CAMYLLA PEDROSA MONTEIRO

Eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a saúde do úbere de novilhas com lactações induzidas

Pirassununga

2018

CAMYLLA PEDROSA MONTEIRO

**Eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos
sobre a saúde do úbere de novilhas com lactações induzidas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos

De acordo:

Orientador

Pirassununga
2018

Obs.: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP.

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3696
FMVZ

Monteiro, Camylla Pedrosa

Eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a saúde do úbere de novilhas com lactações induzidas / Camylla Pedrosa Monteiro. – 2018.
98 f. : il.

Mestrado (Dissertação) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos.

1. Cistos foliculares. 2. Indução de lactação. 3. Infecção intramamária. 4. Novilhas. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Lant, CRB 5675-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação de resposta ao protocolo de indução de lactação em novilhas", protocolada sob o CEUA nº 8212170616, sob a responsabilidade de **Marcos Veiga dos Santos** e equipe; Camylla Pedrosa Monteiro - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 05/01/2017.

We certify that the proposal "Evaluation of response to a lactation induction protocol in dairy heifers", utilizing 114 Bovines (114 females), protocol number CEUA 8212170616, under the responsibility of **Marcos Veiga dos Santos** and team; Camylla Pedrosa Monteiro - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 01/05/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 02/2017 a 10/2017 Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem:	Não aplicável biotério		
Espécie:	Bovinos	sexo:	Fêmeas
Idade:	27 a 43 meses	Nº:	114
Linagem:	Jersolando	Peso:	320 a 580 kg

Resumo: O seguinte trabalho tem como proposta avaliar a resposta do protocolo de indução de lactação em novilhas Leiteiras. Serão utilizadas 114 novilhas Jersolando com idade média 34 meses, Peso médio 440 Kg e Escore de Condição Corporal (ECC) médio de 3,25. Os animais permanecerão durante todo o experimento sob as mesmas condições ambientais e serão confinadas em sistema Compost Barn com barragem de 980m² de dimensão. Durante o experimento os animais terão livre acesso a comedouro e bebedouro, e terão acesso a mesma dieta sendo esta formulada para atender as exigências nutricionais de vacas em lactação. Os animais serão aleatoriamente distribuídos em dois grupos, com base no tratamento (selante intra mamário + Antibiótico injetável) para prevenção de mastite clínica e sub clínica na futura lactação, sendo o grupo 1 o controle e o grupo 2 onde será realizado o tratamento. Após o início da lactação serão avaliadas as produções dos animais, prevalência de mastite clínica e sub clínica, análise microbiológica dos quartos mamários, análise de Contagem de Células Somáticas e composição do leite, monitoramento sérico do metabolismo energético.

Local do experimento: Todos os procedimentos serão realizados na fazenda Ouro Branco

São Paulo, 03 de junho de 2018

Prof. Dra. Aneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MONTEIRO, Camylla Pedrosa

Título: Eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a saúde do úbere de novilhas com lactações induzidas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho aos meus pais
Que nunca mediram esforços para realizar meus sonhos,
e acima de tudo me ensinaram a ter valores*

Conceição e Cerjo Monteiro

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado o dom da vida, por sempre atender as minhas preces e ter me dado a oportunidade de iniciar e força para concluir este sonho em fazer mestrado na Universidade de São Paulo, obrigada Deus por ter me amparado e ter me dado discernimento em todas minhas ações ao longo desta caminhada.

À minha amada família, em especial à minha mãe (Conceição), meu pai (Cerjo) e ao meu irmão (Cayo) por serem meu alicerce em tudo que eu faço. Mãe agradeço todos os dias por ter você em minha vida, por ser minha melhor amiga, minha maior companheira de vida e por ter estado presente durante todas as adversidades e ter vencido-as junto comigo como sempre fez e faz, obrigada por ter me dado a vida, me ensinar a ser paciente, ética e uma mulher forte. Ao meu pai que foi o primeiro ao me apoiar a seguir esse sonho e por ter lutado mesmo contra todas as dificuldades apoiar meus estudos, admiro-o muito por ser tão batalhador e ser este exemplo de carisma, humildade e caráter. Ao meu irmão Cayo pelas “puxadas de orelha” e pela sinceridade e cuidado que sempre tens comigo, te amo muito.

Aos meus queridos e amados avós. A minha avó Claudete (Vovó Detinha) que sei que aonde estiver está me guiando todos os dias, sinto saudades e a senhora sempre será meu maior exemplo de pureza e força. Ao meu avó Diomar que me proporcionou o primeiros contatos com vacas e com a vida ao campo, o senhor me ensinou a ter respeito e amor por todos os animais, além de ser um exemplo de humildade e paciência. E à minha avó Ana, mulher forte e batalhadora, obrigada por sempre me dar um abraço forte quando retorno à Uberlândia e por sempre chorar comigo toda vez que tenho que ir embora.

À Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao meu orientador Marcos Veiga dos Santos por ter me dado a oportunidade de realizar meu mestrado e pela confiança depositada em mim. Com o senhor pude crescer muito profissionalmente e pessoalmente, muito obrigada.

À Capes pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para realização deste mestrado e tornando-o mais tranquilo.

À empresa Ouro Fino Saúde Animal® por ter disponibilizado todos os medicamentos utilizados e pelo amparo financeiro ao longo do estudo.

Ao Professor Dr. Luiz Laranja, por ter colocado à disposição os animais e disponibilizado o local para realização do experimento. Aos funcionários da Fazenda Santa Andrea – Ouro Branco que me auxiliaram durante a execução do experimento de meu mestrado (Renato, Eduardinho, Edvaldo, Dito, Luizinho, Regiane) por terem sido tão competentes e solícitos em me ajudar ao longo das minhas coletas durante experimento. Devo agradecer também em especial a Regiane que foi como uma mãe durante esse três meses de experimento, muito obrigada por ter cuidado tão bem de mim.

À parceria realizada nesse estudo junto com o Professor Dr. Pietro Barusellie com seus alunos, em especial ao seu aluno Rodolfo Mingoti (Badá), muito obrigada Badá por toda a ajuda, conselhos, palavras amigas e não por hesitar em dividir comigo seus conhecimentos, sou muito grata à você, meus parabéns pelo profissional que tu és, foi de grande valia poder contar com sua ajuda ao longo de meu mestrado.

Aos membros do Qualileite que me auxiliaram na revisão de minha dissertação Renata Leite e Melina Barcelos, e em especial Cristian Martins que me ajudou tanto na estatística e em tudo que eu sempre precisei ao longo de meu mestrado, sou muito grata por tudo que fez por mim Cristian e a Bruna Gomes que com muita boa vontade disponibilizou seu tempo e seus conhecimentos em me ajudar de forma tão importante na formatação e revisão de minha dissertação, sua ajuda foi primordial, agradeço mesmo de coração por tudo que fez para mim durante esse período e ao longo de meu mestrado.

Aos especialistas do Laboratório do Qualileite, José Garcia Moreno (Zeca) e Carlos Fidelis. Senhor Zeca muito obrigada por sempre amparar todos nós do Qualileite quando precisamos. Os ensinamentos e lições de vida que o senhor me transmitiu foram e serão de imensa importância para o meu crescimento pessoal e profissional. E ao Carlos Fidelis às inúmeras vezes que me ajudou e me socorreu com muita boa vontade em tudo que precisei, sem perder o bom humor e a paciência, te admiro muito você é e será um profissional muito competente.

Aos meus colegas do laboratório Qualileite e que se tornaram meus amigos Gustavo Fréu, Brunna Granja, Cristian Martins, Tiago Tomazi, Breno Garcia, Danielle Fonseca, Bruna Gomes, Renata Leite, Juliano Gonçalves, Melina Barcelos e Larissa Martins,

muito obrigada a todos pelos momentos de diversão, palavras amigas e todo o aprendizado que adquiri com cada um de vocês, irei sentir muitas saudades.

À Melina Barcelos e Larissa Martins que se tornaram minhas grandes amigas, confidentes e também as irmãs que eu não possuo. A Larissa sempre com um lindo sorriso no rosto e sempre com bom humor. Uma pessoa que me ensinou sempre a ver o lado bom de todas as coisas e nunca me negando um abraço amigo e conselhos, tão jovem e com tanta garra para lutar a favor de seus sonhos, você vai longe minha amiga e eu torço muito por você. A Melina dona de um corações mais puros que já conheci, foi uma das pessoas que mais me apoiou ao longo dessa minha jornada, sempre me encorajando, me protegendo e cuidando de mim, você é um dos maiores presente que o mestrado me deu minha amiga, te desejo só bênçãos em sua vida pois você merece. Só Deus sabe o significado da amizade de vocês para mim, amo vocês.

Ao professor Francisco Palma Rennó que abriu as portas da USP Pirassununga para mim no período que realizei prática profissionalizante no LPBL, muito obrigada por os conhecimentos passados e as oportunidades que o senhor me deu, o admiro devido a dedicação e amor que o senhor tem pela sua profissão e por seus animais.

Aos funcionários do LPBL (Diogo, Denis, Luquinha, Leandro (Lelê), Roberto, Juninho, Madruga, Toco) e aos amigos da pós graduação que fiz por lá, Filipe Zanferari, Elmeson (Mineiro), Tiago Dell Valle, Elissandra (Eli), Thiago Vendramini (Catimbó), Gustavo Calomeni, Rodrigo Gardinal e Guilherme Gomes, o período que trabalhei com vocês foi de muito crescimento só tenho a agradecer pelos ensinamentos adquiridos.

Aos professores do departamento de nutrição e produção animal, em especial Francisco Palma Rennó, Julio Baliero, Luiz Felipe, Augusto Gameiro, Paulo Henrique Mazza, Márcio Brunetto, André Simprão e Simone Martins que sempre foram atenciosos e dispostos a passar seus conhecimentos sem hesitação para todos os alunos de pós graduação.

À todos os funcionários do VNP, em especial as responsáveis por a limpeza (Dona Edna e Cecília) por todo o carinho que tem com nós do Qualileite, ao secretário da pós Graduação João Paulo, sempre solícito e disposto a ajudar em relação a qualquer quesito vinculado a pós graduação e a Fabia e Alessandra pela competência.

As funcionárias da cantina do Miltinho, em especial a Tatiane (Tati) e Jéssica que se tornaram também minhas amigas, obrigada por sempre fazer nossos dias e tardes mais alegres e sempre tentar nos agradar.

Aos meus amigos que tive oportunidade de dividir o mesmo teto ao longo da minha estadia em Pirassununga: as meninas da Republica Perdição, Maria Fernanda Burbareli, Giuliana (Giu), Priscila Silva (Pri), Viviane Ferrari (Vivi), Tiago (Severino), Emanuel Manica (Manu), Gabriela (Gabi), com vocês tive minha primeira oportunidade em morar fora da casa dos meus pais, e sem dúvida cresci muito, aprendi a ser mais compreensiva, pensar no coletivo e ser paciente, obrigada por toda a força que sempre me deram ao longo da minha estadia em Pirassununga vocês também foram minha família.

Aos meus amados amigos que fiz durante o período de meu mestrado e estadia em Pirassununga, em especial Rafael Araújo que me amparou desde meu estágio curricular e me incentivou a ir para Pirassununga obrigada por ter sido essa pessoa tão amiga, obrigada também por os conselhos e paciência que tens comigo. A Ana Pavaneli que foi a melhor companheira de quarto que eu poderia ter tido durante minha moradia na república Perdição, você foi e é uma amiga muito especial que sei que posso contar com você frente a qualquer adversidade. Ao Paulo Pelissari por todos os conselhos sábios e lições de paciência que sempre me deu. A Viviane Ferrari (Vivi), Priscila Silva (Pri), Emanuel Manica (Manu), Gabriela (Gabi), Tiago (Severino) e Brenda Barcelos pela amizade, apoio em todos os aspectos, momentos de diversões, festas, danças, como me diverti com vocês. Muito obrigada a todos vocês meus amigos, hoje tenho certeza que Deus coloca as pessoas certas no momento certo da vida da gente, amo vocês e sentirei muita falta da convivência.

Aos meus queridos e amados amigo(as) que adquiri ao longo de minha vida Jéssica, Katânia, Alanna, Andressa, Ludmilla, Fabiana (Fabi), Marissa (Sissa), Kamila (Xará), João Paulo (Joãozinho), Caio Ferreira, Murillo Dourado, Lucas Dorneles (Dodô), Jayne e Hana que mesmo com a distância sempre estiveram “presentes” e dispostos a me dar uma palavra amiga nos momentos que mais precisei.

*Aos meus professor da Universidade Federal de Uberlândia em especial as professoras Teresinha e Anna Monteiro que sempre me incentivaram ao longo de meu mestrado e torceram para mim ao longo de meu mestrado. **MUITO OBRIGADA!***

*“A grande GLÓRIA da vida não está em nunca cair,
mas em se levantar a cada vez que caímos”*

Nelson Mandela

RESUMO

MONTEIRO, C. P. Eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a saúde do úbere de novilhas com lactações induzidas. [Efficacy of injectable antibiotic treatment associated with roof sealant on udder health of heifers with induced lactation]. 2018. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

O estudo teve como objetivos avaliar: 1) produção e composição do leite de novilhas submetidas a protocolo de indução de lactação (PIL); 2) eficácia de antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a prevalência de infecções intramamárias (IIM) e contagem de células somáticas (CCS) e 3) eficácia de GnRH sobre regressão de cistos foliculares (CFs) e taxa de concepção inicial e prenhez acumulada em novilhas tardias. Foram utilizadas 114 novilhas da raça Jersolando (Holandesa x Jersey), com $34,7 \pm 4,8$ (média $\pm$ desvio padrão) meses de idade, $439 \pm 56,35$ kg de peso corporal e $3,00 \pm 0,30$ de escore de condição corporal (ECC). O utilizado PIL era composto por benzoato de estradiol, progesterona injetável, prostaglandina, dexametasona e somatotropina recombinante bovina. Dezesesseis dias antes do PIL as novilhas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos: a) ATBS (n=57, 1mL/kg Norfloxacin injetável Norflomax®, Ourofino Saúde Animal), via intramuscular associado com selante de tetos (4g subnitrato de bismuto Sellat®, Ourofino Saúde Animal), e b) CONT (n=57) sem a aplicação de nenhum medicamento. A lactação iniciou-se no 21º dia do PIL e os animais foram submetidos à duas ordenhas diárias. No 15º dia de lactação (DEL) foi realizado diagnóstico de CFs e mais dois grupos foram criados de acordo com peso corporal, ECC e presença/ausência de CFs: a) GnRH (n=53, 5 mL de GnRH injetável Sincrofort®, Ourofino Saúde Animal) e b) Controle (n=53). Do total (n=104), 91% das novilhas induzidas responderam com sucesso ao PIL com média de produção de leite de 15,19 kg/leite/dia durante as primeiras 22 semanas de lactação. Os tratamentos foram avaliados em fatorial 2x2, sendo o fator 1 correspondente ao tratamento com ATBS e o fator 2 correspondente ao tratamento com GnRH. O ATBS não alterou a produção de leite quando comparado com o GnRH. A prevalência de IIM nas duas primeiras semanas de lactação foi de 18% com o ATBS e 28% nas não tratadas, e *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN) foi o patógeno mais frequentemente isolado no 7º (20,95%) e 14º (17,11%) DEL. Os quartos mamários tratados com ATBS tiveram 0,56 vezes menos risco de IIM e diminuíram a CCS em relação aos controles. A aplicação de GnRH não influenciou na cura dos CFs em relação aos controles. A ciclicidade aos 45 dias de lactação foi de 68% e 35% para os animais tratados com ATBS e controle, respectivamente. Já para os tratados com GnRH, a ciclicidade foi de 57% e 46% para o controle. No tratamento com ATBS houve taxa de prenhez acumulada de 60% contra 89% no controle, enquanto que o tratamento com GnRH não influenciou esta variável. A indução de lactação foi eficaz em novilhas e o tratamento com ATBS diminuiu a prevalência de IIM nas duas primeiras semanas de lactação.

Palavras-chave: Cistos foliculares. Indução de Lactação. Infecção intramamária. Novilhas.

ABSTRACT

MONTEIRO, C. P. **Efficacy of injectable antibiotic treatment associated with roof sealant on udder health of heifers with induced lactation.** [Eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a saúde do úbere de novilhas com lactações induzidas]. 2018. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

The present study aimed to evaluate: 1) the milk production and composition of heifers submitted to lactation induction protocol (PIL), 2) the effectiveness of injectable antibiotic treatment associated with teat sealant on the prevalence of intramammary infections (IMI) and somatic cell count (SCC), and 3) the effectiveness of GnRH treatment on follicular cyst (FC) regression and optimization of the accumulated pregnancy rate in late heifers. Thus, 114 heifers of Jersolando breed (Holstein x Jersey) were used, with 34.7 ± 4.8 (mean $\pm$ standard deviation) months of age, 439 ± 56.35 kg of body weight and 3.00 ± 0.30 body condition score (BCS). The heifers were housed in Compost bedded-pack barns shed and submitted to the PIL consisting of estradiol benzoate, injectable progesterone, prostaglandin, dexamethasone and bovine recombinant somatotropin. Sixteen days prior to initiation of PIL, heifers were randomly assigned to two groups: a) ATBS (n = 57, 1mL/kg Norfloxacin injectable Norflomax®, Ourofino Animal Health), intramuscularly, associated with internal teat sealant (4g bismuth subnitrate Sellat®, Ourofino Animal Health), and b) CONT (n=57) without the application of any medication. Lactation began on the 21st day of the PIL and the animals were submitted to two daily milking. On the 15th day in milk (DIM) a diagnosis of FC was performed and two other groups were created according to body weight, BCS and presence / absence of CFs: a) GnRH (n = 53, 5 mL of Sincrofort® injectable GnRH, Ourofino Animal Health) and b) Control (n = 53). From 104 induced heifers, 91% responded successfully to PIL, with a mean milk yield of 15.19 kg/milk/day during the first 22 weeks of lactation. The treatments were evaluated in a 2x2 factorial, with factor 1 corresponding to the ATBS treatment and factor 2 corresponding to GnRH treatment. The ATBS treatment did not change the milk production when compared to those treated with GnRH. The prevalence of IMI during the first two weeks of lactation was 18% for ATBS-heifers and 28% for untreated heifers. *Staphylococcus coagulase* negative (SCN) was the most frequently isolated pathogen in the 7th (20.95 %) and 14th (17.11%) DIM. The ATBS-treated mammary quarters had a 0,56lower times risk of infection and decreased the SCC compared to controls, with or without GnRH. The GnRH application did not influence on the cure of FCs in relation to control. Cyclicity at 45 days of lactation was 68% for the animals treated with ATBS and 35% for the control, while the animals treated with GnRH had a cyclicity of 57% and 46% for the control. The ATBS had cumulative pregnancy rate of 60%, in the control was 89% and the GnRH treatment did not influence this variable. Induction of lactation was effective in heifers and treatment with ATBS decreased the prevalence of IMI in the first two weeks of lactation.

Keywords: Follicular cysts. Induction of lactation. Infection intramammary. Heifers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Protocolo de Indução de Lactação em Novilhas Jersolando	49
Figura 2 - Protocolo de IATF utilizado nas novilhas com lactação induzida	54
Figura 3 - Fluxograma do período experimental	55
Figura 4 - Desenvolvimento das glândulas mamárias das novilhas ao longo dos 21 dias do protocolo de indução de lactação.....	59
Figura 5 - Efeito da ATBS e GnRH sobre a curva de lactação das novilhas com lactações induzidas	61
Figura 6 - Efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre o Log de CCS nas novilhas com lactações induzidas	62
Figura 7 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de gordura nas coletas quinzenais do leite de novilhas com lactações induzidas	63
Figura 8 - Efeito do ATBS e GnRH sobre a média de produção de leite corrigida para gordura nas coletas quinzenais de novilhas com lactações induzidas	64
Figura 9 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de proteína do leite nas coletas quinzenais das novilhas com lactações induzidas	65
Figura 10 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de lactose nas coletas quinzenais do leite de novilhas com lactações induzidas	66
Figura 11 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de sólidos totais do leite de novilhas com lactações induzidas	67
Figura 12 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de extrato seco desengordurado do leite das novilhas com lactações induzidas	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição e MS de dieta oferecida para novilhas ≥ 350 kg anteriormente a um protocolo de indução de lactação	47
Tabela 2 - Composição e MS de dieta oferecida para novilhas ≥ 350 kg no início de uma lactação induzida por protocolo.....	47
Tabela 3 - Frequência de isolamento dos patógenos causadores de mastite no 7º dia lactação em quartos mamários de novilhas com lactação induzida.....	69
Tabela 4 - Frequência de isolamento de patógenos causadores de mastite no 14º dia lactação em quartos mamários de novilhas com lactação induzida.....	69
Tabela 5 - Regressão logística para efeito do tratamento (ATBS ¹) sobre o risco de infecção IIM nas duas primeiras semanas de lactação dos quartos mamários tratados de novilhas com lactações induzidas.....	70
Tabela 6 - Efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre a CCS, produção e composição do leite de novilhas com lactação induzida	60
Tabela 4 – Produção, composição de leite e log de CCS de acordo com ECC de novilhas com lactação induzida	63
Tabela 8 - Regressão logística do efeito do tratamento com ATBS e GnRH, peso inicial, idade, ECC, ciclicidade aos 15 dias de lactação e incidência de CFs sobre a ciclicidade aos 45 dias de lactação em novilhas com lactações induzidas	71
Tabela 9 - Regressão logística para efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre taxa de concepção após a primeira IATF inicial em novilhas com lactações induzidas.....	72
Tabela 10 - Regressão logística para efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre a taxa de prenhez acumulada.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS

ATBS	Antibiótico injetável associado com selante de tetos
BST	Somatotropina Bovina ou Hormônio do Crescimento
CCS	Contagem de Células Somáticas
CF	Cisto Folicular
CONT	Controle
ECC	Escore de Condição Corporal
GM	Glândula mamária
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
IIM	Infecção intramamária
kg	quilogramas
LH	Hormônio Luteinizante
MC	Mastite Clínica
mL	Mililitro
MS	Matéria Seca
MSC	Mastite Subclínica
NIIM	Nova infecção intramamária
PGF2 α	Hormônio Prostaglandina
PIL	Protocolo de indução de lactação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 HIPÓTESES E OBJETIVOS	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1 DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA.....	22
3.2 FISIOLOGIA DA LACTAÇÃO	24
3.3 CRIAÇÃO DE NOVILHAS	25
3.4 PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO (PIL).....	26
3.5 HISTÓRICO DOS PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO.....	27
3.6 CISTOS FOLICULARES APÓS O PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO	33
3.7 MASTITE.....	35
3.8 ANTIBIÓTICO INJETÁVEL ANTES DA PRIMEIRA LACTAÇÃO EM NOVILHAS.....	41
3.9 SELANTE DE TETOS EM NOVILHAS	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1 LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS	46
4.2 COLETA DE INFORMAÇÕES ANTES DO PIL.....	47
4.3PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO	48
4.4TRATAMENTO COM ANTIBIÓTICO INJETÁVEL ASSOCIADO COM SELANTE DE TETOS.....	50
4.5PRODUÇÃO DE LEITE.....	50
4.6COLETA DEAMOSTRAS DE LEITE E ANÁLISES DE CULTURA MICROBIOLÓGICA	51
4.7 COMPOSIÇÃO DO LEITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICA (CCS)	53
4.8 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE CISTOS FOLICULARES.....	53

4.9 AVALIAÇÃO DA CICLICIDADE AOS 45º DIAS DE LACTAÇÃO	54
4.10 IATF EM NOVILHAS COM LACTAÇÕES INDUZIDAS	54
4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	56
5 RESULTADOS	58
5.1 TAXA DE RESPOSTA AO PIL, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE LEITE ..	58
5.2 FREQUÊNCIA DE PATÓGENOS CAUSADORES DE MASTITE NAS DUAS PRIMEIRAS SEMANAS DE LACTAÇÃO.....	68
5.3 PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES INTRAMAMÁRIAS	69
5.4 RETORNO À CICLICIDADE.....	70
5.6 TAXA DE CONCEPÇÃO INICIAL.....	71
5.7 TAXA DE PRENHEZ ACUMULADA.....	72
6 DISCUSSÃO	73
6.1 TAXA DE SUCESSO AO PIL	73
6.2 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	74
6.3 PRODUÇÃO DE LEITE.....	75
6.4 COMPOSIÇÃO DO LEITE	78
6.5 PREVALÊNCIA DE IIM E DISTRIBUIÇÃO DE PATÓGENOS ISOLADOS DOS CASOS DE MASTITE.....	80
6.6 CISTOS FOLICULARES E RETORNO À CICLICIDADE	83
6.7 TAXA DE CONCEPÇÃO INICIAL E TAXA DE PRENHEZ ACUMULADA ..	85
7. CONCLUSÃO.....	87

1 INTRODUÇÃO

As fases de cria e recria de novilhas representam um dos maiores custos de produção em propriedades leiteiras. Além disso, essas fases são consideradas improdutivas pois, durante esse período estes animais não produzem leite e bezerras, que são as principais fontes de renda da bovinocultura leiteira (SOCHA; JOHNSON, 2000; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

Considerando o início da puberdade em bezerras entre nove e onze meses de idade (entre 250 e 280 kg para a raça Holandesa e entre 170 e 190 para Jersey- SEJRSEN; PURUP, 1997), pode-se estimar que o primeiro parto ocorra antes dos 20 meses de idade (VAN AMBURGH et al., 1998a; NRC, 2001). Desse modo, deve-se evitar a permanência de novilhas tardias no rebanho (>20 meses de idade, não gestantes e não lactantes), pois estes animais são improdutivos e geram custos de alimentação e instalações. No entanto, quando um rebanho tem deficiências durante a criação das novilhas e ocorrência de animais tardios, uma alternativa para iniciar a produção de leite de novilhas tardias que não estão gestantes em um curto espaço de tempo é a indução de lactação (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

O protocolo de indução de lactação (PIL) consiste em aplicações exógenas de hormônios que mimetizam as mudanças fisiológicas e hormonais que ocorrem entre o terço final da gestação e o parto em vacas e novilhas leiteiras. Quando bem realizado, ao final do PIL ocorre início da produção de leite de novilhas e vacas, o que permite aumentar a vida produtiva em vacas adultas ou antecipar o início a produção de leite em novilhas não prenhes (JEWEL, 2002; AKERS, 2002; MUHAMMAD et al., 2016; LAKHANI et al., 2017). Mesmo com o uso de hormônios exógenos durante os PILs, o leite de vacas e novilhas submetidas a protocolos de indução apresenta composição semelhante ao de leite de lactações não induzidas e inocuidade para o consumo humano (LAKHANI et al., 2017).

