

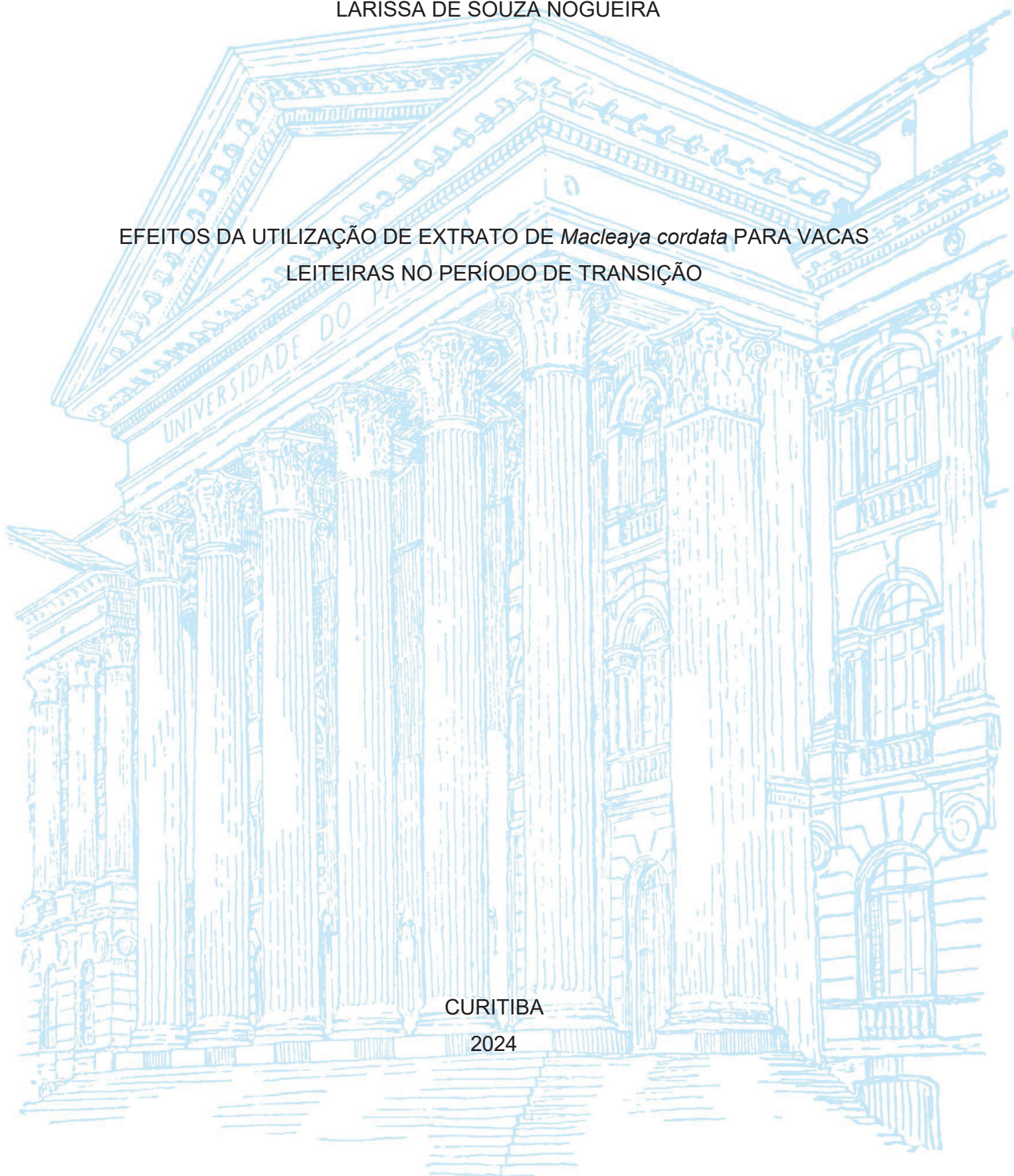
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LARISSA DE SOUZA NOGUEIRA

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE *Macleaya cordata* PARA VACAS
LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

CURITIBA

2024



LARISSA DE SOUZA NOGUEIRA

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE *Macleaya cordata* PARA VACAS
LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Setor de
Ciências Agrárias, Universidade Federal
do Paraná, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

CURITIBA

2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Nogueira, Larissa de Souza

Efeitos da utilização de extrato de *Macleaya cordata* para
vacas leiteiras no período de transição / Larissa de Souza
Nogueira. – Curitiba, 2024.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

1. Bovinos de leite. 2. Contagem de células. 3. Período
periparto. 4. Extrato vegetal. I. Almeida, Rodrigo de. II.
Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia. III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -
40001016082P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LARISSA DE SOUZA NOGUEIRA** intitulada: **Efeitos da utilização de extrato de *Macleaya cordata* para vacas leiteiras no período de transição**, sob orientação do Prof. Dr. RODRIGO DE ALMEIDA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 07 de Outubro de 2024.

RODRIGO DE ALMEIDA

Presidente da Banca Examinadora

gov.br

Documento assinado digitalmente
MARCIO NUNES CORREIA
Data: 06/12/2024 14:57:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

MARCIO NUNES CORRÊA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS)

gov.br

Documento assinado digitalmente
MAITY ZOPOLLATTO
Data: 28/02/2025 14:57:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

MAITY ZOPOLLATTO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Josiane e Afonso, por todo o apoio e carinho ao longo dessa jornada. Aos meus avós, Zeni, Maria e José, por todo carinho durante os momentos mais difíceis. Agradeço aos meus tios, tias e primas por sempre estarem presente e dispostos a ajudar a acalmar as tormentas.

Às minhas comadres, Carol, Luana e Heloísa, pela amizade e por não me deixarem desistir mesmo nos momentos mais incômodos; vocês serão sempre um porto-seguro.

Aos colegas do Grupo do Leite da UFPR, pelo companheirismo, parceria e ensinamentos durante toda a minha trajetória. Em especial à Marianna, Josué, Georgia, Milena e Nathaniele. Ao professor Rodrigo de Almeida, por toda orientação e ensinamentos desde a graduação.

À Agropecuária Harm por ter me recebido tão bem na fazenda e aceitado participar do projeto. E aos amigos e funcionários pelo apoio e confiança durante todo o experimento.

À Universidade Federal do Paraná, por ser a minha segunda casa. Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFPR, em especial à Sílvia, por toda a ajuda e carinho.

Muito obrigada!

“Toda obra científica “acabada” não tem outro sentido senão o de fazer surgirem novas “indagações”: ela pede, portanto, que seja “ultrapassada” e envelheça”. (Max Weber, 1917)

RESUMO

O período de transição é um momento crítico para vacas leiteiras, caracterizado por um balanço energético negativo, ingestão inadequada de matéria seca e maior suscetibilidade a doenças. Extratos herbais ricos em alcaloides, como sanguinarina, protopina e queleritrina, têm mostrado potenciais benefícios para a mediação da inflamação em vacas, especialmente no início da lactação. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre a administração de extrato de *Macleaya cordata* (EMC) no pré-parto para vacas leiteiras e os efeitos no desempenho, saúde, contagem de células somáticas (CCS) e qualidade do leite, para determinar sua aplicabilidade em rebanhos leiteiros. Um total de 129 vacas Holandesas múltiparas (PV: $717,8 \pm 56,3$ kg; ECC: $3,13 \pm 0,28$) de um rebanho comercial localizado em Castro, Paraná, Brasil, foram bloqueadas por ordem de lactação e data prevista de parto. As vacas foram aleatoriamente distribuídas em três grupos de tratamento com base na aplicação ou não do bolus de EMC (Bolus Lacto V6® - Phytobiotics, Eltville, Alemanha). Vinte e quatro dias antes da data prevista de parto, as vacas receberam um bolus de 75 g, equivalente a uma dose de 1,5 g/dia de EMC (B1), dois bolus de 75 g, equivalente a uma dose de 3,0 g/dia de EMC (B2), ou nenhum bolus de EMC (CON). O bolus de EMC foi administrado usando um aplicador ruminal. Amostras individuais de leite foram coletadas semanalmente durante o período experimental. Amostras de sangue foram coletadas nos dias -7, +1, +3, +7, +14 e +28 em relação ao parto. Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS, contendo os efeitos fixos de tratamento, tempo e suas interações, e os efeitos aleatórios de bloco e vaca dentro de tratamento. A produção de leite não foi afetada ($P = 0,88$) pela administração de EMC; 52,22, 52,60 e 52,90 kg/dia para B1, B2 e CON, respectivamente. Da mesma forma, não foram observados efeitos significativos na composição do leite, incluindo teores de gordura, proteína, lactose, caseína, sólidos totais e nitrogênio ureico do leite (NUL). Uma redução significativa na CCS foi observada ($P < 0,01$) nos grupos tratados com EMC vs controle ($78,77 \times 10^3$ e $65,45 \times 10^3$ células/mL para B1 e B2 vs. $288,33 \times 10^3$ células/mL para CON), o que indica melhora na saúde do úbere. Porém, o efeito sobre o ELCS (escore linear de célula somática) não foi significativo ($P = 0,11$). A concentração sérica de BHB foi menor para os grupos B1 e B2 vs. CON no dia 7 pós-parto ($P = 0,07$), indicando menor risco de cetose nas vacas tratadas. A concentração sérica de GGT foi maior ($P < 0,01$) para o grupo CON nos dias 7 e 14 pós-parto, enquanto a concentração de AST foi maior ($P < 0,01$) para o grupo CON nos dias 7, 14 e 28, demonstrando o efeito do EMC na proteção hepática. Em conclusão, a administração pré-parto do bolus de EMC reduziu a CCS no leite e as concentrações séricas de GGT e AST no pós-parto, indicando melhora na saúde da glândula mamária e hepática. Embora não tenha afetado a produção de leite, esses resultados indicam que o EMC pode contribuir para melhoraria do status de saúde das vacas durante o período de transição.

Palavras-chave: contagem de células somáticas, extrato herbal, periparto

ABSTRACT

The transition period is a critical metabolic challenge for dairy cows, marked by negative energy balance, inadequate dry matter intake and higher susceptibility to diseases. Herbal extracts rich in alkaloids such as sanguinarine, protopine, and chelerythrine, have shown potential benefits mediating inflammation for cows, particularly in early lactation. The aim of this study was to evaluate the association between prepartum administration of *Macleaya cordata* extract (MCE) to dairy cows and the effects on performance, health, somatic cell count (SCC) and milk quality to determine its applicability in dairy herds. A total of 129 s (BW: 717.8 ± 56.3 kg; BCS: 3.13 ± 0.28) multiparous Holstein cows from a commercial herd located in Castro, Paraná State, Brazil were blocked randomly based on parity and expected calving date. Cows were divided in three treatment groups based on the application or not of MCE bolus (Bolus Lacto V6® - Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville, Germany). Twenty-four days before expected calving date Cows received either one bolus of 75 g, equivalent to a dose of 1.5 g MCE d-1 (B1), two bolus of 75 g, equivalent to a dose of 3.0 g MCE d-1 (B2), or no MCE bolus (CON). The MCE bolus was administered using a ruminal applicator. Individual milk samples were collected weekly during experimental period. Blood samples were collected at days -7, +1, +3, +7, +14 and +28 relative to calving. Data were analyzed through MIXED procedure of SAS containing the fixed effects of treatment, time, and their interactions, and the random effects of block and cow within treatment. Milk production was not affected by MCE administration, with no significant differences between groups in daily milk yield (52.22, 52.60, and 52.90 kg/day for B1, B2, and CON, respectively; $P = 0.88$). Similarly, no significant changes were observed in milk composition, including fat, protein, lactose, casein, solids and MUN content. A significant reduction in SCC was observed in MCE-treated groups compared to the control (78.77×10^3 and 65.45×10^3 cells/mL for B1 and B2 vs. 288.33×10^3 cells/mL for CON; $P < 0.01$), suggesting improved udder health. Linear SCC scores, however, were not significantly different among groups ($P = 0.11$). Serum BHB concentration was lower in B1 and B2 vs. CON cows on day 7 postpartum ($P = 0.07$), indicating reduced risk of ketosis in treated cows. Serum GGT concentration was significantly higher for the CON group at days 7 and 14 postpartum ($P < 0.01$), while AST levels were elevated at days 7, 14, and 28 ($P < 0.01$), suggesting a protective effect of MCE against liver oxidative damage. In conclusion, prepartum administration of MCE bolus reduced SCC on milk, and GGT and AST serum concentrations postpartum, indicating improvement of udder and hepatic health. While it did not significantly affect milk production, these findings indicate that MCE could contribute to improve health status for cows during the transition period.

