

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

MARIANA NEHME MARINHO

**INFLUÊNCIA LEUCOCITÁRIA NA INCIDÊNCIA DE DOENÇAS, PARÂMETROS
REPRODUTIVOS E PRODUTIVOS EM VACAS LEITEIRAS**

UBERLÂNDIA - MG

2018

MARIANA NEHME MARINHO

**INFLUÊNCIA LEUCOCITÁRIA NA INCIDÊNCIA DE DOENÇAS, PARÂMETROS
REPRODUTIVOS E PRODUTIVOS EM VACAS LEITEIRAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito parcial à obtenção do grau de Médico
Veterinário.

Orientadora: Prof. Dra. Ricarda Maria dos Santos

MARIANA NEHME MARINHO
AVALIAÇÃO DO PERFIL LEUCOCITÁRIO E SUA INFLUÊNCIA NA
INCIDENCIA DE DOENÇAS E PARAMETROS REPRODUTIVOS EM VACAS
LEITEIRAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito parcial à obtenção do grau de Médico
Veterinário.

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Ricarda Maria dos Santos – UFU

Membro

Membro

Membro

Uberlândia (MG), 4 de Julho de 2018

RESUMO

A busca por maior produtividade dentro nas fazendas tem gerado uma demanda por ferramentas que facilitem a identificação e correção dos pontos críticos. O período de transição, compreendido pelas três semanas anteriores e as três semanas posteriores ao parto determinam a fase de maior desafio para a vaca de leite, devido ao elevado gasto energético para crescimento fetal, produção leiteira associado à uma queda de IMS, e com isso menor quantidade de nutrientes sendo absorvidos, culminando em Balanço Energético Negativo (BEN), que se acentuado predispõe a imunossupressão acentuada e maior incidência de doenças infecciosas e metabólicas. Objetivou-se monitorar valores de leucograma em vacas leiteiras, tratadas com uma dose de Pegbovigrastim (Imrestor) no dia do parto, e correlacionar estes dados com incidência de doenças e parâmetros reprodutivos no período puerperal. O trabalho foi executado em uma fazenda leiteira em Presidente Olegário, Mina Gerais. Foram avaliadas 189 vacas da raça Holandesa, tratadas com uma seringa (2,7 ml) de Pegbovigrastim (Imrestor) no dia do parto, foram colhidas amostras de sangue no dia 7 pós-parto por meio de punção da veia caudal mediana, para realização do hemograma e a contagem diferencial de leucócitos. Avaliou-se também a produção leiteira; prevalência de RP, considerando 12h pós-parto; endometrite subclínica pela citologia endometrial; mastite clínica pelo diagnóstico clínico durante a ordenha; e cetose, por meio da avaliação do Betahidroxibutirato (BHBA) sanguíneo. Os parâmetros reprodutivos como número de serviços por concepção, intervalo do parto até a primeira IA, taxa de prenhez aos 110 DPP, taxa de descarte, também foram avaliados. Para as análises os animais foram categorizados de acordo com a contagem de leucócitos, sendo divididos em duas categorias: acima e abaixo da média. As variáveis contínuas foram mensuradas por análise de variância e as variáveis binominais por regressão logística no programa MINTAB, incluído no modelo os efeitos da categoria de contagem de leucócitos. Os resultados encontrados de produção de leite, mastite, cetose, e parâmetros reprodutivos não foram afetados pela contagem leucocitária ($P>0,05$), contudo, uma maior incidência de retenção de anexos fetais e endometrite subclínica foram detectadas nos animais com contagem de leucócitos abaixo da média ($P<0,05$). Conclui-se que a RP e a endometrite subclínica são afetados pela contagem leucocitária, porém os demais parâmetros avaliados não.

Palavras-chave: Leucograma, periparto, aspectos reprodutivos, imunossupressão

ABSTRACT

The search for greater productivity within a dairy farm has resulted in a demand for tools that facilitate the identification and correction of critical points. The transitional period, known as the 3 weeks before and 3 weeks postpartum, determines the most challenging phase for a dairy cow; due to the high energy expenditure for fetal growth, milk production associated with a decline in DMI, and this lesser amount of nutrients being absorbed. This can culminate in a Negative Energy Balance (BEN), which if accentuated predisposes to intense immunosuppression and a higher occurrence of infectious and metabolic diseases. This study aims to monitor leukogram values in dairy cows and to correlate these data with the incidence of reproductive diseases and parameters in the puerperal period. The study was conducted on a dairy farm in the city of Presidente Olegário, 189 Holstein cows treated with a syringe (2,7 ml) of Pegbovigrastim (Imrestor) were evaluated on the 7th day postpartum by puncture of the median sacral vein. A blood count of each sample was executed, and the leukocyte concentration was evaluated. Dairy production was also evaluated; the prevalence of PR, considering 12h postpartum; of subclinical endometritis through endometrial cytology; clinical mastitis through clinical diagnosis during milking; and ketosis, by evaluating blood Betahidrybutyrate (BHBA). We also considered some reproductive parameters, such as the number of services per conception, partum interval in the first AI, pregnancy rate at 110 DPP, disposal rate. Continuous variables were measured by analysis of variance and binomial variables by logistic regression in the MINTAB program, included in the model the treatment effect. The results of milk production, mastitis, ketosis, and reproductive parameters did not reveal a statistical summary with the leukocyte count ($P > 0,05$). However, a higher incidence of fetal attachment retention and subclinical endometritis were detected in the animals with a lower leukocyte count of the mean ($P < 0,05$). It is concluded that the RP and the subclinical endometrites they afetaly by leukocyte score, however the other satisfied parameters do not.