A maioria dos estudos sobre indução de lactações de vacas e novilhas utilizaram aplicações exógenas de estradiol e progesterona, associadas ou não com outros hormônios exógenos como prostaglandina, glicocorticoides (dexametasona) e hormônio do crescimento (BST). As associações de hormônios têm objetivo de mimetizar as modificações fisiológicas que dão início à produção de leite e, consequentemente, aumentar a taxa de sucesso (número de animais que respondem ao PIL) de vacas e

novilhas submetidas ao PIL. A resposta de novilhas sexualmente maduras aos PIL podem atingir taxas de sucesso de 60 a 100%, com produção média de 11,7 kg/leite/dia, o que pode indicar ser rentável induzir lactações de novilhas (FULKERSON, 1978; SMITH; SCHANBACHER, 1974; COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; RAMGATTIE et al., 2014).

Apesar dos potenciais benefícios com o uso de PIL em animais improdutivos, algumas vacas e novilhas podem apresentar cistos foliculares após serem submetidas ao PIL (ERB et al., 1973; FREITAS, 2009). Cistos foliculares (CFs) são definidos como estruturas anovulatórias foliculares no ovário, que crescem e ultrapassam o tamanho de um folículo ovulatório (≥ 25 mm de diâmetro), e que persistem por pelo menos 10 dias na ausência de um corpo lúteo (LÓPEZ-HELGUERA et al., 2016). O uso do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é uma opção para o tratamento de CFs, entretanto poucos estudos avaliaram esse tratamento em novilhas com CFs após lactação induzida sobre o desempenho reprodutivo.

A mastite é a principal doença que acomete os rebanhos leiteiros mundiais (RAINARD; RIOLLETI, 2006), e é caracterizada pela inflamação da GM, causada principalmente por origem bacteriana (SANTOS; FONSECA, 2007). A mastite em novilhas prejudica o desenvolvimento do tecido glandular e compromete a diferenciação das células secretoras. A ocorrência de mastite em novilhas durante a fase de crescimento reduz a capacidade de produção de leite na idade adulta (TRINIDAD; NICKERSON; LUTHER, 1990), pois há menor desenvolvimento de tecido secretor de leite na primeira gestação (BABCOCK et al., 2002). Além disso, novilhas com mastite produzem menos leite, quando comparadas a novilhas sadias (PIEPERS et al., 2010). A prevalência de IIM em novilhas pode variar de 29-75% nas secreções dos quartos mamários antes do parto e de 12-57% nas coletas de leite no pós parto (DE VLIEGHER et al., 2012; COMPTON et al., 2007; FOX et al., 2009; FOX et al., 1995; LAFFRANCHI et al., 2001).

Atualmente, as principais práticas de manejo para o controle de mastite em novilhas, principalmente antes do início da lactação, baseiam-se no tratamento com antibiótico associado ou não à selante de tetos, de forma semelhante ao que é realizado no momento da secagem em vacas (DE VLIEGHER et al., 2012). O tratamento com antibióticos antes da primeira lactação em novilhas tem como objetivo curar os casos de mastite durante o terço final da gestação e reduzir a prevalência de IIM no início da lactação (SAMPIMON et al., 2009; OLIVER et al., 2003). Antibióticos injetáveis apresentam maior facilidade de aplicação que os antibióticos intramamários (DE

VLIEGHER et al., 2012). O uso de 200 mg de cefapirina sódica (OLIVER et al., 2003) e hidroiódeto de penetamato (PASSCHYN et al., 2013), ambos antibióticos injetáveis, antes do parto em novilhas reduziu tanto a prevalência de IIM no início da lactação (PASSCHYN et al., 2013) quanto a Contagem de células Somáticas (CCS), o que resultou em maior produção de leite (OLIVER et al., 2003).

Os selantes tetos não apresentam ação antimicrobiana e são compostos geralmente por 65% de subnitrato de bismuto (sal inerte em base de parafina), que apresenta como função formar uma barreira física na extremidade do canal do teto da GM de vacas e novilhas contra a entrada de patógeno no período não lactante, diminuindo assim a prevalência de novas IIM em vacas e novilhas (GOLDER; HODGE; LEAN, 2016; BERRY; HILLERTON, 2007; PARKER et al., 2007). Os selantes de tetos podem ser utilizados em associação com antibióticos em novilhas dias antes do parto (início da lactação), sendo essa associação muitas das vezes eficaz em diminuir a prevalência de IIM e mastite clínica no início da lactação em novilhas (NAQVI et al., 2018). Entretanto, não há relatos de estudos que abordam a eficácia de antibiótico injetável associado a selante de tetos sobre a saúde do úbere de novilhas tardias submetidas a indução de lactação.

2 HIPÓTESES E OBJETIVOS

A hipótese proposta no presente estudo é que o PIL é eficaz em promover o início da lactação em novilhas tardias e que novilhas tratadas com antibiótico injetável associado com selante de tetos antes do início de lactação induzida apresentam menor prevalência de infecções intramamárias nas duas primeiras semanas de lactação. Adicionalmente, foi avaliada a hipótese de que o uso de GnRH após o PIL como tratamento para CFs reduz o a ocorrência de CFs em novilhas submetidas a indução de lactação. Para testar estas hipóteses, os objetivos gerais do presente estudo foram avaliar: a) a eficácia do tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos sobre a prevalência de IIM, CCS e produção de leite; b) a eficácia do tratamento com GnRH após o PIL sobre cura de cistos foliculares, e sua influência na taxa de prenhez acumulada.

Os objetivos específicos do estudo foram avaliar: a) a resposta do protocolo de indução de lactação em novilhas tardias, em relação às suas taxas de sucessos, produção e composição do leite; b) a eficácia do tratamento com antibiótico injetável +selante de tetos, no 5º dia do protocolo de indução sobre a prevalência de IIM nas duas primeiras semanas de lactação, produção de leite aos 150 dias de lactação e composição do leite e CCS quinzenalmente até 90º dia de lactação, c) a frequência de cistos foliculares em novilhas após o PIL; d) avaliar a eficácia do tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação após o PIL sobre a taxa de ciclicidade aos 45 dias após a indução de lactação, tanto em novilhas com presença ou ausência de cistos foliculares; e) avaliar eficácia do tratamento com GnRH 15 dias após o PIL sobre a taxa de concepção inicial e taxa de prenhez acumulada após IATF em novilhas com lactações induzidas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A glândula mamária (GM) é composta por parênquima, estroma, pele, tetos e linfonodos (AKERS, 2002, 2017). O parênquima mamário inclui a estrutura epitelial, os ductos e os alvéolos mamários, e tem como função sintetizar e secretar o leite. O estroma é composto por vasos sanguíneos, linfáticos e o tecido conjuntivo que circunda os alvéolos (AKERS, 2017). A GM é um dos órgãos que mais cresce após o nascimento da bezerra leiteira, e passa por fases de crescimento, diferenciação e regressão celular. Durante a primeira gestação e início da lactação, o desenvolvimento da GM e produção de leite ocorre devido ao efeito de associações de hormônios associados à gestação, parto e lactação (BERRYHILL; TROTT; HOVEY, 2016; AKERS, 2002; TUCKER, 2000).

O crescimento da GM é resultado da proliferação das células epiteliais mamárias (BERRYHILL; TROTT; HOVEY, 2016) e se configura de duas formas: isométrico e alométrico. O crescimento isométrico ocorre quando a taxa decrescimento da GM se dá na mesma intensidade que o restante do corpo, enquanto que no alométrico a GM cresce em intensidade maior que o corpo (BERRYHILL; TROTT; HOVEY, 2016; AKERS, 2002). O crescimento isométrico na GM passa por dois momentos, o primeiro ocorre do nascimento até a puberdade das novilhas (3 a 9 meses de idade), e o segundo após a puberdade até o início da primeira gestação (BERRYHILL; TROTT; HOVEY, 2016; AKERS, 2002). O crescimento alométrico pode ser dividido em duas fases. A primeira ocorre após os primeiros ciclos estrais nas novilhas (puberdade) devido à atividade dos ovários (desenvolvimento reprodutivo) que propiciam o alongamento e arborização dos ductos mamários. A segunda fase ocorre durante a gestação, quando há expansão do número e diâmetro alvéolos, antes da lactogênese (BERRYHILL; TROTT; HOVEY, 2016).

O ciclo lactacional pode ser subdividido em três fases principais: mamogênese (desenvolvimento do parênquima mamário), lactogênese (início da lactação) e galactopoiese (manutenção e secreção de leite - AKERS, 2002, 2006, 2017). O sistema endócrino desempenha papel central no controle do ciclo lactacional da GM, sendo que os principais hormônios associados são: estrógeno, progesterona, hormônio do crescimento (BST), prolactina, glicocorticoides (AKERS, 2002).

3.1.1 Mamogênese

A mamogênese é o desenvolvimento do parênquima mamário que ocorre durante a fase fetal, puberdade e gestação. Essa fase tem grande importância, pois ocorre proliferação de células alveolares da GM, que estão diretamente associados com produção de leite futura (AKERS,2002). A proliferação das células mamárias depende da associação do estrógeno com a progesterona, já para o desenvolvimento final da GM, além do estrógeno e progesterona há necessidade do sinergismo das secreções de BST e prolactina para alongar e ramificar os ductos mamários (TUCKER,2000; AKERS, 2002). Durante a gestação ocorre uma das maiores taxas de crescimento da glândula mamária (TUCKER, 2000; AKERS, 2002).

3.1.2 Lactogênese

Durante a lactogênese ocorre a preparação da GM para o início da lactação. A lactogênese é dividida em duas fases principais, sendo a primeira no terço final da gestação, na qual ocorre diferenciação estrutural e funcional do epitélio mamário secretor de leite, e a segunda fase ocorre a finalização da diferenciação celular. Após este período, ocorre o parto e início da produção e secreção do leite (AKERS, 2002, 2006).

As variações de concentração plasmática dos principais hormônios, tais como estrógeno, progesterona, prolactina e glicocorticoides, atuam em sinergismo para promover a lactogênese (TUCKER, 2000). Entretanto, o início da lactação ocorre apenas quando há redução da concentração de progesterona (que inibe o início da lactação), seguida do aumento sérico da prolactina que é o principal hormônio na síntese do leite. Já o hormônio BST atua na lactogênese e age na redistribuição dos nutrientes para propiciar a produção de leite (AKERS, 2002; JEWEL, 2002; TUCKER,2000).

3.1.3 Galactopoiese

Durante a galactopoiese ocorre a manutenção da lactação. Os hormônios associados com esta fase promovem a manutenção da lactação e auxiliam no aumento da produção de leite ao longo da lactação. O principal hormônio atuante neste período é o BST, que aumenta a produção de leite e a persistência da curva de lactação em vacas e primíparas ao longo da lactação (AKERS, 2002).

3.2 FISILOGIA DA LACTAÇÃO

As principais alterações fisiológicas e hormonais que ocorrem no terço final da gestação e início do parto são essenciais para compreender o processo de produção de leite. Ao longo da gestação, as concentrações séricas de estrógeno e progesterona estão altas, quando comparados ao longo dos ciclos estrais (CONVEY, 1974). O estrógeno estimula a proliferação de células alveolares (efeito mamogênico) juntamente com outros mediadores, já que sua ação isolada não é capaz de promover proliferação das células (AKERS, 2002; AKERS; TUCKER, 2000).

Associada ao estrógeno, a progesterona possui função de crescimento e desenvolvimento dos ductos alveolares mamários durante o ciclo estral e durante a mamogênese. Durante a gestação, a progesterona liberada pelo corpo lúteo dos ovários e pela placenta prepara e mantém a gestação (CUNNINGAN, 2008; AKERS, 2002; TUCKER, 2000). A alta concentração sérica de progesterona no terço final da gestação bloqueia o início da lactogênese (efeito anti-lactogênico), por meio da inibição dos receptores de glicocorticoides na GM e da atividade da prolactina (AKERS, 2002).

Entretanto, no terço final da gestação ocorre um pico de concentração sérica de estrógeno e, por volta de 3 a 4 dias antes do parto, ocorre liberação de prostaglandina que promove a lise do corpo lúteo (CL) e diminui assim a concentração sérica de progesterona (AKERS, 2002). Com a diminuição dos níveis séricos de progesterona próximo ao parto, as secreções de prolactina e glicocorticoides aumentam e, assim, inicia-se a lactogênese (AKERS, 2002).

Próximo ao momento do parto, o estresse fetal leva ao aumento da concentração sérica do cortisol (glicocorticoide - AKERS, 2002; TUCKER, 2000). O glicocorticoide junto com a prolactina exerce função no desenvolvimento e diferenciação dos alvéolos da GM (AKERS, 2002). Ele compete com os receptores de progesterona, afim de permitir a síntese de prolactina (FULKERSON; MCDOWELL, 1975).

A prolactina, liberada pela hipófise, durante a mamogênese intensifica os efeitos dos hormônios esteróides e de outros hormônios. Além disso, a prolactina tem função primordial na lactogênese, mas com menor importância (função secundária) na galactopoiese. A ordenha e estímulos na GM promovem a secreção de prolactina, que é essencial para a lactação (AKERS, 2002).

O hormônio do crescimento, também denominado como somatotropina bovina (BST) aumenta a produção de leite e a persistência ao longo da lactação. Esse hormônio

modifica o metabolismo corporal, redirecionando o fluxo de nutrientes dos demais tecidos para a GM (AKERS, 2002, 2006). Entretanto, para que o BST exerça sua função ao longo da lactação, é necessário que a vaca e/ou novilha apresente bom estado de saúde e adequado manejo nutricional para suportar o aumento da produção de leite (AKERS, 2002, 2006).

Em vacas adultas e primíparas durante a lactação, o uso do BST (500 mg) é geralmente recomendado quinzenalmente após o pico de lactação (>60 dias) e pode aumentar a produção de leite em 30 a 40% ou até 4 a 6kg/dia, devido ao aumento da proliferação celular (atividade mitogênica) e diminuição das perdas de células secretoras (AKERS, 2002). Devido às mudanças associadas ao aumento da mobilização de nutrientes de tecidos corporais com o uso de BST, há alteração do fluxo sanguíneo, do consumo, da absorção de nutrientes oriundos da dieta e do aumento da produção de leite (AKERS, 2002, 2006). Porém, apesar dos efeitos do uso exógeno de BST sobre a produção de leite, não há receptores para o BST na GM. Seus efeitos na GM são mediados pelo fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-1) para estimular a produção de leite e aumentar a proliferação de células na GM (AKERS, 2006).

3.3 CRIAÇÃO DE NOVILHAS

A criação de novilhas representa um dos maiores custos nas propriedades leiteiras (SOCHA; JOHNSON, 2000). No entanto o tempo que a novilha leva para entrar em produção varia em muitos rebanhos comerciais e pesquisas. Considerando que a produção de leite e a produção de bezerras são as principais fontes de receita da fazenda leiteira, a cria e recria de novilhas são percebidas como fases improdutivas, mas importantes para a produção futura do rebanho (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2001; LORMORE; GALLIGAM, 2001). Em rebanhos bem manejados, as novilhas iniciam a puberdade entre nove e onze meses de idade (entre 250 e 280 kg para a raça Holandesa e entre 170 e 190 kg para raça Jersey –SEJRSEN; PURUP, 1997). O peso recomendado para a primeira inseminação e para o primeiro parto são de aproximadamente 55% e 82% do peso adulto, respectivamente. Assim, o primeiro parto é previsto antes dos 20 a 22 meses de idade, no entanto depende da taxa de ganho de peso das novilhas (VAN AMBURGH et al., 1998a; NRC, 2001; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2001).

Entretanto, quando a idade ao primeiro parto é reduzida os custos de produção com novilhas são diluídos (LORMORE; GALLIGAM, 2001). Em relação às novilhas tardias (>20 meses de idade e que não emprenharam) podem ser usadas estratégias para antecipar a entrada em produção, visando assim diminuir os dias improdutivo e aumentar a receita para a propriedade (LORMORE; GALLIGAM, 2001; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2001). Sendo assim, o manejo reprodutivo convencional destas novilhas tardias requer um período mínimo de dez meses de gestação até que estas entrem em lactação e produzam um bezerro, o que gera altos custos de produção. Uma alternativa para a redução dos custos e aumento da eficiência de produção de novilhas tardias aptas para a reprodução é o uso de protocolos indução de lactação (PIL - SMITH; SCHANBACHER, 1974).

3.4 PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO (PIL)

O PIL é uma ferramenta que visa mimetizar as mudanças fisiológicas que ocorrem na glândula mamária (GM) entre o terço final da gestação e o parto de vacas e novilhas leiteiras, por meio de aplicações de hormônios exógenos (JEWEL, 2002; AKERS, 2002). As mudanças fisiológicas e hormonais que ocorrem no período entre o terço final da gestação e o parto são essenciais para o início e manutenção da síntese e produção de leite da próxima lactação (AKERS, 2006). Assim, com a utilização do PIL é possível induzir à lactação em vacas e novilhas que estavam secas (não lactantes) e não gestantes (DELOUIS et al., 1978; MUHAMMAD et al., 2016). Entretanto, como condição essencial para sucesso do PIL, as vacas e novilhas devem estar clinicamente saudáveis, possuir bom escore de condição corporal (ECC), apresentar mérito genético para produção de leite e não estar gestante, embora possam apresentar problemas reprodutivos (anestro, repetição de cio, etc - LAKHANI et al., 2017; JEWEL, 2002). O PIL pode ser útil também em novilhas tardias recém adquiridas no rebanho, as quais já alcançaram a idade para iniciar manejo reprodutivo, mas que ainda não tenham emprenhado.

Quando bem empregados, os PIL podem aumentar o tempo de vida produtiva de vacas e/ou novilhas improdutivoas (LAKHANI et al., 2017). Assim, é possível diminuir os custos com reposição de vacas improdutivoas por novilhas, o intervalo entre parto e lactações, a taxa de descarte, o intervalo entre lactações e as perdas reprodutivas; aumentando assim a eficiência econômica do rebanho leiteiro (MACRINA; TOZER; KESINGER, 2011; JEWELL, 2002).

A indução de lactação em vacas não lactantes e que apresentem problemas reprodutivos é mais rentável economicamente do que a compra de novilhas de reposição (MAGLIARO et al, 1999). Vacas com lactação induzida podem produzir de 60 a 70% da produção total de leite da última lactação (LAKHANI et al., 2017). Com isso a venda do leite de vacas e nulas com lactações induzidas aumenta a receita da fazenda leiteira (LAKHANI et al., 2017). Entretanto, com o uso de PIL há a preocupação com resíduos dos hormônios utilizados no leite produzido (LORMORE; GALLIGAM, 2001). Porém, mesmo com o uso de hormônios exógenos, ainda não há relatos de efeitos prejudiciais do leite de vacas e novilhas induzidas para a saúde humana (LAKHANI et al., 2017).

3.5 HISTÓRICO DOS PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO

Os relatos dos primeiros protocolos de indução de lactação ocorreram na década de 1920, em que foram administrados extratos de hipófise em coelhas virgens, obtendo sucesso na indução da lactação nesses animais (AKERS, 2006). Os primeiros PILs tiveram importância no estudo fisiológico da lactação e na fase de mamogênese (AKERS, 2006; COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975). Os primeiros PILs utilizados em vacas e novilhas consistiam em períodos longos de aplicação de estrógenos e progesterona associados durante 120 a 180 dias (TURNER; YAMAMOTO; RUPPERT, 1956). Pois acreditava-se que esse era o período necessário para estimular o crescimento completo do sistema lóbulo-alveolar, semelhante como ocorre em lactações não induzidas durante a gestação de vacas e novilhas (TURNER; YAMAMOTO; RUPPERT, 1956). Entretanto, os primeiros PILs de longa duração não obtiveram taxa de sucesso (resposta) e produção de leite compatível com o gasto financeiro com os hormônios. Esta taxa de sucesso é definida pela proporção de vacas ou novilhas que foram submetidas a um determinado PIL e apresentaram produção de leite satisfatória no início da lactação (JEWEL, 2002).

Com objetivo de diminuir o tempo de aplicação dos hormônios esteroides e tornar a indução de lactação uma ferramenta prática e de fácil execução para propriedades leiteiras com maiores índices produtivos, foi desenvolvido um PIL de 7 dias de duração com aplicações subcutâneas de 17 β -estradiol (20 mg/dia) e progesterona (50 mg/dia) diluídos em etanol em vacas e novilhas leiteiras (SMITH; SCHANBACHER, 1973). A lactação nesse PIL iniciou-se no 21º dia após início das aplicações dos hormônios esteroides, e do total de animais induzidos, 60% responderam ao protocolo. A média de produção de leite em uma lactação de 305 dias foi de 6773 kg (> 5 kg/leite/dia), o que

representou 76% da capacidade produção de leite de uma lactação não induzida nesses animais. Dessa forma, Smith e Schanbacher (1973) concluíram que não era necessário PIL de 120-180 dias para induzir vacas e novilhas à lactação. Com o mesmo protocolo desenvolvido por Smith e Schanbacher (1973), não foram observadas diferenças histológicas no desenvolvimento da GM ao comparar a histologia da GM de vacas com lactações convencionais (não induzidas) e a de vacas e nulíparas induzidas (NORENDRAN, 1974).

As taxa de insucesso do PIL descrito por Smith e Schanbacher (1973), de aproximadamente 40%, podem estar associadas com variações de respostas individuais ao PIL das vacas e novilhas (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; RAMGATTIE et al., 2014) e aos tipos e quantidade hormônios utilizados ao longo do PIL (DELOUIS et al., 1978). É possível que essas falhas possam ser devido à ausência de aplicações de determinados hormônios e/ou que as concentrações dos hormônios estrógeno e progesterona não foram capazes de mimetizar todas as alterações hormonais que ocorrem no terço final da gestação e parto (DELOUIS et al., 1978; RAMGATTIE et al., 2014).

Diante disso, os PILs evoluíram em relação à quantidade de dias de aplicações hormonais, doses dos hormônios, e adição de outras bases hormonais como glicocorticoides, prostaglandina (PGF₂ α) e BST. Com isso, os PILs obtiveram aumento da produção de leite e taxa de sucesso ao PIL em vacas e novilhas (JEWEL, 2002; COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; KENSINGER; BAUMAN; COLLIER, 1979; BYATT et al., 1997; MAGLIARO et al., 2004). Os hormônios glicocorticoides exógenos (e.g. dexametasona) foram um dos primeiros a serem acrescentados aos PILs. A sua utilização baseia-se em simular os aumentos de glicocorticoides próximo ao momento do parto (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; DELOUIS et al., 1978), já que os glicocorticoides apresentam importância na diferenciação de células epiteliais mamárias e capacidade de sintetização dos componentes do leite (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975).

Em um estudo onde adicionou-se dexametasona (20mg/vaca/dia) nos dias 18,19 e 20 ao protocolo de Smith e Schanbacher(1973), utilizando dez vacas e seis novilhas, observou taxa de sucesso ao PIL de 69% e até 100% da produção de leite das vacas quando comparado a suas últimas lactações (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975). A utilização de dexametasona no início da ordenha em outro estudo possibilitou o aumento de 1,8 kg de leite (controle: 6,0 kg; tratamento: 7,8 kg) nas duas primeiras semanas (MACRINA et al., 2014). Já o uso de acetato de hidrocortisona (25 mg) em outro estudo,

um análogo ao glicocorticoide, utilizado após o início da lactação no PIL Smith e Schanbacher (1973), por três dias consecutivos em vacas e novilhas leiteiras, aumentou a produção de leite (DELOUIS et al., 1978). Entretanto, mesmo com essa inclusão de análogos do glicocorticoides (dexametasona) ainda foram observadas variações individuais de produções de leite de até 30 kg/leite/dia em vacas e novilhas após o PIL, além disso alguns animais não responderam ao PIL (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975).

Outro fator que pode interferir no sucesso de PILs é a fase do ciclo estral em que as vacas e novilhas estão antes do início do protocolo (ERB et al., 1976; JEWEL, 2002). Vacas com maiores taxas de sucesso após o PIL foram aquelas que iniciaram o protocolo de 3 a 8 dias após o estro, seguido de ovulação e assim, com baixos níveis de estrógeno e progesterona plasmáticos antes do PIL (ERB et al., 1976). Para aumentar as chances de ovulação e sincronização do estro de vacas e novilhas alguns estudos utilizaram prostaglandina (PGF2 α) injetável antes do início do PIL (MACRINA et al., 2014; JEWEL, 2002). A pré-sincronização com 0,25 mg de PGF2 α propiciou maior produção de leite quando comparadas às novilhas não-sincronizadas (MOHAN et al., 2010; ERB et al., 1976). Adicionalmente, a PGF2 α também foi administrada durante os PIL com intuito de promover a luteólise do corpo lúteo (CL) e diminuir possíveis liberações de progesterona do CL, semelhante ao que ocorre nos dias antecedentes ao parto (MACRINA et al., 2014). O uso de PGF2 α onze dias antes de um PIL utilizando 21 vacas e 26 novilhas e com aplicações de 17 β -estradiol (0,1 mg /kg /dia), e progesterona (0,25 mg / kg /dia) por sete dias consecutivos e no dia 8 do protocolo aplicações de PGF2 α , seguido por injeções intramusculares de reserpina (alcaloide que promove o aumento do hormônio prolactina- 5 mg / dia) e dexametasona (20 mg / d) originou taxas de sucesso de aproximadamente 71% para vacas e 85% para novilhas (RAMGATTIE et al., 2014).

