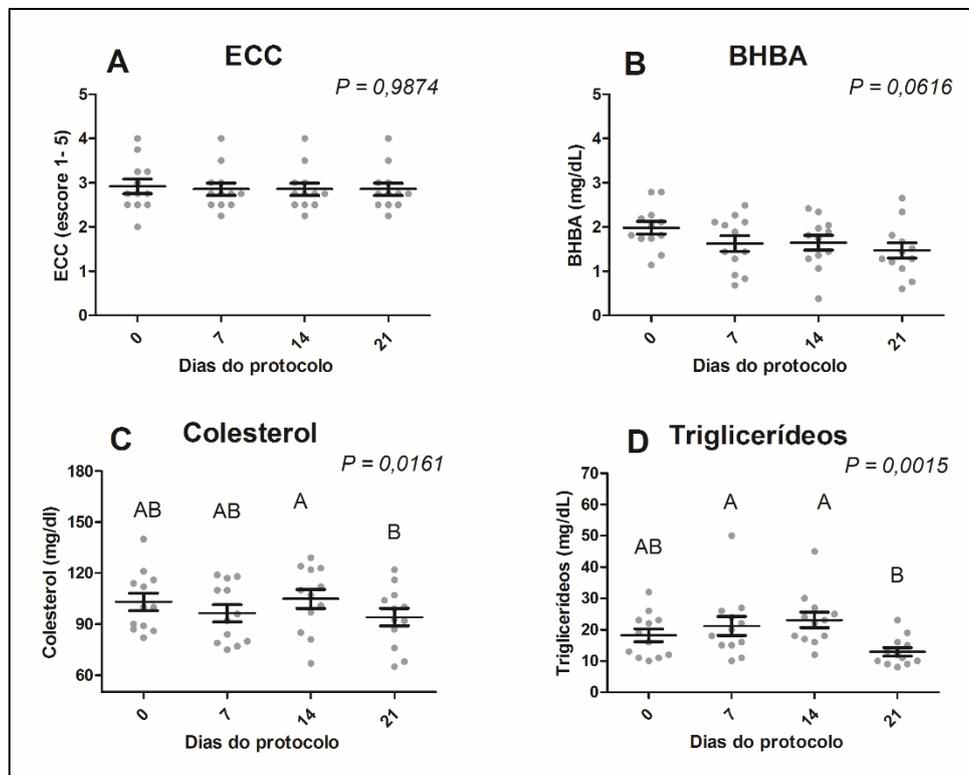


Figura 7. Médias, desvios padrão e intervalo de referência dos escores de condição corporal e dos metabólitos energéticos séricos de vacas mestiças leiteiras submetidas ao protocolo artificial de indução de lactação Araporã, MG, 2016.

Nota: Valores de referência de acordo com Smith (2014). Letras distintas indicam diferença estatística entre os dias do protocolo de indução da lactação por meio do Teste de Análise de Variância (One-Way ANOVA) e pós-teste de Bonferroni. Todos os testes com significância de 5%.

ECC, escore de condição corporal; BHBA, betahidroxibutirato.

V. DISCUSSÃO

Diferente dos outros protocolos já comercializados (Ouro Fino Saúde Animal, Zoetis Saúde Animal), este propõe um tratamento com metade da dose de dexametasona (40 mg). Essa redução garante maior segurança quanto aos efeitos colaterais do uso de anti-inflamatórios esteroides em alta dosagem,

como alterações hematológicas e quadros de trombocitose (Andrade e Marco, 2006; Stockham e Scott, 2011), e mobilização energética que leva ao quadro de lipólise e sobrecarga na metabolização hepática (González; Corrêa; Silva, 2014).

Neste estudo, não houve alteração clínica dos animais submetidos ao protocolo de indução de lactação, estando os parâmetros vitais dentro dos limites estabelecidos, bem como as funções orgânicas hepática e renal.

O perfil hematológico foi marcado por alterações pontuais e justificadas pelas drogas utilizadas no protocolo. O quadro de leucocitose com neutrofilia e desvio nuclear de neutrófilos à esquerda apresentado no dia vinte e um foi característico de um leucograma de estresse, em que os neutrófilos diminuem a migração extra vascular e a liberação medular é estimulada sob administração de corticoides (Stockham e Scott, 2011).