Keywords: herbal extract, somatic cell count, inflammation, peripartum

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (THI) DENTRO DO BARRACÃO PÓS-PARTO AO LONGO DO DIA	43
GRÁFICO 2 - ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (THI) DENTRO DO BARRACÃO PÓS-PARTO DURANTE CADA MÊS DO PERÍODO EXPERIMENTAL	43
GRÁFICO 3 – EVOLUÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) AO LONGO DAS PRIMEIRAS QUATRO SEMANAS PÓS-PARTO	54
GRÁFICO 4 - EVOLUÇÃO DO ESCORE LINEAR DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (ELCS) AO LONGO DAS PRIMEIRAS QUATRO SEMANAS PÓS-PARTO	55
GRÁFICO 5 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE COLESTEROL AO LONGO DO TEMPO	56
GRÁFICO 6 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TRIGLICERÍDEOS AO LONGO DO TEMPO	57
GRÁFICO 7 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GLICOSE AO LONGO DO TEMPO	58
GRÁFICO 8 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE AGNE AO LONGO DO TEMPO	58
GRÁFICO 9 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BHB AO LONGO DO TEMPO	59
GRÁFICO 10 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CÁLCIO AO LONGO DO TEMPO	60
GRÁFICO 11 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BILIRRUBINA AO LONGO DO TEMPO	61

GRÁFICO 12 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALBUMINA AO LONGO DO TEMPO	61
GRÁFICO 13 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GGT AO LONGO DO TEMPO	63
GRÁFICO 14 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE AST AO LONGO DO TEMPO	64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DESCRIÇÃO DAS DIETAS DOS LOTES PRÉ-PARTO E PÓS-PARTO	44
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DOS LOTES PRÉ-PARTO E PÓS-PARTO	45
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS INGREDIENTES VOLUMOSOS.....	46
TABELA 4 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE O PESO CORPORAL E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL DOS ANIMAIS.....	50
TABELA 5 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	52
TABELA 6 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA GORDURA DO LEITE (g/100g DE LEITE).....	53
TABELA 7- EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) E O ESCORE LINEAR DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (ELCS).....	54
TABELA 8 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BHB DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL	59
TABELA 9 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALBUMINA DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL	62
TABELA 10 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE O ÍNDICE DE FUNCIONALIDADE HEPÁTICA (LFI)	62
TABELA 11 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE A INCIDÊNCIA DE DOENÇAS E SOBREVIVÊNCIA NO PÓS-PARTO	65

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	14
1.1 INTRODUÇÃO	14
1.2 PERÍODO DE TRANSIÇÃO	14
1.2.1 Inflamação, estresse oxidativo e imunidade no período de transição	15
1.2.2 Principais doenças no período pós-parto	19
1.2.3 Saúde gastrointestinal e período de transição.....	21
1.2.4 Suplementação dietética e regulação imune e inflamatória	22
1.3 EXTRATO DE MACLEAYA CORDATA.....	23
1.3.1 Efeitos e possíveis aplicações para vacas leiteiras	23
1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS	28
2 CAPÍTULO II - EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE <i>MACLEAYA</i>	
<i>CORDATA</i> PARA VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO.....	39
2.1 INTRODUÇÃO	39
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	40
2.2.1 Delineamento experimental e tratamentos	40
2.2.2 Animais e instalações.....	41
2.2.3 Dietas.....	44
2.2.4 Manejo durante o parto	45
2.2.5 Coleta e análise de amostras	46
2.2.6 Definição de doenças e mortalidade	47
2.2.7 Análise estatística	48
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
2.3.1 Produção e composição do leite	51
2.3.2 Qualidade do leite	53
2.3.3 Metabólitos séricos e marcadores de metabolismo hepático.....	56
2.3.4 Saúde e sobrevivência	64
2.4 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	67

1 CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios da produção leiteira é o período de transição das vacas, isto é, o período de 6 semanas que compreende o final da gestação e o início da lactação. É durante esse período que as vacas enfrentam uma grande demanda de energia, proteínas e minerais, necessários não só para a formação do feto e produção de colostro (House; Bell, 1993), mas também para a produção de leite no início da lactação quando há queda no consumo de matéria seca (CMS) (DRACKLEY, 1999).

O desempenho das vacas no pós-parto impacta diretamente o desempenho econômico dos rebanhos leiteiros. Doenças no período pós-parto tendem a afetar negativamente a produção de leite, bem como a reconcepção de vacas leiteiras. Segundo (Leblanc, 2010), doenças no pós-parto imediato podem atingir até 50% das vacas leiteiras. Vacas com quadros de cetose, mastite clínica ou outras doenças geram um custo para o produtor referente ao tratamento, queda na produção de leite e outros custos indiretos ligados à queda no desempenho reprodutivo do rebanho (McArt; Nydam; Overton, 2015; Rollin; Dhuyvetter; Overton, 2015). Um período de transição mal sucedido impacta a taxa de descarte nos rebanhos, já que o comprometimento do desempenho e saúde dos animais aumentam as chances de descarte voluntário e involuntário (Dubuc *et al.*, 2011).

O bem-estar e a saúde da vaca no período de transição podem influenciar a futura lactação e afetar o desempenho produtivo e reprodutivo. Promover a manutenção da saúde durante esse período é de suma importância, e é fundamental a pesquisa por novas ferramentas que possam ser empregadas para auxiliar no cumprimento desse objetivo. Diminuir a ocorrência de doenças, atenuar casos clínicos e reduzir os prejuízos causados pelo uso excessivo de antibióticos, são caminhos para alcançar resultados melhores no sistema produtivo de leite.

1.2 PERÍODO DE TRANSIÇÃO

O período de transição, ou período periparturiente, compreende os 21 dias pré-parto e os 21 dias pós-parto (Grummer, 1995; Drackley, 1999). O parto, assim

como a produção de colostro e o início da lactação, exigem grande adaptação e esforço metabólico das vacas. As mudanças do estado gestante não lactante, para o estado lactante e não gestante, desencadeiam processos metabólicos que induzem estresse oxidativo dos tecidos, sobrecarga hepática e função imunológica deprimida (Trevisi; Minuti, 2018). Com o avanço da genética dos rebanhos leiteiros nas últimas décadas ocorre uma seleção de animais cada vez mais produtivos, e a exigência energética no período pós-parto, com produtividades já altas no início da lactação, se tornou ainda maior (Baumgard; Collier; Bauman, 2017).

Pensando nos desafios do período é esperado que a maioria das doenças em vacas leiteiras ocorram com maior frequência no primeiro mês pós-parto (LeBlanc *et al.*, 2006). Um bom período de transição depende da garantia do bem-estar, com a adoção de dietas equilibradas para todas as fases, e a adoção de protocolos para detectar riscos, permitindo a intervenção precoce, visando prevenir estresse animal e doenças no periparto (Mezzetti *et al.*, 2021).

1.2.1 Inflamação, estresse oxidativo e imunidade no período de transição

O período de transição é marcado fases distintas quanto ao quadro inflamatório das vacas. Após a concepção, o embrião passa a liberar interferon- τ (IFN- τ), lactogênio placentário, proteínas associadas à prenhez, prostaglandina E2 (PGE2), complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I, fatores de transcrição GATA, proteína relacionada à prolactina, ciclooxigenase-2 (Cox-2) e interleucina-6 (IL-6). Essa sinalização regula o sistema imune materno, o que aciona uma resposta imune e celular anti-inflamatória (Vlasova; Saif, 2021). Essa resposta é uma forma de proteção do embrião e se mantém até cerca de uma semana antes do parto.

Já na secagem as vacas se deparam com uma inflamação, em decorrência do processo de involução da glândula mamária, que desregula o balanço energético e compromete a função hepática (Mezzetti *et al.*, 2020). A relação entre a inflamação no período pré-parto e as respostas inflamatórias de fase aguda no pós-parto ainda não são completamente conhecidas. Porém, a desbalanço fisiológico antes do parto, e níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias podem agravar o quadro de inflamação no início da lactação, e dificultar a normalização do sistema imune e função hepática (Jahan; Minuti; Trevisi, 2015; Trevisi *et al.*, 2015; Minuti *et al.*, 2020). Resultados gerados por um estudo conduzido por Mezzetti *et al.* (2019), sugerem que

vacas submetidas a inflamações intensificadas durante o pré-parto tendem a ter maiores riscos de doenças metabólicas no início de lactação.

O parto desencadeia um processo inflamatório fisiológico que ativa o sistema imune das vacas, sem os sinais clássicos de inflamação, caracterizando um estado inflamatório de baixo grau (Bradford *et al.*, 2015). Durante o parto, o ambiente uterino entra em contato com patógenos do ambiente e o processo inflamatório uterino é desencadeado. O ideal é que as vacas consigam regular a inflamação no pós-parto, caso contrário a inflamação pode se tornar crônica e desfavorecer a reparação do tecido uterino, permitindo o desenvolvimento de doenças uterinas (Chastant; Saint-Dizier, 2019).

A sinalização inflamatória no pós-parto é presente em vários órgãos, caracterizando uma inflamação sistêmica e não focal. A inflamação impacta diretamente a funcionalidade hepática, já que o fígado durante o processo inflamatório deixa de atuar prioritariamente como um órgão metabólico e passa a priorizar a função de um órgão imune. Diminui a produção de proteínas atuantes no metabolismo hepático normal (como albumina, paraoxanase e colesterol) e de lipoproteínas, e passa a aumentar a produção de α -globulinas, proteínas de desintoxicação e correlacionadas com o sistema imune, com destaque às proteínas de fase aguda positivas (APP), como a haptoglobina (Fleck, 1989; Bertoni; Trevisi, 2013; Strnad *et al.*, 2017).

Durante o parto o fígado produz mais APP positivas, isto é, AAP que aumentam a concentração sérica em resposta ao processo inflamatório (Kushner; Mackiewicz, 1987). Em ruminantes, haptoglobina, amiloide sérica A (SAA), ceruloplasmina e lipopolissacarídeo – LPS são proteínas de fase aguda positivas comumente utilizadas como biomarcadores de resposta inflamatória no pós-parto (Ceciliani *et al.*, 2012). A resposta inflamatória de fase aguda logo após o parto não implica necessariamente em adoecimento das vacas, porém a resposta exacerbada e desregulada é observada em animais que desenvolvem algum distúrbio durante o período pós-parto (Qu *et al.*, 2014), e a ativação desregulada pode impactar negativamente a transição, afetando toda a lactação (Bradford; Swartz, 2020).

A função mais bem descrita da haptoglobina é a capacidade de reduzir dano oxidativo ao se ligar à hemoglobina resultante de hemólise (Buehler *et al.*, 2009). Durante a primeira semana pós-parto, concentrações séricas de haptoglobina são mais elevadas em vacas que apresentam alguma disfunção metabólica (Pohl;

Burfeind; Heuwieser, 2015; Shin et al., 2018). Concentrações séricas muito elevadas de haptoglobina levam ao comprometimento da imunidade adaptativa e da função de linfócitos frente a desafios de patógenos. Nightingale et al. (2015) mostraram que vacas com altas concentrações de haptoglobina produziram menos interferon gama (INF γ), ao serem desafiadas com lipopolissacarídeos (LPS).

O balanço energético negativo (BEN) enfrentado nos primeiros dias pós-parto tem grande correlação com a disfunção imune e inflamatória. Essa correlação é definida por Pascottini et al. (2020) como uma questão de “ovo vs. galinha”, em que a diminuição do CMS, e consequente o aumento do BEN, promovem a inflamação. E a inflamação desregulada agrava o BEN, criando assim um ciclo vicioso, de agravamento da inflamação e da queda de CMS.

Em vacas que apresentam esteatose hepática (fígado gorduroso) em decorrência do desbalanço no metabolismo de lipídios no pós-parto, a concentração de proteínas de fase aguda positiva é mais alta (Ohtsuka et al., 2001; Ametaj et al., 2005), indicando que quanto mais severo o BEN, mais difícil será para as vacas regular a inflamação. A fagocitose, quimiotaxia e diapedese de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) são prejudicadas em condições de BEN (Stevens *et al.*, 2011). Além disso, a insuficiência energética afeta a transcrição de genes que codificam citocinas importantes para a regulação imunológica por PMN, intensificando a possibilidade de doenças infecciosas (Moyes *et al.*, 2010). A mobilização lipídica decorrente do BEN induz a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Bertoni *et al.*, 2008) produzidas por macrófagos, como IL-6, interleucina-1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (Koj, 1998).

Durante o processo inflamatório no período de transição ocorre a ativação do TNF α (Sordillo; Pighetti; Davis, 1995), que inibe o gene SLC2A4 que codifica a expressão do transportador de glicose 4 (GLUT4), o que por sua vez resulta em resistência à insulina, maior captação de glicose em tecidos periféricos e lipólise no tecido adiposo (Kushibiki et al., 2001; Bradford et al., 2009). A insuficiência de glicose e a competição entre a glândula mamária por essa fonte de energia induz a utilização de outras fontes energéticas pelas células do sistema imune. As principais fontes alternativas normalmente utilizadas são glutamina e ácidos graxos não esterificados (AGNE) (Calder, 2013), no entanto durante o estado de BEN, apesar da lipólise ocorrer além da elevação da concentração de AGNE, também há o aumento de cetonas (Drackley; Donkin; Reynolds, 2006). Diferente do seu precursor, os corpos

cetônicos não podem ser usados como fonte energética pelas células imunológicas, que adicionalmente são inibidas em cenários de hipercetonemia (Ingvarsen; Moyes, 2015).

O estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS) e espécies reativas ao nitrogênio (RNS), e a capacidade neutralizante dos mecanismos antioxidantes nos tecidos e no sangue (Miller; Brzezinska-Slebodzinska; Madsen, 1993), ocorre frequentemente no período de transição. A funcionalidade comprometida do fígado durante o período periparturiente proporciona o aumento do estresse oxidativo e dificulta a regulação da inflamação (Bionaz et al., 2007; Celi; Gabai, 2015). A presença de moléculas oxidantes além do ideal ativa a sinalização da via de fator nuclear κ -B (NF- κ B), relacionado à fatores imuno regulatórios. A ativação dessa via é uma das causas do aumento de produção de TNF α por monócitos no início de lactação (Sordillo; Pighetti; Davis, 1995; Finkel, 2011).