Keywords: Leukogram; peripartum; reproductive aspects; infectious diseases.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGNE	ácidos graxos não esterificados
BEN	balanço energético negativo
BHBA	β -hidroxibutirato

ECC	escore de condição corporal
IA	inseminação artificial
PMN	neutrófilos polimorfonucleados
RP	retenção de placenta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1. Período de transição	8
2.2. Estado imunológico de vacas periparturientes	9
2.3. Doenças do periparto	10
2.3.1. Mastite	10
2.3.2. Retenção de placenta	11
2.3.3. Infecções uterina	11
2.3.4. Cetose	12
2.4. Eficiência Reprodutiva	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÕES	19
REFERÊNCIAS	19

1. INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira permanece em constante busca para obter maior produtividade, gerando assim, uma maior lucratividade. Gonzales et al. (2000) pontuam que esse aumento de produção imposta ao rebanho traz maiores desafios metabólicos para estes animais, desequilibrando o processo entre a entrada de nutrientes e a capacidade de processá-los, sendo este comprometimento acentuado durante o pré e pós-parto de vacas leiteiras.

As duas primeiras semanas de lactação correspondem ao momento de maior propensão a doenças metabólicas em vacas leiteiras (Goff e Horst, 1997). As doenças infecciosas neste período também ocorrem com maior frequência, como mastite, metrite, cetose, retenção de placenta (Ingvarsen, Dewhurst, Friggens, 2003). Espera-se que se durante a fase puerperal a evolução for satisfatória, essa vaca alcançará uma rápida normalização das funções reprodutivas antes dos 60 dias pós-parto (Horta, 1995).

A gestação e o parto são considerados períodos estressantes para vacas leiteiras, ocasionando grandes alterações dos componentes sanguíneos desses animais (Bouda et al. 1994; Jacob et al., 2001). Alguns fatores podem influenciar o resultado do hemograma, tanto fisiológicos, como patológicos (Jain, 2000), com isso, a utilização de uma análise laboratorial em vacas leiteiras recém paridas associado a interpretação do hemograma, se apresentam como ferramentas complementares ao exame físico, auxiliando assim no diagnóstico precoce de distúrbios gerados no pós-parto (Trajano, 2013).

Os ganhos de produtividade advêm da utilização de tecnologias que desenvolvam a eficiência do uso de fatores de produção e melhoramento genético, por meio da alimentação, e principalmente, por meio da saúde animal (Silva, 2009), assim, para a prevenção de doenças metabólicas, especialmente em periparturientes, é de fundamental importância que o manejo de vacas leiteiras seja adequada com a fase produtiva que este animal se encontra, com manejo nutricional adequado, associado a instalações adequadas, bem estar animal e até mesmo com uso de suplementos na dieta.

Com a imunossupressão evidenciada nos períodos próximos ao parto, sendo esta depressão imunológica constituída tipicamente por uma neutropenia transitória, e deficiência de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), uma opção para elevar a atividade imunológica durante esse período pode ser pela utilização de produtos que atuem na função destas células, como o Pegbovigrastim, Imrestor®, que possui propriedades de estimular as colônias de granulócitos bovinos peguilados (PEG bG-CSF) (Kimura et al., 2014).

Na literatura há um consenso de que as interferências climáticas, ambientais e de manejo apresentam notória variação dos constituintes sanguíneos de bovinos, e que poucos são os trabalhos que possuem dados absolutos da influência do puerpério sobre o leucograma de bovinos, com isso, necessita-se de pesquisas que objetivem determinar esses valores nas condições tropicais (Saut e Birgel Junior, 2006)

Objetivou-se com este trabalho monitorar os valores obtidos no leucograma de fêmeas bovinas da raça Holandesa, tratadas com uma dose de Pegbovigrastim (Imrestor®) no dia do parto, correlacionando-o com a incidência de doenças e parâmetros reprodutivos no período puerperal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Período de transição

Segundo Grummer (1995) e Drackley (1999) o período de transição abrange as três semanas que antecedem o parto, e as três semanas posteriores ao mesmo em fêmeas bovinas. Observa-se nessa fase alterações fisiológicas do estado geral e da glândula mamária, sendo acentuadas nas proximidades do parto (Hibbit, e Batten, 2008). Drackley (1999) cita também a relevância de se conhecer a fisiologia deste período, que associada a um manejo adequado e melhor nutrição promove ganhos significativos em rentabilidade e produtividade na pecuária leiteira.

Animais de alta produção sofrem grande pressão metabólica para suprir suas exigências fisiológicas, manter-se saudável e produzir, com isso, o período de transição é considerada a fase de maior desafio na vida produtiva desses animais (Grummer et al., 2004).

Na fase do ciclo produtivo pós-parto, onde a fêmea passa de um estado não-lactante para lactante, ocorre um aumento na demanda energética, necessitando assim de maior utilização de reservas de nutrientes para suprir suas exigências, tais nutrientes advêm principalmente de reservas corporais, que associada a uma menor ingestão de MS decorrente desse período acarreta no balanço energético negativo (BEN) (Nielen et al., 1994; Goff, 2006a). O BEN acentuado leva ao desenvolvimento de transtornos metabólicos.

Leblanc (2010) cita alterações fisiológicas do período de transição comuns a todas vacas leiteiras, sendo esses, a fase de resistência à insulina, menor ingestão de matéria seca (MS), BEN, lipólise, perda de peso no início da lactação, redução da função imunológica 1 a 2 semanas pré-parto e de 2 a 3 semanas pós-parto, e contaminação bacteriana uterina de 2 a 3 semanas pós-parto.

A fêmea que apresenta algum distúrbio no início da lactação, como doenças metabólicas ou outras alterações patológicas, mostram menor desempenho leiteiro quando comparado com as saudáveis, acarretando em menor rentabilidade (Drackley, 1999). Leblanc et al. (2006) cita que a porcentagem de vacas no periparto que são acometidas por doenças infecciosas ou metabólicas passam de 50%, onde, aproximadamente 75% destas ocorrem no primeiro mês pós-parto (Goff, 2006b).

2.2. Estado imunológico de vacas periparturientes

A função imunológica é reduzida em vacas leiteiras periparturientes, contribuindo assim para a alta incidência de doenças infecciosas observadas nesse período, onde além de gerar infecções clínicas, como retenção de placenta, metrite e mastite, predispõe também às infecções subclínicas. As funções de neutrófilos e linfócitos sanguíneos diminuem gradualmente por volta de 2 a 3 semanas pré-parto, com pico no momento do parto e estende-se até dois dias após o mesmo, começando a voltar aos níveis normais de 2 a 4 semanas pós-parto (Kimura e Kehrli, 1999; Kimura et al., 2006).