Apesar de os animais passarem por um período de estresse e manejo diários, o que poderia desencadear trombocitose (Andrade e Marco, 2006), os níveis das plaquetas oscilaram próximo ao limite superior sugerido por Smith (2014). Além disso, quadros de trombocitose podem ser observados em processos inflamatórios e/ou em função do uso de corticosteroides, que são agentes trombogênicos (Andrade e Marco, 2006).

A hipoalbuminemia e hiperglobulinemia encontradas neste estudo, foram também percebidas no estudo de Birgel Junior *et al.* (2003), no qual os animais em fase final de gestação apresentaram alterações semelhantes no proteinograma. Além disso, este perfil proteico tem sido relatado com frequência em estudos realizados com animais hípidos das raças Jersey e Girolando e de várias idades na região do presente estudo (Alvarenga *et al.*,

2016; Daibert, 2016). No entanto, neste experimento não se contou com um grupo controle de vacas no periparto fisiológico, o que complementaria essa comparação.

Na avaliação das enzimas avaliadoras da função hepática, as concentrações séricas de FA e GGT apresentaram aumento gradual durante o período experimental, sendo apenas observado aumento de AST em relação aos valores de referência. Os maiores valores observados para a AST no dia sete e no dia quatorze são atribuídos à liberação da enzima da musculatura esquelética em decorrência da constante administração de medicamentos por via intramuscular, por ser uma enzima que também está relacionada a danos musculares (González e Silva, 2006). Portanto, não caracteriza um quadro de lesão hepática. O aumento gradativo da FA e GGT pode ser explicado pela sobrecarga de fármacos, de metabolização hepática, administrados durante o protocolo (Gonzalez e Scheffer, 2002; Hoffmann e Solter, 2008), mas que ainda assim não foram suficientes para alterar a função hepática.

Os valores de ureia, abaixo dos limites de referência (Eckersall, 2008), pode sugerir consumo de proteínas inferior à demanda desses animais (Wittwer *et al.*, 1993), o que poderia estar ocorrendo nesses animais, já que eram animais criados em sistema semi-intensivo e de média produção leiteira. Outro fato que reforça esta tese é a hipoalbuminemia observada já no início do protocolo.

Ao contrário do que ocorre fisiologicamente no periparto (González e Silva, 2006), os níveis de cálcio não reduziram ao longo do período avaliado, mantendo a relação cálcio/ fósforo dentro do esperado (Smith, 2014). A disponibilidade desses minerais pode ser justificada pela administração de

altas doses de estradiol na fase inicial do experimento (Bortoli *et al.*, 1996; Tenório *et al.*, 2005; Guyton e Hall, 2011).

O aumento de triglicerídeos sugere maior demanda energética por esses animais e ocorreu após o período experimental marcado por grande quantidade de estradiol e progesterona administrados. Estudos evidenciaram que o estradiol induz redução na atividade da lipoproteína lipase (LPL) em tecido adiposo (Price *et al.*, 1998; Homma *et al.*, 2000) o que pode explicar, pelo menos em parte, a elevação dos valores séricos de triglicerídeos. A redução do colesterol mostra uma mobilização energética e, apesar de não haver perda de score corporal significativo, a administração de dexametasona pode ter levado ao quadro de lipólise.

VI. CONCLUSÕES

O protocolo de indução de lactação foi eficiente ao ser implantado em vacas leiteiras mestiças e os medicamentos utilizados não interferiram na saúde dos animais, a exceção de alguns parâmetros bioquímicos, eritograma e leucograma, que apresentaram alterações em pelo menos um momento do protocolo.

VII. REFERÊNCIAS

AKERS, R M. **Lactation and the mammary gland**. 1. ed. Blackwell Publishing, 2002. 278p.

ALVARENGA, P B *et al.* Perfil metabólico de vacas Jersey clinicamente saudáveis. **Pesquisa veterinária brasileira**, 2016.

ANDERSON, R R. Mammary gland. In: LARSON, L.BRUCE. **Lactation**. The lowastate university press, 1985. p. 3–38.

ANDRADE, V.; MARCOM M J. Antiinflamatórios esteroidais. In: SPINOSA, H S; GÓRNIK, S L; BERNADI, M M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

BATH, D L; DICKINSON, F N; TUCKER, H.A. **Dairy cattle: Principles, practices, problems, and profits**. 3. ed. Lea e Febiger, 1985.

BAUMAN, D E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal of Dairy Science** v. 75, p. 3433–3451, 1992.

BAUMAN, D E; CURRIE, W B. Partitioning of nutrients during Pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science** v. 62, n. 9, p. 1514–1528, 1980.