Em um outro estudo com 34 vacas (26 da raça Holandesa e 8 da raça Jersey), o 17 β -estradiol (1mg / kg /dia) e a progesterona (0,25mg / kg/ dia) foram administrados por sete dias consecutivos e a PGF2 α (25mg) foi aplicada onze dias antes) e no dia 13 do PIL, e nos dias 14 a 17 foram administrados reserpina (5mg/d), dexametasona (20 mg/d) e BST (500 mg/dose), este último aplicado quinzenalmente até 150 dias de lactação. Neste protocolo, foi observada taxa de sucesso de 90% na lactação, além disso as vacas produziram 65% da produção de leite, quando comparado a vacas com lactações não induzidas (JEWEL, 2002).

O uso do BST associado ao PIL também foi avaliado visando o aumento da eficácia dos PILs (MACRINA et al., 2011a), já que o BST estimula a produção de leite de vacas (MAGLIARO et al., 2004) e novilhas com lactações induzidas (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; MACRINA; KAUF; KENSINGER, 2011). Entretanto, o uso do BST pode apresentar diferentes respostas de acordo com o momento em que é aplicado (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; MACRINA; KAUF; KENSINGER, 2011). A aplicação de BST aos 25 dias antes do início do PIL resultou em taxa de sucesso de 97%, ao passo que a duração das lactações das novilhas teve uma média de 301 dias e a produção total média de leite ao longo da lactação foi de 5.329 kg. Além disso, foi observado que as novilhas tratadas com BST aumentaram em 14,7% da produção de leite quando comparado a novilhas não tratadas com BST (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

Ainda existem lacunas de conhecimento sobre os PIL, principalmente em relação às variações intrínsecas entre vacas e novilhas e produção de leite, quando se compara com lactações convencionais. Isso indica que os tratamentos hormonais utilizados nas induções de lactação ainda não mimetizam de forma completa todas as mudanças fisiológicas da GM entre o terço final da gestação e o parto (MACRINA; KAUF; KENSINGER, 2011).

3.5.1 Protocolos de indução de lactação em novilhas

Novilhas não gestantes e não lactantes acima de 20 meses são consideradas tardias, improdutivas e geradoras de custos com alimentação e instalações nas propriedades leiteiras (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011). Assim, o uso de PIL pode ser uma alternativa de diminuição do tempo não produtivo destes animais, sendo possível obter produção de leite a partir de PIL antes do primeiro parto (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; BALL et al., 2000). Entretanto, o PIL deve ser bem executado principalmente em novilhas, já que o desenvolvimento da GM continua durante a primeira lactação (MACRINA et al., 2014).

Vários estudos sobre indução de lactação de novilhas avaliaram o sucesso dos protocolos em diferentes situações (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; MACRINA; KAUF; KENSINGER, 2011; BALL et al., 2000; MACRINA et al., 2014). Para testar a viabilidade em induzir a lactação precoce, seis novilhas sexualmente imaturas (6 meses de idade e 162 kg/Peso vivo) foram submetidas a um PIL com

aplicação de estrógeno (0,1 mg /kg) e progesterona (0,25 mg / kg) por sete dias consecutivos e dexametasona, (20 mg /dia) nos dias 18 a 20 do PIL. Entretanto ao final do estudo, as novilhas sexualmente imaturas tiveram baixa produção de leite (400 a 800 mL/leite/dia- BALL et al., 2000). Além disso quando observado o desenvolvimento futuro, vacas aos 60 meses de idade que foram submetidas a PIL aos 15 meses produziram 48% menos leite, quando comparado a vacas que não passaram por um PIL quando novilhas (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

A produção de leite durante a lactação e a taxa de sucesso do PIL entre novilhas e vacas podem variar de acordo com diferentes PILs. Tais variações podem ser devido às diferenças nas concentrações e hormônios utilizados nos diferentes PIL, e a genética das novilhas e vacas. Ao comparar a produção de lactações induzidas com lactações normais de vacas, pode-se obter variação de 63 a 106% na produção de leite de vacas e novilhas com lactações induzidas (MAGLIARO et al., 2004).

Quando avaliado o efeito do PIL em relação a idade, as novilhas com mais de 18 meses produziram em torno de 8,6% a mais de leite quando comparadas com as novilhas com 14 meses (18,9 kg/leite/dia vs 17,4 kg/leite/dia até os 305 dias de lactação). A maior produção de leite das novilhas mais velhas se deve principalmente à maior quantidade de tecido epitelial da GM, ao peso corporal e à maior capacidade de maior ingestão de matéria seca para suportar a lactação (MACRINA et al., 2014). Desse modo, não é recomendado a indução de lactação em novilhas precoces (<15 meses), pois além de não ser viável economicamente (BALL et al., 2000), pode prejudicar o desempenho produtivo futuro (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

Em um estudo com 24 novilhas da raça Holandesa e 5 novilhas Jersey com 22 a 32 meses de idade e 350 kg foi utilizado PIL com aplicações de dexametasona e diferentes doses de estradiol e progesterona, ao final foi observada uma taxa de sucesso ao PIL de 100 %, ao passo que as lactações induzidas produziram 65% da produção de leite quando comparado a primíparas com lactações não induzidas (FULKERSON, 1978). Em outro estudo com PIL utilizando estrógeno e progesterona em 20 novilhas da raça Holandesa (26,5 meses de idade e 472 kg) e Jersey (31,4 meses e 425 kg) a taxa de sucesso foi de 60% (SMITH; SCHANBACHER, 1974). Uma taxa de sucesso de 69% e produção de leite acima de 9kg foi alcançada em PIL a base de estrógeno, progesterona e dexametasona em vacas e novilhas (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975). Já em outro estudo foi descrita taxa de sucesso de 85% e produção de leite de 11,7 kg/leite/dia de leite

em PIL com base hormonal de 17β -estradiol, progesterona, $\text{PGF}_{2\alpha}$, reserpina e dexametasona em novilhas acima de 18 meses de idade (RAMGATTIE et al., 2014).

3.5.2 Efeitos dos protocolos de indução de lactação na composição do leite de vacas e novilhas

A composição do leite em lactações não induzidas pode ser afetada pela dieta, manejo, raça, saúde e ambiente (LAKHANI et al., 2017). O leite de lactações induzidas, de modo geral, apresenta composições similares ao de lactações normais (BALL et al., 2000; NARENDRAN et al., 1974; FREITAS, 2009; LAKHANI et al., 2017), porém podem ocorrer variações. Alguns estudos com vacas e novilhas descreveram maiores concentrações de gordura e de proteína em lactações induzidas quando comparados a lactações não induzidas (JEWEL, 2002; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

Novilhas aos de 15 meses submetidas a lactações induzidas, a composição média do leite foi de 3,68% de gordura e 3,35% proteína, durante a primeira lactação (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011), o que foi semelhante ao observado em novilhas com 27 meses de idade, também com lactações induzidas (FULKERSON, 1978). A maior produção total de gordura do leite pode ser devido à menor produção de leite por vacas e novilhas com lactações induzidas (JEWEL, 2002). De acordo com esses estudos, o leite de vaca e novilhas com lactações induzidas podem apresentar um valor econômico maior por unidade de leite produzido, devido ao maior teor de sólidos (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

3.5.3 Efeitos dos protocolos de indução de lactação sobre a reprodução

A indução de lactação pode ser considerada uma alternativa para vacas e novilhas que apresentam falhas reprodutivas (anestro, repetição de cio, etc) e que não estão lactantes, podendo restabelecer o ciclo reprodutivos de vacas e novilhas (BALL et al., 2000; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; LAKHANI et al., 2017). Com a utilização de PIL, 41,1% das vacas que apresentam problemas reprodutivos podem ficar gestantes (FREITAS, 2009), muitas vezes sem necessidade de um manejo reprodutivo adicional para que estas voltem a ciclar (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975).

Vários estudos avaliaram a eficácia reprodutiva de vacas e novilhas após PIL (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; BALL et al., 2000; HARNESS et al., 1978;

DELOUIS et al., 1978). Lactações induzidas em vacas quando comparadas as lactações convencionais tiveram 1,25 vs 1,32 serviços por concepção, respectivamente. Além do menor número de serviços, 60% das vacas induzidas foram inseminadas, resultando em taxa de prenhez de 70% e posteriormente parindo com sucesso (JEWEL, 2002). Novilhas com 15 meses de idade e com lactação induzida tiveram desempenho reprodutivo semelhante ao de novilhas submetidas à reprodução e que não foram submetidas ao PIL (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011). Também em outro estudo, a indução de lactação em novilhas imaturas não afetou a performance reprodutiva futura (BALL et al., 2000).

Vacas com lactações induzidas podem ser inseminadas no primeiro estro diferentemente do observado em vacas não induzidas, as quais normalmente são inseminadas no segundo ou terceiro estro após o início da lactação (JEWEL, 2002). Entretanto, há relatos de ocorrência de desordens reprodutivas em vacas e novilhas com lactações induzidas. Após o PIL, algumas vacas e novilhas podem apresentar intenso comportamento de estro (SMITH; SCHANBACHER, 1973) e ocorrência de cistos foliculares (ERB et al., 1973; FREITAS, 2009). Sendo assim, é recomendável que após o PIL seja avaliada o desempenho reprodutivo de vacas e novilhas (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011).

3.6 CISTOS FOLICULARES APÓS O PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO

Os cistos foliculares (CFs) são alterações no desenvolvimento dos folículos ovarianos e podem ser únicos ou múltiplos no mesmo ovário. São definidos como estruturas anovulatórias foliculares no ovário que ultrapassam o tamanho de um folículo ovulatório (≥ 25 mm de diâmetro) e que persistem por pelo menos 10 dias, na ausência de um CL (GARVERICK, 1997; GUMEN et al., 2002; LÓPEZ-HELGUERA et al., 2016; SILVA et al., 2002). O diagnóstico dos CFs ocorre durante os exames dos ovários via palpação retal e/ou ultrassonografia (GARVERICK, 1997). Os cistos nos ovários podem ser classificados em foliculares ou luteais (GARVERICK, 1997). Dentre estes os cistos foliculares são de ocorrência mais comum, apresentam paredes finas e produzem baixos níveis de progesterona, enquanto que os lúteos possuem paredes espessas e secretam uma maior quantidade de progesterona (GARVERICK, 1997; SILVA et al., 2002).

A patogênese dos CFs não está bem elucidada, entretanto, sua etiologia pode ser multifatorial e vinculada a fatores de origem ambiental, clínica e/ou genética

(ANHOLDER; PSOMER; RUIF, 2006; PROBO et al., 2011a). A hipótese mais aceita da patogênese dos CFs é relacionada ao desequilíbrio endócrino no eixo hipotalâmico-hipofisário (GARVERICK, 1997). Tal fato seria explicado devido a insensibilidade do hipotálamo ao estímulo do estradiol, o que resulta na falha na liberação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). Por razões desconhecidas, o hipotálamo não consegue sintetizar, liberar ou armazenar o GnRH (COOK et al., 1990; IJAZ; FAHNING; ZEMJANIS, 1987) e, assim, não ocorre o pico pré ovulatório do hormônio luteinizante (LH), responsável por promover a ovulação (IJAZ; FAHNING; ZEMJANIS, 1987). Uma das possíveis explicações para insensibilidade hipotalâmica ao estradiol seria a concentração supra-basal sérica de progesterona, capaz de bloquear o aumento do LH e inibir a ovulação folicular (IJAZ; FAHNING; ZEMJANIS, 1987; ANHOLDER; PSOMER; RUIF, 2006) e/ou também devido as alterações nos níveis séricos de estradiol (ANHOLDER; PSOMER; RUIF, 2006).

Vários autores observaram a presença de cistos foliculares após os PILs tanto em vacas quanto em novilhas (FREITAS, 2009; COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; DELOUIS et al., 1978; JORDAN et al., 1981; HARNESS et al., 1978), possivelmente vinculada às altas dosagens hormonais (principalmente de estrógeno e progesterona) utilizadas durante os protocolos (ERB et al., 1973; COOK et al., 1990). Desse modo, para comprovar um estudo descreveu a indução da formação de CFs com aplicações parenterais estradiol e progesterona semelhantes aos hormônios utilizados durante os PILs (COOK et al., 1990).

Durante o período no qual os CFs persistem nos ovários, as vacas e as novilhas permanecem inférteis, o que aumenta o intervalo entre partos e os custos nas fazendas leiteiras (GARVERICK, 1997; GUMEN et al., 2002; ANHOLDER; PSOMER; RUIF, 2006). Aproximadamente 20% dos CFs regredem espontaneamente e após essa regressão as vacas e novilhas apresentam ciclos estrais normais. Entretanto, mesmo com a possibilidade da cura espontânea, há CFs que não luteinizam em determinadas vacas e novilhas (GARVERICK, 1997), nestes casos, os tratamentos precoces de CFs são recomendados nos animais.

O GnRH e seus análogos sintéticos têm sido um dos tratamentos mais eficazes e recomendados para CFs (GARVERICK, 1997). O uso dos análogos de GnRH é justificável para o tratamento de CFs, pois embora a função do hipotálamo esteja alterada durante a permanência dos CFs, a hipófise consegue liberar LH em resposta ao GnRH

exógeno, o que promove a luteinização dos CFs e a sua consequente regressão (HAMILTON et al., 1995; GARVERICK, 1997).

O tratamento com GnRH apresenta sucesso 65 a 80%, sendo que 62 a 97% das vacas restabelecem o ciclo ovariano e aumentam a atividade do LH entre 28 a 30 dias e após o manejo reprodutivo, podendo apresentar taxa de concepção no primeiro estro de 37 a 57% (IJAZ; FAHNING; ZEMJANIS, 1987). Em alguns rebanhos comerciais o GnRH também tem sido utilizado aos 14 dias pós-parto para diminuir a incidência de cistos em vacas com lactações convencionais (IJAZ; FAHNING; ZEMJANIS, 1987). Em um estudo após o tratamento com GnRH associado com PGF2 α em vacas leiteiras que apresentaram CFs após um PIL, 41,4% das vacas tornaram-se gestantes (FREITAS, 2009). Entretanto, poucos estudos avaliaram a ocorrência de CFs e o desempenho reprodutivo de novilhas submetidas ao PIL e após tratamento com GnRH para CFs.

3.7 MASTITE

Mastite é a doença de maior prevalência e maiores prejuízos na pecuária leiteira (NAQVI et al., 2018; DE VLIEGHER et al., 2012). A mastite é a inflamação da GM, sendo a causa mais comum as infecções (BRADLEY, 2002). Dentre a etiologia infecciosa, as bactérias são as mais prevalentes, entretanto fungos e leveduras que também podem ocasionar a infecção (BRADLEY, 2002; HARMON, 1994).

A mastite reduz a qualidade, altera a composição do leite e aumenta o risco de resíduos de antimicrobianos no leite, o uso abusivo de antimicrobianos podem também aumentar o risco de surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos. Além disso, a mastite é onerosa e diminui a eficiência econômica no setor lácteo, sendo que o custo com o uso de antibióticos e anti-inflamatórios utilizados no tratamento eleva os prejuízos da doença (DE VLIEGHER et al., 2012; HARMON, 1994). Há vários fatores de riscos vinculados a mastite, entre eles: estado de saúde e do sistema imune da vaca/novilha, integridade física da extremidade do teto da GM, número de lactações da vaca, fase da lactação em que se inicia a infecção, condição de higiene do ambiente e patógeno causador (LEBLANC et al., 2006; GREEN et al., 2002).

Após a invasão de patógenos no úbere, através do canal do teto, o patógeno se instala e se multiplica, iniciando a infecção intramamária (IIM - DE VLIEGHER et al., 2012). A entrada de bactérias na GM é favorecida pelo contato da GM com ambiente

contaminado, flutuações de vácuo no momento da ordenha e também durante aplicações de medicamentos via cânula no interior da GM (SANTOS; FONSECA, 2007). Após a invasão do patógeno no úbere, células de defesa (neutrófilos, macrófagos, linfócitos e polimorfonucleares) migram para a GM por serem atraídas por as moléculas sinalizadoras produzidas no local da IIM (HARMON, 1994).

O conjunto de células de defesa, células epiteliais e células de descamação da GM é denominado de células somáticas (HARMON, 1994). Quartos mamários não infectados apresentam contagem de células somáticas (CCS) <200.000 células/mL podendo ser inferior a 100.000 células/mL em novilhas. A intensidade de aumento da CCS após a IIM pode variar de acordo com o tipo de patógeno causador (HARMON, 1994). ACCS e os resultados da cultura microbiológica de amostras de leite refletem o estado de saúde da GM (DE VLIEGHER et al., 2012; HARMON 1994), entretanto o método padrão ouro para diagnóstico de IIM é a cultura microbiológica do leite (SANTOS; FONSECA, 2007). De acordo com a forma de manifestação da infecção a mastite pode ser classificada como em subclínica ou clínica (DE VLIEGHER et al., 2012).

3.7.1 Mastite subclínica

Na mastite subclínica (MSC) não ocorrem alterações visuais na aparência do leite ou na GM, entretanto há alterações na qualidade e composição do leite, diminuição da produção de leite e presença de bactérias no interior da GM (HARMON, 1994; STROSE et al., 2003; JAEGER et al., 2017; BRADLEY, 2002). Muitos casos de MSC ocorrem durante as lactações, sendo a prevalência de MSC maior que a da mastite clínica (SANTOS; FONSECA, 2007). Os principais patógenos causadores de MSC são *S. aureuse* e *S. agalactiae* (BRADLEY, 2002).

Os métodos de diagnóstico mais comuns para detectar a MSC são o California Mastitis Test (CMT), a CCS e a cultura microbiológica (JAEGER et al., 2017). No entanto, a CCS é o método de monitoramento mais utilizado, sendo também útil para laticínios como ferramenta de monitoramento da qualidade do leite captado (STROSE et al., 2003). A intensidade de aumento da CCS é dependente do tipo de patógeno que invade a GM (HARMON, 1994).

Os prejuízos vinculados à MSC no início da lactação, vão desde perdas na qualidade do leite e diminuição da produção de leite ao aumento do risco de transmissão

novas infecções intramamárias (NIIM) entre vacas e/ou novilhas, seja durante a ordenha ou no ambiente (COMPTON et al., 2007a; ST.ROSE, et al., 2003).

3.7.2 Mastite clínica

Na mastite clínica(MC) ocorrem sinais clínicos após a invasão de patógenos na GM e também aumento na CCS (DE VLIEGHER et al., 2012; REYHER et al., 2012). De acordo com as alterações no leite e na GM, como também presença ou ausência de sinais sistêmicos, a MC pode ser classificada em escores de gravidade (leve, moderada ou grave–WENZ; GARRY; BARRINGTON, 2006). O grau leve consiste apenas em alterações visíveis no leite (presença de grumos, sangue, pus, mudança na coloração).No grau moderado, além das alterações no leite há mudanças na GM (dor, edema, fibrose). Por fim, na MC grave além dos sinais citados anteriormente, há presença de sinais sistêmicos (aumento temperatura corporal, desidratação, diminuição da frequência ruminal e da ingestão de matéria seca -WENZ; GARRY; BARRINGTON, 2006; RADOSTITS, 2000; HARMON, 1994).

Os principais patógenos causadores de MC são: *S.uberis*, *S. dysgalactiae* e coliformes (REYHER et al., 2012). Os prejuízos relacionados com a MC são devidos aos custos com o diagnóstico (cultura microbiológica), tratamento (antibióticos, anti-inflamatórios e/ou fluidoterapia), perda da produção de leite dos quartos afetados, descarte do leite e, nos casos mais graves, óbito da vaca ou novilhas acometidas (MCDUGALL et al., 2007; BRADLEY, 2002).

3.7.3 Classificação dos patógenos causadores de mastite

Os patógenos causadores de mastite podem ser classificados de acordo com o modo de transmissão em contagiosos ou ambientais (HARMON, 1994; BRADLEY,2002) e de acordo com o grau de virulência em patógenos maiores ou menores (BRADLEY, 2002).

Os principais patógenos de origem contagiosa são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, sendo esses geralmente adaptados à GM (HARMON, 1994; BRADLEY,2002). A transmissão das bactérias causadoras de mastite contagiosa ocorre entre vacas, principalmente no momento da ordenha. As infecções por esses patógenos

tendem a ser crônicas (persistentes) e subclínicas e com alta CCS, mas pode ocorrer episódios clínicos periodicamente (HARMON, 1994).

A transmissão de patógenos causadores de mastite ambiental ocorre a partir do ambiente em que a vaca e novilha vive (cama, esterco, solo - HARMON,1994). Os patógenos ambientais não dependem da GM para sobreviver, portanto as infecções possuem caráter oportunista (HARMON,1994; LEBLANC et al., 2006).A maioria das respostas clínicas ocasionadas por esses microrganismos são de agudas graves (BRADLEY,2002). Os principais patógenos de origem ambiental são os estreptococos (*Strep. dysgalactiae*, *Strep. uberis*, *Strep.bovis*), enterococos ambientais e coliformes (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* e *Citrobacter spp.*).

Geralmente, as IIMs de origem ambiental ocorrem por invasão do canal do teto, após a ordenha ou após lesões locais, de modo que o patógeno entra na GM, multiplica-se e gera resposta inflamatória (BRADLEY,2002). Os casos de MC causada por patógeno de origem ambiental que ocorrem nos primeiros dias da lactação são geralmente oriundos de infecções adquiridas durante período seco (BRADLEY,2002).

As classificações de patógenos causadores de mastite de acordo com seu modo de transmissão em contagiosos ou de ambientais é apenas didática (BRADLEY, 2002). Tal fato se deve pela existência de cepas de determinadas bactérias possuírem caráter tanto contagioso quanto ambiental (*Strep.uberis*, *S.aureus*, *Strep.agalactiae*). Essa descoberta foi possível graças a ferramentas moleculares (ZADOKS; SUCKKEN, 2006). Bactérias antes classificadas como ambientais (*E. coli*) podem adaptar-se à GM e causar infecção persistente (crônicas) semelhante àsquelas de origem contagiosa (BRADLEY, 2002).

Com isso, a classificação mais apropriada entre patógenos causadores de mastite é por meio da classificação de patógenos maiores (primários) e menores(secundários), com base na patogenia e virulência dos patógenos. Infecções intramamárias ocasionadas por patógenos maiores geralmente leva a aumentos significativos de CCS, alterações na composição do leite e maiores impactos financeiros (HARMON, 1994). Na maioria das vezes causam episódios de mastite clínica (HARMON, 1994) e seus principais representantes são *E.coli*, *S.aureus*, *Strep.dysgalactiae* e *Strep.uberis* (HARMON,1994; REYHER et al., 2012).

Nas IIM ocasionadas por patógenos menores as inflamações são moderadas com menor intensidade na resposta celular. Normalmente, são ocasionadas por *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN) e *Corynebacterium spp* (REYHER et al., 2012; HARMON, 1994; BRADLEY,2002).

3.7.4 Mastite em novilhas

Uma criação de novilhas leiteiras saudáveis é de suma importância para que ocorra o retorno financeiro do capital investido nesses animais ao longo das suas fases de cria e recria (DE VLIEGHER et al., 2012). Caso a cria de novilhas não seja bem realizada e mal planejada pode ocorrer o surgimento de IIM, prejudicando assim a produtividade futura da novilha (DE VLIEGHER et al., 2012). Devido a este fator a mastite em novilhas pode ser ainda mais prejudicial quando comparada à mastite em vacas (HERTL et al., 2017).

Fatores como ambiente, manejo e idade ao primeiro parto estão associados ao risco de IIMs em novilhas. O ambiente onde permanecem devem ser limpos e secos principalmente dias antes do parto (DE VLIEGHER et al., 2004). Novilhas mais velhas são mais propensas a apresentarem mastite no início da primeira lactação, devido ao maior tempo de exposição a patógenos (DE VLIEGHER et al., 2004).

Geralmente, a invasão do patógeno na GM de novilhas ocorre antes da lactação, mas os sinais da doença são detectados apenas no início da lactação (DE VLIEGHER et al., 2012). Os patógenos mais prevalentes em IIM em novilhas são SCN, *S.aureus*, *Strep.uberis* e *E.coli* (OLIVER et al., 2003; PARKER et al., 2007; NICKERSON et al., 1995; DE VLIEGHER et al., 2012; NAQVI et al., 2018).

Vários estudos avaliaram a prevalência de IIM em novilhas antes e no início da lactação (DE VLIEGHER et al., 2005b; NAQVI et al., 2018; NICKERSON et al., 1995; COMPTON et al., 2007b). A prevalência de IIM em novilhas pode variar de 29-75% nas secreções dos quartos mamários antes do parto e de 12-57% nas coletas de leite no pós-parto (DE VLIEGHER et al., 2012; COMPTON et al., 2007b; FOX et al., 2009; FOX et al., 1995). Em um estudo foram coletadas amostras da pele do teto (n=388), do canal do teto (n=388) e da secreção mamária (n=216) de novilhas da raça Jersey (10 a 12 meses de idade). Como resultado foram isoladas bactérias de 54,1% da pele do teto, 70,1% do canal do teto e 86,1% das secreções da glândula mamária. Os pesquisadores observaram correlação entre os isolados do canal do teto e a ocorrência IIM, pois as principais espécies que colonizaram o teto também foram as responsáveis por causar IIM (SCN e *S.aureus* - NICKERSON et al., 1995).