Goff e Kimura (2009) mencionam que o início da lactação interfere na homeostase de energia, proteína e minerais em vacas no período de transição, onde o balanço energético negativo destes constituintes associado a produção de leite pode ser parcialmente responsável pela imunossupressão comum desta fase, aumentando a susceptibilidade de mastite, e outras doenças infecciosas.

Em conjunto com esse déficit de nutrientes, durante o período periparturiente ocorre a nível fisiológico altas concentrações plasmáticas de hormônios como estrogênio, progesterona, prolactina e somatotropina, dificultando discernir qual o fator de maior influência sobre a depressão imunitária, concluindo assim que vários são os fatores que contribuem para este evento (Kehrli et al., 2006).

O leucograma de estresse refere-se ao aumento plasmático do cortisol, secretado pela glândula adrenocortical, e influenciando a diferenciação de células sanguíneas brancas, marcado por uma leucocitose composta inicialmente por uma neutrofilia com linfopenia, sem a presença de eosinófilos (Dickson, 1996). Jain (1993), cita que vacas recém paridas apresentam uma alteração na contagem de leucócitos devido às respostas ao estresse e as condições das membranas fetais.

A pesquisa realizada por Saut e Biergel Junior (2006) teve como objetivo estimar valores de referência no leucograma de vacas holandesas no puerpério, obteve-se como resultado das análises de leucócitos totais dentro de 24h pós parto um declínio dos seus valores

em até aproximadamente 8 dias, a partir desse momento, esses valores mantiveram-se sem demonstrar aumento ou diminuição, já em relação aos neutrófilos os autores relataram uma diminuição gradativa dentro de 24h após o parto, porém volta a níveis normais entre 4 a 6 dias, deixando de sofrer influência do puerpério.

2.3. Doenças do periparto

2.3.1. Mastite

A mastite é uma das principais patologias associada a pecuária leiteira, sendo responsáveis por grandes prejuízos econômicos devido à perda de produção, em mão de obra, tratamento e desvalorização do animal. Possui duas maneiras de se apresentar, na forma clínica, que envolve processo inflamatório evidente do úbere, queda brusca de produção, e presença de grumos no leite. E a forma subclínica onde não são evidenciados sintomas visíveis, entretanto que também acarretam em perdas no sistema (Silva, 2009).

A glândula mamaria durante o período periparturiente apresenta maior susceptibilidade a infecções. O aumento do risco de mastite neste período é resultado da deficiência imunológica evidenciada nesta fase, aumento da exposição às bactérias ambientais devido ao decúbito prolongado e pela diminuição do tônus muscular do esfíncter do teto (Kehrli e Goff, 2016).

Para que haja uma eliminação do patógeno invasor é necessária uma resposta inflamatória eficiente, não alterando a qualidade e a quantidade da secreção mamária e sem apresentar sintomas clínicos evidentes, entretanto, a imunodeficiência promove o estabelecimento da infecção e injúrias do parênquima mamário (Sordillo, 2005).

Alguns fatores externos favorecem a disponibilização de patógenos no teto, como a utilização de ordenhas mecânicas predispondo a lesões no teto, confinamentos com alta densidade, uso de materiais de cama que facilitam crescimento microbiano, tendo um grande impacto no aumento de novas infecções intramamária (Hogan e Smith, 2003).

Diversos estudos demonstram que também há associação entre o aparecimento de doenças metabólicas e posteriormente o desenvolvimento de mastite, envolvendo patologias como hipocalcemia, cetose, retenção de placenta, distocia e claudicação (Goff e Kimura, 2009).

O tratamento de mastite é a causa mais comum de uso de antimicrobianos em vacas leiteiras, trazendo com isso problemáticas como antimicrobianos ilegais, resíduos no leite, utilização de maneira indevida com a seleção de bactérias resistentes (NMC, 2004).

2.3.2. Retenção de placenta

A retenção de placenta (RP) é entendida pelo atraso da expulsão dos anexos fetais após a expulsão do feto (Pizzol, 2012). Considera-se como retenção de placenta o não desprendimento dos envoltórios fetais em 24h (Esslemont e Peeler, 1993). Já Werven et al. (1992) consideram como retenção 6h após o parto, e Kay (1978) cita 12 horas para que seja a enfermidade seja considerada.

A RP é considerada uma das enfermidades mais comuns diagnosticadas em vacas leiteiras no puerpério (Wischral et al., 2001). As taxas de RP variam de 3% a 12%, a não ser que seja influenciada por alguns fatores como aborto, parto gemelar, parto induzido, parto prematuro, fatores ambientais, nutricionais, fisiológicos e genético, que aumentam a prevalência de RP (Joosten et al., 1987).

A placenta fetal deve ser reconhecida como um tecido não pertencente ao corpo, ou seja, “estranho”, favorecendo sua rejeição e expulsão pelo sistema imune, para que isso ocorra os leucócitos devem ser atraídos pelas substâncias quimiotáticas presentes nos cotilédones, caso essa quimiotaxia não aconteça sucede-se a RP (Gunnink, 1984).

Saut e Birgel (2008) constataram em uma pesquisa realizada com fêmeas bovinas da raça holandesa que o quadro leucocitário de vacas que apresentaram retenção dos anexos fetais foi caracterizado por leucopenia por neutropenia com desvio à esquerda degenerativo, e eosinopenia, parando de sofrer influência a partir do 10º dia pós-parto. Em relação aos neutrófilos totais e segmentados encontraram em amostras de sangue obtidas do 1º ao 10º dia após o parto valores reduzidos em animais que apresentaram retenção de placenta em relação aos que não expressaram a enfermidade, considerados os principais responsáveis pelas modificações observadas nesse período.

2.3.3. Infecções uterinas

Após o parto há contaminação bacteriana do lúmen uterino, onde normalmente são eliminadas durante a involução deste órgão, no entanto, caso os mecanismos imunes estejam deficientes, ocorre a instalação e permanência desses patógenos resultando em variados graus de infecções no útero. Estima-se que 40% dos animais em sistemas intensivos apresentem metrite nas três primeiras semana pós parto, persistindo em forma de endometrite em até 20% das vacas, sendo uma das principais causas de infertilidade em bovinos (Sheldon et al., 2009; Sheldon et al., 2006).