O estado de estresse oxidativo resulta em danos teciduais e prejuízos a diversas organelas celulares. O dano de proteínas e DNA prejudica a atuação das células imunológicas (Sordillo; Aitken, 2009). A presença de proteínas oxidadas pode exacerbar a resposta inflamatória ao gerar novos antígenos (Halliwell; Whiteman, 2004). Já a peroxidação de lipídeos produz espécies reativas eletrofílicas, especialmente o malondialdeído (MDA), moléculas que em altas concentrações podem ser tóxicas às células. As células imunológicas possuem membranas plasmáticas ricas em ácidos graxos poli-insaturados, e portanto, são mais suscetíveis a ação de peróxidos lipídicos (Del Rio; Stewart; Pellegrini, 2005; Calder, 2008).

Outro fator que está ligado ao estresse oxidativo é o escore de condição corporal (ECC) elevado das vacas no pré-parto (Ingvarsen, 2006; O'Boyle et al., 2006). A concentração elevada de AGNE, consequência do BEN, está relacionada com o aumento da concentração de ROS (Contreras et al., 2012), o que indica a susceptibilidade das vacas ao estresse oxidativo na transição do estado não lactante para lactante.

Alguns compostos antioxidantes podem ser adquiridos além do aporte dietético, como a vitamina K, que pode ser sintetizada pela microbiota ruminal e intestinal e a vitamina D, ativada pela radiação ultravioleta na pele. No entanto, somente esses compostos não são suficientes para evitar riscos de doenças. Assim,

é necessário enfatizar a suplementação mineral-vitamínica, particularmente em momentos de maior desafio fisiológico (Abuelo *et al.*, 2015).

1.2.2 Principais doenças no período pós-parto

A ocorrência de doenças não só afeta negativamente a produção de leite durante o período pós-parto, como também no restante da lactação. As vacas que ficam doentes no início da lactação saem em desvantagem, já que o pico de produção de leite destas vacas será menor (Carvalho *et al.*, 2019).

Os distúrbios metabólicos no período periparturiente podem desencadear um quadro de retenção de membranas fetais (RMF) ou retenção de placenta. A não expulsão da placenta em até 12 horas após o parto (Laven; Peters, 1996) está ligada a diversos fatores, desde falhas na ativação do sistema imune das vacas (Mordak; Anthony, 2015) até características como tamanho do bezerro e auxílio ao parto (Beagley *et al.*, 2010).

A hipocalcemia subclínica ou clínica, esta última também conhecida como “febre do leite”, é um distúrbio metabólico que envolve a regulação dos níveis de paratormônio no sangue, absorção e utilização de cálcio (Ca) pelo organismo. A hipocalcemia subclínica pode ser diagnosticada pela mensuração da concentração sérica de Ca. Alguns autores consideram hipocalcemia subclínica para concentrações séricas de Ca < 2,15 mmol/L (Neves *et al.*, 2017), enquanto outros consideram concentrações < 2,0 mmol/L (Venjakob *et al.*, 2018). Vacas hipocalcêmicas são mais propensas a apresentarem outras disfunções, como metrite e retenção de placenta (Rodríguez; Arís; Bach, 2017). Esse quadro pode ser controlado com o fornecimento de dietas aniônicas no pré-parto, diminuindo os riscos de hipocalcemia e doenças uterinas no pós-parto (Santos *et al.*, 2019).

Quando a inflamação uterina pós-parto ocorre de forma acentuada, as vacas podem desenvolver um quadro de metrite. A metrite clínica puerperal é caracterizada pela expulsão vaginal de conteúdo líquido, de cor marrom, odor fétido, com ou sem presença de pus (Sheldon *et al.*, 2006; Giuliadori *et al.*, 2013). O desempenho de primíparas e múltiparas é afetado de forma diferente pela ocorrência de metrite. Vacas em primeira lactação têm menores prejuízos em produtividade, concepção e ingestão de matéria seca do que múltiparas. Apesar de serem mais suscetíveis a infecções

uterinas durante o período pós-parto, primíparas se recuperam mais facilmente que multíparas (Wittrock *et al.*, 2011).

O CMS das vacas diminui próximo à data do parto, e a energia consumida na dieta não é suficiente para atender as demandas energéticas desse período, e assim as vacas entram em balanço energético negativo (BEN). Como o aporte energético que vem da alimentação diminui, o organismo passa a recorrer a outras fontes de energia. Ocorre a mobilização lipídica, AGNE são produzidos a partir do tecido adiposo e chegam ao fígado via corrente sanguínea. No fígado os AGNE podem sofrer β -oxidação completa, formando moléculas de acetil-CoA que serão utilizadas no ciclo do ácido cítrico resultando na formação de NADH, FADH₂ e ATP. A β -oxidação também pode ser incompleta, com a formação de corpos cetônicos. Ou então, são esterificados em triacilglicerol (TAG) e posteriormente exportados via corrente sanguínea (Li *et al.*, 2012). A β -oxidação ocorre dentro da matriz mitocondrial da célula e a carnitina é o aminoácido capaz de transportar os AGNE do citosol do hepatócito para dentro da mitocôndria (Nelson; Cox, 2017). Essa via é limitada, portanto, pelo aporte de carnitina, que em vacas recém-paridas, com consumo reduzido, também tem sua concentração diminuída. Os corpos cetônicos produzidos por essa via são acetona, acetoacetato e β -hidroxibutirato (BHB) (Drackley, 1999; McArt *et al.*, 2013; Wankhade *et al.*, 2017).

O aumento da concentração sérica de corpos cetônicos caracteriza o quadro de hipercetonemia clínica e subclínica. É normal que vacas doentes diminuam o consumo de alimento, e por consequência desencadeiem um processo de lipomobilização. Durante o pós-parto as vacas experimentam um período de resistência à insulina, o que leva à diminuição da circulação de glicose na corrente sanguínea. A hipoglicemia é comum no início da lactação, pois o aporte de glicose é utilizado prioritariamente pela glândula mamária na síntese de lactose (De Koster; Opsomer, 2013).

O estado de BEN durante o período de transição também favorece a ocorrência de deslocamento de abomaso em vacas leiteiras. O deslocamento de abomaso ocorre quando o abomaso se desloca da posição anatômica normal, causando complicações para os animais (Breukink, 1991). A principal causa para o deslocamento de abomaso é a atonia gástrica, ou seja, quando ocorre a diminuição ou interrupção total do movimento ruminal, e ocorre quando as vacas param de se alimentar. Pode estar relacionado com anomalias anatômicas, desbalanços nutricionais ou então, com

aumento da concentração sérica de BHB no período pós-parto (LeBlanc; Leslie; Duffield, 2005; Kang; Jeong; Kim, 2019).

A mastite, clínica e subclínica, caracterizada pela inflamação da glândula mamária em conjunto, ou não, com a infecção causada por agentes microbiológicos, predominantemente bactérias, é uma das doenças mais comuns em rebanhos leiteiros ao redor do mundo. A ocorrência de mastites gera prejuízos econômicos para produtores de leite, e afeta negativamente a qualidade do leite e o bem-estar das vacas (Cobirka; Tancin; Slama, 2020). Apesar de ocorrer durante toda a lactação, os riscos de mastites clínicas severas são maiores no pós-parto, devido à imunossupressão que ocorre nesse período (Ruegg, 2011). O procedimento correto de secagem das vacas ao fim da lactação anterior é essencial para a prevenção de mastites no início da lactação seguinte. Além disso, ambiente com baixo grau de desafio e correto manejo na sala de ordenha contribuem para o controle de infecções na glândula mamária (Green *et al.*, 2007).

1.2.3 Saúde gastrointestinal e período de transição

A saúde gastrointestinal é fundamental para assegurar a saúde geral das vacas leiteiras, proporcionando bem-estar e otimizando o desempenho zootécnico (Sanz-Fernandez *et al.*, 2020). A microbiota do trato gastrointestinal é fundamental para a manutenção da saúde dos ruminantes. O desequilíbrio da população microbiológica acarreta a perda de função dos órgãos digestivos. Um desequilíbrio na microbiota ruminal tem potencial de desencadear um processo de inflamação sistêmica.

Zhao *et al.* (2022) demonstraram que a disbiose ruminal acentuada contribui para o desenvolvimento de mastite ao induzir inflamação sistêmica e endotoxemia de baixo grau. Esse resultado aponta que a prevenção de mastite nos rebanhos leiteiros também passa pela manutenção da saúde gastrointestinal. A inflamação intestinal pode provocar a contaminação cruzada da glândula mamária por meio das fezes. Um ambiente intestinal desregulado favorece a multiplicação de patógenos que seriam controlados por uma microbiota em equilíbrio (Kurumisawa *et al.*, 2018).

As atividades microbianas são afetadas pelo estresse calórico, alterando o nível de citocinas circulante, intensificando o processo inflamatório e estabelecendo um cenário propício às disfunções metabólicas (Chen *et al.*, 2018). Tendo essa

relação em vista, se faz necessário proporcionar medidas de controle do estresse térmico para vacas leiteiras durante todo o ciclo produtivo, já a partir da secagem das vacas.

Junto com o início de uma nova lactação, ocorre a mudança para uma nova dieta, com mais grãos e amido, visando maiores produções de leite. Dietas ricas em grãos alteram o pH ruminal e intestinal, o que pode lesionar o epitélio e prejudicar a barreira física de proteção do trato gastrointestinal (Neubauer *et al.*, 2020). Por consequência, ocorre alteração da microbiota, e a liberação de lipossacarídeos (LPS) bacterianos em grande quantidade, o que induz respostas inflamatórias e compromete o funcionamento intestinal (Emmanuel; Dunn; Ametaj, 2008). Somado a isso, o estado de BEN associado com a lipólise que ocorre no pós-parto, ocasiona a imunossupressão nas vacas (Gu *et al.*, 2023). Assim, alterações na microbiota ou ambiente gastrointestinal abrem porta para possíveis infecções.

1.2.4 Suplementação dietética e regulação imune e inflamatória

A correta formulação da dieta é uma aliada na regulação do sistema imune das vacas durante o período de transição (Mezzetti; Bionaz; Trevisi, 2020). A suplementação de lipídios pode ajudar a regular o sistema imune. A suplementação de ácidos graxos polinsaturados (PUFA), os n-3 PUFA e o ácido linoleico conjugado (CLA), modulam a expressão de NF- κ B (Bertoni *et al.*, 2016). É recomendado uma relação entre ácidos graxos n-6 e n-3 na dieta de 2:1 para melhorar a resposta imunológica das vacas (Moallem, 2018). A suplementação de doadores de grupo metil, como metiotina, colina e betaína, durante o periparto, pode reduzir riscos de hipercetonemia e de lipidose hepática, melhorar a função imunológica e mitigar o estresse oxidativo (Zhou *et al.*, 2016).

A suplementação de ativos que controlem a inflamação e estresse oxidativo pode ser de grande valia durante o período de transição. Micronutrientes como vitaminas e minerais (zinco, ferro, cobre, etc.) têm papéis críticos no sistema imune e atuam com antioxidantes (Spears; Weiss, 2008; Osorio *et al.*, 2016). O uso de compostos herbais, como os extratos de *Aloe arborescens* (Mezzetti *et al.*, 2020) e *Hottuynia cordata* (Kim *et al.*, 2012) já demonstraram resultados na mediação à expressão de TNF- α e outras vias de ativação inflamatória em vacas em lactação.

1.3 EXTRATO DE MACLEAYA CORDATA

A utilização de extratos herbais na produção animal, especialmente para ruminantes, tem sido progressivamente explorada. Porém, ainda há muitas dúvidas a serem sanadas quanto à função e aplicabilidade dos extratos vegetais (Piao *et al.*, 2023). A *Macleaya cordata* planta da família Papaveraceae, é conhecida por seu uso terapêutico tanto para animais como para humanos (Tuzimski *et al.*, 2022). O extrato de *Macleaya cordata* (EMC) é obtido através do processamento das sementes, cascas das sementes e folhas (Bampidis *et al.*, 2023). Esse composto contém diversos metabólitos secundários incluindo alcaloides fenilpropanoides, flavonoides, terpenoides, óleos voláteis e ácidos orgânicos. Sanguinarina, protopina, queleritrina e alocriptopina são os principais alcaloides presentes no extrato (Lin *et al.*, 2018). As folhas e sementes são onde está a maior concentração de sanguinarina e queleritrina (Kosina *et al.*, 2010; Petruczynik *et al.*, 2019).

O potencial uso de EMC já é estudado para diversas espécies. Em equinos, o EMC já se provou seguro intestinal (Ferreira *et al.*, 2023a) e eficaz na regulação da microbiota intestinal em dietas com alta concentração de amido (Ferreira *et al.*, 2023b). O uso de EMC resultou em melhora da qualidade de leite, com queda na CCS em caprinos leiteiros (Ling *et al.*, 2023), e em caprinos desmamados for um eficaz modulador da inflamação intestinal (Yang *et al.*, 2021). O efeito antioxidante do EMC no intestino em suínos resulta em aumento das vilosidades intestinais e da proporção de bactérias benéficas (Chen *et al.*, 2019), além de ampliar a diversidade da microbiota (Li *et al.*, 2020). Já para aves o EMC se provou eficaz na regulação do metabolismo cecal (Juskiewicz *et al.*, 2011), e aliviando efeitos negativos do estresse calórico no intestino (Wang *et al.*, 2022). O uso de EMC e seus componentes já foi testado no tratamento para doenças respiratórias (Valipour; Zarghi; Afshin, *et al.*, 2021), doença de Parkinson (Nguyen *et al.*, 2020) e câncer (Messeha *et al.*, 2022) em humanos e os resultados são positivos, o que reforça o potencial do herbal.