Mastite em novilhas pode prejudicar a produção de leite da primeira lactação ou até mesmo interferir na produção de leite futura. Glândulas mamárias infectadas por SCN e principalmente por *S. aureus* apresentam maior infiltração de leucócitos, diminuição das áreas luminais e maior quantidade de estroma interalveolar em relação a quantidade

de alvéolos (DE VLIEGHER et al., 2005b; NICKERSON et al., 1995; DE VLIEGHER et al., 2012). Dependendo da gravidade dos casos de mastite antes do parto, podem aparecer quartos mamários afuncionais antes da primeira lactação (DE VLIEGHER et al., 2012).

Primíparas que possuem CCS >500.000 células/mL no início da lactação possuem perda de pelo menos 119 kg de leite ao longo da primeira lactação, quando comparadas a novilhas com CCS <50.000 células/mL (DE VLIEGHER, et al., 2005b). Além disso, primíparas que apresentam um caso de MC nos primeiros 100 dias de lactação tem 1,5 vezes mais chance de ter mais casos de MC ao longo da vida, e maior risco de abate (34%) (HERTL et al, 2017). Outros estudos também verificaram que mastite em novilhas, principalmente ocasionada por patógenos maiores, aumenta o risco de descarte de novilhas no rebanho (COMPTON et al., 2007b).

Primíparas quando comparadas a vacas multíparas apresentam maior prevalência de IIM nas duas primeiras semanas da lactação (COMPTON et al., 2007b). Em uma meta-análise foi avaliada a prevalência de patógenos e o risco de ocorrência de IIM em vacas e primíparas na primeira lactação em 91 rebanhos leiteiros. Como resultado, houve um maior risco de ocorrer IIM em primíparas do que em vacas na primeira lactação (99 casos × 48 em 10.000 quartos em risco). Além disso 4% das primíparas tiveram MC nos primeiros 30 dias de lactação, sendo maior a incidência de casos de MC em primíparas do que em vacas. A prevalência geral de IIM foi de 34% em primíparas e o de vacas foi de 26% (NAQVI et al., 2018)

Na maioria as vezes, a mastite em novilha é negligenciada por produtores, pois estes acreditam que novilhas não possuem IIM antes da lactação, devido ao fato destas nunca terem sido ordenhadas, e por acreditar que os patógenos causadores de mastite são transmitidos apenas no momento da ordenha. Assim, não é rotina a realização do exame da GM de novilhas antes da primeira lactação, nem o uso de práticas para prevenção de IIM em novilhas (DE VLIEGHER et al., 2012; SAMPIMON et al., 2009; NAQVI et al., 2018; NICKERSON et al., 1995).

Rebanhos que possuem conhecimento da existência e da importância da prevenção de IIM em novilhas atingem maiores produções de leite e saúde do úbere de novilhas no início da lactação (DE VLIEGHER et al., 2004 b). Rebanhos com alta CCS refletem maior risco de apresentar novilhas com alta CCS no início da lactação (DE VLIEGHER et al., 2004 b). Em rebanhos com alta prevalência de IIM é recomendável a implantação de práticas de manejo para o controle de IIMs em novilhas que irão entrar

em lactação, principalmente devido aos benefícios que o tratamento com antibiótico associado ou não com selantes de tetos em novilhas fornece em reduzir IIM (DE VLIEGHER et al., 2012 DE VLIEGHER, et al., 2005b).

No momento da implantação de práticas de controle contra IIM deve-se levar em conta: o rebanho, estação do ano e dias de gestação das novilhas (DE VLIEGHER et al., 2012). Os manejos utilizados para prevenção e controle IIM em novilhas baseiam-se na terapia de vaca seca semelhante ao que é realizado no momento da secagem em vacas, nas quais são utilizados antibióticos e/ou selantes de tetos.

3.8 ANTIBIÓTICO INJETÁVEL ANTES DA PRIMEIRA LACTAÇÃO EM NOVILHAS

O uso de antibiótico antes da primeira lactação em novilhas tem como objetivo curar os casos de mastite durante o terço final da gestação e reduzir a prevalência de IIM no início da lactação (SAMPIMON et al., 2009; OLIVER et al., 2003). Os tratamentos com antibióticos mais usados antes da primeira lactação em novilhas consistem na aplicação de antibióticos de longa ação, formulados para vacas secas, 60 dias antes do parto ou o uso de antibióticos para vacas em lactação, aplicados geralmente de 7 a 14 dias antes do parto (SANTOS; FONSECA, 2007). O ideal é que o antibiótico atinja concentrações suficientes para a concentração inibitória mínima na GM (DE VLIEGHER et al., 2012).

Tratamentos com antibióticos antes do parto em novilhas podem alcançar taxas de cura de 90 a 100%. Novilhas tratadas podem apresentar uma maior produção de leite e menores CCS na próxima lactação (SANTOS; FONSECA, 2007). As altas taxas de cura em novilhas podem ser explicadas pelo fato do sistema imune das novilhas ser mais ativo e pela GM das novilhas ter menor dimensão quando comparadas às GM de vacas, facilitando a ação dos antibióticos por toda extensão da GM de novilhas (NICKERSON et al., 1995).

Alguns estudos relataram os benefícios do uso de antibióticos intramamário sem novilhas antes da primeira lactação em novilhas (SAMPIMON et al., 2009; NICKERSON et al., 1995). O tratamento com antibióticos intramamários (600 mg de cloxacilina) entre 8 a 10 dias antes do parto em novilhas, diminuiu prevalência de patógenos menores no início da lactação, o risco de MC em 9%, a CCS e aumentou a produção de leite (SAMPIMON et al., 2009). Quando analisadas as secreções mamárias de novilhas antes

do parto, observou-se que 73,2% dos quartos mamários apresentavam IIM. Após o tratamento com antibióticos intramamários à base de penicilina e diidroestreptomicina a taxa de cura foi de 90,9% e o risco de novas IIM por *Streptococcus* ambientais reduziu em 93% (NICKERSON et al., 1995).

Uma meta-análise recente abordou a eficácia do tratamento com antibiótico antes da primeira lactação em novilhas e verificou que não é possível comparar a eficácia do tratamento em novilhas com antibióticos intramamários com antibióticos injetáveis, pois há poucos estudos na literatura com antibióticos injetáveis (n=6) quando comparado a antibióticos intramamários (n=31, NAQVI et al., 2018).

Contudo, existem desvantagens do uso antibióticos intramamários quando comparados aos injetáveis durante o tratamento antes da lactação. No momento da inserção da cânula dos antibióticos intramamários, caso não seja efetuada a higiene correta do teto, há risco de inserir patógenos diretamente no interior da GM através do canal do teto (MACHADO; BICALHO, 2018; OLIVER et al., 1992). Além disso, o manejo durante a aplicação de antibióticos intramamários é mais demorada pois é necessária aplicação do antibiótico nos quatro quartos mamários. Desse modo, antibióticos injetáveis são mais práticos (manipulação única), rápidos e seguros tanto para as novilhas quanto para a pessoa que irá manusear, além de demandarem um menor tempo no manejo (DE VLIEGHER et al., 2012; MCDOUGALL et al., 2007). Há alguns estudos que relataram a eficácia do antibiótico injetável na prevenção de mastite no início da lactação em novilhas (PASSCHYN et al., 2013; ATAEE et al., 2009; OLIVER et al., 2003).

Um estudo avaliou o tratamento com antibióticos injetáveis a base de cefapirina sódica para formulação de vacas em lactação em novilhas. Para isso as novilhas foram distribuídas em dois grupos experimentais, o primeiro consistia na aplicação de 200 mg de cefapirina sódica injetável 14 dias antes do parto e segundo grupo era o controle. Como resultado, as novilhas tratadas com cefapirina sódica obtiveram menor prevalência de IIM no início da lactação, maior produção de leite e menor CCS (OLIVER et al., 2003). As novilhas tratadas com 200 mg de cefapirina sódica quando comparadas com as controle no estudo de Oliver et al (2003), geraram uma renda líquida de US\$ 200,64 por novilhas.

Em outro estudo foi avaliado o tratamento antes da lactação em novilhas com os antibióticos injetáveis a base de tilosina (10 mg/kg por 3 dias consecutivos, n=61) e cefquinoma (1mg/kg por dois dias consecutivos, n=62). Os antibióticos foram aplicados

de 10 a 14 dias antes do parto em novilhas que apresentavam quartos mamário infectados com SCN. Os quartos mamários de novilhas tratados com tilosina apresentaram maior taxa de cura microbiológica (85,3%) quando comparado com o grupo controle (sem tratamento, 53,5%) e cefquinoma (69,4%) no início da lactação. O tratamento com tilosina também foi mais eficiente em diminuir a prevalência de IIM no pós parto e CCS (ATAEE et al., 2009).

Outro estudo avaliou tratamento antes da lactação em novilhas, na qual foi utilizado antibiótico injetável (Hidriodeto de penetamato) com formulação para tratamento de vacas em lactação 14 dias antes do parto por três dias consecutivos em 76 novilhas (dia 1=10g/novilha, dia 2=5g/novilha e no dia 3=1g/novilha). Como resultado, as novilhas tratadas tiveram uma menor prevalência de IIM no início da lactação quando comparadas com as não tratadas, entretanto a terapia não propiciou o aumento da produção de leite e diminuição da CCS (PASSCHYN et al., 2013).

Algumas pesquisas avaliaram este tratamento com antibióticos injetáveis no momento do parto ou antes da primeira ordenha em novilhas. O tratamento em novilhas com antibiótico injetável (15 milhões de UI penicilina procaína) doze horas após o parto (primeira ordenha após o parto) diminuiu em metade as chances de MC nos primeiros sete dias de lactação e o risco de adquirir mastite até o 100º dia de lactação (BRYAN; TAYLOR, 2009). A tratamento com antibiótico injetável (10 milhões de UI de Penetamato) realizado em novilhas durante o momento do parto também foi avaliado em rebanhos que apresentavam alta prevalência de *S. aureus*. Após o tratamento, houve diminuição prevalência de IIM nas novilhas tratadas e aumento na produção de leite nas primeiras 15 semanas da lactação (KREIGER et al., 2007).

De acordo com os estudos prévios, há variações na eficácia do tratamento com antibióticos antes da primeira lactação em novilhas, provavelmente devido ao tipo de patógeno causador da IIM antes da primeira lactação, ambiente em que as novilhas vivem, uso ou não de selante de tetos, base farmacológica dos antibióticos e forma apresentada do antibiótico (intramuscular ou injetável - NAQVI et al., 2018). Em relação aos antibióticos, os mesmos podem ser associados, dentre outras ferramentas, com o selante de tetos também utilizado durante a terapia de vaca seca em vacas leiteiras.

3.9 SELANTE DE TETOS EM NOVILHAS

O selante de tetos tem como função mimetizar o tampão de queratina que é naturalmente formado na extremidade do canal do teto da GM de vacas e novilhas quando não estão lactantes. O tampão de queratina age como uma barreira de proteção física para a entrada de patógenos na GM durante o período seco. A maioria dos selantes de tetos são compostos por 65% de subnitrato de bismuto, um sal inerte em uma base de parafina (GOLDER; HODGE; LEAN, 2016; BERRY; HILLERTON, 2007).

Os selantes não apresentam ação antimicrobiana e tem como função diminuir a prevalência de novas infecções intramamárias (NIIM) em vacas e novilhas (PARKER et al., 2008; BRADLEY, 2002). A sua indicação se dá pelo fato de que nem todas as vacas e novilhas formam o tampão de queratina dias antes do parto (KRÖMKER; FRIEDRICH, 2009). E assim, os selantes apresentam como vantagem a permanência por um período mais longo na GM, quando comparado com antibióticos intramamários (GRUET et al., 2001; BRADLEY, 2002).

Além disso próximo ao parto, as vacas e novilhas podem acumular leite na GM, e com isso ocorre o aumento da pressão intramamária. Esse aumento de pressão pode estimular a ruptura do tampão de queratina e a abertura do canal do teto, provocando vazamento do leite, sendo um fator de risco para patógenos conseguir adentrar na GM e aumentar a prevalência de IIM em vacas e novilhas no início da lactação (DE VLIEGHER, et al., 2012; GOLDER; HODGE; LEAN, 2016; SORDILLO et al., 2016; MACHADO; BICALHO, 2018.). Quartos mamários de novilhas sem tampão de queratina antes do parto apresentam 85% maiores chances de adquirirem MC no início da lactação e 1,7 vezes mais chance de adquirir IIM no período seco (DE VLIEGHER et al., 2012; DINGWELL et al., 2004).

Aproximadamente 80% das NIIM em novilhas ocorrem entre as duas e três últimas semanas antes do parto (COMPTON et al., 2007), sendo que novilhas que não possuem o tampão de queratina são mais susceptíveis a IIM. Desse modo, é de suma importância o uso do selante de tetos para prevenir a entrada de patógenos na GM através do canal do teto (DE VLIEGHER et al., 2012; PARKER et al., 2008).

Selantes de tetos podem ser usados isoladamente ou associados com antibióticos tanto em novilhas quanto em vacas durante a terapia de secagem (GOLDER; HODGE; LEAN, 2016). A associação do selante com antibiótico em vacas leiteira possui vantagens, como diminuição da CCS nos primeiros dois meses de lactação e redução dos

casos de MSC e MC no início da lactação (RABIEE; LEAN, 2013; GOLDER; HODGE; LEAN, 2016). Também é possível observar menor taxa de NIIM e menor ocorrência de MC nos primeiros 100 dias de lactação na associação do antibiótico intramamário (cefalosporina) com selante de tetos (BERRY; HILLERTON, 2007) e também uma diminuição em até 48% do risco de MC no início da lactação em vacas leiteiras (RABIEE; LEAN, 2013).

Entretanto, a maioria dos estudos utilizam selante de tetos em vacas leiteiras durante a terapia de vaca seca, sendo possível encontrar poucos estudos em novilhas com o tratamento antes da primeira lactação. Em um estudo recente 886 novilhas tratadas aos 270 dias de gestação com selante de tetos (2,6 g subnitrato de bismuto) associado com antibiótico intramamário (62,5 mg de amoxilina) tiveram menor incidência de MC e MSC, alcançando assim melhores resultados a associação com selante (MACHADO; BICALHO, 2018). Em uma metá-análise sobre estudos de tratamentos com antibióticos e/ou selante de tetos em novilhas, a associação de antibióticos e selante de tetos a curto e longo prazo em novilhas foram mais eficazes em diminuir a prevalência de IIM e a ocorrência de MC (NAQVI et al., 2018).

O selante de tetos (2,6 g subnitrato de bismuto) em novilhas durante o tratamento antes da lactação em novilhas 31 dias antes do parto na Nova Zelândia, diminuiu a prevalência de IIM por qualquer patógeno nas duas primeiras semanas de lactação em 64 a 68%, o risco de mastite por *S.uberis* em 84% (PARKER et al., 2007).

Outro estudo avaliou o uso de selante de tetos (2,6 subnitrato de bismuto), antibiótico parenteral (5g de Tilosina, por três dias consecutivos) em novilhas (n=1067) 30 dias antes do parto e a associação entre selante e antibiótico injetável. Como resultados, o tratamento com selante de tetos diminuiu em 74% o risco de novas IIM por qualquer patógeno e a prevalência de IIM em 65%. Um resultado interessante nesse estudo foi que o tratamento com antibiótico injetável não influenciou a taxa de cura, a prevalência de IIM e incidência de MC. Os autores relataram que a ausência de efeito do antibiótico pode ter ocorrido devido a possibilidade de cura na GM e posteriormente reinfecção, mascarando assim os resultados ou pelo antibiótico tilosina ter falhado em alcançar a concentração inibitória mínima na GM (PARKER et al., 2008). Outros autores também questionaram se as aplicações de antibióticos injetáveis conseguem atingir concentrações suficientes na GM para combater IIM (NICKERSON et al., 2009).

Em resumo, os tratamentos com antibióticos intramamários, injetáveis, selante ou a associação de ambos apresentam vantagens, entretanto há apenas um estudo que avaliou

a associação de antibióticos injetáveis e selantes de tetos em novilhas (PARKER et al., 2008) e nenhum avaliando este tratamento em novilhas com a lactação induzida via PIL.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais realizados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da FMVZ sob nº 4827260117.

4.1 LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS

O estudo foi conduzido na Agropecuária Santa Andréa - Fazenda Ouro Branco, localizada no município de Itararé, São Paulo, Brasil, no período de Março a Setembro de 2016. O clima da região é quente e temperado, a temperatura média de 19°C e a pluviosidade média anual de 1306 mm.

De início 150 novilhas tardias e sem nenhum manejo reprodutivo prévio anterior iniciaram o estudo, essas novilhas foram submetidas a uma pré seleção com base nos seguintes critérios: (a) não estar lactante; (b) não estar gestante; (c) apresentar ECC com variação de 2,5 e 3,75) e (d) ausência de doenças concomitantes (e.g., problemas podais, mastite, doenças do trato reprodutivo, doenças respiratórias). Após a pré seleção apenas 114 novilhas permaneceram no estudo os animais selecionados eram da raça Jersolando (Holandesa × Jersey) com média $34,7 \pm 4,8$ meses de idade, $439 \pm 56,35$ kg peso corporal e $3,00 \pm 0,30$ de escore de condição corporal (ECC). Um dia após a seleção das novilhas, estas foram submetidas simultaneamente ao protocolo de indução de lactação (PIL), composto por aplicações de hormônios exógenos de duração de 21 dias.

Todas as novilhas ao longo do estudo foram identificadas por brincos eletrônicos e alojadas em galpão do tipo *Compost Barn* com aproximadamente 980 m² de dimensão. Durante a realização do PIL, foram utilizadas duas dietas, sendo uma para novilhas secas ≥ 350 kg de peso corporal (Tabela 1) e uma para o início da lactação, formulada para atender as exigências semelhantes às de vacas em lactação já utilizada em outros animais na propriedade (Tabela 2), ambas dietas foram formuladas segundo recomendações do

NRC (2001). O fornecimento das dietas e água foi *ad libitum* e todas novilhas permaneceram sob as mesmas condições ambientais durante todo o estudo.

Tabela 1 - Composição e MS de dieta oferecida para novilhas ≥ 350 kg anteriormente a um protocolo de indução de lactação

Ingrediente	kg/novilha/dia	% MS	kg MS
Silagem de milho	14,0	34	4,8
Silagem de aveia	7,0	36	2,5
Cevada	5,0	23	1,2
Aveia Grão	1,0	89	0,9
Ureia	0,050	99	0
Suplemento mineral vitamínico ¹	0,080	99	0,1
Total	27,1		9,4

*%MS= percentual de matéria seca; ¹Suplemento mineral com Vitamina A, D e E para produção de rações para bovinos leiteiros, composto por: Cálcio (190g/kg); Fósforo (80g/kg); Enxofre (18g/kg); Magnésio (30g/kg); Sódio (85g/kg); Potássio (10g/kg); Cobalto (21mg/kg); Cobre (800mg/kg); Iodo (28mg/kg); Manganês (1535mg/kg); Selênio (21mg/kg); Zinco (2800mg/kg); Vitamina A (200000UI/kg); Vitamina D (50000UI/kg); Vitamina E (1000UI/kg); Antioxidante (100mg/kg).

Tabela 2 -Composição e MS de dieta oferecida para novilhas ≥ 350 kg no início de uma lactação induzida por protocolo

Ingredientes	kg/novilha/dia	%MS	kg MS
Silagem de Milho	22,0	34	7,5
Silagem de Aveia	2,0	36	0,7
Resíduo de Cervejaria	13,0	23	3,0
Polpa Cítrica	1,0	90	0,9
Farelo de Milho	3,0	88	2,6
Aveia Grão	2,0	89	1,78
Farelo de Soja	1,0	88	0,9
Farelo de Girassol	2,0	90	1,8
Ureia	0,0	99	0,0
Suplemento mineral-vitamínico ¹	0,350	99	0,3
Total	46,4		19,5

*%MS=percentual de matéria seca; ¹Núcleo mineral vitamínico para vacas em lactação de até 35 kg leite por dia, composto por: Cálcio (200g/kg); Fósforo (75g/kg); Enxofre (20g/kg); Magnésio (35g/kg); Sódio (65g/kg); Potássio (10g/kg); Cobalto (30mg/kg); Cobre (1150mg/kg); Iodo (40mg/kg); Manganês (2200mg/kg); Selênio (30mg/kg); Zinco (4000mg/kg); Vitamina A (400000UI/kg); Vitamina D (100000UI/kg); Vitamina E (150UI/kg); Antioxidante (100mg/kg) e Monensina Sódica (1000mg/kg).

4.2 COLETA DE INFORMAÇÕES ANTES DO PIL

Um dia antes do início do PIL foram coletadas informações de todas as novilhas como número de identificação, idade, peso, ECC, número de quartos mamários

funcionais e *status* do sistema reprodutivo. Todas as informações vinculadas as novilhas durante o PIL e/ou lactação foram registrados em planilhas eletrônicas.

4.2.1 Determinação do peso corporal

Todas as novilhas passaram por um jejum prévio de 12 horas antes da pesagem, que foi realizada em tronco de contenção com balança eletrônica e os pesos correspondentes foram registrados em planilha eletrônica.

4.2.2 Determinação do ECC

A determinação do ECC das novilhas foi realizada conforme descrito por Edmondson et al. (1989), por avaliador previamente treinado. Primeiramente, foi feita a observação visual e tátil da quantidade de gordura no sub cutâneo em pontos pré definidos (base da cauda, regiões dorsais e costelas). Posteriormente, as novilhas foram classificadas numa escala de 5 pontos, sendo escore 1= extremamente magro, escore 2 = moderadamente magro, escore = 3 intermediário, escore 4= moderadamente gordo e escore 5= extremamente gordo, podendo ser subdividida a cada 0,25 pontos.

4.2.3 Avaliação do *status* reprodutivo

A avaliação do *status* reprodutivo das novilhas foi realizada por palpação retal e com o auxílio de um ultrassom portátil (US Mindray Vet 2200) com matriz de tempo real e sonda retal de 7 Mhz, por um profissional treinado. Foram avaliadas a morfologia de todas as estruturas presentes no ovário e/ou útero e todas as informações (presença de folículos, corpo lúteo e cistos foliculares) foram registradas em planilhas eletrônicas.

4.3 PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE LACTAÇÃO

O protocolo de indução de lactação utilizado neste estudo teve duração de 21 dias e consistiu de aplicações intramusculares de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino Saúde Animal, Brasil), progesterona (Sincrogest®, Ourofino Saúde Animal, Brasil), prostaglandina (PGF2 α , Sincrocio®, Ourofino Saúde Animal, Brasil),

dexametasona(Cortiflan®,Ourofino Saúde Animal, Brasil) e somatotropina bovina recombinante (BSTR, Boostin®,MSD Saúde Animal) sendo este último aplicado via subcutânea.A aplicação dos hormônios em todas as novilhas simultaneamente e foi realizada às 10:00 a.m. com um intervalo de 24 horas entre as aplicações (Figura 1).

Figura 1-Protocolo de Indução de Lactação em Novilhas Jersolando

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: BSTR = Somatotropina Recombinante Bovina; PGF2 = Prostaglandina

As etapas do PIL foram:

- a) Aplicação de 500 mg/novilha/dia de BSTR (Boostin®, MSD Saúde Animal) no primeiro, oitavo, 15º e 21º dia do PIL por via subcutânea na fossa ísquio-retal;
- b) Aplicação 30 mg/novilha/dia de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino Saúde Animal) do primeiro ao oitavo dia e de 20 mg/novilha/dia do nono ao 15º dia do PIL, via intramuscular;
- c) Aplicação de 300 mg/novilha/dia de progesterona (Sincrogest®, Ourofino Saúde Animal) do primeiro ao oitavo dia do PIL, via intramuscular;
- d) Aplicação de 0,530 mg/novilha/dia de PGF2α (Sincrocio®, Ourofino Saúde Animal) no 16º dia do PIL, via intramuscular;
- e) Aplicação de 20 mg/novilha/dia de dexametasona (Cortiflan®, Ourofino Saúde Animal) nos dias 19, 20 e 21 do PIL, via intramuscular;
- f) Massagem no úbere entre o 17º ao 20º dia do PIL;
- e) Início da ordenha no 21º dia do PIL;
- f) Aplicação de 500 mg/novilha de BSTR (Boostin®, MSD Saúde Animal) a cada 14 dias em todas as novilhas até o fim da lactação a partir do primeiro dia de lactação.

As massagem do úberes do 17° ao 20° dia do protocolo realizado nas novilhas teve como intuito iniciar a adaptação ao estímulo da ordenha. A partir do dia 21 após início do protocolo, iniciou-se a ordenha mecânica em todas as novilhas e a lactação foi acompanhada até as primeiras 22 semanas de lactação (150° dia de lactação).

4.4 TRATAMENTO COM ANTIBIÓTICO INJETÁVEL ASSOCIADO COM SELANTE DE TETOS

Dezesseis dias antes do início da lactação induzida (5° dia do PIL), as novilhas foram distribuídas aleatoriamente de acordo com seu número de identificação, onde novilhas com brinco par foram designadas como grupo tratado (ATBS, n=57,) com aplicação de 1mL/kg/novilha de antibiótico injetável com a base de norfloxacina (Norflomax®, Ourofino Saúde Animal), por via intramuscular associado à administração de 4g de selante de tetos (subnitrato de bismuto Sellat®, Ourofino Saúde Animal) em cada quarto mamário, e as novilhas de brinco ímpar foram designadas como as do grupo controle (CONT, n=57), sem a aplicação de nenhum medicamento ou placebo. Apenas novilhas clinicamente saudáveis e sem mastite ou alterações na glândula mamária (GM) foram submetidas ao tratamento com antibiótico injetável associado ao selante de tetos.