BAUMAN, D E; GRIINARI, J M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition** v. 23, p. 203–227 , 2003.

BORTOLI MA *et al.* Variaciones en el contenido de calcio, fosfato, magnesio y sodio en huesos de ratas ovariectomizadas. **Archivos Latino-americanos de Nutricion** v. 46, n. 1, p. 38–41, 1996.

BURKE, C R; MACMILLAN, K L; BOLAND, M P. Estradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal Reproduction Science** v. 45, p. 13–28, 1996.

BYATT, J C *et al.* The Effect of Recombinant Bovine Placental Lactogen on Induced Lactation in Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science** v. 80, p. 496–503, 1996.

COLLIER, R J; BAUMAN, D E; HAYS, R L. Milk Production and Reproductive Performance of Cows Hormonally Induced into Lactation. **Journal of Dairy Science** v. 58, n. 10, p. 1524–1527, 1975.

CEPEA. *Boletim do leite*. . Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/leite/?page=164>>. Acesso em 10 nov. 2016.

CHAKRIYARAT, S *et al.* Induction of Lactation: Lactational, Physiological, and Hormonal Responses in the Bovine. **Journal of Dairy Science** v. 61, p. 1715–1724 , 1978.

COLLIER, R.J.; BAUMAN, D.E.; HAYS, R.L. Milk Production and Reproductive Performance of Cows Hormonally Induced into Lactation. **Journal of Dairy Science** v. 58, n. 10, p. 1524–1527 , 1975.

DAIBERT, Erick. **Metabólitos capazes de predizer enfermidades uterinas em vacas leiteiras mestiças no período de transição**. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016. 55 p.

DEGUILLAUME, L. *et al.* Effect of endocervical inflammation on days to conception in dairy cows. **Journal of Dairy Science** v. 95, n. 4, p. 1776–1783 , 2012.

DHALIWAL, G S; MURRAY, R D; WOLDDEHWET, Z. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. **Animal Reproduction Science** v. 67, n. 3, p. 135–152 , 2001.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; LEBLANC, S. J. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science** v. 93, n. 12, p. 5764–5771 , 2010.

ECKERSALL, P. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J J; HARVEY, J W; BRUSS, M L (Orgs.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 117–155.

ERB, R. E. *et al.* Hormone induced lactation in the cow. IV. Relationships between lactational performance and hormone concentrations in blood plasma. **Journal of Dairy Science** v. 59, n. 8, p. 1420–1428 , 1976.

GONZALEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. *Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais* . (F.H.D.; ORTOLANI GONZÁLEZ E.L.; BARROS, L.; CAMPOS, R.) **Congresso de Medicina Veterinária**. Porto Alegre: Anais do Congresso de Medicina Veterinária. 2002.

FEITOSA, F L F. Exame físico geral ou de rotina. In: FEITOSA, F L F (Org.). **Semiologia Veterinária - A arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2014. p. 51–67.

FERGUSON D.T.; THOMSEN, N, J.D.; GALLIGAN. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science** v. 77, n. 9, p. 2695–2703 , 2010.

FERREIRA, A M. *Informações pessoais* . [S.l.]: Embrapa Gado de Leite. , 2003

FERREIRA, A M. **Efeito do cloprostenol no tratamento da metrite bovina**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1980. 134 p.

FERREIRA NETO, J M; VIANA, E S; MAGALHÃES, L M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1982. 279 p. .

FREITAS, P.R.C. *et al.* Artificial induction of lactation in cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia** v. 39, n. 10, p. 2268–2272 , 2010.

GONZÁLEZ, F H D; CORRÊA, M N; SILVA, S C D. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2014. 337 p. .

GONZÁLEZ, F H D; SILVA, S C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 364 p. .