1.3.1 Efeitos e possíveis aplicações para vacas leiteiras

O fornecimento de EMC já se provou seguro e sem efeitos adversos tanto para vacas adultas, como para bezerras (Wang *et al.*, 2018; Matulka *et al.*, 2022). O

efeito anti-inflamatório desses alcaloides é uma característica que pode ser explorada durante o período de transição.

O uso EMC, contendo 12.235 mg de sanguinarina e 4.073 mg de quelitrina por kg de produto, mostrou efeito atenuante na resposta inflamatória, atuando tanto sobre macrófagos como sobre células epiteliais (Soler; Hermes; Niewold, 2016). A inibição da ativação de NF- κ B, importante para o desencadeamento do processo inflamatório, foi demonstrada por (Chaturvedi *et al.*, 1997), em um estudo *in vitro* utilizando sanguinarina. Estudos *in vitro* demonstram que o EMC e seus derivados alcaloides têm capacidade de inibir a ação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF α e interferon- γ (INF- γ)), inibindo a ativação da sinalização das vias NF-Kb, MAPK e TLR-4 (*Toll-like receptor* - 4) mediadas. Além disso, estimula a ativação de citocinas anti-inflamatórias como a interleucina-10 (IL-10), o que sugere a ação de regulação da inflamação e prevenção da inflamação crônica pelo EMC (Dong *et al.*, 2022; Han *et al.*, 2024). A partir de modelos de inflamação crônica em camundongos, foi possível demonstrar a redução de inflamação pela ação de sanguinarina, quando utilizada nas doses de 1 e 5 mg/kg de peso corporal, (Niu *et al.*, 2012), comprovando a ação anti-inflamatória *in vivo* da substância.

Há indicações que a utilização de EMC tenha como principal efeito resultados benéficos para a saúde animal, com consequente melhora do desempenho zootécnico. Jia *et al.* (2022) observaram relações positivas entre o fornecimento de EMC (4,5 g/animal/d na dieta) e o CMS em vacas lactantes,. Quando fornecido na dose 4 g/animal/d na dieta para bovinos de corte em fase de terminação, o EMC não afetou o CMS, mas resultou em melhor desempenho de carcaça (Michels *et al.*, 2018). Em um estudo com trinta e seis vacas em lactação, a utilização de sanguinarina na dieta em duas doses (1 g/animal/d e 10 g/animal/d) não afetou o ECC das vacas, a produção ou a composição do leite (Wang *et al.*, 2018).

O fornecimento de EMC, adicionado na dose de 90g por tonelada de ração, para matrizes suínas no pré-parto e pós-parto resultou na atenuação da perda de peso durante a lactação. O colostro produzido pelas porcas que receberam EMC continha maior concentração de IgG e proteína total (Sureda *et al.*, 2021). Esses resultados reforçam o potencial de uso de EMC durante o periparto em outras espécies de interesse zootécnico, incluindo bovinos.

Considerando a capacidade anti-inflamatória e o potencial antimicrobiano dos componentes presentes no EMC, a sua utilização como aditivo possui potencial para

o controle de mastite clínica e redução da CCS em vacas leiteiras. Tanto queleritrina como sanguinarina se mostraram eficazes como antimicrobianos. Os alcaloides tiveram ação de controle sobre diversas espécies de bactérias, incluindo *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus* sp. (Obiang-obounou et al., 2011; Falchi et al., 2021), agentes causadores de infecções na glândula mamária. O potencial antimicrobiano de EMC contra *Staphylococcus aureus*, um agente bacteriano relativamente comum nos rebanhos leiteiros, foi demonstrado por (Khin et al., 2018) em estudo *in vitro*. A substância se mostrou eficaz em inibir o crescimento de cepas resistentes à antibióticos. Em adição a isso, o EMC parece ser uma alternativa mais ecológica ao uso de antibióticos, já que não contribui na expressão de genes de resistência antimicrobiana em bactérias ambientais (Zhang et al., 2021).

A inflamação causada pela mastite ocasiona a elevação da concentração de ROS e RNS, incorrendo em morte celular e dano ao tecido da glândula mamária (Carvalho-Sombra et al., 2021). Um estudo realizado com camundongos em um modelo de mastite induzida por lipopolissacarídeos demonstrou que a sanguinarina, em doses 5, 25, e 50 μ M por animal, tem ação protetora na glândula mamária, atenuando os efeitos da mastite por diversas vias. Os resultados obtidos por (Zheng et al., 2022) demonstram que a sanguinarina possui efeito antioxidante, impedindo o aumento de ROS no processo de inflamação causado pela mastite. Esses resultados indicam que o EMC tem o potencial de agir no processo inflamatório na glândula mamaria, não só protegendo de mastites clínicas, mas possivelmente atenuando mastites subclínicas e assim, reduzindo a CCS.

O fornecimento de EMC para bezerras indica que o extrato herbal pode influenciar a capacidade de recuperação de doenças em bovinos. Em um estudo realizado por Matulka et al. (2022), com quarenta bezerras, o grupo que recebeu EMC (0,28, 0,70 e 1,40 g/kg de leite sucedâneo) apresentou maior concentração sérica de albumina do que o grupo controle, o que é um indicativo de melhor status de saúde. Outro experimento, conduzido por (Mendonça et al., 2021), fornecendo 5 g de EMC em 3 L de leite duas vezes ao dia, demonstrou efeitos na evolução de quadros clínicos. Vinte e seis bezerras da raça Holandesa foram inoculadas com *Cryptosporidium parvum*. Os animais que receberam EMC tiveram em média cinco dias a menos de diarreia que o grupo controle. Além disso, mais animais do grupo controle necessitaram de fluidoterapia, indicando que a gravidade da doença foi menor para os animais do grupo tratamento. A ação de inibição da via NF- κ B e via íon-cálcio pode

promover a atenuação do agravamento de quadros diarreicos, cenário já demonstrado em pesquisas farmacêuticas utilizando camundongos (Guo *et al.*, 2024).

Estudos *in vitro* utilizando queleritrina indicaram a ação estimuladora sobre o fator nuclear relacionado ao eritroide 2 (Nfr2), que modula enzimas com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, e que tem papel importante em doenças respiratórias (Fan *et al.*, 2018; Valipour; Zarghi; Afshi, *et al.*, 2021). A atenuação dos efeitos deletérios da inflamação exacerbada nos pulmões em doenças respiratórias pode contribuir para a manutenção da saúde das vacas recém-paridas. Uma avaliação farmacológica e molecular realizada por Dong e Liu (2022) constatou que o EMC tem potencial para ser utilizado no controle de outras doenças importantes para rebanhos leiteiros, como afecções de cascos.

Em estudo realizado por Zhang *et al.* (2019), com 50 bezerras da raça Holandesa, mensurou-se o pH do rúmen e a microbiota presente no líquido ruminal. Animais que recebiam 0,05 mg de EMC/kg de peso corporal apresentaram menor pH ruminal em comparação aos animais do grupo controle, e composição da microbiota ruminal alterada, com menor presença de bactérias metanogênicas. Em acordo com esse estudo, Jia *et al.* (2022) registraram menor emissão de metano (CH₄) por vacas recebendo EMC na dieta. Apesar de interferir no pH ruminal, um estudo *in vitro* sugere que o EMC não causa prejuízos à função fermentativa do rúmen (Petri *et al.*, 2019).

A regulação do estresse oxidativo no intestino foi correlacionada com a inclusão de 0,3 g/dia de EMC na dieta de cabritos (Chen *et al.*, 2020). O grupo que consumiu EMC teve diminuição da concentração de MDA, um indicador de estresse oxidativo, e aumento da concentração do antioxidante superóxido dismutase (SOD) no jejuno e íleo. Em outro experimento com cabritos recém-desmamados, consumindo 0,3 g/dia de EMC, (Yang *et al.*, 2021) demonstrou-se a ação inibitória do EMC sobre a expressão da via TLR4-NF-κB no íleo, indicando a regulação da inflamação pela inibição da liberação de interleucinas no intestino. Em estudo com camundongos submetidos a estresse calórico, Wang *et al.* (2022) concluíram que o EMC contribui para a homeostasia do microbioma intestinal ao regular o estresse oxidativo no intestino, e promove a manutenção do status de saúde durante o desafio térmico.

O potencial do EMC para o tratamento de quadros de enterite já é demonstrado em estudos farmacológicos utilizando os quatro principais alcaloides presentes no extrato (Yang *et al.*, 2023). A protopina, alcaloide presente no EMC foi eficaz em atenuar quadro de colite ulcerativa em camundongos. Yue *et al.* (2023)

demonstraram, através de um modelo de inflamação intestinal, o efeito do alcaloide em regular a expressão de genes relacionados com a inflamação intestinal, mantendo a barreira protetora da mucosa intestinal e modulando a microbiota do trato digestivo.

Ao avaliar a morfologia intestinal de 20 bezerros desmamados da raça Holandesa, (Wickramasinghe *et al.*, 2023) concluíram que o fornecimento de EMC tanto durante o aleitamento (2 a 10 g/d diluído no leite sucedâneo) como após desaleitamento (4 a 20 g/d na dieta) contribui para o bom desenvolvimento do intestino dos animais. O grupo de animais que recebeu EMC possuía vilosidades maiores no duodeno e íleo em comparação ao grupo controle. E a relação entre altura das vilosidades e profundidade das criptas intestinais foi maior em todas as porções intestinais analisadas para os bezerros do grupo tratamento. Esses estudos mostram o potencial do EMC em melhorar a saúde intestinal, além de indicar que a adição de EMC ajuda a aumentar a capacidade absorptiva do intestino. A sanguinarina é eficaz, também como antiparasitário, para parasitas helmínticos e protozoários, no trato gastrointestinal (Silva *et al.*, 2023), o que reforça o potencial de promoção da saúde intestinal.

1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inflamação exacerbada ocasionada pelas mudanças metabólicas no período de transição pode resultar em perdas produtivas e doenças para as vacas leiteiras em toda a lactação. Estratégias que visam minimizar os impactos desse desafio são bem-vindas. Apesar do potencial do EMC como anti-inflamatório, antimicrobiano e antioxidante já estar comprovado por diversos estudos *in vitro*, ainda se têm poucos dados sobre o potencial dessa substância *in vivo* para vacas em lactação. Tendo em vista o desafio fisiológico enfrentado durante o período periparto, estudos sobre a eficácia da utilização de um produto com tal potencial como o ECM para este estágio da vida produtiva se fazem necessários.

REFERÊNCIAS

- ABUELO, A. *et al.* The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: Revisiting antioxidant supplementation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, p. 1003-1016, 2015.
- AMETAJ, B. N. *et al.* Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 85, p. 165-175, 2005.
- BAMPIDIS, V. *et al.* Safety and efficacy of a feed additive consisting of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. extract and leaves (Sangrovit® extra) for all poultry species (excluding laying and breeding birds) (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH). **EFSA Journal**, v. 21, 2023.
- BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J.; BAUMAN, D. E. A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 10353-10366, 2017.
- BEAGLEY, J. C. *et al.* Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 2, p. 261-268, 2010.
- BERTONI, G. *et al.* Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 3300-3310, 2008.
- BERTONI, G. *et al.* Welfare Is Affected by Nutrition Through Health, Especially Immune Function and Inflammation. **Nutrition and the Welfare of Farm Animals**. Springer International Publishing, 2016. p. 85–113.
- BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, p. 413-431, 2013.
- BIONAZ, M. *et al.* Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1740-1750, 2007.
- BRADFORD, B. J. *et al.* Daily injection of tumor necrosis factor- α increases hepatic triglycerides and alters transcript abundance of metabolic genes in lactating dairy cattle. **The Journal of Nutrition**, v. 139, p. 1451-1456, 2009.
- BRADFORD, B. J. *et al.* Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 6631-6650, 2015.
- BRADFORD, B. J.; SWARTZ, T. H. Review: Following the smoke signals: Inflammatory signaling in metabolic homeostasis and homeorhesis in dairy cattle. **Animal**, v. 14, p. S144-S154, 2020.

BREUKINK, H. J. Abomasal Displacement, Etiology, Pathogenesis, Treatment and Prevention. **The Bovine Practitioner**, n. 26, p. 148–153, 1991.

BUEHLER, P. W. *et al.* Haptoglobin preserves the CD163 hemoglobin scavenger pathway by shielding hemoglobin from peroxidative modification. **Blood**, v. 113, n. 11, p. 2578–2586, 12 mar. 2009.

CALDER, P. C. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 79, n. 3–5, p. 101–108, set. 2008.

CALDER, P. C. Feeding the immune system. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 72, n. 3, p. 299–309, 21 ago. 2013.

CARVALHO, M. R. *et al.* Long-term effects of postpartum clinical disease on milk production, reproduction, and culling of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 11701–11717, 2019.

CARVALHO-SOMBRA, T. C. F. *et al.* Systemic inflammatory biomarkers and somatic cell count in dairy cows with subclinical mastitis. **Veterinary and Animal Science**, v. 11, n. 100165, p. 1–6, 2021.

CECILIANI, F. *et al.* Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4207–4231, jul. 2012.

CELI, P.; GABAI, G. Oxidant/Antioxidant Balance in Animal Nutrition and Health: The Role of Protein Oxidation. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 2, 26 out. 2015.

CHASTANT, S.; SAINT-DIZIER, M. Inflammation: Friend or foe of bovine reproduction? **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 539–547, 2019.