Os principais fatores relacionados às infecções uterinas são enfermidades como RP, abortos, gestações curtas, distocias e partos gemelares (Sheldon et al., 2006). Assim sendo, o periparto é considerado um momento crítico para o desenvolvimento de enfermidades uterinas, assim o diagnóstico prévio de animais enfermos e a adoção de medidas adequadas são essenciais para reduzir os danos trazidos por doenças do puerpério (Smith e Risco, 2005).

Há vários tipos de infecções uterinas em fêmeas bovinas, estas se diferenciam devido ao período de ocorrência e os sinais clínicos. A metrite puerperal inicia-se na primeira semana após o parto e pode-se estender até a segunda semana, nos sinais clínicos são encontrados secreção vaginal sanguinopurulenta com odor fétido, febre, anorexia, desidratação, queda na produção; a metrite clínica apresenta-se de 14 a 21 dias pós-parto, com sintomas de aumento anormal de útero, com secreção purulenta, sem sinais sistêmicos; endometrite clínica pode ocorrer além dos 21 dias pós parto, exibindo secreção vaginal purulenta além dos 21 dias ou mucopurulenta além dos 26 dias pós parto; No caso das endometrites subclínicas é identificada após o período voluntário de espera, e reconhecida apenas por meio da contagem de neutrófilos no endométrio (de 21 a 33 dias após o parto $>18\%$, ou aos 34 a 47 dias pós-parto $>10\%$ de neutrófilos em relação as células epiteliais); e por fim, a piometra, que está relacionada com retenção dos conteúdos purulentos ou mucopurulentos no útero, devido ao fechamento funcional da cérvix (Marques Júnior, 2011).

2.3.4. Cetose

Processos adaptativos em vacas de leite ocorrem no período puerperal para compensar a ingestão ineficiente de nutrientes nesta fase, favorecendo a oxidação de substratos e síntese de Adenosina Trifosfato (ATP) voltados para fornecer energia necessária às células (Drackley, 2001).

A cetose é considerada um distúrbio metabólico relacionado com a falta de carboidratos no metabolismo, vacas em BEN necessitam mobilizar reservas orgânicas de gordura, com isso, ocorre um acúmulo de Acetil-CoA, gerando desta maneira os corpos cetônicos (acetona, beta-hidroxibutirato e acetoacetato) (González et al., 2014).

Esta doença metabólica ocorre durante as primeiras semanas após o parto, podendo apresentar sinais como redução de ingestão, odor cetônico e uma piora gradual do quadro (Fluharty, 2009). A cetose metabólica pode ser classificada em clínica e subclínica, apresentando diversos sinais clínicos, desde os mais brandos como queda na produção até sintomas mais severos (Baird, 1982).

Observa-se um déficit de propionato recorrente desta fase, diante disto, ocorre uma lipomobilização para suprir a economia de consumo de glicose induzida pelo organismo, para que a mesma possa ser utilizada pelo útero gravídico e glândula mamária. A presença dos Ácidos Graxos Não Esterificados (AGNE) devido à essa lipomobilização induz a produção de Acetil-CoA que em excesso passa por uma via alternativa à do ciclo de Krebs, produzindo corpos cetônicos (Andrew et al., 2012). Dentre os corpos cetônicos circulantes, o Betahidroxibutirato (BHBA) nos ruminantes possui maior prevalência (Duffield, 2009).

O diagnóstico é feito sempre que se identifica níveis elevados de cetona no sangue, urina ou leite, e pela redução da glicemia. Assim, qualquer queda da IMS em fêmeas que se encontram próximas ao parto eleva o acúmulo de gordura hepática influenciando no déficit energético da vaca e elevando a probabilidade de ocorrência de uma esteatose-cetose (Goff e Kimura, 2009).

2.4. Eficiência reprodutiva

Isoladamente a baixa eficiência reprodutiva é o fator que causa maior prejuízo econômico e produtivo no rebanho leiteiro, por outro lado, várias estratégias podem otimizar a reprodução, diminuindo perdas (Bergamaschi, 2010).

De modo geral, praticamente todos os fatores ambientais, nutricionais, de manejo e sanitários interferem na fertilidade de vacas leiteiras, assim, a gestão desses animais, incluindo a parte nutricional, devem proporcionar condições fisiológicas e de saúde adequadas no momento do parto, que por sua vez aumenta a IMS. Dando ênfase assim em melhorar o estado nutricional no periparto, e evitar transtornos patológicos que liberem citocinas pró-inflamatórias (Bertoni et al., 2009).

Há uma alta prevalência de doenças no pós-parto em rebanhos leiteiros que prejudicam o desenvolvimento e o desempenho reprodutivo. Ribeiro et al. (2016), observaram que vacas diagnosticadas com doenças inflamatórias até um dia antes do retorno reprodutivo reduziram a clivagem de potenciais zigotos, e a sobrevivência dos mesmos ao estágio de mórula, prejudicando o estágio inicial de alongamento do conceito, reduzindo a secreção de IFN- γ no momento do reconhecimento da prenhez, alterando as respostas do definir (ISG) em definir (PBL) na implantação inicial, aumentando a perda de prenhez, e reduzindo a taxa de parição.

Bergamaschi (2010) afirma também que em um sistema reprodutivo ineficiente apresenta um aumento da taxa de descarte involuntário, redução do progresso genético, baixa longevidade, menor número de animais para reposição, aumento dos gastos com inseminação

e medicamentos, afeta negativamente na produção de leite, com aumento de intervalo entre lactações, prolongando assim vacas no período seco e desequilibrando a proporção de animais secos no rebanho. Constata-se que a perda embrionária e fetal é uma das maiores causas de falha reprodutiva, sendo essas concentradas durante os primeiros 35 dias de gestação (período embrionário), podendo atingir 40% dos conceptos

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 189 vacas holandesas no período de maio a dezembro de 2017, em uma fazenda em Presidente Olegário, local com temperatura média anual de 21,9°C, tratadas no dia do parto com uma dose (correspondente a 2,7 ml) de Pegbovigrastim (Imrestor), fator estimulador de colônias de granulócitos bovinos peguilados [PEG bG-CSF], por via subcutânea.