Antes da aplicação intramuscular de norfloxacina, nos músculos dos glúteos das novilhas foi feita assepsia com algodão umedecido em álcool 70%, e também nas extremidades dos tetos de cada GM, anteriormente à aplicação do selante. O selante de tetos foi inserido por, aproximadamente, 3 mm no canal do teto, com intuito de reduzir o risco de lesão no canal do teto e, em seguida, foi aplicada a solução utilizada no pós dipping (0,5% de iodo).

4.5 PRODUÇÃO DE LEITE

A lactação iniciou-se no 21° dia do PIL e as novilhas (n=112) foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, às 9:30 e 21:30 horas p.m. As produções de leite foram medidas uma vez por semana pelo uso do medidor eletrônico de fluxo de leite (DeLaval®) e registradas em planilhas eletrônicas para posterior cálculo do pico e média de produção, durante as 22 primeiras semanas de lactação (150 primeiros dias de lactação).

4.5.1 Taxa de sucesso ao PIL e pico de produção de leite

A taxa de sucesso (resposta) ao PIL foi definida como o percentual de novilhas submetidas ao PIL que produziram ≥ 9 kg/leite/dia até a quarta semana de lactação, enquanto que o pico de produção de leite foi definido como a média da semana em que as novilhas apresentaram maior produção de leite após o início da lactação induzida.

4.6 COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE E ANÁLISES DE CULTURA MICROBIOLÓGICA

Amostras individuais de leite dos quartos mamários das novilhas foram coletadas para a avaliação da frequência de isolamento de patógenos causadores de IIM nas duas primeiras semanas de lactação. As coletas de leite foram realizadas de modo asséptico e o leite foi armazenado em tubos estéreis para posterior cultura microbiológica.

Para isso, foram realizados de início a imersão do teto em solução desinfetante a base de iodo a 2%, aguardo de 30 segundos e secagem dos tetos com papel toalha descartável. Posteriormente foi feito o descarte dos três primeiros jatos de leite e desinfecção da ponta do teto com algodão embebido em álcool 70%. Para coleta de leite de forma asséptica foi coletado aproximadamente 10mL de leite de cada quarto mamário (1 frasco para cada), com o frasco mantido inclinado, evitando-se possíveis contaminações. As amostras foram identificadas (de acordo com a data da coleta, número da novilha e quarto mamário) e congeladas à -20°C até posteriores análises.

4.7.1 Análises microbiológicas do leite

As amostras de leite foram submetidas à cultura microbiológica no Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite (Qualileite) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), segundo metodologia recomendada pelo *National Mastitis Council* (NMC, 1999).

Após o descongelamento em temperatura ambiente, as amostras foram homogeneizadas e 10 μ L de leite foi inoculado em placas de Petri com ágar sangue enriquecido com 5% de sangue bovino desfibrinado. Em seguida, as placas foram incubadas, aerobiamente, de forma invertida à 37°C em estufa e o padrão de crescimento

primário das colônias bacterianas foi observado após 24 e 48 horas. As primeiras observações consistiam em caracterizar morfológicamente as colônias bacterianas de acordo com número de colônias, cor, tamanho, aspecto e presença de hemólise no ágar sangue. Para análise morfológica foi realizada a coloração de Gram para a distinção de bactérias Gram positivas e Gram negativas, seguidos do teste de peróxido de hidrogênio (catalase) e hidróxido de potássio (KOH), com posterior observação dos esfregaços corados em microscópio óptico.

As colônias identificadas como *Streptococcus* spp. foram submetidas à prova de hidrólise da esculina, à reação de Christie, Atkins e Munch-Petersen (CAMP), e à bile esculina. Os isolados que obtiveram resultados positivos para a prova de CAMP e negativo para hidrólise da esculina foram identificados como *Streptococcus agalactiae*. Se ambos os testes, esculina e CAMP, tiveram o resultado negativo o isolado foi identificado como *Streptococcus dysgalactiae*. Por fim, isolados com resultados positivos da prova de esculina, independentemente do resultado do CAMP, foi realizado o teste de bile esculina para caracterização de *Streptococcus uberis*.

As colônias bacterianas previamente identificadas como *Staphylococcus* spp. (colônias de 1-3 mm de diâmetro, morfologia de cocos, Gram positivas, cremosas, amarelas ou branco-amareladas, com presença ou não de hemólise no ágar sangue e catalase positiva) foram submetidas à prova de coagulase. As colônias bacterianas foram identificadas como *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) quando apresentaram coagulase negativa, já as colônias que apresentaram prova de coagulase positiva foram identificadas como *Staphylococcus aureus*.

Bactérias Gram negativas foram cultivadas em Ágar McConkey e as colônias sugestivas de *Escherichia coli* foram confirmadas pelas provas da produção de oxidase, utilização de citrato, lactose, fermentação da dextrose e teste da motilidade. As colônias que apresentaram morfologia de bastonetes juntamente com coloração rosa no Ágar McConkey foram identificados como bastonetes Gram negativos. Para o teste positivo para oxidase, a colônia foi classificada em *Pseudomonas* spp., e caso contrário, a colônia era submetida ao teste Rugai Modificado (Enterex®), para identificação de *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Serratiaspp* e *Klebsiella* spp. Os bastonetes Gram positivos foram classificados de acordo com sua micromorfologia como *Corynebacterium* spp., *Nocardia* spp. *Trueperella pyogenes* e *Bacillus* spp.

4.7 COMPOSIÇÃO DO LEITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICA (CCS)

As coletas de leite para análises da CCS e composição do leite (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado) foram realizadas quinzenalmente, do 15º dia de lactação ao 90º dia da lactação. As amostras de leite foram colhidas de forma representativa de toda a ordenha dos quatros quartos mamários, homogeneizadas, identificadas e acondicionadas em frascos plásticos individuais de 50 mL contendo conservante químico 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol (Bronopol®).

As amostras foram enviadas para análise no Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP (Piracicaba -SP). A determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD) do leite foi realizada por absorção infravermelho (Bentley Instruments, 1995). Já a contagem eletrônica de células somáticas (CCS) foi realizada por citometria de fluxo utilizando o equipamento Somacount 300® (Bentley Instruments Inc., Chasca, MN EUA).

4.8 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE CISTOS FOLICULARES

No 15º dia de lactação foi realizada novamente uma avaliação do *status* reprodutivo semelhante ao item 4.2.3 em todos os animais incluídos no estudo. Essa avaliação realizada após o fim do PIL teve como objetivo detectar a frequência de cistos foliculares nas novilhas com lactações induzidas. Foram considerados cistos foliculares as estruturas foliculares que apresentaram diâmetro ≥ 30 mm no ovário, na ausência de um corpo lúteo.

Após o diagnóstico de cistos foliculares, todos os animais do estudo foram pareadas com base no peso corporal, idade, ECC, *status* reprodutivo (presença/ausência de cistos foliculares) em dois grupos experimentais: GnRH (n=53) e controle (n=53). O primeiro grupo foi caracterizado por aplicação intramuscular de 5 mL do hormônio GnRH (Sincrofort®, Ouro Fino saúde Animal) no 15º dia de lactação, enquanto que no grupo controle não recebeu nenhuma aplicação. O uso do GnRH objetivou promover a involução dos possíveis cistos foliculares (CFs). As novilhas diagnosticadas com CFs e não tratadas com GnRH foram utilizadas para a avaliação da possibilidade de cura espontânea dos CFs aos 45 dias de lactação.

4.9 AVALIAÇÃO DA CICLICIDADE AOS 45º DIAS DE LACTAÇÃO

Após 30 dias do tratamento com GnRH (45º dia da lactação) foi realizada outra avaliação do *status* reprodutivo das novilhas com base ao item 4.2.3 para avaliar a ciclicidade (regressão dos CFs e presença de CL) das novilhas induzidas.

4.10 IATF EM NOVILHAS COM LACTAÇÕES INDUZIDAS

Neste estudo, o período voluntário de espera das novilhas [intervalo do primeiro dia de lactação à primeira inseminação artificial em tempo fixo (IATF)] foi de 80 dias. No 80º dia de lactação, as novilhas foram submetidas a uma nova avaliação do *status* reprodutivo e posteriormente foram submetidas ao protocolo de IATF descrito abaixo (Figura 2).

Figura 2 - Protocolo de IATF utilizado nas novilhas com lactação induzida

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: IATF: A inseminação artificial foi realizada por sêmen convencional e após 40 dias foi realizado diagnóstico de gestação.

As etapas da IATF utilizada foram:

Dia 0: aplicação intramuscular de 2mL benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino Saúde Animal), 2 mL intramuscular de prostaglandina (Sincrocio®, Ourofino Saúde Animal), 2,5 mL de GnRH (Sincroforte® Ourofino Saúde Animal) e inserção do dispositivo intra-vaginal com 1g de progesterona (SINCROGEST®, Ourofino Saúde Animal);

Dia 8: Aplicação de 1 mL intramuscular de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ourofino Saúde Animal), 2 mL intramuscular de Gonadotrofina Coriônica Equina

(SincroeCG®, Ourofino Saúde Animal), 2 mL prostaglandina intramuscular (Sincrocio®, Ourofino Saúde Animal) e retirada do dispositivo intra-vaginal de progesterona (SINCROGEST®, Ourofino Saúde Animal);

Dia 10: Inseminação artificial das novilhas com sêmen convencional.

O diagnóstico de gestação via palpação e ultrassonografia retal foi realizado 30 dias após a inseminação artificial (IA). As novilhas diagnosticadas como não gestantes aos 120 dias de lactação foram ressincronizadas por, no máximo, duas vezes em outra IATF. Assim, quando necessário, a 2ª IATF foi realizada aos 120º dia de lactação e aquelas não prenhes passaram pela 3ª IATF aos 160º dias de lactação (Figura 3). Os intervalos entre os diagnósticos de gestação foram de 40 dias, aproximadamente.

Figura 3 - Fluxograma do período experimental

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018).

Legenda: DEL = Dias em lactação; US = Ultrassonografia; IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo; DG = Diagnóstico de gestação.

Após a finalização do primeiro diagnóstico de gestação foi calculada a taxa de concepção inicial (nº de novilhas que foram inseminadas e ficaram prenhes) e após os três diagnósticos de gestação se necessário no 160º dia de gestação foi calculada a taxa de prenhez acumulada, definida como o número de novilhas gestantes por número de novilhas inseminadas no período de 120 dias. Foi avaliada a influência do tratamento com GnRH e o ATBS sobre a primeira taxa de concepção e a taxa de prenhez acumulada após as 3 IATFs durante a lactação induzida.

4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do programa computacional Statistical Analysis System® (SAS, 2001). Os tratamentos foram organizados em arranjo fatorial 2×2 (2 tratamentos e 2 controles), exceto para prevalência de IIM, que foi analisada com base nas coletas de leite realizadas no 7º e 14º dia de lactação.

As variáveis produção e composição de leite, produção de leite corrigida para gordura e ECC foram avaliadas por meio de análise de regressão logística pelo procedimento MIXED do SAS. A prevalência de IIM, diagnóstico de prenhez inicial e final e ciclicidade foram avaliadas como dados categóricos pelo procedimento GLIMMIX, utilizando a novilha como efeito aleatório para considerar as correlações dos quartos mamários dentro de cada novilha. Para todas as variáveis foi adotada significância estatística de $P < 0,05$. Todas as médias ajustadas principais e das interações foram calculadas e comparadas pela opção DIFF do “statement” LSMEANS.

4.11.1 Produção e composição de leite, produção de leite corrigida

Para as variáveis produção e composição de leite e produção de leite corrigida foram considerados os efeitos principais do tratamento com antibiótico injetável associado a selante de tetos, do uso de GnRH, e das coletas, bem como o efeito de suas interações duplas e tripla, segundo o modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \text{Trat}_i + \text{Repro}_j + \text{Coleta}_k + \text{ECC}_l + \text{Idade}(\text{Covariável}) + \text{Peso}(\text{Covariável}) + \text{Trat}_i \times \text{Repro}_j + \text{Trat}_i \times \text{Coleta}_k + \text{Repro}_j \times \text{Coleta}_k + \text{Trat}_i \times \text{Repro}_j \times \text{Coleta}_k + e_{ijkl}$$

Onde Y_{ij} = valor observado; μ = média geral; Trat_i = efeito fixo do tratamento com antibiótico e selante i ; Repro_j = efeito fixo do tratamento com GnRH $_j$; Coleta_k = efeito fixo da semana de coleta k ; ECC_l = efeito fixo da classe de ECC l ($<3,0$; entre 3,0 e 3,5 e $>3,0$); $\text{Trat}_i \times \text{Repro}_j$ = efeito fixo da interação entre os tratamentos para prevenção de mastite e para cistos foliculares; $\text{Trat}_i \times \text{Coleta}_k$ = efeito fixo da interação entre os tratamentos para mastite e a semana de coleta; $\text{Repro}_j \times \text{Coleta}_k$ = efeito fixo da interação entre o tratamento para cistos foliculares e a semana de coleta; $\text{Trat}_i \times \text{Repro}_j \times \text{Coleta}_k$ = efeito fixo da interação entre os tratamentos para mastite e cistos foliculares e a semana de coleta e e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação. Os dados de CCS foram

transformados em escala logarítmica para obtenção de distribuição normal e as variáveis idade e peso foram incluídas como covariáveis. O efeito de ECC não entrou no modelo quando esta foi a variável analisada.

4.11.2 Prevalência de infecção intramamária (IIM)

As análises da prevalência de IIM foram realizadas em nível de quarto mamário, considerando os efeitos principais do tratamento com antibiótico e selante e das coletas de leite, bem como os efeitos de sua interação; ao passo que as novilhas foram consideradas como efeitos aleatórios; segundo o modelo:

$$\text{logit}(\pi) = \beta_0 + \beta_1 \times \text{Trat} + \beta_2 \times \text{Sem} + \beta_3 \times (\text{Trat} \times \text{Sem}) + \beta_4 \times \text{Quarto} + \text{Novilha}(\text{Aleatório}) + \text{Re}$$

Onde $\text{logit}(\pi)$ é a função da probabilidade de prevalência de IIM (1 ou 0); β_0 é o intercepto; β_1 coeficiente de regressão do tratamento intramamário (Trat); β_2 é o coeficiente de regressão da semana de visita (Sem); β_3 é o coeficiente de regressão para interação Trat $\times$ Sem; β_4 é o coeficiente de regressão para posição do quarto. A novilha foi incluída como efeito aleatório para levar a consideração da correlação entre os quartos de cada novilha. Foi utilizada estrutura de erros autorregressiva de primeira ordem e Re é o resíduo termo do modelo. Foi utilizada distribuição binária com função logística.

4.11.3 Taxa de concepção à primeira IATF, taxa de prenhez acumulada e ciclicidade aos 45 dias de lactação

As variáveis de desempenho reprodutivos foram avaliadas considerando os efeitos fixos do tratamento com ATBS e dos protocolos de IATF, além de suas interações, segundo o modelo:

$$\begin{aligned} \text{logit}(\pi) = & \beta_0 + \beta_1 \times \text{Trat} + \beta_2 \times \text{Prot} + \beta_3 \times (\text{Trat} \times \text{Prot}) + \text{Peso Inicial (Coavariável)} \\ & + \text{Idade Inicial (Coavariável)} + \text{ECC Inicial (Coavariável)} + \text{Cisto 15} \\ & \text{DEL (Coavariável)} + \text{Ciclicidade 15 DEL (Covariável)} + \text{Re}, \end{aligned}$$

Onde $\text{logit}(\pi)$ é a probabilidade de concepção na primeira IATF ou no diagnóstico final (1 ou 0); β_0 é o intercepto; β_1 coeficiente de regressão do tratamento intramamário (Trat); β_2 é o coeficiente de regressão do protocolo reprodutivo (Prot); β_3 é o coeficiente de regressão para interação Trat $\times$ Prot. As variáveis peso, idade e ECC inicial avaliado

um dia antes do início do PIL de duração de 21 dias, e presença de cisto e ciclicidade aos 15 dias de lactação (DEL) foram incluídos como covariável no modelo e Re é o resíduo termo do modelo. Foi utilizada distribuição binária com função logística.

5 RESULTADOS

De um total de 114 novilhas que foram submetidas ao PIL, foram excluídas dez novilhas por os seguintes motivos: a) duas foram excluídas do estudo em razão de sintomas de apatia; b) duas vieram a óbito (foi realizada a necropsia destes animais, entretanto não foi observada nenhuma alteração hepática que pudesse associada ao PIL); c) seis novilhas foram excluídas do estudo após o início da lactação, em razão de lesões de casco. Sendo assim, ao final, 104 novilhas foram utilizadas para coleta de amostras e dados, as quais foram submetidas à análise estatística dos resultados.

5.1 TAXA DE RESPOSTA AO PIL, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE LEITE

Com base na avaliação visual, durante o PIL foi observado o crescimento gradual (aumento de volume) da GM das novilhas, de acordo com a aproximação do início da lactação (Figura 4).

Figura 4 - Desenvolvimento das glândulas mamárias das novilhas ao longo dos 21 dias do protocolo de indução de lactação

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

A taxa de sucesso do PIL, calculada foi de acordo com o número de animais que responderam ao PIL, que foi de 91% (95/104). A lactação iniciou-se 21 dias após o início do PIL com média de produção de leite durante as primeiras 22 semanas de lactação de $15,19 \pm 2,69$ kg/leite/dia para todas as novilhas com a lactação induzida. As médias das produções de leite, de acordo com os tratamentos experimentais, foram: $15,69 \pm 2,81$ kg/leite/dia (ATBS + CONT), $15,26 \pm 2,79$ kg/leite/dia (CONT + GnRH), $15,93 \pm 2,73$ kg/leite/dia (CONT + CONT) e $13,88 \pm 2,22$ kg/leite/dia (ATBS + GnRH; Tabela 6). A produção de leite do grupo com ATBS e sem GnRH foi 1,13 vezes maior do que a com ATBS e sem GnRH.

O tratamento ATBS não afetou na produção de leite das novilhas com lactações induzidas ($P = 0,194$; Tabela 3). No entanto, os animais tratados com GnRH ($P = 0,046$) tiveram produção de leite menor do que as dos demais grupos experimentais de acordo com a tabela 6. Novilhas tratadas com ATBS e GnRH produziram 8,6% menos leite (1,31 kg/leite/dia) quando comparadas com a média geral de todos os tratamentos (15,19 kg/leite/dia). As novilhas que não receberam nenhum tipo de tratamento (CONT +

CONT) apresentaram maiores produções de leite quando comparada as novilhas dos demais grupos experimentais (Tabela 3). Houve efeito para as variáveis peso inicial ($P=0,0021$) e idade inicial ($P=0,0006$) na produção de leite, onde novilhas mais pesadas e mais velhas produziram mais leite em relação as demais (Figura 5).

Tabela 3 - Efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre a CCS, produção e composição do leite de novilhas com lactação induzida

Componente	CONT		Com ATBS		Média	EPM	<i>P valor</i>		
	Sem GnRH	Com GnRH	Sem GnRH	Com GnRH			ATBS	GnRH	ATBS*GnRH
PL	15,93	15,26	15,69	13,88	15,19	0,853	0,194	0,046	0,786
PLCG	20,36	19,32	19,99	17,42	19,27	1,004	0,006	<0,01	0,058
Gordura (%)	4,89	4,66	4,71	4,69	4,74	0,223	0,438	0,168	0,264
Proteína (%)	3,57	3,6	3,47	3,57	3,55	0,05	0,012	<0,013	0,121
Lactose (%)	4,5	4,48	4,44	4,49	4,48	0,052	0,261	0,517	0,218
ST (%)	13,98	13,76	13,7	13,77	13,8	0,26	0,223	0,451	0,171
ESD (%)	9,07	9,08	8,91	9,07	9,03	0,08	0,031	0,033	0,072
Log de CCS	5,64	5,67	5,33	5,49	5,49	0,261	0,01	0,898	0,907

*ST= Sólidos Totais; ESD= Extrato Seco Desengordurado; ATBS*GnRH= Interação entre os tratamentos; PL= Produção de leite (kg/leite/dia); PLCG= Produção de leite corrigida para gordura (kg/leite/dia); CCS= Contagem de Células Somáticas.

Foi observada interação entre semana de lactação $\times$ produção de leite ($P<0,01$), indicando que durante as semanas de lactação houve aumento progressivo na produção de leite até atingir o pico de produção ($16,22 \pm 1,04$ kg/leite/dia), o qual ocorreu entre a 10^a e 11^a semana de lactação (Figura 5).

Figura 5 - Efeito da ATBS e GnRH sobre a curva de lactação das novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

Os animais tratados com ATBS apresentaram uma menor log de CCS ($P = 0,013$; Tabela 3) comparado aos animais não tratados com ATBS durante as coletas quinzenais nos primeiros 90 dias de lactação. O tratamento com GnRH ao 15 dias de lactação não influenciou no log de CCS ($P=0,898$). Ao longo das coletas foi possível observar variação nos valores de CCS ao longo das coletas até ao 90º dia de lactação ($P<0,001$). O peso inicial ($P=0,002$), idade inicial ($P=0,0006$) e ECC antes do PIL, também influenciaram no log de CCS (Figura 6), onde novilhas mais e mais velhas obtiveram uma menor CCS.

Figura 6 - Efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre o Log de CCS nas novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

Os teores médios de gordura, proteína, lactose, sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD) durante as coletas quinzenais de leite até o 90º dia de lactação nas novilhas com as lactações induzidas estão apresentados na Tabela 3.

Não houve efeito dos tratamentos ATBS ($P=0,438$), GnRH ($P=0,168$) e da interação (ATBS $\times$ GnRH; $P=0,264$) sobre os teores de gordura do leite (Tabela 3). Entretanto os teores de gordura variaram de acordo com as semanas de lactação ($P=0,012$), uma vez que aos 15 dias de lactação, a média dos teores de gordura foi de 5% e na sexta coleta foi de 4,88%. A média dos teores de gordura de acordo com os tratamentos foi $4,89 \pm 0,19\%$ (CONT + CONT); $4,66 \pm 0,26$ (CONT + GnRH); $4,71 \pm 0,24\%$ (ATBS + CONT) e $4,69 \pm 0,16$ (ATBS + GnRH). Houve efeito do ECC sobre os teores de gordura no leite ($P<0,007$), sendo as médias dos teores de gordura das novilhas com ECC $>3,5$, entre 3 e 3,5, e <3 foram: 5,07; 4,53; e 4,6 respectivamente (Tabela 4). Já as variáveis peso inicial ($P=0,097$), idade inicial ($P=0,054$) das novilhas antes do PIL não influenciaram os teores de gordura no leite (Figura 7).

Tabela 4 – Produção, Composição de leite e log de CCS de acordo com ECC de novilhas com lactação induzida

Itens	Classes de ECC			EPM	P valor
	ECC <3	ECC entre 3 e 3,5	ECC > 3,5		
PL	15,93	16,09	13,55	0,6683	0,0565
PLCG	19,34	18,40	20,07	0,492	0,0585
Gordura	4,61	4,53	5,07	0,0993	0,0076
Proteína	3,59	3,51	3,54	0,019	0,0167
Lactose	4,50	4,54	4,37	0,027	0,0016
ST	13,74	13,61	14,04	0,1158	0,1195
ESD	9,10	9,06	8,92	0,043	0,0291
Log de CCS	5,40	5,08	6,00	0,1344	<0,01

*Classes do ECC nas novilhas= ECC menor que 3, ECC entre 3 e 3,5, ECC maior que 3,5; ST= Sólidos Totais; ESD= Extrato seco desengordurado; EPM=Erro padrão da média; PL= Produção de leite (kg/leite/dia); PLCG= Produção de leite corrigida para gordura.(kg/leite/dia).

Figura 7 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de gordura nas coletas quinzenais do leite de novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

A média de produção de leite corrigida para gordura (3,5%) coletas quinzenais durante os 90 dias de lactação foi de 19,27 kg/leite/dia (Tabela 3). Os animais tratados com ATBS ($P<0,01$) e GnRH ($P<0,01$) apresentaram produção de leite corrigida de para gordura 20,36 kg/leite/dia (CONT + CONT), 19,32 kg/leite/dia (CONT + GnRH); 19,99 kg/leite/dia (ATBS + CONT) e 17,42 kg/leite/dia (ATBS + GnRH) sendo as novilhas não

tratadas (CONT+CONT) as de maior produção. Não houve interação ATBS $\times$ GnRH ($P = 0,769$; Tabela 3). Houve efeito das semanas de lactação ($P < 0,01$) sobre as produções de leite corrigida para gordura, onde foi possível observar aumento desta variável ao longo as semanas de lactação (Figura 8). O ECC das novilhas antes do PIL ($P = 0,058$) não influenciou a produção de leite corrigida para gordura (Tabela 4), diferentemente do peso inicial ($P < 0,01$) e idade inicial ($P = 0,03$) antes do PIL que afetaram essa variável, de acordo com os resultados as novilhas mais pesadas e mais velhas apresentaram uma maior produção de leite corrigida para gordura.