CHATURVEDI, M. M. *et al.* Sanguinarine (Pseudocheleerythrine) Is a Potent Inhibitor of NF- κ B Activation, I κ B Phosphorylation, and Degradation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 48, p. 30129–30134, 1997.

CHEN, J. *et al.* Effects of dietary *Macleaya cordata* extract on growth performance, immune responses, antioxidant capacity, and intestinal development in weaned piglets. **Journal of Applied Animal Research**, v. 47, n. 1, p. 349–356, 1 jan. 2019.

CHEN, K. *et al.* Supplementation of *Lactobacillus plantarum* or *Macleaya cordata* Extract Alleviates Oxidative Damage Induced by Weaning in the Lower Gut of Young Goats. **Animals**, v. 10, n. 548, p. 1–10, 2020.

CHEN, S. *et al.* Exposure to heat-stress environment affects the physiology, circulation levels of cytokines, and microbiome in dairy cows. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.

COBIRKA, M.; TANCIN, V.; SLAMA, P. Epidemiology and Classification of Mastitis. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 2212, 26 nov. 2020.

CONTRERAS, G. A. *et al.* Nonesterified fatty acids modify inflammatory response and eicosanoid biosynthesis in bovine endothelial cells. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 5011–5023, 2012.

DONG, Z.; LIU, M.; *et al.* Integrating network pharmacology and molecular docking to analyze the potential mechanism of action of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. in the treatment of bovine hoof disease. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 11, p. 1–16, 2022.

DONG, Z.; WANG, Y. H.; *et al.* Exploring the anti-inflammatory effects of protopine total alkaloids of *Macleaya Cordata* (Willd.) R. Br. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 2022.

DRACKLEY, J. K. ADSA foundation scholar award: Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 11, p. 2259–2273, 1999.

DRACKLEY, J. K.; DONKIN, S. S.; REYNOLDS, C. K. Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1324–1336, 2006.

DUBUC, J. *et al.* Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1339–1346, 2011.

EMMANUEL, D. G. V.; DUNN, S. M.; AMETAJ, B. N. Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 2, p. 606–614, 2008.

FALCHI, F. A. *et al.* Sanguinarine inhibits the 2-ketogluconate pathway of glucose utilization in *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1–11, 2021.

FAN, L. *et al.* Chelerythrine attenuates the inflammation of lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation through NF- κ B signaling pathway mediated by Nrf2. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 1–10, 2018.

FERREIRA, J. R. DE M. *et al.* *Macleaya cordata* extract phyto-genic additive: A safe alternative for horses that influences intestinal wall thickness. **Livestock Science**, v. 275, p. 105290, 2023a.

FERREIRA, J. R. DE M. *et al.* Effects of *Macleaya cordata* extract supplementation on digestive parameters of ponies. **Archives of Animal Nutrition**, v. 77, n. 2, p. 110–120, 2023b.

FINKEL, T. Signal transduction by reactive oxygen species. **Journal of Cell Biology**, v. 194, n. 1, p. 7–15, 2011.

FLECK, A. Clinical and nutritional aspects of changes in acute-phase proteins during inflammation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 48, n. 3, p. 347–354, 1989.

GIULIODORI, M. J. *et al.* Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 6, p. 3621–3631, 2013.

GREEN, M. J. *et al.* Cow, farm, and management factors during the dry period that determine the rate of clinical mastitis after calving. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 8, p. 3764–3776, 2007.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of animal science**, v. 73, n. 9, p. 2820–2833, 1995.

GU, F. *et al.* Gut microbiome is linked to functions of peripheral immune cells in transition cows during excessive lipolysis. **Microbiome**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2023.

GUO, L. *et al.* Deciphering the antidiarrheal mechanisms of *Macleaya cordata* by combining network pharmacology, molecular docking, and experimental evaluations. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 34, n. 3, p. 637–646, 2024.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–255, 2004.

HAN, D. *et al.* *Macleaya cordata* extract inhibits LPS-induced IPEC-J2 inflammation through TLR4-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways. **Natural Product Communications**, v. 19, n. 4, 2024.

HOUSE, W. A.; BELL, A. W. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 10, p. 2999–3010, 1993.

INGVARTSEN, K. L. Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, n. 3–4, p. 175–213, 2006.

INGVARTSEN, K. L.; MOYES, K. M. Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 63, p. S15–S24, 2015.

JAHAN, N.; MINUTI, A.; TREVISI, E. Assessment of immune response in periparturient dairy cows using ex vivo whole blood stimulation assay with lipopolysaccharides and carrageenan skin test. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 165, n. 3–4, p. 119–126, 2015.

JIA, P. *et al.* Diets supplementation with *Bacillus subtilis* and *Macleaya cordata* extract improve production performance and the metabolism of energy and nitrogen, while reduce enteric methane emissions in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 294, n. 115481, p. 1–11, 2022.

JUSKIEWICZ, J. *et al.* Effects of dietary addition of *Macleaya cordata* alkaloid extract on growth performance, caecal indices and breast meat fatty acids profile in male broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 95, n. 2, p. 171–178, 2011.

KANG, H. G.; JEONG, J. K.; KIM, I. H. Risk factors for displacement of the abomasum in dairy cows and its relationship with postpartum disorders, milk yield,

and reproductive performance. **Journal of Veterinary Clinics**, v. 36, n. 1, p. 68–73, 2019.

KHIN, M. *et al.* Phytochemical analysis and antimicrobial efficacy of *Macleaya cordata* against extensively drug-resistant *Staphylococcus aureus*. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 11, p. 1–5, 2018.

KIM, D. *et al.* Anti-inflammatory effects of *Houttuynia cordata* supercritical extract in carrageenan-air pouch inflammation model. **Laboratory Animal Research**, v. 28, n. 2, p. 137, 2012.

KOJ, A. Termination of acute-phase response. **General Pharmacology: The Vascular System**, v. 31, n. 1, p. 9–18, 1998.

KOSINA, P. *et al.* Phytochemical and antimicrobial characterization of *Macleaya cordata* herb. **Fitoterapia**, v. 81, n. 8, p. 1006–1012, dez. 2010.

KOSTER, J. D. DE; OPSOMER, G. Insulin Resistance in Dairy Cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 299–322, 2013.

KURUMISAWA, T. *et al.* Is bovine protothecal mastitis related to persistent infection in intestine? **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 80, n. 6, p. 950–952, 2018.

KUSHIBIKI, S. *et al.* Insulin resistance induced in dairy steers by tumor necrosis factor alpha is partially reversed by 2,4-thiazolidinedione. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 21, n. 1, p. 25–37, 2001.

KUSHNER, I.; MACKIEWICZ, A. Acute phase proteins as disease markers. **Disease markers**, v. 5, n. 1, p. 1–11, 1987.

LAVEN, R. A.; PETERS, A. R. Bovine retained placenta: Aetiology, pathogenesis and economic loss. **Veterinary Record**, v. 139, n. 19, p. 465–471, 1996.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period introduction—metabolic challenges in peripartum dairy cows and their associations with reproduction. **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, n. 56, p. 29–35, 2010.

LEBLANC, S. J. *et al.* Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1267–1279, 2006.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 1, p. 159–170, 2005.

LI, P. *et al.* Alterations of fatty acid β -oxidation capability in the liver of ketotic cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 4, p. 1759–1766, 2012.

LI, Y. *et al.* Effects of *Macleaya cordata* extract on small intestinal morphology and gastrointestinal microbiota diversity of weaned pigs. **Livestock Science**, v. 237, p. 104040, 2020.

LIN, L. *et al.* Medicinal plants of the genus *Macleaya* (*Macleaya cordata*, *Macleaya microcarpa*): A review of their phytochemistry, pharmacology, and toxicology. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 1, p. 19–48, 2018.

LING, H. *et al.* Effects of *Macleaya Cordata* extract on performance, nutrient apparent digestibilities, milk composition, and plasma metabolites of dairy goats. **Animals**, v. 13, n. 4, 2023.

MATULKA, R. A. *et al.* Assessing performance and safety of feeding a standardized *Macleaya cordata* extract to calves. **Animals**, v. 12, n. 2875, p. 1–15, 2022.

MCART, J. A. A. *et al.* Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 560–570, 1 dez. 2013.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OVERTON, M. W. Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of component and total cost per case. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 2043–2054, 2015.

MENDONÇA, F. L. M. *et al.* Use of a natural herbal-based feed additive containing isoquinoline alkaloids in newborn calves with cryptosporidiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 300, n. March, p. 1–6, 2021.

MESSEHA, S. S. *et al.* Sanguinarine inhibition of TNF- α -induced CCL2, IKBKE/NF- κ B/ERK1/2 signaling pathway, and cell migration in human triple-negative breast cancer cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, 2022.

MEZZETTI, M. *et al.* The role of altered immune function during the dry period in promoting the development of subclinical ketosis in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 10, p. 9241–9258, 2019.

MEZZETTI, M.; MINUTI, A.; BIONAZ, M.; *et al.* Effects of *Aloe arborescens* whole plant homogenate on lipid metabolism, inflammatory conditions and liver function of dairy cows during the transition period. **Animals**, v. 10, n. 5, p. 917, 2020.

MEZZETTI, M.; MINUTI, A.; PICCIOLI-CAPPELLI, F.; *et al.* Inflammatory status and metabolic changes at dry-off in high-yield dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 51–65, 2020.

MEZZETTI, M. *et al.* The transition period updated: a review of the new insights into the adaptation of dairy cows to the new lactation. **Dairy**, v. 2, n. 4, p. 617–636, 2021.

MEZZETTI, M.; BIONAZ, M.; TREVISI, E. Interaction between inflammation and metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of animal science**, v. 98, p. S155–S174, 2020.

MICHELS, A. *et al.* Isoquinoline alkaloids supplementation on performance and carcass traits of feedlot bulls. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 31, n. 9, p. 1474–1480, 2018.

MILLER, J. K.; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E.; MADSEN, F. C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2812–2823, 1993.

MINUTI, A. *et al.* Evaluation of circulating leukocyte transcriptome and its relationship with immune function and blood markers in dairy cows during the transition period. **Functional & Integrative Genomics**, v. 20, n. 2, p. 293–305, 2020.

MOALLEM, U. Invited review: Roles of dietary n-3 fatty acids in performance, milk fat composition, and reproductive and immune systems in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 8641–8661, 2018.

MORDAK, R.; ANTHONY, S. P. Periparturient stress and immune suppression as a potential cause of retained placenta in highly productive dairy cows: Examples of prevention. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 1–8, 2015.

MOYES, K. M. *et al.* Greater expression of TLR2, TLR4, and IL6 due to negative energy balance is associated with lower expression of HLA-DRA and HLA-A in bovine blood neutrophils after intramammary mastitis challenge with *Streptococcus uberis*. **Functional & Integrative Genomics**, v. 10, n. 1, p. 53–61, 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 7th. ed

NEUBAUER, V. *et al.* Starch-rich diet induced rumen acidosis and hindgut dysbiosis in dairy cows of different lactations. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1–16, 2020.

NEVES, R. C. *et al.* Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3796–3804, 2017.

NGUYEN, D. T. *et al.* Chemical constituents from *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. and their phenotypic functions against a Parkinson's disease patient-derived cell line. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 21, p. 115732, 2020.

NIGHTINGALE, C. R.; SELLERS, M. D.; BALLOU, M. A. Elevated plasma haptoglobin concentrations following parturition are associated with elevated leukocyte responses and decreased subsequent reproductive efficiency in multiparous Holstein dairy cows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 164, n. 1–2, p. 16–23, 2015.

NIU, X. *et al.* The anti-inflammatory effects of sanguinarine and its modulation of inflammatory mediators from peritoneal macrophages. **European Journal of Pharmacology**, v. 689, n. 1–3, p. 262–269, 2012.

OBIANG-OBOUNOU, B. W. *et al.* The mechanism of action of sanguinarine against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 36, n. 3, p. 277–283, 2011.

O'BOYLE, N. *et al.* Relationship of body condition score and oxidant stress to tumor necrosis factor expression in dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 113, n. 3–4, p. 297–304, 2006.

OHTSUKA, H. *et al.* Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 63, n. 9, p. 1021–1025, 2001.

OSORIO, J. S. *et al.* Supplementing Zn, Mn, and Cu from amino acid complexes and Co from cobalt glucoheptonate during the periparturient period benefits postparturient cow performance and blood neutrophil function. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 3, p. 1868–1883, 2016.

PASCOTTINI, O. B.; LEROY, J. L. M. R.; OPSOMER, G. Metabolic stress in the transition period of dairy cows: Focusing on the preparturient period. **Animals**, v. 10, n. 8, p. 1–17, 2020.

PETRI, R. M. *et al.* Effects of the supplementation of plant-based formulations on microbial fermentation and predicted metabolic function in vitro. **Anaerobe**, v. 57, p. 19–27, 2019.

PETRUCZYNIK, A. *et al.* Determination of selected isoquinoline alkaloids from mahonia aquifolia; Meconopsis cambrica; Corydalis lutea; Dicentra spectabilis; Fumaria officinalis; Macleaya cordata Extracts by HPLC-DAD and Comparison of Their Cytotoxic Activity. **Toxins**, v. 11, n. 10, 2019.

PIAO, M. *et al.* Advances in the Application of Phytochemical Extracts as Antioxidants and Their Potential Mechanisms in Ruminants. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, 2023.

POHL, A.; BURFEIND, O.; HEUWIESER, W. The associations between postparturient serum haptoglobin concentration and metabolic status, calving difficulties, retained fetal membranes, and metritis. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 7, p. 4544–4551, 2015.