Foram colhidas amostras de sangue no dia 7 pós-parto por punção da veia caudal mediana, com sistema de coleta à vácuo em tubos estéreis com anticoagulante (EDTA K3), que foram encaminhadas em caixas isotérmicas ao Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Universidade Patos de Minas, para análise imediata. No laboratório, o hemograma de cada amostra foi realizado em contador automático de células ABC Vet Animal Blood Counter® (Horiba ABX Diagnostic Ltda, São Paulo – SP), avaliando concentração de leucócitos. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada por microscopia óptica, em extensões sanguíneas coradas pelo May-Grünwald-Giemsa (MATOS; MATOS, 1988).

Para o diagnóstico da endometrite subclínica foi realizada a citologia endometrial. As amostras foram colhidas no dia 42 pós-parto, pela técnica de escova endometrial (cytobrush), de acordo com Kaufmann et al. (2009) e coradas pelo método de May-Grunwald Giemsa para avaliação microscópica. A análise da citologia endometrial foi feita pela avaliação do total de neutrófilos, a partir da contagem de 200 células, no aumento de 1000x, sendo a leitura feita por um observador. Os casos positivos para ES foram considerados quando o percentual de neutrófilos foi $\geq 5\%$ do total das células contabilizadas (Gilbert et al., 2005).

Os dados referentes aos casos de mastite clínica eram registrados pelos ordenhadores em uma planilha específica, onde constavam a identificação do animal, a data do diagnóstico da mastite clínica, e os medicamentos utilizados para tratamento e a ordenha na qual o tratamento foi iniciado (manhã ou tarde).

A produção de leite foi registrada diariamente na rotina da ordenha, e calculada uma média mensal. Foram registrados também os dados reprodutivos referentes à eficiência

reprodutiva, sendo eles: intervalo parto primeira inseminação artificial, parto concepção e porcentagem de vacas gestantes aos 110 dias pós-parto.

As amostras de sangue para mensuração do BHBA foram colhidas por punção da veia coccígea, 5 dias após o parto, e a análise foi feita com a utilização da fita de mensuração KETOVET®, para determinação da concentração de BHBA. De acordo com o fabricante, o sensor realiza a mensuração de BHBA no sangue em 10 segundos, com volumes de amostra de 1,5 µL. O limite de mensuração analítica é de 0 - 8,0 mmol/L para BHBA. Foi definido como cetose as concentrações acima de 1,2 mmol/L de BHBA no sangue.

Para o diagnóstico da ocorrência de RP as vacas foram observadas imediatamente após o parto, sendo aquelas que não eliminaram a totalidade da placenta até as primeiras 12 horas após a expulsão do feto diagnosticadas com retenção de placenta.

Para as análises as contagens de leucócitos foram categorizadas em abaixo e acima da média. As variáveis contínuas foram analisadas por análise de variância e as variáveis binomiais por regressão logística no programa MINTAB, sendo incluído no modelo o efeito da categoria da contagem de leucócitos e categoria das vacas (primíparas vs. múltíparas).

4. RESULTADO E DISCUSSÕES

Não foi detectado efeito da categoria das múltíparas e primíparas na contagem leucocitária mensuradas após uma semana pós-parto (Tabela 1). No entanto, Trajano (2013) ao utilizar 22 vacas (primíparas e múltíparas) da raça holandesa manejadas em free stall, condições semelhantes às do presente estudo, mensurou parâmetros laboratoriais e clínicos destes animais no período periparto, observando na contagem de leucócitos totais uma diferença entre os grupos primíparas e múltíparas somente por volta dos 15 dias que antecedem o parto, posteriormente a isso os valores permaneciam semelhantes, podendo justificar a não diferença encontrada entre as primíparas e múltíparas avaliadas neste trabalho.

Um outro ponto a ser abordado são os valores médios das contagens leucocitária estarem bem mais elevados do que os encontrados em outras literaturas, fato esse ocorre devido a utilização de um fator estimulador de colônias de granulócitos bovinos peguilados (Imrestor).

Kimura et al. (2014) realizaram um estudo com 21 vacas da raça holandesa de segunda cria, testando um produto idêntico ao utilizado neste trabalho, um fator estimulante de colônias de granulócitos que estimulam a proliferação de células progenitoras mieloides e aumentam os neutrófilos polimorfonucleados (PMN) na medula óssea e na circulação, o resultado da coleta de amostras destas vacas demonstrou altos níveis de PMN maduro e imaturo,

sendo o primeiro em maior proporção, com uma queda após o parto considerada fisiológica (Kimura,1999), corroborando com os altos valores encontrados neste trabalho.

Tabela 1. Contagem de leucócitos em primíparas e múltiparas

Categoria Animal	Leucócitos n/mm ³
Primípara (99)	26964 ± 11128
Múltipara (90)	25933 ± 14668
Valor de P	0,585

A produção de leite também não foi afetada pela contagem de leucócitos (Tabela 2), um argumento importante a ser dito sobre os dados encontrados é devido à natureza multifatorial que influenciam a quantidade de leite a ser produzido, com isso mais estudos devem ser realizados para se obter uma maior clareza sobre sua influência destas células imune sobre a produção leiteira.

Kimura et al. (1999) avaliaram a capacidade de defesa dos neutrófilos pela atividade da mieloperoxidase durante o período periparto, utilizaram 18 vacas Jersey múltiparas, mastectomizaram 10 e o restante permaneceu intacta, como resultado, ambos os grupos reduziram igualmente a função da mieloperoxidase antes do parto, diante deste fato, entende-se que estas células podem não ser influenciadas pela produção de leite como o esperado.

A incidência dos quadros de mastite no rebanho não foi afetado pela contagem de leucócitos (Tabela 2), diferindo de trabalhos que apresentaram relação entre o comprometimento de células linfocitárias (Kehrli e Roth, 2015) e de neutrófilos (Kehrli e Roth, 2016) e a prevalência de mastite. Por outro lado, o estudo feito por Kimura et al. (2014) se mostrou ineficiente para demonstrar a relação entre o aumento da contagem de células imunes, com os benefícios na saúde dos animais e sua influência sobre a ocorrência de mastite, cetose, e sobre os processos reprodutivos, indo de encontro aos dados encontrado neste estudo.