Figura 8 - Efeito do ATBS e GnRH sobre a média de produção de leite corrigida para gordura nas coletas quinzenais de novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

Foi observado efeito do tratamento ATBS ($P = 0,01$) e GnRH ($P < 0,01$) sobre os teores de proteína ao longo das semanas de lactação. As média do teores de proteína do leite de acordo com os tratamentos foi de $3,57 \pm 0,12\%$ (CONT+CONT); $3,60 \pm 0,15\%$ (CONT + GnRH); $3,47 \pm 0,11\%$ (ATBS + CONT) e $3,57 \pm 0,17\%$ (ATBS + GnRH; Tabela 3), sendo os as novilhas dos grupos CONT +CONT e ATBS + GnRH apresentaram maiores teores de proteína em relação aos demais grupos experimentais. O ECC antes do PIL também alterou os teores de proteína ($P = 0,01$), de acordo com as classes de ECC a média dos teores de proteína entre ECC <3; entre 3 e 3,5 e >3,5 foram 3,58%; 3,51% e

3,54% (Tabela 4, Figura 9). Já as variáveis peso ($P=0,420$) e idade inicial ($P=0,102$) não afetaram os percentuais de proteína do leite (Figura 9).

Figura 9 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de proteína do leite nas coletas quinzenais das novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

Os tratamentos ATBS e GnRH não influenciaram nos teores de lactose ($P=0,261$; $P=0,517$; Tabela 3). A média dos teores de lactose em relação aos grupos experimentais foram $4,50 \pm 0,13\%$ (CONT+CONT); $4,48 \pm 0,13\%$ (CONT + GnRH); $4,44 \pm 0,15\%$ (ATBS+CONT) e $4,49 \pm 10\%$ (ATBS + GnRH), onde os tratamentos ATBS e GnRH não influenciaram nos teores de lactose ($P=0,261$; $P=0,517$; Tabela 3). Houve efeito das semanas de lactação ($P<0,001$) nos valores de lactose ao longos dos 90 dias de lactação. O ECC inicial influenciou nos teores de lactose ($P=0,001$), entre as classes de ECC <3; entre 3 e 3,5 e >3,5 a média do tores de lactose foram de 3,59%; 3,51% e 3,54% respectivamente (Tabela 4). No entanto os percentuais de lactose durante as coletas quinzenais de leite não foram afetados por o peso inicial ($P=0,720$) e idade inicial ($P=0,635$) das novilhas antes do PIL (Figura 10).

Figura 10 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de lactose nas coletas quinzenais do leite de novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

A média dos teores de ST entre os tratamentos foram de $13,98 \pm 0,30\%$ (CONT+CONT); $13,76 \pm 0,38\%$ (CONT + GnRH); $13,70 \pm 0,33\%$ (ATBS+CONT); $13,77 \pm 0,22\%$ (ATBS + GnRH; Figura 11). No entanto os teores médios de ST não variaram de acordo com os tratamentos ATBS ($P=0,223$) e GnRH ($P=0,451$; Tabela 3), além disso não houve também efeito na interação dos tratamentos ($P=0,179$). Houve efeito das semanas de lactação ao longo das coletas quinzenais ($P<0,01$). Já a variável idade inicial que as novilhas iniciaram o PIL ($P = 0,03$) alterou os valores de ST, sendo que as novilhas mais velhas produziram maiores teores de ST (Figura 11). As variáveis ECC e peso inicial não afetaram os percentuais de ST ($P=0,119$; $P=0,125$).

Figura 11 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de sólidos totais do leite de novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

A média dos teores de ESD entre os tratamentos experimentais foram $9,07 \pm 0,16$ (CONT+CONT); $9,08 \pm 0,18\%$ (CONT + GnRH); $8,91 \pm 0,18\%$ (ATBS+CONT) $9,07 \pm 0,17\%$ (ATBS + GnRH) respectivamente (Figura 8, Tabela 3). Os tratamentos ATBS ($P = 0,03$) e GnRH ($P = 0,03$) afetaram os teores médios de ESD (Tabela 3), no entanto não houve efeito para a interação entre os tratamentos ($P=0,072$), as novilhas tratadas com ATBS mas sem GnRH apresentaram os menores teores de ESD (Tabela 3). Os teores de ESD foram influenciados ao longo das semanas de lactação ($P<0,01$; Figura 12). O ECC inicial também afetou o ESD ($P = 0,02$; Tabela 4), entre as classes de ECC <3 , entre 3 e 3,5 e $>3,5$ foram 9,10%; 9,06% e 8,92% respectivamente, no entanto as variáveis peso ($P=0,784$) e idade inicial ($P=0,248$) ao PIL não afetaram os percentuais de ESD (Figura 12).

Figura 12 - Efeito da ATBS e GnRH sobre os teores de extrato seco desengordurado do leite das novilhas com lactações induzidas

Fonte: (Monteiro, C.P., 2018)

Legenda: ATBS= Tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos aos 16 dias antes da lactação; GnRH= tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação.

5.2 FREQUÊNCIA DE PATÓGENOS CAUSADORES DE MASTITE NAS DUAS PRIMEIRAS SEMANAS DE LACTAÇÃO

Do total de amostras de leite coletadas dos quartos mamários nas duas primeiras semanas de lactação, 305 (69,16%) amostras apresentaram cultura negativa no 7º dia de lactação e 331 (74,88%) no 14º dia de lactação. Os patógenos que apresentaram maior frequência de isolamento no 7º dia de lactação foram SCN (n=95/20,95%), *S. aureus* (n=11/2,6%) e *Corynebacterium* spp. (n=5/1,10%). Na segunda semana de lactação foram SCN (n=76/17,11%), *S. aureus* (n=11/2,47%), Outras *Enterobacter* (n=4/0,90%), *Corynebacterium* spp. (n=2/0,45%), *Strep. uberis* (n=2/0,45%), e *Strep. dysgalactiae* (n=2/0,45%) (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Frequência de isolamento dos patógenos causadores de mastite no 7º dia lactação em quartos mamários de novilhas com lactação induzida

Patógenos	Controle		Tratamento ¹		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Total de Amostras*	212	100	229	100	441	100
Negativas	139	65,57	166	72,49	305	69,16
Positivas	73	34,4	63	27,51	136	30,84
Contaminada**	8	3,77	8	3,49	16	3,52
SCN ¹	54	25,47	41	17,9	95	20,95
<i>S. aureus</i>	6	2,83	5	2,18	11	2,6
<i>Corynebacterium</i> spp.	1	0,47	4	1,75	5	1,10
<i>Strep. dysgalactiae</i>	2	0,94	1	0,44	3	0,66
<i>Streptococcus</i> spp.	1	0,47	1	0,44	2	0,44
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	0	1	0,44	1	0,22
<i>Strep. agalactiae</i>	0	0	1	0,44	1	0,22
Quartos não funcionais	1	0,47	1	0,44	2	0,44

¹Tratamento= Antibiótico injetável associado com selante de tetos; *Amostras por quarto mamário;**Contaminada $\geq$ dois agentes patógenos em uma mesma amostra de quarto mamário; ¹ *Staphylococcus* coagulase negativo.

Tabela 6 - Frequência de isolamento de patógenos causadores de mastite no 14º dia lactação em quartos mamários de novilhas com lactação induzida

Patógenos	Controle		Tratamento ¹		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Total de Amostras*	215	100	227	100	442	100
Negativa	144	66,98	187	82,38	331	74,88
Positivas	71	33,02	40	17,62	111	25,12
Contaminada**	8	3,72	5	2,2	13	2,92
SCN ¹	52	24,19	24	10,57	76	17,11
<i>S. aureus</i>	6	2,79	5	2,2	11	2,47
Outras <i>Enterobacter</i>	0	0	4	1,76	4	0,90
<i>Strep. uberis</i>	2	0,93	0	0	2	0,45
<i>Strep. dysgalactiae</i>	1	0,47	1	0,44	2	0,45
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	0,93	0	0	2	0,45
<i>Strep. agalactiae</i>	0	0	1	0,44	1	0,22

¹Tratamento= Antibiótico injetável associado com selante de tetos;*Amostras por quarto mamário;**Contaminada: > dois patógenos isolados em uma mesma amostra de quarto mamário; ¹ *Staphylococcus* coagulase negativo; Outras *Enterobacter*= *Enterobacter* spp, *Enterococcus* spp, *Serratia* spp.

5.3 PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES INTRAMAMÁRIAS

No presente estudo, as novilhas que foram submetidas ao tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos apresentaram menor prevalência (18%) de IIM nas duas primeiras semanas de lactação ($P = 0,002$; Tabela 7), comparado as novilhas não tratadas (28%). Ainda, o grupo tratado (ATBS) teve 0,56 vezes menos

risco de IIMs em relação ao grupo controle (sem tratamento) nas duas primeiras semanas de lactação (Tabela 7).

Tabela 7 - Regressão logística para efeito do tratamento (ATBS¹) sobre o risco de infecção IIM nas duas primeiras semanas de lactação dos quartos mamários tratados de novilhas com lactações induzidas

Efeito	β	SE	P-valor	OR	95% CI		LSM	SEM
					Menor	Maior		
Intercepto ²	-2,01	0,269	<0,001	-	-2,541	-1,472	-	-
TRAT ³								
Controle							0,289	0,033
ATBS	-0,881	0,289	0,002	0,565	0,363	0,879	0,187	0,026
Semana								
1				Referência			0,263	0,027
2	-0,003	0,249	0,064	0,736	0,530	1,022	0,208	0,025
Quarto Mamário								
PE				Referência			0,196	0,030
PD	0,329	0,237	0,165	1,390	0,873	2,215	0,035	0,191
AE	0,544	0,233	0,019	1,723	1,090	2,724	0,295	0,0370
AD	0,046	0,244	0,849	1,047	0,649	1,691	0,203	0,031

P-valor: ATBS= 0,011; Coleta = 0,067; ATBS $\times$ Coleta = 0,064; Quarto = 0,065; ¹Antibiótico injetável associado com selante de teto; ²Interceptação; ³Grupos experimentais.

5.4 RETORNO À CICLICIDADE

Das 106 novilhas com lactações induzidas que foram submetidas à avaliação do sistema reprodutivo no 15º dia de lactação, 33,01% (35/106) apresentaram cistos foliculares (CFs).

Houve efeito do tratamento ATBS ($P = 0,004$) sobre a ciclicidade das novilhas aos 45 dias de lactação, sendo que 68% das novilhas do grupo ATBS estavam ciclando (presença de corpo lúteo), enquanto que somente 35% das novilhas do grupo controle apresentaram (Tabela 8). A aplicação de GnRH no 15º dia de lactação para tratamento de CFs não afetou a ciclicidade aos 45 dias de lactação ($P = 0,36$), sendo a ciclicidade do grupo tratado com GnRH de 57% e as do controle (não tratadas) de 46%. As variáveis

peso, idade e ECC iniciais e ciclicidade e cistos aos 15 dias de lactação, não afetaram a ciclicidade aos 45 dias de lactação ($P>0,05$; Tabela 8).

Tabela 3 - Regressão logística do efeito do tratamento com ATBS e GnRH, peso inicial, idade, ECC, ciclicidade aos 15 dias de lactação e incidência de CFs sobre a ciclicidade aos 45 dias de lactação em novilhas com lactações induzidas

Ciclicidade 45	β	EP	P-Valor	95% IC			LSM	EPM
				OR	Menor	Maior		
Intercepto	-0,689	1,9904	0,7301					
ATBS	1,2419	0,6472	0,0045	3,881	1,542	9,769	0,6819	0,08187
Controle	Referência						0,3558	0,0902
GnRH	0,299	0,6251	0,36	1,512	0,619	3,692	0,572	0,090
Controle	Referência						0,469	0,097
Peso inicial ¹	-0,0053	0,00545	0,3299	0,995	0,984	1,006		
Idade inicial ²	0,05671	0,06032	0,3499	1,058	0,939	1,193		
ECC 3 e 3,5	0,4765	0,5385	0,5618	1,61	0,552	4,698		
ECC >3,5	0,868	0,9132		2,382	0,388	14,64		
ECC <3	0							
Cistod15 ³	-0,0633	0,4758	0,8944	0,939	0,364	2,417		
Ciclid15 ⁴	-1,3634	1,0265	0,1877	0,256	0,033	1,969		

*P valor=ATBS×GnRH= 0,802; ¹Peso inicial= Peso antes do início do PIL; ²Idade inicial= Idade antes do início do PIL; ³Cisto d15: Presença de cistos foliculares ao 15º dia de lactação; ⁴Cicli d15=Ciclicidade aos 15º dia de lactação.

5.6 TAXA DE CONCEPÇÃO INICIAL

A taxa de concepção 30 dias após a primeira IATF no presente estudo correspondeu à relação entre o número de novilhas inseminadas ao 80º dia de lactação e que estavam prenhes no 120º dia de lactação. Não houve efeito dos tratamentos sobre a taxa de concepção inicial (ATBS; $P = 0,114$) e (GnRH; $P = 0,152$) (Tabela 9). As médias de taxas de concepção entre os grupos experimentais foram de: 48% para as novilhas tratadas com antibiótico associado com selante, 67% para as controle não tratadas com ATBS, 49% para as tratadas com GnRH e 66% para as controle não tratadas com GnRH. As variáveis peso, idade e ECC iniciais não influenciaram ($P>0,05$; Tabela 8) a taxa de concepção aos 120 dias de lactação, cujos resultados são semelhantes ao encontrado para as variáveis ciclicidade e presença de cisto foliculares ambos no 15º dia de lactação ($P>0,05$; Tabela 9).

Tabela 4 - Regressão logística para efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre taxa de concepção após a primeira IATF inicial em novilhas com lactações induzidas

Taxa de concepção	Coef	EP	P-Valor	95% IC			LSM	EPM
				OR	Menor	Maior		
Intercepto	6,3409	2,2735	0,0067					
ATBS	-1,157	0,7086	0,1149	0,457	0,172	1,215	0,484	0,091
Controle	Referência						0,673	0,091
GnRH	-1,083	0,7157	0,1525	0,492	0,185	1,308	0,494	0,094
Controle	Referência						0,665	0,091
Peso inicial ¹	-0,0062	0,00564	0,2763	0,994	0,983	1,005		
Idade inicial ²	-0,0858	0,06125	0,1654	0,918	0,812	1,037		
ECC 3 e 3,5	0,02962	0,5548	0,4513	1,03	0,341	3,11		
ECC >3,5	1,0369	0,8998		2,82	0,47	16,927		
ECC <3	0	-						
Cisto d15 ³	0,531	0,5185	0,309	1,701	0,606	4,776		
Ciclid15 ⁴	1,1892	1,0358	0,2546	3,284	0,417	25,847		

*P valor= ATBS × GnRH = 0,457; ¹Peso inicial= Peso antes do início do PIL; ²Idade inicial= Idade antes do início do PIL; ³Cisto d15: Presença de cistos foliculares ao 15º dia de lactação; ⁴Cicli d15=Ciclicidade aos 15º dia de lactação.

5.7 TAXA DE PRENHEZ ACUMULADA

A taxa de prenhez acumulada foi de 76,2%. Os animais tratados com ATBS apresentaram menor taxa de prenhez acumulada ($P = 0,0185$; Tabela 10) do que as controles não tratadas com ATBS, sendo 60% a taxa de prenhez do grupo tratado com ATBS e 89% para as novilhas não tratadas (CONT). Já o tratamento com GnRH aos 15 dias de lactação não alterou a taxa de prenhez acumulada ($P = 0,0509$), e as médias foram de 64% para o grupo tratado com GnRH e 87% e para ao controle não tratadas. As variáveis peso, idade e ECC em classes no início da lactação não afetaram a taxa de prenhez acumulada, assim como ciclicidade e existência de CFs aos 15 dias de lactação ($P=0,05$; Tabela 10).

Tabela 5 - Regressão logística para efeito do tratamento com ATBS e GnRH sobre a taxa de prenhez acumulada

Prenhez Acumulada	Coef	EP	P-Valor	95% IC			LSM	EPM
				OR	Menor	Maior		
Intercepto	-2,3067	7,1379	0,7475					
ATBS	-1,576	1,1611	0,0185	0,19	0,048	0,751	0,607	0,112
Controle	Referência						0,890	0,071
GnRH	-1,2745	1,181	0,0509	0,258	0,066	1,006	0,6435	0,123
Controle	Referência						0,874	0,074
ECC 3 e 3,5	-1,2214	1,1405	0,5532					
ECC >3,5	-2,1648	2,7268	-	0,295	0,03	2,858		
ECC <3	0	-	-	0,115	<0.001	26,209		
Idade inicial ¹	-0,0691	0,05843	0,2405	0,933	0,831	1,048		
Peso inicial ²	2,7231	2,4811	0,2759	15,228	0,109	>999.999		
Cisto d15 ³	0,5373	0,6177	0,3871	1,711	0,5	5,856		
Cicli d15 ⁴	0,4023	1,186	0,7354	1,495	0,141	15,869		

*P valor: ATBS×GnRH= 0,907; ¹Idade inicial= Idade antes do início do PIL; ²Peso inicial= Peso antes do início do PIL; ³Cisto d15= Presença de cistos foliculares ao 15º dia de lactação; ⁴Cicli d15=Ciclicidade aos 15º dia de lactação.

6 DISCUSSÃO

A indução de lactação é uma alternativa que visa aumentar a vida produtiva e a longevidade de vacas e novilhas com dificuldades de concepção ou de novilhas tardias, o que pode impactar positivamente a rentabilidade da propriedade leiteira. Com o PIL é possível diminuir o tempo para a primeira lactação em novilhas tardias (com reprodução atrasada), sendo possível obter uma lactação após 21 dias de aplicações hormonais, sendo uma oportunidade para adiantar a lactação em animais que possuem um alto mérito produtivo (LAKHANI et al., 2017).

6.1 TAXA DE SUCESSO AO PIL

No presente estudo, a lactação foi induzida com sucesso em 91% (n=95) das novilhas. Foi adotada como taxa de sucesso ao PIL quando os animais produziram ≥ 9 kg/leite/dia até a quarta semana de lactação, semelhante àquela adotada por outros estudos (BAUMAN; HAYS, 1975; BYATT et al., 1997; FREITAS, 2009). No entanto, alguns

estudos adotaram critérios de sucesso ao PIL com diferentes valores de produções de leite em vacas e novilhas: $\geq 7\text{kg/leite/dia}$ no pico de produção de leite com novilhas da raça Jersolando (RAMGATTIE et al., 2014), $\geq 5\text{kg/leite/dia}$ para vacas Jersey e $> 7\text{kg/leite/dia}$ para vacas da raça Holandesa (JEWEL, 2002).

A taxa de sucesso de 91% sugere que o PIL utilizado em novilhas tardias da raça Jersolando do presente estudo foi eficiente em induzir a lactação, já que, como sugere Freitas (2009) mesmo taxas de sucesso que não alcancem 100% podem ser rentáveis devido ao baixo custo em iniciar a lactação em animais improdutivos. A taxa de sucesso observada no presente estudo foi superior às encontradas em estudos com vacas e novilhas induzidas: 85% com novilhas de 18 meses da raça Jersolando (RAMGATTIE et al., 2014), 70% com novilhas da raça Holandesa de 13 a 16 meses de idade (BYATT et al., 1997), 62% com novilhas da raça Holandesa com 24,5 meses de idade (SMITH; SCHANBACHER, 1974) e 69% com PIL em vacas e novilhas Holandesas (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975). Entretanto, a taxa de sucesso no presente estudo foi menor em relação as descritas em novilhas de 22 a 32 meses de idade da raça Holandesa e Jersey (100%, FULKERSON, 1978), novilhas da raça Holandesa de 15 meses de idade (97%, MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011), novilhas Holandesas de 30 meses de idade (92%, HARNESS et al., 1978) e vacas também da raça Holandesa (100%, MELLADO et al., 2006; MAGLIARO et al., 2004). As altas taxas de sucessos descritas em outros estudos podem estar associadas à critérios menos rigorosos (RAMGATTIE et al., 2014), como por exemplo a produção de leite $\geq 5,6\text{ kg/leite/dia}$ no pico, o que pode originar sucesso de 100% (FULKERSON, 1978), diferentemente do que foi utilizado no presente estudo de $\geq 9\text{kg/leite/dia}$ nas quatro primeiras semanas de lactação.

6.2 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

O log de CCS durante os primeiros 90 dias de lactação do presente estudo foi menor nas novilhas tratadas com ATBS 16 dias antes do início da lactação em relação as não tratadas com ATBS. A diminuição de CCS no presente estudo indica que o tratamento com ATBS melhorou a saúde da glândula mamária de novilhas com lactações induzidas (NICKERSON et al., 2009). Esse efeito pode ser explicado pelo efeito combinado de cura de IIM em razão do uso do antibiótico injetável e com a prevenção de novas IIM em razão do uso do selante de tetos.

De forma semelhante ao presente estudo, outros estudos também observaram diminuição da CCS em novilhas tratadas com antibióticos antes do parto com as seguintes bases farmacológicas: Cefpirina Sódica intramamária (200 mg- OLIVER et al., 2003), Cloxacilina intramamário (600 mg - SAMPIMON et al., 2009), Tilosina injetável (10 mg/kg por 3 dias consecutivos após o parto - ATAEE et al., 2009), Hidroiodeto de Penetamato injetável (10g, 5g e 1g/novilha por três dias consecutivos - PASSCHYN et al., 2013) e com a associação de antibiótico intramamário e selante de tetos (62,5 g de Amoxicilina + 2,6 g de subnitrato de bismuto – MACHADO; BICALHO, 2018). No entanto diferente ao encontrado no presente estudo, em outras pesquisas o tratamento com antibiótico injetável não foi eficiente em diminuir a CCS e melhorar a saúde do úbere em novilhas (MIDDLETON et al., 2005; BORN et al., 2006).

6.3 PRODUÇÃO DE LEITE

A medida que foi se aproximando do início da lactação foi observado aumento do crescimento do úbere das novilhas, o que ocorreu em razão dos efeitos hormonais do protocolo de indução de lactação. Aos três dias antes do início da lactação, foi realizada a adaptação de todas as novilhas à ordenha e a massagem no úbere. Esses manejos foram realizados com intuito de tornar as novilhas menos reativas ao contato humano e ao estímulo da ordenha. Além disso, a massagem no úbere teve como objetivo promover a liberação do hormônio prolactina via endógena através da hipófise para promover o desenvolvimento da GM (LAKHANI et al., 2017).

A lactação iniciou no 21º dia do PIL, a média de produção de leite das novilhas foi de $15,19 \pm 2,69$ kg/leite/dia durante as duas primeiras 22 semanas de lactação. Não há estudos publicados que utilizaram protocolos semelhantes aos do presente estudo em novilhas tardias. No entanto, foi possível observar respostas semelhantes com novilhas com lactações induzidas da raça Jersolando aos 18 meses, estes animais produziram de 11 a 15 kg/leite/dia durante as primeiras 22 semanas de lactação (RAMGATTIE et al., 2014). Estudos prévios descreveram respostas de média de produção de leite inferiores ao do presente estudo com PILs semelhantes e em novilhas aptas para a reprodução: 6 kg/leite/dia (FULKERSON; MCDOWELL, 1975), 6,5 kg/leite/dia (DELOUIS et al., 1978) e 7 kg/leite/dia (FULKERSON, 1978). No entanto em outro estudo com novilhas leiteiras da raça Holandesa de 18 meses de idade com lactações induzidas obtiveram

maiores médias de produção de leite em relação ao nosso estudo, sendo essas de 18,9 kg/leite/dia aos 305 dias de lactação (MACRINA et al., 2014).

As variações nas produção de leite e taxas de sucesso em novilhas com lactações induzidas podem ser vinculadas à da incompleta mimetização das alterações fisiológicas que geralmente ocorrem entre o terço final de gestação e o parto em vacas e novilhas (RAMGATTIE et al., 2014). As principais variáveis que afetam o sucesso dos PIL são a fase do ciclo estral em que se encontram no início do PIL, variáveis como raça, idade, estado de saúde, ECC, absorção intramuscular dos hormônios aplicados no momento do PIL (SMITH; SCHANBACHER, 1973,1974) e as bases farmacológicas utilizadas (FREITAS, 2009). As novilhas da raça Jersolando do presente estudo tinham aproximadamente 34 meses de idade no início do PIL, sendo consideradas tardias, e mesmo não havendo pesquisas que abordem a idade ideal da indução de lactação em novilhas, os animais do presente estudo apresentavam maior capacidade de ingestão de alimentos e maior tecido parenquimatoso na GM, contribuindo também para produção de leite (BALL et al., 2000; MACRINA et al., 2014). Já em relação ao estudo onde novilhas 18 meses de idade produziram mais leite do que as deste estudo (MACRINA et al., 2014), possivelmente deve-se ao fato da variável genética, pois são tratam de novilhas da raça Holandesa onde apresentam uma maior potencial de produção de leite.

O tratamento com GnRH diminuiu a produção de leite no presente estudo, já o tratamento com ATBS antes início da lactação, não teve efeito na produção de leite. Estudos que utilizaram o tratamento com antibióticos e/ou selantes antes da primeira lactação em primíparas com lactações não induzidas também descreveram ausência de efeito sobre a produções de leite, porém nesses estudos utilizaram os seguintes medicamentos: antibióticos intramamários com formulação para vaca em lactação (Cloridrato de Pirlimicina - MIDDLETON et al., 2005 e Cefapirina - BORM et al., 2006), antibiótico injetável (10g, 5g e 1 g de Hidriodeto de Penetamato por três dias consecutivos - PASSCHYN et al., 2013) e antibiótico intramamário formulado para vacas em lactação (Amoxicilina - 62,5 mg) associado com selante de tetos (2,6 g de Subnitrato de Bismuto – MACHADO; BICALHO, 2018).