QU, Y. *et al.* Potential risk indicators of retained placenta and other diseases in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4151–4165, 2014.

RIO, D. DEL; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, n. 4, p. 316–328, 2005.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7427–7434, 2017.

ROLLIN, E.; DHUYVETTER, K. C.; OVERTON, M. W. The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 122, n. 3, p. 257–264, 2015.

RUEGG, P. Managing Mastitis and Producing Quality Milk. In: RISCO, C. A.; RETAMAL, P. M. (Ed.). **Dairy Production Medicine**. 2016. p. 85–113.

SANTOS, J. E. P. *et al.* Meta-analysis of the effects of preparturient dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2134–2154, 2019.

SANZ-FERNANDEZ, M. V. *et al.* Targeting the hindgut to improve health and performance in cattle. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1–18, 2020.

SHELDON, I. M. *et al.* Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516–1530, 2006.

SHIN, D. H. *et al.* Associations between serum haptoglobin concentration and peri- and postpartum disorders, milk yield, and reproductive performance in dairy cows. **Livestock Science**, v. 213, n. August 2017, p. 14–18, 2018.

SILVA, M. S. DE S. *et al.* Sanguinarine as an antiparasitic against helminths and protozoa with importance in human and veterinary medicine: A systematic review. **International Journal of Health Sciences**, v. 11, n. 2, p. 119–133, 2023.

SOLER, L.; HERMES, R.; NIEWOLD, T. A. Macleaya cordata extract reduces inflammatory responses of intestinal epithelial cells in vitro. **American Journal of Plant Sciences**, v. 7, n. August, p. 1531–1537, 2016.

SORDILLO, L. M.; AITKEN, S. L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1–3, p. 104–109, 2009.

SORDILLO, L. M.; PIGHETTI, G. M.; DAVIS, M. R. Enhanced production of bovine tumor necrosis factor- α during the periparturient period. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 49, n. 3, p. 263–270, 1995.

SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 70–76, 2008.

STEVENS, M. G. H. *et al.* Differential gene expression of the toll-like receptor-4 cascade and neutrophil function in early- and mid-lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1277–1288, 2011.

STRNAD, P. *et al.* Liver-guardian, modifier and target of sepsis. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 1, p. 55–66, 2017.

SUREDA, E. A. *et al.* Isoquinoline alkaloids in sows' diet reduce body weight loss during lactation and increase IgG in colostrum. **Animals**, v. 11, n. 2195, p. 1–17, 2021.

TREVISI, E. *et al.* Pro-Inflammatory cytokine profile in dairy cows: consequences for new lactation. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 3, p. 3862, 2015.

TREVISI, E.; MINUTI, A. Assessment of the innate immune response in the periparturient cow. **Research in Veterinary Science**, v. 116, p. 47–54, 2018.

TUZIMSKI, T. *et al.* Isoquinoline alkaloid contents in Macleaya cordata extracts and their acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition. **Molecules**, v. 27, p. 1–26, 2022.

VALIPOUR, M.; ZARGHI, AFSHIN; *et al.* Therapeutic potential of chelerythrine as a multi-purpose adjuvant for the treatment of COVID-19. **Cell Cycle**, v. 20, p. 2321–2336, 2021.

VENJAKOB, P. L. *et al.* Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9396–9405, 2018.

VLASOVA, A. N.; SAIF, L. J. Bovine Immunology: Implications for dairy cattle. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 1–18, 2021.

WANG, M.; ZHANG, J.; *et al.* Effects of dietary *Macleaya cordata* extract on growth performance, biochemical indices, and intestinal microbiota of yellow-feathered broilers subjected to chronic heat stress. **Animals**, v. 12, n. 17, p. 2197, 2022.

WANG, M.; HUANG, X.; *et al.* Effects of *Macleaya cordata* extract on blood biochemical indices and intestinal flora in heat-stressed mice. **Animals**, v. 12, n. 19, 2022.

WANG, W. *et al.* Safety of standardized *Macleaya cordata* extract in an eighty- day dietary study in dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 1, p. 1–8, 2018.

WANKHADE, P. R. *et al.* Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. **Veterinary World**, v. 10, n. 11, p. 1367–1377, 2017.

WICKRAMASINGHE, J. *et al.* Evaluating ruminal and small intestinal morphology and microbiota composition of calves fed a *Macleaya cordata* extract preparation. **Animals**, v. 13, n. 54, p. 1–12, 2023.

WITTROCK, J. M. *et al.* Short communication: Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2408–2412, 2011.

YANG, C. *et al.* Effects of dietary *Macleaya cordata* extract inclusion on transcriptomes and inflammatory response in the lower gut of early weaned goats. **Animal Feed Science and Technology**, v. 272, n. 114792, p. 1–13, 2021.

YANG, P. *et al.* Potential pharmacological mechanisms of four active compounds of *Macleaya cordata* extract against enteritis based on network pharmacology and molecular docking technology. **Frontiers in Physiology**, v. 14, 2023.

YUE, M. *et al.* Protopine alleviates dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and regulating intestinal microbiota. **Molecules**, v. 28, n. 13, 2023.

ZHANG, Q. *et al.* *Macleaya cordata* extract, an antibiotic alternative, does not contribute to antibiotic resistance gene dissemination. **Journal of Hazardous Materials**, v. 412, p. 125272, 2021.

ZHAO, C. *et al.* Gut dysbiosis induces the development of mastitis through a reduction in host anti-inflammatory enzyme activity by endotoxemia. **Microbiome**, v. 10, n. 1, p. 1–22, 2022.

ZHENG, Z. *et al.* Sanguinarine enhances the integrity of the blood – milk barrier and inhibits oxidative stress in lipopolysaccharide-stimulated mastitis. **Cells**, v. 11, n. 3658, p. 1–13, 2022.

ZHOU, Z. *et al.* Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline improves immunometabolic status in dairy cows during the peripartal period. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 8956–8969, 2016.

2 CAPÍTULO II - EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATO DE *Macleaya cordata* PARA VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

2.1 INTRODUÇÃO

O período de transição é uma fase de grande desafio metabólico e fisiológico para vacas leiteiras. As vacas enfrentam um balanço energético negativo (BEN), consequência da grande mobilização de energia para a produção de leite, que não é acompanhada pelo consumo de matéria seca (CMS). O parto desencadeia uma série de processos metabólicos que induzem lipomobilização. O sistema imune é ativado e as vacas entram em um processo fisiológico de inflamação (Ospina *et al.*, 2010; Ster *et al.*, 2012).

O parto desencadeia um processo inflamatório fisiológico que ativa o sistema imune das vacas, sem os sinais clássicos de inflamação, o que caracteriza um estado inflamatório de baixo grau (Bradford *et al.*, 2015). A sinalização inflamatória no pós-parto é presente em vários órgãos, caracterizando uma inflamação sistêmica e não focal. A inflamação impacta diretamente a funcionalidade hepática, já que o fígado durante o processo inflamatório deixa de atuar prioritariamente como um órgão metabólico e passa a priorizar a função de um órgão imune (Strnad *et al.*, 2017). A inflamação sistêmica aumenta o risco de ocorrência de doenças, o que afeta negativamente a produção de leite toda a lactação. As vacas que ficam doentes no início da lactação são particularmente afetadas, já que o pico de produção é menor (Carvalho *et al.*, 2019).

O desempenho das vacas no início da lactação impacta o desempenho econômico e zootécnico dos rebanhos leiteiros, já que nessa fase as vacas estão sob maiores riscos de doenças e distúrbios metabólicos que acarretam queda de produtividade e desempenho reprodutivo ao longo de toda a lactação (Carvalho *et al.*, 2019; Campos *et al.*, 2020). O impacto negativo ocasionado pelas doenças no período pós-parto aumenta os riscos de descarte de vacas (Dubuc; Denis-Robichaud, 2017).

Dentre as disfunções de maior incidência durante o período pós-parto estão a retenção de membranas fetais (RMF), a hipocalcemia subclínica ou clínica, esta última também conhecida como “febre do leite” (Rodríguez *et al.*, 2017) e a metrite clínica puerperal, caracterizada pela expulsão vaginal de conteúdo líquido, de cor marrom, odor fétido, com ou sem presença de pus (Sheldon *et al.*, 2006; Giuliadori *et al.*, 2013).

Outras ocorrências são a cetose clínica e subclínica, caracterizadas pelo aumento da concentração sérica de corpos cetônicos, o deslocamento de abomaso, que ocorre quando o abomaso se desloca da posição anatômica normal, causando complicações para os animais (Leblanc *et al.*, 2005), e ainda, a mastite, clínica e subclínica, caracterizadas pela inflamação da glândula mamária em conjunto ou não com a infecção causada por agentes microbiológicos, predominantemente bactérias (Ruegg, 2011).

A utilização de extratos herbais como aditivo para vacas em lactação, em especial no início da lactação, pode ser benéfica. O extrato de algumas plantas da família Papaveraceae contém significativa concentração de alcaloides com propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas como metabólitos secundários. Sanguinarina, protopina e queleritrina são os principais componentes presentes no extrato de *Macleaya cordata* (EMC) (Tuzimski *et al.*, 2022). O fornecimento de EMC já se provou seguro e sem efeitos adversos tanto para vacas adultas, assim como para bezerras (Wang *et al.*, 2018; Matulka *et al.*, 2022).

O objetivo deste estudo é demonstrar a associação entre a administração de extrato de EMC para vacas leiteiras no pré-parto e a contagem de células somáticas (CCS), a qualidade do leite e níveis de biomarcadores séricos no pós-parto. Além disso, outro objetivo deste estudo é observar os efeitos do fornecimento do EMC sobre o desempenho produtivo e a ocorrência de doenças no pós-parto, a fim de analisar a viabilidade da sua utilização em rebanhos leiteiros.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Protocolo número 034/2023).

2.2.1 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados, com três tratamentos distintos no pré-parto. As vacas foram blocadas por paridade no pré-parto (primíparas vs. múltiparas) e data prevista de parto. Não foram incluídas nulíparas (novilhas) no presente experimento. Em cada bloco, vacas

foram alocadas de forma aleatória para um dos três tratamentos. A data prevista para o parto foi calculada utilizando 275 dias de gestação, a partir da data efetiva da inseminação, valor correspondente à média de duração das gestações da propriedade.

Os tratamentos foram determinados de acordo com a aplicação ou não de bolus de ECM (Bolus Lacto V6® - Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville, Alemanha). O produto contém uma concentração mínima de 4.000 mg e máxima de 7.000 mg de sanguinarina/kg de EMC (EFSA, 2021; Bampidis *et al.*, 2023). O bolus é fabricado por meio da compactação do EMC, o que diminui a superfície de contato do produto com o líquido do rúmen, e permite a liberação lenta da substância equivalente à dose recomendada.

Ao serem alocadas no lote pré-parto, 24 dias antes da data prevista do parto, os animais receberam um bolus de 75 g, equivalente à dose de 1,5 g de EMC/dia (B1), dois bolus de 75 g, equivalente à dose de 3,0 g de EMC/dia (B2), ou não receberam bolus de EMC (CON). A dose recomendada pelo fabricante é de 1,5 a 3,0g de EMC/dia, conforme as características do rebanho. As doses utilizadas no experimento foram escolhidas em decorrência da forma de administração do produto, e visando abranger os limites de fornecimento recomendados. O bolus de ECM era aplicado com o auxílio de um aplicador de imã ruminal (ITC do Brasil).

2.2.2 Animais e instalações

O experimento foi conduzido em um rebanho comercial localizado em Castro, Paraná, Brasil (Latitude -24° 48' 50" e Longitude -49° 58' 17"), no período de setembro de 2023 a fevereiro de 2024. Um total de 129 vacas da raça Holandesa, 84 primíparas e 45 multíparas, com média de $1,55 \pm 0,96$ lactações. Os animais foram alocados semanalmente ao lote pré-parto, de acordo com a data prevista de parto, com $251 \pm 1,0$ dias de gestação.

No momento da entrada no lote pré-parto, no dia do parto e no dia +28 em relação ao parto, as vacas foram pesadas utilizando uma fita métrica para pesagem de bovinos a partir da mensuração do perímetro torácico e o escore de condição corporal (ECC) foi avaliado em uma escala de 1 a 5 pontos, onde 1 se refere a uma vaca extremamente magra, e 5 a uma vaca extremamente gorda (Wildman *et al.*, 1982). Os animais sempre eram pesados no período da manhã antes da

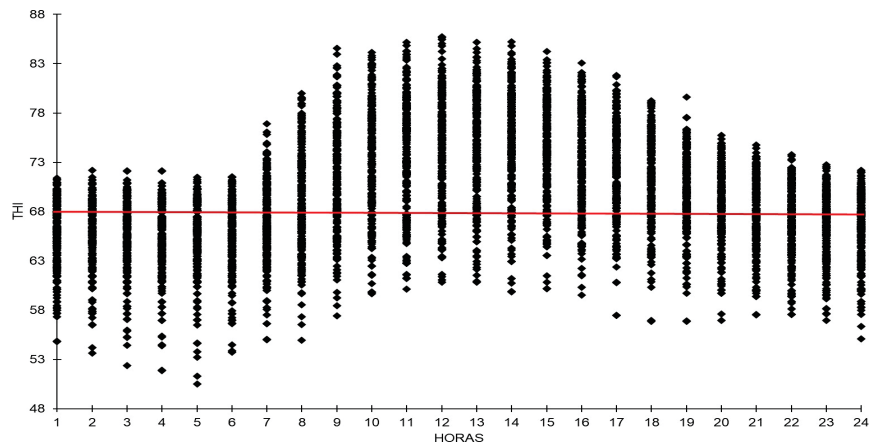
alimentação. Os parâmetros PC e ECC foram determinados sempre pela mesma avaliadora durante todo o experimento. Em média as vacas pesaram $717,86 \pm 56,34$ kg na entrada do pré-parto, com ECC médio de $3,12 \pm 0,28$.