Uma explicação válida para os resultados de mastite encontrados pode ser o ambiente em que estes animais se encontravam, sabe-se que animais confinados em free stall com manejo de cama adequado possuem menores chances de desenvolverem quadros de inflamação intramamario em comparação a outros ambientes com elevadas quantidades de matéria orgânica.

A incidência de endometrite subclínica foi tendenciada pela contagem de leucócitos (Tabela 2), sendo assim, os animais que se apresentaram abaixo da média da contagem de leucócitos possuem maiores chances de apresentarem endometrite subclínica, já

aqueles que se encontraram acima da média, demonstraram incidência reduzida de endometrite subclínica.

Os dados do presente estudo estão em discordância com trabalhos como do Trajano (2013) que identificou uma leucocitose por neutrofilia de forma mais acentuada em animais que manifestaram quadro de infecção uterina e retenção de placenta pós-parto, e em concordância com Saut e Birgel Junior (2008), que ao coletar amostras de sangue de 177 fêmeas bovinas da raça Holandesa nos primeiros 90 dias pós-parto, encontraram no leucograma destas vacas um quadro de leucopenia por neutropenia com desvio à esquerda degenerativo, e eosinopenia, sendo os polimorfonucleares neutrófilos os principais responsáveis pelas alterações. Afirmando também que animais que a manifestam quadros de retenção dos anexos fetais vinculado à uma endometrite comprometem a função medular podendo impedir a adequada resposta imune.

Os processos reprodutivos avaliados no presente estudo, número de serviços por concepção, intervalo do parto a primeira IA, taxa de prenhez aos 110 DPP e taxa de descarte também não foram afetados pela quantidade de leucócitos presentes na circulação aos 7 dias pos-parto, podendo este fato ser argumentado aos inúmeros fatores que influenciam a eficiência reprodutiva de um rebanho leiteiro.

Butler et al. (2006) correlacionam a insuficiência energética no período de transição em vacas leiteiras com desempenho reprodutivo comprometido, e um retardo no início do ciclo ovariano. São citadas baixas taxas de concepção com alta prevalência de doenças infecciosas devido a esse déficit de energia (Markusfeld, 1984; Suriyasathaporn et al., 2000).

Outro fator discutido são as infecções bacterianas uterinas, onde produtos destes microorganismos ou a inflamação associada influenciam na secreção hipofisária de LH, alterando o crescimento folicular e sua função, reduzindo as taxas de ovulação no pós-parto. Assim, as patologias de útero estão associadas com menores taxas de concepção, aumento dos intervalos do parto para o primeiro serviço ou concepção, e maior taxa de abate por baixa taxa de concepção (Sheldon et al., 2006).

Elementos externos também apresentam influência significativa sobre a eficiência reprodutiva em um rebanho leiteiro, como as condições ambientais, de temperatura, o manejo reprodutivo da propriedade, bem-estar animal, e dietas adequadas.

Tabela 2. Contagem leucocitária abaixo e acima da média correlacionando com incidência de doenças

Variável	Contagem de Leucócitos		Valor de P
	Abaixo da Média	Acima da Média	
Produção de Leite kg/dia	33,81 ± 8,137	34,14 ± 7,903	0,782
Mastite	21,43%	16,48%	0,388
Endometrite Subclínica	48,68%	32,84%	0,056
Número de serviços/concepção	2,30 ± 1,416	2,19 ± 1,365	0,559
Intervalo Parto Primeira IA	89,45 ± 28,52	93,68 ± 39,75	0,672
Taxa de Prenhez aos 110 DPP	28,57%	25,45	0,667
Taxa de descarte	12,24%	12,09%	0,974

Foi detectado uma tendência no efeito da incidência de RP sobre a contagem leucocitária (Tabela 3), ou seja, animais que apresentavam o quadro de RP pós-parto, apresentaram mais propensos a uma menor contagem leucocitária, sendo o inverso válido também, animais não diagnosticados com RP apresentaram-se mais propensos a valores de leucócitos acima da média, assim como o esperado. Corroborando com o resultado encontrado por Kimura et al. (2002) em pesquisas mensurando a função de neutrófilos e a relação com a retenção de anexos fetais, por meio de exames como o de reconhecimento neutrofílico do tecido do cotilédone fetal, observaram que os níveis de neutrófilos determinam se o animal terá ou não RP.

A incidência de cetose não apresentou relação estatística com os valores leucocitários, com isso, os valores das células brancas sanguíneas não apresentaram influência causada devido aos quadros de cetose (Tabela 3), pode-se explicar este evento ao se considerar que a variação dos valores leucocitários possui causas multifatoriais, onde algumas condições influenciam de maneira significativa a ocorrência da mesma, e nos casos de cetose como a redução acentuada da IMS em vacas no periparto, elevado ECC, dietas mal balanceadas, déficit de alimentos, podendo interferir nos dados encontrados.

Outro ponto seria pensar sobre a influência do sistema imune com a depressão alimentar recorrente desta fase, no entanto, os estudos relacionados a esta interação ainda são escassos, entretanto, um trabalho realizado por Doherty et al. (1996) avaliou o efeito da restrição de proteínas/energia em 9 vacas tuberculosas, ou seja, imunodeprimidas durante 133 dias, dentre os componentes avaliados, a blastogênese de linfócitos não apresentou nenhuma redução significativa. Infere-se então que os distúrbios alimentares não possuem ligação com a contagem de células imunes.

Tabela 3. Incidência de doenças positivo e negativo correlacionando com a contagem leucocitária

Variável	Contagem de Leucócitos		Valor de P
	Positivo	Negativo	
Retenção de Placenta	21562 ± 2547	27087 ± 1000	0,064
Cetose	24158 ± 1763	27239 ± 1101	0,157

5. CONCLUSÕES

A prevalência de doenças comuns ao período puerperal, e a eficiência reprodutiva demonstraram-se independentes da contagem leucocitária total, exceto a incidência de retenção de placenta e endometrite subclínica.