- GRUMMER, R R. *Gordura da dieta: Fonte energética e/ou regulador metabólico?*. (CONAPEQ-JR). **Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos**. Uberlândia-MG, 2004
- GUYTON, A C; HALL, J E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier , 2011. 1216 p. .
- HAMMON, D. S. *et al.* Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology** v. 113, n. 1–2, p. 21–29 , 2006.
- HERDT, T. H. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice** v. 16, n. 2, p. 387–403 , 2000.
- HEUWIESER, W *et al.* Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. **The Veterinary record** v. 146, n. 12, p. 338–341 , 2000.
- HOFFMANN, W E.; SOLTER, P F. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. In: KANEKO, J J.; HARVEY, J W; BRUSS, M L (Orgs.). . **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 351–378.
- HOMMA H *et al.* Estrogen suppresses transcription of lipoprotein lipase gene. Existence of a unique estrogen response element on the lipoprotein lipase promoter. **Journal of Biology Chemistry** v. 275, n. 15, p. 11404–11411 , 2000.
- JEWELL, T. **Artificial induction of lactation in ewes: The use of prostaglandin**. Virginia Polytechnic institute and State University, 2002. 54 p.
- LEBLANC, Stephen J.; OSAWA, Takeshi; DUBUC, Jocelyn. Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. **Theriogenology** v. 76, n. 9, p. 1610–1618 , 2011.
- LEMBOWICZ, K; RABEK, A; SKRZECZKOWSKI, L. Hormonal induction of lactation in the cow. **British Veterinary Journal** v. 138, p. 203–208 , 1982.
- MAGLIARO, A L *et al.* Induced lactation in nonpregnant cows: profitability and response to bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science** v. 87, n. 10, p. 3290–3297 , 2004.
- MELLADO, Miguel *et al.* Milk production and reproductive performance of cows induced into lactation and treated with bovine somatotropin. **Animal Science** v. 82, p. 555–559 , 2006.
- MOLLETT, T A *et al.* Changes in Estrogen, Progesterone, Prolactin and Lactation Traits Associated with Injection of Estradiol-17 β and Progesterone into Lactating Cows. **Journal of Animal Science** v. 42, p. 655–663 , 1976.
- NETO, José Rogério Moura Almeida *et al.* Utilização de estrógeno exógeno no início do ciclo estral em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia** v. 40, n. 7, p. 1504–1511, 2011.

OSPINA, P A *et al.* Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science** v. 93, n. 8, p. 3595–3601 , 2010..

PRATT, S. L. *et al.* Luteal function, estrous response, and pregnancy rate after treatment with Norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **Journal of animal science** v. 69, n. 7, p. 2721–2726 , 1991.

PRICE TM *et al.* Estrogen regulation of adipose tissue lipoprotein lipase—possible mechanism of body fat distribution. **American Journal Obstetrics Gynecology** v. 178, n. 1, p. 101–107 , 1998.

ROBERTS, S J. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. Wood stock, Vermont. 1983.

SHELDON, I. Martin *et al.* Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle1. **Biology of Reproduction** v. 81, n. 6, p. 1025–1032 , 2009.

SHELDON, I. Martin. The postpartum uterus. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice** v. 20, n. 3 SPEC. ISS., p. 569–591 , 2004.

SHELDON, I. Martin *et al.* Uterine diseases in cattle after parturition. **Veterinary Journal** v. 176, n. 1, p. 115–121 , 2008.

SILVA, L A F *et al.* Causas de descarte de vacas da raça Holandesa confinadas em uma população de 2083 bovinos (2000-2003). **Ciência Animal Brasileira** v. 9, p. 383–389 , 2004.

SILVA, Luiz Antônio Franco *et al.* Causas de descarte de vacas de raça holandesa confinadas em uma população de 2083 bovinos (200-2003). **Ciência Animal Brasileira** v. 9, n. 2, p. 382–389 , 2008.

SMITH, B P. **Large Animal Internal Medicine**. 5. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2014. 2024 p. .

SMITH, K L; SCHANBACHER, F L. Hormone induced lactation in the bovine. I. Lactational performance following injections of 17 -estradiol and progesterone. **Journal of dairy science** v. 56, n. 6, p. 738–743 , 1973.

STARK, A *et al.* Colostrogenesis during an induced lactation in dairy cattle. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** v. 99, n. 2, p. 356–366 , 2015.

STOCKHAM, M.A.; SCOTT, S.L.; **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 729 p.

TENORIO, A S *et al.* Effect of physical training on the bone tissue and the calcium serum concentration in ovariectomized mice. **Acta Cirúrgica Brasileira** v. 20, n. 4, p. 280–283 , 2005.

TOPPER, Y J; FREEMAN, C S. Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary gland. **Physiological Reviews** v. 60, n.

4, p. 1049–1106 , 1980.

TUCKER, H.A. Hormones, Mammary Growth, and Lactation: a 41-Year Perspective. **Journal of Dairy Science** v. 83, n. 4, p. 874–884 , 2000.

USDA. Dairy 2007. Part I: Reference of dairy cattle health and management practices in the United States, 2007. p. 1–122 , 2007.

WITTEWER, F *et al.* Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivo Medico Veterinario** v. 25, n. 2, p. 165–172 , 1993.