Durante o período pré-parto, as vacas foram alojadas em instalação do tipo compost barn, com acesso a piquete para atividade física. Após o parto, as vacas foram alocadas em outra instalação do tipo compost barn, sem acesso ao pasto, onde ficavam por no mínimo 21 dias pós-parto. Após a liberação do pós-parto, os animais eram direcionados para o lote de alta produção, em uma instalação tipo *free-stall*. Todas as instalações eram equipadas com ventiladores na linha das camas, sistema de aspersão de água na linha do cocho e cobertura de serragem nas camas.

A temperatura ambiente e a umidade no interior do barracão pós-parto foram monitoradas ao longo de todo o período experimental, em intervalos de 30 minutos, utilizando um equipamento de monitoramento (Thermo-hygrometer - MX2301A Data Logger HOBO) a 2 m do piso fixado no centro no barracão. O Índice de Temperatura-Umididade (THI) foi calculado de acordo com Yousef (1985), com o propósito de identificar algum grau de estresse calórico dos animais, ainda mais que o presente experimento foi conduzido predominantemente no verão. O THI foi estimado segundo a equação $THI = T + 0,36 \times SD + 41,2$; onde T = temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e SD = ponto de orvalho ($^{\circ}\text{C}$). O THI ao longo das horas está demonstrado no GRÁFICO 1, e o THI ao longo dos dias do período experimental está demonstrado no GRÁFICO 2. Durante o período de condução do experimento o THI foi em média $69,57 \pm 5,72$. E o THI esteve acima de 68 em 56,8% das medições. As médias de temperatura e umidade foram $22,28 \pm 5,10^{\circ}\text{C}$ e $73,72 \pm 15,19\%$, em média.

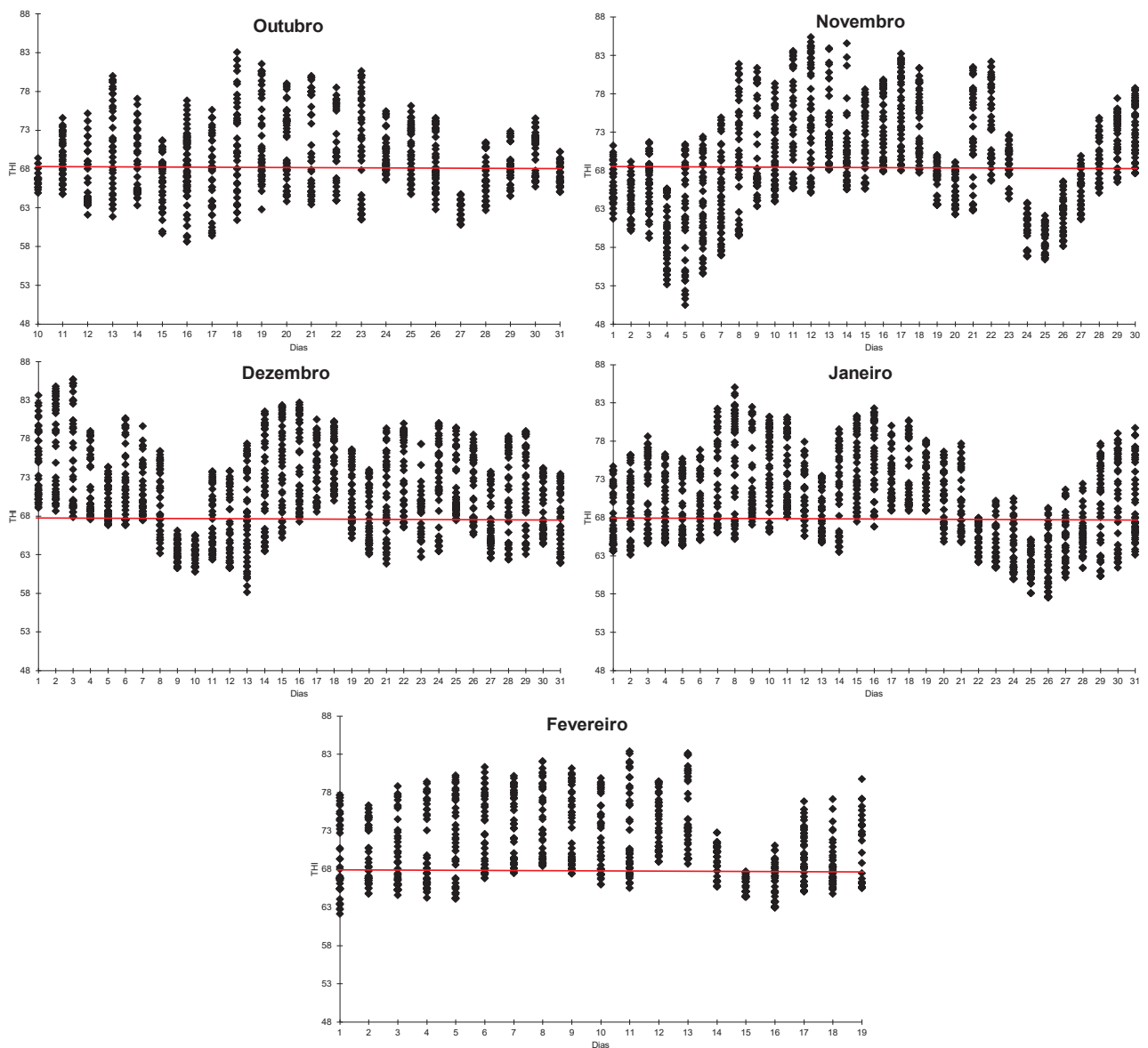
Durante todo o período pós-parto as vacas foram ordenhadas três vezes ao dia (04h00, 12h00 e 20h00) em uma sala de ordenha do tipo espinha de peixe dupla de dez postos com identificação automática (GEA). Antes de cada ordenha as vacas eram conduzidas por uma sala de espera com ventiladores e sistema de aspersão de água. A produção de leite foi registrada individualmente por ordenha durante todo o experimento por meio de um medidor automático e as mensurações foram arquivadas pelo software de gerenciamento de rebanho DairyPlan. Vacas que estavam recebendo antibiótico eram ordenhadas por meio de um sistema de balde ao pé, na mesma sala de ordenha, e não eram retiradas do lote.

GRÁFICO 1 - ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (THI) DENTRO DO BARRACÃO PÓS-PARTO AO LONGO DO DIA



LEGENDA: 5766 gravações em intervalos de 30 minutos.

GRÁFICO 2 - ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (THI) DENTRO DO BARRACÃO PÓS-PARTO DURANTE CADA MÊS DO PERÍODO EXPERIMENTAL



2.2.3 Dietas

As dietas foram formuladas de acordo com as novas exigências nutricionais de vacas leiteiras no período de transição (NASEM, 2021) e estão descritas nas TABELAS 1 e 2. As vacas nos lotes pós e pré-parto foram alimentadas *ad libitum* na forma de dieta total misturada (TMR), uma vez ao dia, às 14h00 e às 16h00, respectivamente, e as quantidades de alimento foram ajustadas diariamente, para resultar em pelo menos 10% de sobras de todo o lote.

A mensuração do pH de urina das vacas com o auxílio de um pHmetro portátil (HI98127 – Hanna Instruments Inc.) foi utilizada para confirmar se a dieta do lote pré-parto estava causando o efeito acidogênico desejado, mantendo uma concentração de DCAD relativamente constante ao longo do período experimental. As mensurações foram feitas duas vezes por semana. Durante o período experimental, o pH urinário se manteve em média $6,21 \pm 0,1$, dentro do recomendado para a eficaz prevenção de hipocalcemia (Goff, 2008), e condizente com o DCAD estimado da dieta pré-parto (-6,8 mEq/100g MS; TABELA 2).

TABELA 1 - DESCRIÇÃO DAS DIETAS DOS LOTES PRÉ-PARTO E PÓS-PARTO

Ingrediente, % MS	Pré-parto	Pós-parto
Silagem de milho	44,5	33,1
Palha de trigo	17,7	-
Pré secado de azevém	-	15,3
Casca de soja	8,9	-
Farelo de soja ¹	-	5,8
Resíduo de cervejaria	8,6	6,6
DDGS	-	4,6
Milho moído	-	9,1
Bicarbonato de sódio	-	1,3
Ureia	-	0,3
Suplemento mineral - vitamínico	0,6	1,7
Adsorvente de micotoxinas	-	1,3
Ração pré-parto ²	19,7	
Ração lactação ³	-	18,0

¹ – Farelo de soja 46,5%PB

² – Ração Elite Pré-parto 30%PB (Castrolanda Cooperativa Agroindustrial)

³ – Ração Suprema Lactação Especial 23%PB (Castrolanda Cooperativa Agroindustrial)

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS DOS LOTES PRÉ-PARTO E PÓS-PARTO

Item	Pré-parto	Pós-parto
Proteína bruta, %	14,3	17,9
FDN, % ¹	43,8	35,0
FDA, % ²	27,3	18,8
CNF, % ³	29,8	34,7
Amido, %	20,9	28,7
Ca, % ⁴	1,3	0,7
P, % ⁵	0,3	0,4
Mg, % ⁶	0,4	0,3
K, % ⁷	1,1	1,1
S, % ⁸	0,3	0,2
DCAD, mEq/100g ⁹	-6,8	39,0

¹ Fibra em detergente neutro; ² Fibra em detergente ácido; ³ Carboidrato não fibroso;

⁴ Cálcio; ⁵ Fósforo; ⁶ Magnésio; ⁷ Potássio; ⁸ Enxofre; ⁹ Diferença catiônica-aniônica da dieta.

2.2.4 Manejo durante o parto

As vacas foram observadas quanto aos sinais do parto, e qualquer forma de intervenção foi evitada, com exceção dos partos com duração prolongada (>2 h). A propriedade não possuía maternidade; os partos aconteciam, sem auxílio, no barracão pré-parto. Após o parto, as vacas eram encaminhadas ao lote pós-parto e a primeira ordenha ocorria no horário da próxima ordenha do lote pós-parto e era realizada na sala de ordenha principal, por meio de sistema “balde ao pé”. Quando possível o colostro era coletado e uma alíquota era coletada para mensuração do Brix através de um refratômetro analógico portátil. Colostros de boa qualidade (>25% Brix) eram armazenados e congelados. Os bezerros eram levados ao bezerreiro onde recebiam 4L de colostro em até 2h após o nascimento. Como parte do manejo da fazenda, todas as vacas, em até 24 horas após o parto, receberam doses de complexo vitamínico (15 mL, Adaptador® Vit, Biogénesis Bagó) e mineral (15 mL, Adaptador® Min, Biogénesis Bagó).

2.2.5 Coleta e análise de amostras

Amostras da TMR dos lotes pré-parto e pós-parto, bem como amostras do volumosos foram coletadas mensalmente, identificadas e armazenadas a -20°C até o processamento. Todo o processamento e análises dos teores de MS, cinzas, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo, lignina e macrominerais foram realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Paraná (TABELA 3).

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS INGREDIENTES VOLUMOSOS

Item	Silagem de milho	Silagem de Aveia	Pré-Secado de Azevém	Palha de Trigo
Matéria seca, %	40,05 ± 5,86	44,98 ± 0,59	39,03 ± 6,3	85,01 ± 3,64
Proteína bruta, %	6,38 ± 0,61	12,37 ± 0,58	18,79 ± 1,25	3,81 ± 0,63
FDN, % ¹	38,78 ± 5,53	53,46 ± 1,62	44,54 ± 0,58	76,79 ± 0,88
FDA, % ²	21,98 ± 3,31	30,48 ± 1,40	24,18 ± 1,65	47,41 ± 0,95
Extrato etéreo, %	2,47 ± 0,35	1,59 ± 0,04	2,60 ± 0,34	0,65 ± 0,20
Lignina, %	2,88 ± 0,47	2,92 ± 0,24	0,48 ± 1,52	10,64 ± 1,17
K, % ³	0,69 ± 0,19	3,61 ± 0,01	3,72 ± 0,08	1,24 ± 0,32
Ca, % ⁴	0,19 ± 0,02	0,42 ± 0,05	0,48 ± 0,07	0,17 ± 0,01
P, % ⁵	0,19 ± 0,03	0,22 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,09 ± 0,02

¹ Fibra em detergente neutro; ² Fibra em detergente ácido; ³ Potássio; ⁴ Cálcio; ⁵ Fósforo.

Amostras de leite individuais foram coletadas semanalmente até 30 dias pós-parto de cada vaca. As amostras foram obtidas por um amostrador da própria ordenhadeira, que era acoplado no sistema, no momento da ordenha da tarde (entre 12h00 e 17h00) e armazenadas sob refrigeração em frascos com o conservante bronopol (2-bromo-2- nitropropano-1,3-diol) para análise.

As amostras foram analisadas no Laboratório Centralizado de Qualidade do Leite (PARLEITE) da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH). A composição e a qualidade do leite (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, caseína, nitrogênio ureico no leite (NUL) e CCS) foram mensuradas em analisadores automatizados (Nexgen, Bentley Instruments®) por

espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Os valores de ELCS foram calculados utilizando a fórmula $ELCS = [\text{Log}_2 (CCS/100.000)] + 3$.