6. REFERÊNCIAS

- BAIRD, G. D. **Primary Ketosis in the High-Producing Dairy Cow: Clinical and Subclinical Disorders, Treatment, Prevention, and Outlook.** Journal of Dairy Science, Compton, 1982.
- BERGAMASHI, M. A. C. M.; MACHADO, R.; BARBOSA, R. T. **Eficiência Reprodutiva das Vacas Leiteiras.** Circular Técnica: EMBRAPA. 12p. São Carlos, 2010.
- BERTONI, G.; TREVISI, E.; LOMBARDELLI, R. **Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows.** Italian Journal of Animal Science. V. 8. P. 491-518. 2009.
- BUTLER, S. T.; PELTON, S. H.; BUTLER W. R. Energy Balance, Metabolic Status, and the First Postpartum Ovarian Follicle Wave in Cows Administered Propylene Glycol. Journal of Dairy Science, Ithaca, 2006.
- BOUDA, J.; DOUBEK, J.; MUZIK, J.; TOTH, J. **Labor induction in cows and its effect on the development of biochemical and hematologic indicators in the blood of calves.** Veterinárni Medicína, v.39, p.223-230, 1994.
- DICKSON, W. M. **Glândulas endócrinas.** In: SWENSON, M. J., REECE, W. O. Dukes fisiologia dos animais domésticos. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanaba Koogan, 1996. cap. 34, p. 596-598.
- DOHERTY, M. L.; MONAGHAN, M. L.; BASSET, H. F.; QUINN, P. J.; DAVIS, W. C. **Effect of dietary restriction on cell-mediated immune responses in cattle infected with Mycobacterium bovis.** Veterinarian Immunology and Immunopathology 49(4):307-20. 1996.
- DRACKLEY, J. K. **Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier?** Journal Dairy Science, p. 2259-2273, 1999.
- DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T. R.; DOUGLAS, G. N. **Adaptations of Glucose and**

Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows During the Periparturient Period. Journal Dairy Science, v. 84, p. 100-112, 2001.

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE K. D., MCBRIDE B. W. **Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production.** Journal of Dairy Science, v.92, n.2, p.571–580, 2009.

ERSKINE, R.; CULLOR, J.; SCHAELLIBAUM, M.; YANCEY, B.; ZECCONI, A. **Bovine Mastitis Pathogens and Trends in Resistance to Antibacterial Drugs.** National Mastitis Council Research Committee Report. P. 400-414, 2004.

ESSLEMONT, R.J.; PEELER, E.J. **The scope for raising margins in dairy herds by improving fertility and health.** British Veterinary Journal v. 149, p.537-547, 1993.

FLUHARTY, F. L. **Manejo nutricional e requisitos nutricionais de vacas de corte no pré e pós parto.** Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Anais. P.160. Uberlândia, 2009.

GILBERT R. O., Shin S. T., Guard C. L., ERB H. N.; FRAJNLAT M. **Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance or dairy cows.** Theriogenology, 2005.

GOFF, J. P. **Distúrbios do metabolismo dos carboidratos e da gordura.** In: REECE, O. W. Dukes: Fisiologia dos animais domésticos. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006a. p. 510-515.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. **Physiological changes at parturition and their relationship metabolic disorders.** Journal of Dairy Science, v. 80, n. 7, p. 1260-1267, 1997.

GOFF J. P.; KIMURA, K. **Interação entre doenças metabólicas e o sistema imune.** 13º Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, Anais. Uberlândia, MG, 2009 p.251-260.

GOFF, J. P. **Mineral disorders of the transition period: origin and control.** In: World Buiatrics Congress, Nice. Anais, 2006b. p. 1-9.

GONZÁLEZ F.H.D.; CONCEIÇÃO T.R.; SIQUEIRA A.J.S., LA ROSA V.L. **Variações sangüíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul.** A hora Veterinária., v.20, p.59-62, 2000.

GRUMMER, R.R. **Impact of changes organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow.** Journal of Animal Science, v. 73, 1995, p.2820-2833.

GRUMMER, R. R.; MASHEK, D. G.; HAYIRLI, A. **Dry matter intake and energy balance in the transition period.** Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 20:447-470, 2004.

GUNNINK, J.W. **Pré-partum leucotyctic activity and retained placenta.** Veterinary Quarterly v.6, p.52-54, 1984.

HIBBIT, K.G., N.; BATTEN, E. H.. In: ANDREWS, A.H.R; BLOWEY, W.; BOYD.; EDDY, R.G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. Ed. São Paulo: Roca, 2008.

HOGAN, J.; SMITH, L. K. **Coliform mastitis**. Veterinarian Research. 34, 507 – 519, 2003.

HORTA, A. E. M. **Fisiologia do puerpério na vaca**. In: Jornadas Internacionales de Reproducción Animal, 8, 1995, Santander. **Anais Santander: AERA**, 1995. p.73-84.

INGVARTSEN, K. L.; DEWHURST, R. J.; FRIGGENSE, N. C. **On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper**. Livestock Production Science, v.83, n. 2- 3, p. 277-308, 2003.

JACOB, S. K.; RAMNATH, V.; PHILOMINA, P. T.; RAGHUNANDHANAN, K. V.; KANNAN, A. **Assessment of physiological stress in periparturient cows and neonatal calves**. Indian Journal of Physiology Pharmacology, v.45, n.2, p.233-238, 2001.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993, 417p.

JOOSTEN, I.; VAN ELDIK, P.; ELVING, L.; VAN DER MEY, G. J. W. **Factors related to the etiology of retained placenta in dairy cattle**. Animal Reproduction Science, v.14, p.251-262, 1987.

KAY, R. M. **Changes in milk production, fertility and calf mortality associated with retained placentae or the birth of twins**. **Journals BMJ**. Vet. Rec. 102:477-479.

KEHRLI, M.; GOFF, J. **Periparturient Hypocalcemia in Cows: Effects on Peripheral Blood Neutrophil and Lymphocyte Function**. Journal of Dairy Science. Mineral Metabolism and Mastitis Research Laboratory National Animal Disease Center. P 1188-1195. 2016.