Por outro lado, em outros estudos foi observado aumento da produção de leite em primíparas que foram tratadas antes da primeira lactação com: antibióticos intramamários com formulações para vacas secas (Peniclinae Diidroestreptomicina – TRINIDAD; NICKERSON; LUTHER, 1990 e 600 mg de Cloxacilina – SAMPIMON et al., 2009), antibiótico injetável para vacas em lactação (200 mg Cefapirina sódica - OLIVER et al.,

2003), e 10 milhões de UI de Penetamato - KREIGER et al., 2007). No presente estudo, tinha como hipótese que as novilhas tratadas com antibiótico antes da primeira lactação tivessem uma maior produção de leite em relação as novilhas controle (OLIVER et al. 2003; SAMPIMON et al., 2009). No entanto, nem sempre esse aumento na produção de leite após este tratamento é observado, já que possivelmente seria interferida pelo manejo utilizado nas novilhas, prevalência e tipo dos patógenos presentes na GM, além dos medicamentos utilizados (PASSCHYN et al., 2013; NAQVI et al., 2018).

Diferentemente do esperado, o tratamento com GnRH, que teve objetivo de curar os CFs, influenciou negativamente a produção de leite em 8,6%, quando comparadas as demais novilhas. Não há relatos de estudos na literatura que relatam a diminuição da produção de leite em animais com a lactação induzida após o uso de GnRH para o tratamento de CFs. Uma possível explicação pode ser devido à sobrecarga metabólica que as novilhas que tiveram as lactações induzidas e foram submetidas a aplicação de GnRH sofreram. Em estudos que avaliaram uso de medicamentos aplicados durante a gestação de mulheres descreveram que tais tratamentos podem afetar negativamente o metabolismo hepático (JEONG, 2010), o que poderia explicar a menor produção de leite nas novilhas do presente estudo.

A produção de leite no presente estudo aumentou progressivamente entre as três primeiras semanas de lactação, semelhantemente ao observado por outros estudos com vacas e novilhas com lactações induzidas (RAMGATTIE et al., 2014; SMITH; SCHANBACHER, 1973). Após esse período, a produção de leite no presente estudo aumentou em um ritmo mais lento, até atingir a máxima produção (pico de lactação) entre a décima e décima primeira semana de lactação. Diferente ao encontrado em primíparas com parto natural, onde o pico de produção de leite se dá entre a 6ª semana de lactação (BJELLAND et al., 2011).

O mecanismo que leva vacas e novilhas com lactações induzidas a demorarem a atingir o pico de produção de leite ainda não é bem compreendido (MELLADO et al., 2011). Uma possível explicação pode ser pelo fato de estímulos incompletos provocados por hormônios exógenos injetáveis durante o PIL quando comparado a lactações não induzidas. Com isso é necessário maior período para o desenvolvimento da GM e dos alvéolos até atingir o pico de produção de leite (MELLADO et al., 2011; MACRINA et al., 2014; DELOUIS et al., 1978; COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011). É possível observar também que o pico de produção de leite em novilhas é ainda mais lento quando comparado ao de vacas, o que deve se

explicar pelas novilhas continuarem seu crescimento após o início da lactação (MAGLIARO et al., 2004; MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; MACRINA; KAUF; KENSINGER, 2011).

Apesar da demora para atingir o pico de produção, após este alcançado foi possível observar que a produção de leite nas novilhas induzidas se manteve em um maior período de tempo ao longo das semanas de lactação, quando comparado a estudos com animais não induzidos, onde a permanência do pico de lactação é menor (MAGLIARO et al., 2004; KENSINGER; BAUMAN; COLLIER, 1979). Uma das possíveis justificativas para a persistência da curva de lactação no uso de BST durante o PIL e quinzenalmente durante toda a lactação das novilhas, o que diminui a apoptose das células da GM e mantém os alvéolos funcionais por mais tempo ao longo da lactação (CAPUCO et al., 2003; MELLADO et al., 2006).

As novilhas do presente estudo produziram uma média de $16,22 \pm 1,04$ kg/leite/dia no pico de produção entre a décima e décima primeira semana de lactação, superior aos 7 kg/leite/dia encontrados por FULKERSON et al (1978). No entanto, os resultados de produção de leite foram inferiores aos estudos de Macrina, Tozer e Kensinger (2011) e Macrina et al. (2014), que descreveram produção de leite de 22,7 kg/leite/dia para novilhas de 15 meses e de 26,1 kg/leite/dia e 22,9 kg/leite/dia em novilhas com 18 e 14 meses, respectivamente. Em outros estudos também foi possível observar demora ao atingir picos de produção de leite em lactações induzidas, sendo esses de: 160 dias (MACRINA et al., 2014), 175 dias (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011), 61 dias (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975) em novilhas e 66 dias (KENSINGER; BAUMAN; COLLIER, 1979), 125 (MAGLIARO et al., 2004), 125 dias (MELLADO et al., 2006) em vacas.

6.4 COMPOSIÇÃO DO LEITE

As médias de teores de gordura ($4,74 \pm 0,22\%$), proteína ($3,55 \pm 0,14\%$), lactose ($4,48 \pm 0,12\%$), ST ($13,8 \pm 0,31\%$) e ESD ($9,03 \pm 0,18\%$) durante as coletas quinzenais de leite até o 90º dia de lactação foram similares ao de componentes de leite para vacas e primíparas não induzidas. Auld et al., (2007), descreveram teores de 4,04% gordura e 3,40% de proteína em vacas da raça Jersolando, semelhante às utilizadas no presente estudo. Entretanto, outros estudos descreveram diferentes composições de leite, tanto em vacas e/ou novilhas com lactações induzidas. Novilhas induzidas aos 6 meses de idade

produziram leite com 4,20%, de gordura, 3,05% proteína e 4,84% lactose (BALL et al., 2000) e 3,68 e 3,66% de gordura e 3,35 e 3,25% de proteína aos 15 meses de idade (MACRINA; TOZER; KENSINGER, 2011; MACRINA, KAUF; KENSINGER, 2011), respectivamente. Já em vacas da raça Holandesa com lactação induzida foram observados teores de 3,65% de gordura, 3,30% de proteína, 4,35% de lactose e 12,25% de sólidos totais (FREITAS, 2009), e Magliaro et al. (2004) relataram 3,80% de gordura e 3,34% de proteína.

No presente estudo, foram observados maiores teores de sólidos do leite (gordura, proteína e lactose) em comparação com resultados de Macrina; Tozer; Kensinger, (2011). Uma possível explicação para essa superioridade pode ser devido às novilhas utilizadas serem ½ Jersey, e sabe-se que animais dessa raça apresentam uma maior produção de sólidos quando comparado ao de raças Holandesas (XUE et al., 2011; AULDIST et al., 2007). Além disso, alguns estudos observaram maiores teores de gordura (JEWEL, 2002) e proteína (TERVIT et al., 1980; JEWEL, 2002) em novilhas e vacas com lactações induzidas. A maior produção de sólidos se deve provavelmente ao menor volume de leite produzido em animais induzidos, já que as altas produções de leite tendem a diluir os componentes do leite (MAGLIARO et al., 2004).

Quando os componentes do leite foram relacionados com o ECC, observou-se aumento do teor de gordura e diminuição dos teores de lactose e proteína em ECC > 3.5. O aumento do teor de gordura no leite em novilhas com ECC > 3.5 concorda com o encontrado por Freitas Junior et al. (2008) e Pires et al. (2013) no início da lactação. Esse fato pode ser explicado pela maior mobilização de reservas corporais no início da lactação e incorporação dos ácidos graxos não-esterificados na síntese de gordura do leite (KAY et al., 2005). A mobilização da reserva corporal contribui com menos de 10% dos ácidos graxos presentes no leite, porém, no início da lactação essa contribuição aumenta (BAUMAN, GRIINARI, 2003). Já o teor de proteína e lactose foram menores em animais com ECC > 3.5, o que difere do esperado, encontrado por Pires et al. (2013), uma vez que os dois componentes apresentam correlação genética positiva com o ECC (LOKER et al., 2012). A diminuição dos teores de proteína e lactose refletem a diminuição significativa do ESD, o que também difere dos demais estudos.

González & Campos (2003) citam que a lactose é o componente do leite com menor variabilidade, uma vez que está relacionada com a regulação da pressão osmótica na glândula mamária. Ou seja, maior produção de lactose determina maior produção de leite, com o mesmo teor de lactose.

A lactose tem importante papel na síntese do leite, uma vez que é o seu principal fator osmótico responsável por 50% desta variável, e no processo de síntese do leite puxa água para as células epiteliais mamárias. Em razão da estreita relação entre a síntese de lactose e a quantidade de água drenada para o leite, o conteúdo de lactose é o componente que tem menor variação em função de fatores ambientais

Um estudo evidenciou que o teor de lactose diminui significativamente com o avanço da lactação, sendo que nos primeiros sessenta dias ocorre o maior teor deste glicídeo (NORO et al., 2006)

6.5 PREVALÊNCIA DE IIM E DISTRIBUIÇÃO DE PATÓGENOS ISOLADOS DOS CASOS DE MASTITE

O presente estudo foi o primeiro em avaliar o uso de norfloxacinina injetável associado com selante de tetos 16 dias antes do início da lactação para redução de infecções intramamárias após o início da lactação. Há poucos estudos na literatura, que utilizaram antibiótico injetável em novilhas (NAQVI et al., 2018), limitando assim a comparação com os dados obtidos nesse estudo com outras pesquisas.

De acordo com os resultados do presente estudo, o tratamento com antibiótico injetável associado com selante de tetos para as novilhas com lactação induzida a base do antibiótico norfloxacinina injetável (ATBS) associada a selante de tetos (4g subnitrato de bismuto) reduziu a prevalência de IIM nos quartos mamários durante as duas primeiras semanas de lactação, em relação ao grupo não tratado com ATBS. A ocorrência de infecções intramamárias em novilhas já foi descrita em outros estudos (TRINIDAD; NICKERSON; ALLEY, 1990b). No presente estudo, a prevalência de IIM no 7º e 14º dia de lactação em novilhas com lactações induzidas foi de 18% para as novilhas tratadas com ATBS e 28% para as não-tratadas. Estes resultados estão dentro do encontrado em outros estudos que avaliaram prevalências de IIM em primíparas, com as lactações não induzidas, onde as médias de prevalências de IIM em: 12 a 45% (FOX et al., 2009), 21,5% (COMPTON et al., 2007a), 12,3 a 55% (PARKER et al., 2007), 12 a 57% (DE VLIEGHER et al., 2012).

As falhas em diminuir a prevalência de IIM após tratamento com antibióticos em novilhas se deve ao tipo de patógeno que está presente na GM, manejo, idade das novilhas, a associação ou não de selante de tetos, e a fatores vinculados à base do antibiótico utilizado e a forma de apresentação do antibiótico (injetável ou intramuscular- NAQVI et al., 2018; PARKER et al., 2007; PARKER et al., 2008). Novilhas tardias e não-prenhes, como as selecionadas no presente estudo, apresentam maiores frequências de isolamento de patógenos nas coletas no início da lactação, pois geralmente estes animais passam por maior tempo de período de risco para adquirirem IIM, quando comparado a novilhas mais jovens (DE VLIEGHER et al, 2004b).

De forma similar ao encontrado neste estudo, outras pesquisas também sugerem que o uso do tratamento com antibióticos e/ou selantes reduzem a prevalência de IIM no pós-parto em primíparas (OWENS et al., 2001). Estudos prévios avaliaram o tratamento preventivo contra IIM antes da primeira lactação em novilhas utilizando diferentes modos de apresentação de antibióticos (injetável ou intramuscular) e se este era associado ou não com selante de tetos. Assim foi observada diminuição da prevalência de IIM após o tratamento em novilhas com antibióticos intramamários (OLIVER et al., 2003; MIDDLETON et al., 2005; OLIVER et al., 2004), antibióticos injetáveis (ATAEE et al., 2009; PASSCHYN et al., 2013; KREIGER et al., 2007; BRYAN e TAYLOR, 2009), selantes de tetos (PARKER et al., 2008; MACHADO; BICALHO, 2018), e com a associação de selante de tetos com antibiótico intramamário (MACHADO; BICALHO, 2018). Por outro lado, Parker et al. (2008) em estudo com antibiótico injetável a base detilosina 27 dias antes do parto em novilhas não induzidas não observaram diminuição da prevalência de IIM no início da lactação.

Os patógenos mais frequentemente isolados durante as duas primeiras semanas de lactação no presente estudo foram: SCN e *S. aureus*. Estes resultados são semelhantes aos encontrados em outros estudos com novilhas com lactações não induzidas, nas quais o SCN foi o patógeno mais frequentemente isolado no pós parto (OLIVER et al., 2003; COMPTON et al., 2007b; PARKER et al., 2007; PARKER et al., 2008; PASSCHYN et al., 2013; NICKERSON et al., 1995; DE VLIEGHER, et al., 2012; MACHADO; BICALHO, 2018; NAQVI et al., 2018).

Os efeitos das IIM ocasionadas por SCN sobre a produção de leite são limitados ou até mesmo ausentes (COMPTON et al., 2007b; PIEPERS et al., 2013). O efeito limitado do patógeno SCN na produção de leite pode estar vinculado ao ocorrido no presente estudo, onde novilhas controle não tratadas com ATBS e com maior prevalência

de IIM não apresentaram uma menor produção de leite em comparação com as tratadas com ATBS.

Os quartos mamários tratados com ATBS tiveram 0,56 menos risco de IIM quando comparados ao grupo controle nas duas primeiras semanas de lactação. Estes resultados podem ter ocorrido em razão da ação do antibiótico injetável na cura dos casos de IIM existentes e redução da prevalência de IIM no início da lactação (SAMPIMON et al., 2009; OLIVER et al., 2003). Além disso, o uso do selante auxiliou na formação de uma barreira física inerte na cisterna do teto, prevenindo a entrada de patógenos no interior da GM (PARKER et al., 2008; BRADLEY, 2002; LIM et al., 2007).

O antibiótico injetável utilizado neste estudo antes da lactação induzidas das novilhas foi a base de norfloxacin (15,12 g). A norfloxacin é um antimicrobiano do grupo das fluorquinolonas, os quais atuam no núcleo da bactéria, inibindo a atividade da enzima bacteriana DNA girase, envolvida na replicação do DNA, o que modifica a sua estrutura e ocasiona a produção de polipeptídeos. Esse antibiótico é indicado para tratamento de *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus* spp, *Corynebacterium* spp e apresenta rápido pico de concentração no sangue em duas horas com meia vida de 3 a 7 horas, sendo metabolizada no fígado e eliminado pela urina. Apesar de ser mais comum encontrar estudos na literatura com o uso de antibióticos intramusculares em relação antibióticos injetáveis, os antibióticos injetáveis apresentam vantagens contra, principalmente no requisito de praticidade e segurança dos funcionários no momento do manejo de aplicação dos medicamentos, além disso o manejo para realização do tratamento injetável é menor pois estes são de aplicação intramuscular e única, não havendo necessidade de aplicar antibiótico individualmente nos quatro quartos mamários (NICKERSON et al., 2009; PASSCHYN et al., 2013). Apesar de no presente estudo não ter sido avaliada cura bacteriológica após o tratamento com antibiótico injetável, nos estudos com vacas que compararam a cura bacteriológica dos antibióticos injetáveis vs intramamários, ambos tratamentos apresentaram curas bacteriológicas semelhantes (ST-ROSE et al., 2003; MCDOUGALL et al., 2007).

O selante de tetos utilizado no presente estudo tem como composição subnitrato de bismuto (4g), que apresenta o efeito de barreira física que se mantém até que o mesmo seja retirado na primeira ordenha após parto (BERRY; HILLERTON, 2002), permanecendo em um maior período na GM quando comparado a antibióticos intramamários (GRUET et al., 2001; BRADLEY, 2002). De acordo com outros estudos o uso de selante de tetos em novilhas não induzidas diminuiu o risco de MC e MSC em

41 a 84% (PARKER et al., 2007). No presente estudo, foi possível observar resíduos de selante no leite até o sétimo dia de lactação, fato também relatado por outros pesquisadores quando verificaram manchas de leite com selante em até três semanas após o parto em vacas (BERRY; HILLERTON, 2002; PARKER et al., 2007; PARKER et al., 2008). Sendo assim, recomenda-se tomar cuidado devido cuidado para que os resíduos de selante não sejam confundidos com sintomas de mastite clínica no início da lactação nas em animais tratados com selantes antes da lactação.

Diferentemente ao apresentado no presente estudo, a associação de selante de tetos (2,6 subnitrato de bismuto) e antibiótico injetável (5g de Tilosina, por três dias consecutivos) 30 dias antes do parto em novilhas não diminuiu a prevalência de IIM no início da lactação, no entanto neste estudo foi possível observar que os quartos mamários tratados apenas selante houve uma menor prevalência de IIM e menor risco de IIM (PARKER et al., 2008). Já em um outro estudo utilizando selante de tetos (2,6 g de subnitrato de bismuto) associado ou não antibiótico intramamário (62,5 mg de amoxicilina) em novilhas da raça Holandesa, foi possível verificar que a associação dos medicamentos reduziu a CCS e a incidência de MC e MSC quando comparados aos animais tratados somente com antibiótico ou selante separadamente (MACHADO; BICALHO, 2018).

Nosso estudo apresenta como limitação a não avaliação dos efeitos isolados do antibiótico injetável e/ou selante de tetos. No entanto, foi observado efeito do tratamento ATBS devido a menor prevalência de IIM e menor CCS, em relação aos animais não tratados. No entanto era esperado que o uso do antibiótico injetável aumentasse a produção de leite, semelhante ao encontrado em um estudo em novilhas com alta prevalência de IIM (NICKERSON et al., 2009).

6.6 CISTOS FOLICULARESE RETORNO À CICLICIDADE

Dentre as novilhas que foram induzidas e passaram pela avaliação do *status* reprodutivo (n=106) aos 15 dias de lactação, 33,01% (n=35) apresentaram cistos foliculares (CFs). Estudos prévios relataram a ocorrência de cistos foliculares em vacas e novilhas após aplicações hormonais realizadas durante o PIL (HARNESS et al 1977; DELOUIS et al., 1978; JORDAN et al., 1981; FREITAS, 2009; COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975; ERB et al., 1973). Em vacas com lactações induzidas foi reportada

ocorrência de 27,27% (COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975), 31,25% (HARNESS et al 1977) e 100% (FREITAS, 2009). O surgimento de CFs pode ser resultado do uso de altas dosagens hormonais (estrógeno e progesterona) aplicadas durante os PILs (ERB et al., 1973; COOK et al., 1990), ou por alguma causa desconhecida no equilíbrio endócrino do eixo hipotalâmico-hipofisário (COOK et al., 1990; IJAZ; FAHNING; ZEMJANIS, 1987).

No presente estudo, após 30 dias de tratamento com GnRH para luteinizações dos CFs foi avaliado o *status* reprodutivo das novilhas, aos 45 dias da lactação, e 10,3% (n=11) das novilhas apresentavam CFs. As novilhas tratadas com ATBS tiveram maior ciclicidade aos 45 dias de lactação do que as do grupo controle não tratadas com ATBS (68% vs 35%). Já o tratamento com GnRH não influenciou ao retorno à ciclicidade aos 45 dias de lactação, quando comparado as controle não tratadas com GnRH (57% vs 46%). Uma das possíveis explicações para as novilhas tratadas com ATBS para a maior ciclicidade se deve a esses animais apresentarem menor CCS e menor prevalência de IIM, e isso propiciou a uma melhor ciclicidade aos 45 dias de lactação.

Diferentemente do esperado, o tratamento com GnRH para tratamento de cistos foliculares não influenciou na ciclicidade aos 45 dias de lactação. A hipótese do presente estudo foi de que o tratamento com o GnRH auxiliaria na luteinização do CFs devido a liberação de LH que o GnRH proporciona, contribuindo assim para a cura de CFs e a volta da ciclicidade das novilhas. Com o resultado divergente do presente estudo, em outra pesquisa foi reportada involução de CFs após a indução de lactação, mediante uso de 10.000 UI de gonadotrofina coriônica equina (HCG, COLLIER; BAUMAN; HAYS, 1975), como também pela própria administração com GnRH isolado (100 ug - JORDAN et al., 1981) ou associado com PGF2 α (FREITAS, 2009). Já em vacas com CFs e com as lactações não induzidas 80% responderam ao tratamento com GnRH (GARVERICK, 1997).

Pode-se sugerir que possivelmente houve alta taxa de cura espontânea dos CFs nas novilhas do estudo e assim o GnRH não propiciou a cura dos CFs. Segundo Garverick (1997) a maioria dos cistos foliculares regridem espontaneamente ao longo do tempo e são substituídos por novas ondas foliculares, no entanto os mecanismos que levam a regressão espontânea de CFs ainda são desconhecimentos (WILTBANK; GUMEN; SARTORI, 2002), curas espontâneas de CFs também foram relatados em estudos com vacas com as lactações não induzidas (WILTBANK; GUMEN; SARTORI, 2002).

6.7 TAXA DE CONCEPÇÃO INICIAL E TAXA DE PREENHEZ ACUMULADA

Durante o PIL não foi observada a manifestação de estro nas novilhas do presente estudo, no entanto a manifestação de estro em vacas após o PIL foi reportado por Freitas (2009). O período voluntário de espera para realização da primeira IATF no presente foi de 80 dias de lactação, superior aos 50 dias adotados em vacas em lactações como relatado por Mellado et al. (2006).

As novilhas com lactações induzidas foram submetidas à primeira IATF aos 80º dia de lactação e após 30 dias da primeira IA foi realizado o primeiro diagnóstico de gestação, para determinar a primeira taxa concepção (nº de novilhas submetidas a IATF aos 80º dia de lactação e prenhes no 120º dia de lactação). A média da taxa de concepção entre os grupos experimentais aos 120 dias de gestação foi de 57,5%, uma vez que 53 novilhas foram diagnosticadas prenhes. Semelhante médias nas taxas na primeira concepção foram encontradas em novilhas não submetidas a um PIL, sendo essas média: 59% para novilhas da raça Holandesa (NORMAN; HUTCHISON; MILLER, 2010), 61,3% em novilhas da raça Holandesa, 51,1% em novilhas da raça Jersey e 54,7% em novilhas da raça Jersolando ambas com idade de 13 a 15 meses de idade (XU; BURTON, 1999).

Os tratamentos com ATBS e GnRH não influenciaram a taxa de concepção aos 80 dias de lactação. As taxas de concepção para as novilhas tratadas com ATBS foram de 48% e as suas controle 67%, já as tratadas com GnRH foram de 49% e não tratadas com GnRH 66%.

A taxa média de prenhez acumulada (novilhas que foram inseminadas e conceberam dentro de um período) foi avaliada ao 200º dia de lactação. A média geral em todas as novilhas, independentemente do tratamento foi de 76,2%, o que pode ser considerada uma alta taxa de concepção, por se tratar de novilhas que tiveram a lactação induzida. Além disso, esta taxa de concepção é similar àquela descrita para novilhas nulíparas que não foram submetidas a um PIL em outros estudos: 64,2% com novilhas da raça Jersey, 71,8% da raça Holandesa e 70,4% da raça Jersolando (XU; BURTON, 1999), 68% para novilhas da raça Holandesa (MACMILLAN et al., 2017). Estes resultados sugerem que o presente PIL não afetou a performance reprodutiva das novilhas quando comparado ao de nulíparas não induzidas. Resultados inferiores de 54% de taxas de prenhez acumulada após 5 IATFs foram obtidos em nulíparas não submetidas a indução de lactação antes da primeira prenhez (NORMAN et al., 2010).

A taxa de prenhez pode ser influenciada por variáveis como idade, ECC e peso das novilhas, temperatura ambiente, qualidade do sêmen, inseminador, número de IA realizadas (HEALY et al., 2013). Como observado no presente estudo, a variável idade das novilhas ao início do PIL não afetou a performance reprodutiva (DONOVAN et al., 2003; CERCHIARO et al., 2007).

O uso de GnRH para tratamento de cistos foliculares não influenciou na taxa de concepção final. Já o tratamento com ATBS afetou negativamente a taxa de concepção final, o que foi um resultado inesperado, principalmente por ter se tratado do grupo experimental com menor prevalência de IIM e menor CCS, e é sabido que que animais que apresentam melhor saúde no úbere possuem uma melhor eficiência reprodutiva (WOLFENSON et al., 2015). Diferente do presente estudo, resultados descritos por Machado e Bicalho (2018), relatam que o tratamento com antibiótico e selante de tetos não influenciou a performance reprodutiva de novilhas.

Além disso ocorrência de CFs no início da lactação não influenciou a taxa de concepção final, semelhante ao observado com vacas da raça Holandesa que apresentaram CFs após o PIL (FREITAS, 2009).

7. CONCLUSÃO

O protocolo de indução de lactação foi eficiente em promover a produção de leite em novilhas tardias da raça Jersolando e não alterou a composição de leite. O tratamento com Norfloxacin injetável associada com selante de tetos reduziu a prevalência de IIM nas duas primeiras semanas de lactação e diminuiu o log de CCS durante até 90º dia de lactação, no entanto não aumentou a produção de leite durante as primeiras 22 semanas de lactação. Por outro lado, o uso do GnRH não promoveu a luteinização dos CFs e o aumento da ciclicidade aos 45 dias de lactação, no entanto, não influenciou na taxa de prenhez acumulada. As novilhas tratadas com GnRH produziram menos leite quando comparadas com as não tratadas.

REFERÊNCIAS

AKERS, R. M. **Lactation and the Mammary Gland**. Iowa State Press, Blackwell Publishing Professional, Ames, IA, 2002.

AKERS, R. M. Major Advances Associated with Hormone and Growth Factor Regulation of Mammary Growth and Lactation in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1222–1234, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206721919>>.

AKERS, R. M. A 100-Year Review : Mammary development and lactation 1. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10332–10352, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12983>>.