KEHRLI, M.; NEIL, J. D.; BURVENCH, C.; GOFF, J.; LIPPOLIS, J. D.; REINHARDT, T. A.; NONNECK, B. J. **Energy and protein effects on the immune system**. 455-471, 2006. In: Sejrsen, K.; Hvelplund, T.; and Nielson, M.O. Eds. Ruminant Physiology. Wageningen Academic Publisher, p.455-471, 2006.

KEHRLI, M.; ROTH, J. A. **Alteration in bovine lymphocyte function during the periparturient period**. American Journal of Veterinary Research. V. 50, N. 2, P. 215-220. 2015.

KEHRLI, M.; ROTH, J. A. **Alterations in bovine neutrophil function during the peripartum period**. American Journal of Veterinary Research. V. 50, N.2, P. 207-214. 2016.

KIMURA, K., GOFF, J.P., CANNING, P., WANG, C., and ROTH, J.A. **Effect of recombinant bovine granulocyte colony-stimulating factor covalently bound to polyethylene glycol injection on neutrophil number and function in periparturient dairy cows**. Journal of Dairy Science, v.97, p.4842–4851, 2014.

KIMURA, K.; GOFF, Jesse; P.; KEHRLI JR., M. E. **Effects of the Presence of the Mammary Gland on Expression of Neutrophil Adhesion Molecules and Myeloperoxidase Activity in Periparturient Dairy Cows**. Journal Of Dairy Science, 1999.

KIMURA, K.; GOFF, J.P.; KEHRLI Jr., M.E.; REINHARDT, T.A. **Decreased PMN function as a cause of retained placenta in dairy cattle.** Journal of Dairy Science, v.85, p.544–550, 2002.

KIMURA, K.; KEHRLI Jr., M. E. **Effects of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows.** Journal of Dairy Science, v.82, p.2385-2392, 1999.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. **Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle.** Journal of Dairy Science. 89:2588–2595, 2006.

LEBLANC, Stephen; LISSEMORE, Kerry; KELTON, David; DUFFIELD, Todd; LESLIE, Kenneeth. **Major advances in disease prevention in dairy cattle.** 2006. v. 89, p. 1267–1279. Journal of Dairy Science, Canadian, , 2006.

LEBLANC, S. J. **Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period.** Journal of Reproduction and Development, 56 Suppl: S29-S35, 2010.

MARKUSFELD, O. **Factors responsible for post parturient metritis in dairy cattle.** BMJ Jounals, São Paulo, 1984.

MARQUES JUNIOR, A. P.; MARTINS, T. M.; BORGES, A. M. **Abordagem diagnostica e de tratamento da infecção uterina em vacas.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 5, n. 2. P 293-298. Belo Horizonte, 2011.

MATOS. Mariana Santiago.; MATOS, Paulo. 1988. ed.2, p.238 **Laboratório clínico médico-veterinário.** Universidade Federal do Rio de Janeiro, Janeiro, 1988.

MCPHERSON, P. A.; MCENENY, J. **The biochemistry of ketogenesis an it role in weight management, neurological disease and oxidative stress.**2011. 68, p. 141-151. Journal of Physiology Biochemistry - University of Navarra, Pamplona, 2011.

NIELEN, M.; AARTS, M. G. A.; JONKERS, A. G. M.; WENSING, T.; SCHUKKEN, Y.H. **Evaluation of two cow side tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows.** Canadian Veterinary Journal, v.35, p. 229-232, 1994.

PIZOOL, J. G. D. **Comparação entre vacas da raça holandesa e mestiças das raças Holandesa x Jersey quanto à sanidade, imunidade e facilidade de parto.** Dissertação: Centro de Ciências Agroveterinárias, Santa Catarina, 2012.

RIBEIRO, E. S.; GOMES, G.; GRECO; L. F., CERRI, R. L. A.; VIEIRA NETO, A.; MONTEIRO JR, P. L. J.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. **Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows.** Journal Dairy Science, Gainesville, 2016.

SAUT, J. P. E.; BIRGEL JUNIOR, E. D. **Influência do período pós-parto sobre o leucograma de fêmeas bovinas da raça holandesa.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 588-597, 2006.

SAUT, J. P.; BIRGEL JUNIOR, E. D. **Influência da retenção dos anexos fetais no hemograma de fêmeas bovinas da raça Holandesa.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 60, n. 6. Belo Horizonte, 2008.

SHELDON, I.M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology Animal Reproduction, v. 65, p. 1516-1530, 2006.

SHELDON, I.M.; PRICE, S.B.; CRONIN, J.; GIBERT, R.O; GADSBY, J.E. **Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle.** Reproduction Domestic Animals, v.44, p.1-9, 2009.

SILVA, P. R. L. S. **Perfil sanguíneo de fêmeas bovinas em gestação e no parto e avaliação da transferência de imunidade passiva aos descendentes.** 2009. 113f. Dissertação. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

SMITH, B. I.; RISCO, C. A. **Management of periparturient disorders in dairy cattle.** Veterinary Clinics: Food Animal Practice, v.21, p.503- 521, 2005.

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

SURIYASATHAPORN, W.; HEUER, C.; ELSBETH, N.; NOORDHUIZEN-STASSEN; SCHUKKEN, Y. H. **Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review.** Journal ECO Sciences, 2000.

TRAJANO, H.P. **Parâmetros clínicos e laboratoriais de vacas leiteiras no período de transição manejadas em free stall.** 2013. Dissertação. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2013.

WERVEN, T.; SCHUKKEN, Y.H.; LLOYD, J.; BRAND, A.; H.TJ., H.; SHEA, M. **The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate.** Theriogenology, v. 37, p.1191-1203, 1992.

WISCHRAL, A.; NISHIYAMA-NARUKE, A.; CURI, B. **Plasma concentrations of estradiol 17 β and PGF $_{2\alpha}$ metabolite and placental fatty acid composition and antioxidant enzyme activity in cows with and without retained fetal membranes.** Prostaglandins and Other Lipid Mediators, v.65, p.117-124, 2001.