AKERS, R. M.; ELLIS, S. E.; BERRY, S. D. Ovarian and IGF-I axis control of mammary development in prepubertal heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 2, p. 259–267, 2005.

ANHOLDER, T. V; PSOMER, G. O.; RUIF, A. D. E. K. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle : a review. **Reprod. Nutr. Dev.** v. 46, p. 105–119, 2006.

AULDIST, M. J.; PYMAN, M. F. S.; GRAINGER, C.; MACMILLAN, K. L. Comparative Reproductive Performance and Early Lactation Productivity of Jersey × Holstein Cows in Predominantly Holstein Herds in a Pasture-Based Dairying System. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 10, p. 4856–4862, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030207719525>>.

ATAEE, O.; HOVARESHTI, P.; BOLOURCHI, M.; BARIN, A.; GERAMI, A.; NIASARI-NASLAJI, A. Effect of systemic antibacterial administration during prepartum period on coagulase negative Staphylococcal intramammary infection in Holstein heifers. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 10, n. 3, p. 255–259, 2009.

BALL, S.; POLSON, K.; EMENY, J.; EYESTONE, W.; AKERS, R. M. Induced lactation in prepubertal Holstein heifers. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 11, p. 2459–2463, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75137-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75137-X)>.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annu Rev Nutr**, v. 23, n., p. 203–227, 2003.

BERRY, E. A.; HILLERTON, J. E. The Effect of an Intramammary Teat Seal on New Intramammary Infections. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2512–2520, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74334-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74334-8)>.

BERRY, E. A.; HILLERTON, J. E. Effect of an intramammary teat seal and dry cow antibiotic in relation to dry period length on postpartum mastitis. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 2, p. 760–65, fev. 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17235153>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

BERRYHILL, G. E.; TROTT, J. F.; HOVEY, R. C. Mammary gland development—It's

not just about estrogen1. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 1, p. 875–883, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215007687>>.

BJELLAND, D. W.; WEIGEL, K. A.; HOFFMAN, P. C.; ESSER, N. M.; COBLENTZ, W. K.; HALBACH, T. J. Production, reproduction, health, and growth traits in backcross Holstein × Jersey cows and their Holstein contemporaries1. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 5194–5203, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203021100539X>>.

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

BYATT, J. C.; SORBET, R. H.; EPPARD, P. J.; CURRAN, T. L.; CURRAN, D. F.; COLLIER, R. J. The Effect of Recombinant Bovine Placental Lactogen on Induced Lactation in Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 3, p. 496–503, 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030297759629>>.

BORM, A. A.; FOX, L. K.; LESLIE, K. E.; HOGAN, J. S.; ANDREW, S. M.; MOYES, K. M.; OLIVER, S. P.; SCHUKKEN, Y. H.; HANCOCK, D. D.; GASKINS, C. T.; OWENS, W. E.; NORMAN, C. Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk production, and reproductive performance in dairy heifers. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 6, p. 2090–8, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16702275>>.

BRYAN, M.; TAYLOR, K. Periparturient use of parenteral micronised procaine penicillin to reduce the risk of clinical mastitis in heifers after calving. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1–2, p. 143–149, 2009.

CAPUCO, A. V.; ELLIS, S. E.; HALE, S. A.; LONG, E.; ERDMAN, R. A.; ZHAO, X.; PAAPE, M. J. Lactation persistency : Insights from mammary cell proliferation studies The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide Web at : Lactation persistency : Insights from mammary cell proliferat. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 18–31, 2003.

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. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030275847461>>.

COMPTON, C. W. R.; HEUER, C.; PARKER, K.; MCDOUGALL, S. Risk Factors for Peripartum Mastitis in Pasture-Grazed Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 9, p. 4171–4180, 2007a. Disponível em: <<http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030207718763/fulltext>>.

COMPTON, C. W. R.; HEUER, C.; PARKER, K.; MCDOUGALL, S. Epidemiology of mastitis in pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 9, p. 4157–70, 2007b. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030207718751>>.

CONVEY, E. M. Serum hormone concentrations in ruminants during mammary growth, lactogenesis, and lactation. A review. *Journal of dairy science*. v.57 p .905,1974.

COOK, D. L.; SMITH, C. A.; PARFET, J. R.; YOUNGQUIST, R. S.; BROWN, E. M.; GARVERICK, H. A. Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cattle. **Reproduction**, v. 90, n. 1, p. 37–46, 1990. Disponível em: <<http://www.reproduction-online.org/content/90/1/37.short%5Cnhttp://www.reproduction-online.org/cgi/doi/10.1530/jrf.0.0900037>>

CUNNINGHAM, J.G Tratado de Fisiologia Veterinária. 4. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

DE VliegHER, S.; LAEvens, H.; BARKEMA, H. W.; DOHOO, I. R.; STRYHN, H.; OPSOMER, G.; DE KRUIF, A. Management Practices and Heifer Characteristics Associated with Early Lactation Somatic Cell Count of Belgian Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 937–947, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030204732385>>.

DE VliegHER, S.; BARKEMA, H. W.; STRYHN, H.; OPSOMER, G.; DE KRUIF, A. Impact of Early Lactation Somatic Cell Count in Heifers on Milk Yield Over the First Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 3, p. 938–947, 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030205727612>>.

DE VliegHER, S.; FOX, L. K.; PIEPERS, S.; MCDOUGALL, S.; BARKEMA, H. W.; ØDEGAARD, S. A.; NISHIDA, S.; YAMAGUCHI, T.; HAESEBROUCK, F.; HAESEBROUCK, F.; NORMAN, C. Invited review: Mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 3, p. 1025–40, mar. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22365187>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

DELOUIS, C.; DJIANE, J.; KANN, G.; TERQUI, M.; HEAD H., H.; PONT, J.; DE FONTAUBERT, Y.; CHESNÉ, P. Induced lactation in cows and heifers by short-term treatment with steroid hormones. **Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.**, v. 18, n. 3, p. 721–734, 1978. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/rnd:19780410>>.

DINGWELL, R. T.; LESLIE, K. E.; SCHUKKEN, Y. H.; SARGEANT, J. M.; TIMMS, L. L.; DUFFIELD, T. F.; KEEFE, G. P.; KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; CONKLIN, J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. v. 63, p. 75–89, 2004.

EDMONSON, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**.v. 72, p. 68–78, 1989.

ERB, R. E.;MONK, E. L., CALLAHAN, C. J., and MOLLETT, T. A. 1973. Endocrinology of induced ovarian follicular cysts. **Journal of Animal Science**. v.37 (Abstr.), 1973.

ERB, R. E.; MALVEN, P. V.; MONK, E. L.; MOLLETT, T. A.; SMITH, K. L.; SCHANBACHER, F. L.; WILLETT, L. B. 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. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030276843809>>.

FREITAS JÚNIOR, J. E. D.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; RENNÓ, F. P.; MELLO, M. T. P. D.; CARVALHO, A. P. D.; CALDEIRA, L. A. Efeito da condição corporal ao parto sobre o desempenho produtivo de vacas mestiças Holandês × Zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n., p. 116–121, 2008.

FREITAS, P. R.C. Indução artificial de lactação em bovinos. Dissertação (Mestrado em produção animal) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2009.

FOX, L. K.; CHESTER, S. T.; HALLBERG, J. W.; NICKERSON, S. C.; PANKEY, J. W.; WEAVER, L. D. Survey of Intramammary Infections in Dairy Heifers at Breeding Age and First Parturition. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 7, p. 1619–1628, 1995. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030295767868>>.

FULKERSON, W. H.; MCDOWELL, G. H. Artificial induction of lactation in cattle by use of dexamethasone trimethylacetate. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 2, p. 183–187, 1975.

FULKERSON, W. J. Artificial Induction of Lactation: A Comparative Study in Heifers. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 31, n. 1, p. 65–72, 1978.

FOX, L. K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1–2, p. 82–88, 2009.

GARVERICK, H. A. Ovarian Follicular Cysts in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 5, p. 995–1004, 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030297760259>>.

GOLDER, H. M.; HODGE, A.; LEAN, I. J. Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7370–7380, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11114>>.

GREEN, M. J.; GREEN, L. E.; MEDLEY, G. F.; SCHUKKEN, Y. H.; BRADLEY, A. J. Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2589–2599, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74343-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74343-9)>.

GRUET, P.; MAINCENT, P.; BERTHELOT, X.; KALTSATOS, V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 50, n. 0169–409X, p. 245–259, 2001. Disponível em: <[c:%5CKARSTEN%5CPDFs%5CStaphylokokken-PDFs%5CStaph-2001%5CGruet et al.-Bovine mastitis and intramammary drug delivery- review and perspectives.pdf](http://www.scribd.com/document/55555555/5CKARSTEN%5CPDFs%5CStaphylokokken-PDFs%5CStaph-2001%5CGruet%5Cal.-Bovine%5Cmastitis%5Cand%5Cintramammary%5Cdrug%5Cdelivery-%5Creview%5Cand%5Cperspectives.pdf)>.

GÜMEN, A.; SARTORI, R.; COSTA, F. M. J.; WILTBANK, M. C. A GnRH/LH surge without subsequent progesterone exposure can induce development of follicular cysts. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 1, p. 43–50, 2002. Disponível em: <<http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030202740514/fulltext>>.

HAMILTON, S. A.; GARVERICK, H. A.; KEISLER, D. H.; XU, Z. Z.; LOOS, K.; YOUNGQUIST, R. S.; SALFEN, B. E. Characterization of Ovarian Follicular Cysts and Associated Endocrine Profiles in Dairy Cows 1. **Biology of Reproduction**. v. 98, p. 890–898, 1995.

HARMON, R. J. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2103–2112, 1994. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030294771538>>.

HARNESS, J. R.; ANDERSON, R. R.; THOMPSON, L. J.; EARLY, D. M.; YOUNIS, a. K. Induction of Lactation by Two Techniques: Success Rate, Milk Composition, Estrogen and Progesterone in Serum and Milk, and Ovarian Effects. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 12, p. 1725–1735, 1978. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030278837941>>.

HEALY, A. A.; HOUSE, J. K.; THOMSON, P. C. Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 3, p. 1905–1914, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213000568>>.

HERTL, J. A.; SCHUKKEN, Y. H.; TAUER, L. W.; WELCOME, F. L.; GRÖHN, Y. T. Does clinical mastitis in the first 100 days of lactation 1 predict increased mastitis occurrence and shorter herd life in dairy cows? **Journal of Dairy Science**, p. 2309–2323, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217311980>>.

HIGGINS, H. M.; GOLDING, S.; MOUNCEY, J.; NANJIANI, I.; COOK, A. J. C. Moving towards a reduction in antimicrobial use: Understanding veterinarians' prescribing decisions on antibiotic dry cow therapy (IN PREPARATION). **Journal of Dairy Science**, p. 1–8, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11923>>.

IJAZ, A.; FAHNING, M. L.; ZEMJANIS, R. Treatment and control of cystic ovarian disease in dairy cattle : a review. **British Veterinary Journal**. v.143, n.3, p.226 -237, 1987.

JAEGER, S.; VIRCHOW, F.; TORGERSON, P. R.; BISCHOFF, M.; BINER, B.; HARTNACK, S.; RÜEGG, S. R. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7419–7426, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217306070>>.

JEONG, H. Altered drug metabolism during pregnancy: hormonal regulation of drug-metabolizing enzymes. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 6, n. 6, p. 689–699, 2010. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425251003677755>>.

JEWELL, T. Artificial Induction of Lactation in Nonbreeder Dairy Cows . **Department of Dairy Science**, 2002.

JORDAN, D. L.; ERB, R. E.; MALVEN, P. V.; CALLAHAN, C. J.; VEENHUIZEN, E.

L. Artificial induction of lactation in cattle: Effect of modified treatments on milk yield, fertility, and hormones in blood plasma and milk. **Theriogenology**, v. 16, n. 3, p. 315–329, 1981.

KAY, J. K.; WEBER, W. J.; MOORE, C. E.; BAUMAN, D. E.; HANSEN, L. B.; CHESTER-JONES, H.; CROOKER, B. A.; BAUMGARD, L. H. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. **J Dairy Sci**, v. 88, n. 11, p. 3886–3893, 2005.

KENSINGER, R. S.; BAUMAN, D. E.; COLLIER, R. J. Season and treatment effects on serum prolactin and milk yield during induced lactation. **Journal of dairy science**, v. 62, n. 12, p. 1880–1888, 1979. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83518-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83518-3)>.

KREIGER, M.; FRITON, G. M.; HOFER, J.; FUCHS, K.; WINTER, P. Effects of periparturient systemic treatment with penethamate hydriodide on udder health and milk yield of dairy heifers. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 4, p. 392–398, 2007

LAKHANI, P.; THAKUR, A.; KUMAR, S.; SINGH, P. Artificial Induction of Lactation in Bovines: Scope and Limitations. **International Journal of Livestock Research**, v. 7, n.4, p.1, 2017. Disponível em: <<http://www.ejmanager.com/fulltextpdf.php?mno=255249>>.

LEBLANC, S. J.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1267–1279, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206721956>>.

LIM, G. H.; LESLIE, K. E.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. F.; TIMMS, L. L.; DINGWELL, R. T.; BARKEMA, H. W. Adherence and efficacy of an external teat sealant to prevent new intramammary infections in the dry period. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 3, p. 1289–300, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17297105>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

LOKER, S.; BASTIN, C.; MIGLIOR, F.; SEWALEM, A.; SCHAEFFER, L. R.; JAMROZIK, J.; ALI, A.; OSBORNE, V. Genetic and environmental relationships between body condition score and milk production traits in Canadian Holsteins. **J Dairy Sci**, v. 95, n. 1, p. 410–419, 2012.

LÓPEZ-HELGUERA, I.; COLAZO, M. G.; GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F. Factors associated with ovarian structures and intrauterine fluid in the postpartum period in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3925–3933, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216300285>>.

MACHADO, V. S.; BICALHO, R. C. Prepartum application of internal teat sealant or intramammary amoxicillin on dairy heifers: Effect on udder health, survival, and performance. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1388–1402, 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217311219>>.

MACMILLAN, K.; LOREE, K.; MAPLETOFT, R. J.; COLAZO, M. G. Short communication: Optimization of a timed artificial insemination program for reproductive

management of heifers in Canadian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 4134–4138, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217301753>>.

MACRINA, A. L.; KAUF, A. C. W.; KENSINGER, R. S. Effect of bovine somatotropin administration during induction of lactation in 15-month-old heifers on production and health. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 9, p. 4566–4573, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030211004681>>.

MACRINA, A. L.; TOZER, P. R.; KENSINGER, R. S. Induced lactation in pubertal heifers: Efficacy, response to bovine somatotropin, and profitability. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1355–1364, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030211000907>>.

MACRINA, A. L.; KAUF, A. C. W.; PAPE-ZAMBITO, D. A.; KENSINGER, R. S. Induced lactation in heifers: Effects of dexamethasone and age at induction on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1446–1453, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030214000368>>.

MAGLIARO, A.L., S.A. FORD, L. O’CONNOR, L.D. MULLER, R.GRABOSKI, and R.S. KENSINGER. Induced lactation of nonpregnant cows or use of replacement heifers: a profitability comparison. **Journal of Dairy Science** v. 82, n.1 p.19, 1999.

MAGLIARO, A. L.; KENSINGER, R. S.; FORD, S. A.; O’CONNOR, M. L.; MULLER, L. D.; GRABOSKI, R. Induced Lactation in Nonpregnant Cows: Profitability and Response to Bovine Somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3290–3297, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030204734657>>.

MCDUGALL, S.; AGNEW, K. E.; CURSONS, R.; HOU, X. X.; COMPTON, C. R. W. Parenteral Treatment of Clinical Mastitis with Tylosin Base or Penethamate Hydriodide in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p. 779–789, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203020771562X>>.

MELLADO, M.; ANTONIO-CHIRINO, E.; MEZA-HERRERA, C.; VELIZ, F. G.; AREVALO, J. R.; MELLADO, J.; DE SANTIAGO, a. Effect of lactation number, year, and season of initiation of lactation on milk yield of cows hormonally induced into lactation and treated with recombinant bovine somatotropin. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 9, p. 4524–4530, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4152>>.

MELLADO, M.; NAZARRE, E.; OLIVARES, L.; PASTOR, F.; ESTRADA, a. Milk production and reproductive performance of cows induced into lactation and treated with bovine somatotropin. **Animal Science**, v. 82, n. 4, p. 555–559, 2006.

MEYER, M. J.; CAPUCO, A. V.; BOISCLAIR, Y. R.; VAN AMBURGH, M. E. Estrogen-dependent responses of the mammary fat pad in prepubertal dairy heifers. **Journal of Endocrinology**, v. 190, n. 3, p. 819–827, 2006.

MIDDLETON, J. R., LUBY .C. D., STEEVENS, B. J., J. Lakritz, and Bader, G. R. Effect of prepartum intramammary treatment with pirlimycin hydrochloride on prevalence of early first-lactation mastitis in dairy heifers. **Journal. Animal. Vet. Med.** v. 227, p.1969–1974, 2005.

MOHAN, K.; SHRIDHAR, N. B.; JAYAKUMAR, K.; HONNAPPA, T. G.; MADHUSUDHAN, H. S. Lactation induction protocols and cost benefit analysis in repeat cows, **Indian J. Anim. Res.** v. 44, n. 1, p. 44–47, 2010.

MUHAMMAD, G.; RASHID, I.; FIRYAL, S.; SAQIB, M. Lactation in Dry Barren (Infertile) Dairy Cows and Buffaloes: A Review. **Scholar's Adv. Anim. Vet. Res.**, v. 2, n. 4, p. 205–211, 2016.

NAQVI, S. A.; DE BUCK, J.; DUFOUR, S.; BARKEMA, H. W. Udder health in Canadian dairy heifers during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 3233–3247, 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218300699>>.

NICKERSON, S. C.; OWENS, W. E.; BODDIE, R. L. Mastitis in Dairy Heifers: Initial Studies on Prevalence and Control. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 7, p. 1607–1618, 1995. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030295767856>>.

NICKERSON, S. C. Control of heifer mastitis: Antimicrobial treatment-An overview. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1–2, p. 128–135, 2009.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). Laboratory handbook on bovine mastitis. Nacional Mastitis Council, New Prague MN. 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, 381p. 20101.

NORMAN, H. D.; HUTCHISON, J. L.; MILLER, R. H. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3880–3890, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030210004078>>.

NORENDRAN, R.R.; HACKER; BATRA, T.R.; BURNSINE, E.B. Hormonal Induction of lactation in the bovine: Mammary Gland Histology and milk Composition, **Journal of Dairy Science**.v.57, n.11, p.1334-1340, 1974.

OLIVER, S. P.; LEWIS, M. J.; GILLESPIE, B. E.; DOWLEN, H. H. Influence of Prepartum Antibiotic Therapy on Intramammary Infections in Primigravid Heifers During Early Lactation. **J. Dairy Sci.**, v. 75, n. 2, p. 406–414, 1992. Disponível em: <<http://jds.fass.org/cgi/content/abstract/75/2/406>>.

OLIVER, S. P.; LEWIS, M. J.; GILLESPIE, B. E.; DOWLEN, H. H.; JAENICKE, E. C.; ROBERTS, R. K. Prepartum Antibiotic Treatment of Heifers: Milk Production, Milk Quality and Economic Benefit. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1187–1193, 2003. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030203737023>>.

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

OWENS, W.E., NICKERSON, S.C., BODDIE, R.L., TOMITA, G.M., RAY, C.H. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. **Journal of Dairy Science** v.84, p. 814–817, 2001.

PASSCHYN, P.; PIEPERS, S.; DE VliegHER, S. Systemic prepartum treatment of end-term dairy heifers with penethamate hydriodide: Effect on udder health, milk yield, and culling until 120 days in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6324–6335, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213005468>>

PARKER, K. I.; COMPTON, C. W. R.; ANNISS, F. M.; WEIR, a; HEUER, C.; MCDOUGALL, S. Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 1, p. 207–218, 2007. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72622-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72622-X)>.

PARKER, K. I.; COMPTON, C. W.; ANNISS, F. M.; HEUER, C.; MCDOUGALL, S. Quarter-level analysis of subclinical and clinical mastitis in primiparous heifers following the use of a teat sealant or an injectable antibiotic, or both, precalving. **J Dairy Sci**, v. 91, n. 1, p. 169–181, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18096938>>.

PIEPERS, S.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H. W.; DE KRUIF, A.; DE VliegHER, S. Heifers infected with coagulase-negative staphylococci in early lactation have fewer cases of clinical mastitis and higher milk production in their first lactation than noninfected heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 5, p. 2014–2024, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030210001906>>.

PIEPERS, S.; SCHUKKEN, Y. H.; PASSCHYN, P.; DE VliegHER, S. The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 8, p. 5095–5105, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213004438>>

PIRES, J. A.; DELAVALAUD, C.; FAULCONNIER, Y.; POMIES, D.; CHILLIARD, Y. Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows. **J Dairy Sci**, v. 96, n. 10, p. 6423–6439, 2013.

PROBO, M.; COMIN, A.; MOLLO, A.; CAIROLI, F.; STRADAIOLI, G.; VERONESI, M. C. Reproductive performance of dairy cows with luteal or follicular ovarian cysts after treatment with buserelin. **Animal Reproduction Science**, v. 127, n. 3–4, p. 135–139, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.07.019>>.

RABIEE, a R.; LEAN, I. J. The effect of internal teat sealant products (Teatseal and Orbeseal) on intramammary infection, clinical mastitis, and somatic cell counts in

lactating dairy cows: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 11, p. 6915–31, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24054298>>.

RAMGATTIE, R.; SIEW, N.; DIPTEE, M.; STOUTE, V.; KNIGHTS, M. Effect of mammary stimulation on dairy cows and heifers exposed to a lactation induction protocol. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 4, n. 1, p. 1–12, 2014. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=41645&#abstract>>.

REYHER, K. K.; HAINE, D.; DOHOO, I. R.; REVIE, C. W. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—A systematic review and meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 11, p. 6483–6502, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212006807>>.

SAMPIMON, O. C.; DE VliegHER, S.; BARKEMA, H. W.; SOL, J.; LAM, T. J. G. M. Effect of prepartum dry cow antibiotic treatment in dairy heifers on udder health and milk production. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 9, p. 4395–403, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19700699>>.

SILVIA, W. J.; HATLER, T. B.; NUGENT, A. M.; FONSECA, L. F. L. Ovarian follicular cysts in dairy cows: An abnormality in folliculogenesis. **Domestic Animal Endocrinology** v. 23, p. 167–177, 2002.

SMITH, K.; SCHANBACHER, F. L. Hormone Induced Lactation in the Bovine. I. Lactational Performance Following Injections of 17 β -Estradiol and Progesterone. **Journal of Dairy Science**, v. 56, n. 6, p. 738–743, 1973. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030273852439>>.

SMITH, K. L.; SCHANBACHER, F. . Hormone Induced Lactation in the Bovine. II. Response of Nulligravida Heifers to Modified Estrogen-Progesterone Treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 3, p. 296–303, 1974. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030274848800>>.

ST. ROSE, S. G.; SWINKELS, J. M.; KREMER, W. D. J.; KRUITWAGEN, C. L. J. J.; ZADOKS, R. N. Effect of penethamate hydriodide treatment on bacteriological cure, somatic cell count and milk production of cows and quarters with chronic subclinical *Streptococcus uberis* or *Streptococcus dysgalactiae* infection. **Journal of Dairy Research**, v. 70, n. 4, p. 387–394, 2003.

STARK, A.; WELLNITZ, O.; DECHOW, C.; BRUCKMAIER, R.; BAUMRUCKER, C. Colostrogenesis during an induced lactation in dairy cattle. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 2, p. 356–366, 2015.

TERVIT, H.R., FAIRCLOUGH, R.J., MCGOWEN, L.T., MACKENZIE, D.S., MACMILLAN, K.L. and PETERSON, A.J. Induction of lactation in dry cattle. *New Zealand Veterinary Journal*, v.28, n.15, 1980.

TRINIDAD, P.; NICKERSON, S. C.; ALLEY, T. K. Prevalence of Intramammary Infection and Teat Canal Colonization In Unbred and Primigravid Dairy Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 1, p. 107–114, 1990. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030290786523>>.

TRINIDAD, P.; NICKERSON, S. C.; LUTHER, D. G. Antimicrobial susceptibilities of staphylococcal species isolated from mammary glands of unbred and primigravid dairy heifers. **Journal of dairy science**, v. 73, n. 2, p. 357–62, 1990. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2329202>>.

TUCKER, H. A. Hormones, Mammary Growth, and Lactation: a 41-Year Perspective. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 4, p. 874–884, 2000. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200749514>>.

TURNER, C. W.; YAMAMOTO, H.; RUPPERT, H. L. The Experimental Induction of Growth of the Cow's Udder and the Initiation of Milk Secretion. **Journal of Dairy Science**, v. 39, n. 12, p. 1717–1729, 1956. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030256949141>>.

WENZ, J. R.; GARRY, F. B.; BARRINGTON, G. M. Comparison of disease severity scoring systems for dairy cattle with acute coliform mastitis. **JAVMA**. v.229, n.2, p.15, 2006.

WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 21–52, 2002.

WOLFENSON, D.; LEITNER, G.; LAVON, Y. The disruptive effects of mastitis on reproduction and fertility in dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 4, p. 650–654, 2015

XUE, B.; YAN, T.; FERRIS, C. F.; MAYNE, C. S. Milk production and energy efficiency of Holstein and Jersey-Holstein crossbred dairy cows offered diets containing grass silage. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1455–1464, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030211000993>>.

ZADOKS, R.; SCHUKKEN, Y. **Use of Molecular Epidemiology in Veterinary Practice**. Veterinary Clinics of North America Foods Animal Practice, v.22, p.229-261, 2006.