A partir de 265 dias de gestação (d-10 em relação à data do parto), o sangue foi coletado de todas as vacas e, em seguida, nos dias 0, 3, 7, 14 e 28 pós-parto. As amostras foram colhidas dos vasos coccígeos em tubos vacuolizados (Vacutainer®) de 9 mL sem anticoagulante para coleta do soro, e em tubos de 6 mL com EDTA para coleta do plasma. Os tubos foram centrifugados por 15 min a $2.500 \times g$ à temperatura ambiente e o soro ou plasma sobrenadante foi pipetado e distribuído em triplicatas de microtubos eppendorfs de 2 mL, e posteriormente congelados a -20°C até a análise.

As amostras de soro foram encaminhadas para análise de cálcio total, albumina, aspartato amino transferase (AST), bilirrubina, colesterol, gama glutamil transferase (GGT), glicose, triacilglicerol (TAG), beta-hidroxibutirato (BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE).

Por meio de glicosímetro portátil digital e tiras reagentes (FreeStyle Optium Neo Abbott) foi realizado o monitoramento das concentrações de corpos cetônicos (dias 3, 7 e 14 pós-parto) e de glicose (dia 7 pós-parto) no sangue total ainda fresco. A mensuração de BHB do sangue é a forma mais utilizada para o diagnóstico de cetose, e animais com concentrações séricas de BHB igual ou acima de $1,2 \text{ mmol/L}$ em pelo menos uma das mensurações foram categorizados como hipercetóticos (Iwersen *et al.*, 2009; Van Saun, 2016).

2.2.6 Definição de doenças e mortalidade

A incidência de doenças clínicas foi avaliada desde o parto até 60 dias após o parto e todas as doenças foram definidas antes de iniciar o estudo. Todas as vacas foram acompanhadas durante o pós-parto, e qualquer mudança de comportamento (inapetência ou queda na produção de leite) ou sinal clínico apresentado por qualquer vaca era monitorado pela equipe da fazenda.

A retenção de membranas fetais (RMF) ou retenção de placenta foi considerada como a falha de expulsar as membranas fetais em até 24 h após o parto. A metrite puerperal foi diagnosticada pela presença ou expulsão vaginal de conteúdo líquido, de cor marrom, odor fétido, com ou sem presença de pus, com ou sem febre ($\geq 39,5^\circ\text{C}$), até 20 DEL (Sheldon *et al.*, 2009).

Vacas com atonia ruminal e inapetência suspeita de deslocamento de abomaso foram diagnosticadas por ausculta e percussão próximo às fossas paralombares, confirmado durante a intervenção cirúrgica para correção por omentopexia.

A mastite clínica foi diagnosticada antes de cada ordenha e todas as vacas foram examinadas quanto à presença de leite anormal, com ou não presença de grumos em um ou mais quartos, além de outros sinais clínicos. Uma amostra de leite de cada quarto afetado de vacas diagnosticadas com mastite era coletada para posterior análise microbiológica utilizando um kit para cultura (SmatLab, OnFarm).

Hipercetonemia ou cetose foi definida como concentrações séricas BHB $\geq$ 1,20 mmol/L em pelo menos uma amostra coletada nos dias 3 e 7 pós-parto.

Vacas com mais de uma doença clínica foram classificadas como portadoras de múltiplas doenças. O descarte dos animais, voluntário ou involuntário, foi considerado até 60 DEL.

2.2.7 Análise estatística

As variáveis foram analisadas pelo programa estatístico SAS versão 9.4 (SAS University Edition, Cary, NC). Os dados pré e pós-parto foram analisados separadamente e a vaca foi considerada como unidade experimental. As variáveis contínuas foram analisadas com modelos lineares de efeitos mistos pelo procedimento MIXED do SAS.

O modelo utilizado pode ser representado pela seguinte equação:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_{k(i)} + \epsilon_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} : Valor observado da variável dependente.

μ : Intercepto (média geral).

τ_i : efeito fixo do grupo i (CON, B1, B2).

β_j : Efeito aleatório de bloco j .

$\gamma_{k(i)}$: Efeito aleatório de animal k dentro do grupo i .

ϵ_{ijk} : Erro residual.

Para as variáveis com medida repetida, o modelo incluiu os efeitos fixos de tratamento, paridade, tempo e suas interações, e os efeitos aleatórios de bloco e de vaca aninhada dentro de tratamento.

As seguintes estruturas de covariância foram testadas: auto regressiva de primeira ordem [AR(1)], não estruturada (UN), simétrica composta (CS), e Toeplitz (TOEP), e aquela que apresentou o menor valor do critério de informação de Akaike corrigido (AICC) foi selecionada.

A normalidade dos resíduos e a homogeneidade da variância foram examinadas para cada variável dependente contínua analisada. Aquelas que não apresentaram normalidade foram submetidas à transformação de acordo com o procedimento Box-Cox (Box; Cox, 1964) usando uma macro para modelos mistos no SAS (Piepho, 2009). As médias dos quadrados mínimos e o erro padrão médio foram novamente transformados para apresentação dos resultados de acordo com Jørgensen e Pedersen (1997).

As variáveis binárias, incidência de doenças, foram analisadas por modelos lineares generalizados de efeitos mistos usando regressão logística com o procedimento GLIMMIX do SAS. Os modelos estatísticos incluíram o efeito fixo de tratamento e o efeito aleatório de bloco.

O modelo utilizado pode ser representado pela seguinte equação:

$$\text{Log} \left(\frac{p_{ijk}}{1-p_{ijk}} \right) = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + \epsilon_{ijk}$$

Onde:

p_{ijk} : Probabilidade de ocorrência do evento, para a vaca no bloco.

μ : Intercepto (média geral).

τ_i : efeito fixo do grupo i (CON, B1, B2).

β_j : Efeito fixo da paridade j .

γ_k : Efeito aleatório do bloco k .

ϵ_{ijk} : Erro residual.

A significância estatística para todas as variáveis foi considerada em $P \leq 0,05$, e a tendência foi considerada em $0,05 < P \leq 0,10$.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso corporal e o ECC são apresentados na TABELA 4. As vacas do grupo B1 começaram o período experimental com ECC mais baixo que as vacas dos grupos B2 e CON (3,04 vs. 3,16 e 3,15, $P = 0,03$) e apresentaram tendência ($P = 0,06$) de finalizar o período experimental também abaixo dos outros grupos (2,67 vs. 2,79 e 2,76). Porém não houve diferenças significativas na mudança de ECC entre o pré-parto e pós-parto ($P = 0,93$). O peso corporal médio das vacas não diferiu entre os grupos em nenhum dos tempos de pesagem, bem como na mudança de peso entre o pré e pós-parto, que não apresentou significância estatística ($P = 0,13$).

TABELA 4 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE O PESO CORPORAL E ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL DOS ANIMAIS

						Valor <i>P</i>		
Item	CON	B1	B2	Média Geral	EPM	Grupo	B1 vs. B2	EMC vs. Controle
Peso corporal, kg								
Pré-parto	722,5	716,9	714,1	717,8	10,58	0,78	0,97	0,77
Parto	712,7	705,8	705,9	708,1	10,64	0,74	1,00	0,84
Pós-parto	687,8	683,7	682,5	684,7	10,58	0,90	0,99	0,88
Mudança ¹	-34,7	-33,2	-31,6	-33,2	1,24	0,13	0,49	0,29
ECC, 1 a 5								
Pré-parto	3,15	3,04	3,16	3,13	0,05	0,03	0,07	0,16
Parto	3,11	3,06	3,13	3,09	0,04	0,32	0,32	0,67
Pós-parto	2,76	2,67	2,79	2,74	0,05	0,06	0,08	0,31
Mudança ²	-0,39	-0,37	-0,37	-0,38	0,04	0,93	1,00	0,71

¹Mudança no peso corporal calculada pela diferença entre o PC pós-parto e o PC pré-parto.

²Mudança no ECC calculado pela diferença entre o ECC pós-parto e o ECC pré-parto.

2.3.1 Produção e composição do leite

A administração de EMC não resultou em nenhuma alteração significativa na composição do leite. Teores (%) e produções (kg/d) de gordura, proteína, lactose, caseína e sólidos totais foram estatisticamente similares ($P > 0,10$) entre os tratamentos (TABELA 5). O NUL também não diferiu ($P = 0,30$) entre os grupos de tratamento ($P = 0,30$). A produção de leite até os 100 DEL não sofreu influência ($P = 0,67$) da administração de EMC; da mesma forma, a produção de leite corrigida para energia (PLCE) também não diferiu ($P = 0,46$) entre os grupos.

No estudo conduzido por Wang *et al.* (2018) com vacas em meio de lactação, utilizando 1g e 10g de EMC/animal/d, também não foram observadas mudanças na produção e composição do leite. Isso pode indicar que os efeitos do EMC sobre a inflamação não refletem em mudanças significativas em parâmetros produtivos.

Assim como o teor e a produção de gordura no leite, o perfil de ácidos graxos da gordura do leite também não sofreu influência ($P > 0,10$) da administração de EMC nas primeiras quatro semanas pós-parto (TABELA 6). A baixa produção de AG De Novo pode estar relacionada com a ocorrência de acidose ruminal subclínica (Fukumori *et al.*, 2021). Quando o pH do rúmen cai em decorrência da maior produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) a concentração de acetado produzido também cai. Sem acetato a produção de gordura na glândula mamária é deprimida, principalmente pela deficiência de AG De Novo, essencialmente produzidos no úbere. Ao todo 41 vacas, 31,78%, produziram em ao menos uma coleta menos de 23% de AG De Novo compondo a gordura do leite.

TABELA 5 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Parâmetro	CON	B1	B2	EPM	Grupo	Valor <i>P</i>	
						B1 vs. B2	EMC vs. Controle
Produção de leite ¹ , kg/d	52,90	52,22	52,60	1,17	0,88	0,95	0,67
Produção de leite ² , kg/d	48,22	46,90	47,37	1,18	0,59	0,95	0,36
PLCE, kg/d ³	48,34	46,42	47,67	1,37	0,46	0,71	0,35
Gordura, kg/d	1,78	1,71	1,77	0,07	0,66	0,74	0,61
Proteína, kg/d	1,52	1,46	1,47	0,03	0,30	0,93	0,14
Lactose, kg/d	2,27	2,18	2,22	0,05	0,38	0,79	0,22
Sólidos totais, kg/d	6,01	5,77	5,89	0,15	0,39	0,78	0,24
Caseína, kg/d	1,20	1,16	1,17	0,02	0,31	0,93	0,14
Gordura, %	3,71	3,67	3,79	0,10	0,53	0,58	0,76
Proteína, %	3,19	3,16	3,16	0,04	0,76	1,00	0,46
Lactose, %	4,71	4,65	4,70	0,03	0,26	0,47	0,27
Sólidos totais, %	12,52	12,40	12,54	0,12	0,50	0,52	0,68
Caseína, %	2,53	2,51	2,51	0,03	0,78	1,00	0,48
NUL, mg/dL	15,99	15,75	16,70	0,55	0,30	0,29	0,68

¹ Produção de leite nas primeiras 14 semanas de lactação; ² Produção de leite média referente ao dia de coleta de amostras de leite para análise de composição; ³ produção de leite corrigida para energia = [(0,327 x produção de leite) + (12,95 x produção de gordura) + (7,20 x kg de proteína)]

TABELA 6 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA GORDURA DO LEITE (g/100g DE LEITE)

Item	CON	B1	B2	EPM	Grupo	Valor <i>P</i>	
						B1 vs. B2	EMC vs. Controle
AG Saturados (SFA)	2,13	2,09	2,16	0,06	0,66	0,64	0,96
AG Insaturados (UFA)	1,25	1,26	1,30	0,04	0,56	0,75	0,40
AG Monoinsaturados (MFA)	1,08	1,10	1,13	0,03	0,56	0,79	0,38
AG Polinsaturados (PFA)	0,19	0,19	0,20	0,01	0,73	0,71	0,99
Ácido palmítico (C16:0)	0,99	0,99	1,02	0,02	0,53	0,62	0,50
Ácido esteárico (C18:0)	0,45	0,46	0,47	0,01	0,56	0,91	0,31
Ácido oleico (C18:1)	0,93	0,95	0,98	0,03	0,45	0,79	0,27
Pré-formado	1,33	1,34	1,38	0,04	0,51	0,63	0,44
Misto	1,11	1,09	1,12	0,03	0,70	0,69	0,89
De Novo	0,89	0,87	0,90	0,03	0,74	0,77	0,74

2.3.2 Qualidade do leite

A suplementação de EMC, no entanto, mostrou efeito sobre a inflamação da glândula mamária. As vacas tratadas que receberam os bolus tiveram menores valores de CCS (cél. /mL x 10³) nas primeiras quatro semanas de lactação ($P < 0,01$). No entanto os valores de escore linear de CCS não refletiram a mesma significância ($P = 0,11$). As médias de CCS registradas nas primeiras semanas pós-parto estão descritas na TABELA 7. As vacas dos grupos B1 e B2 estão enquadradas dentro do parâmetro de ausência de mastite subclínica, isto é, $CCS \leq 200 \times 10^3$ cél. /mL de leite. Já as vacas do grupo CON podem ser enquadradas como risco de mastite, categorizadas como mastite subclínica, quando ainda não há manifestação clínica na inflamação (Schwarz *et al.*, 2011, 2020; Fernandes *et al.*, 2021).

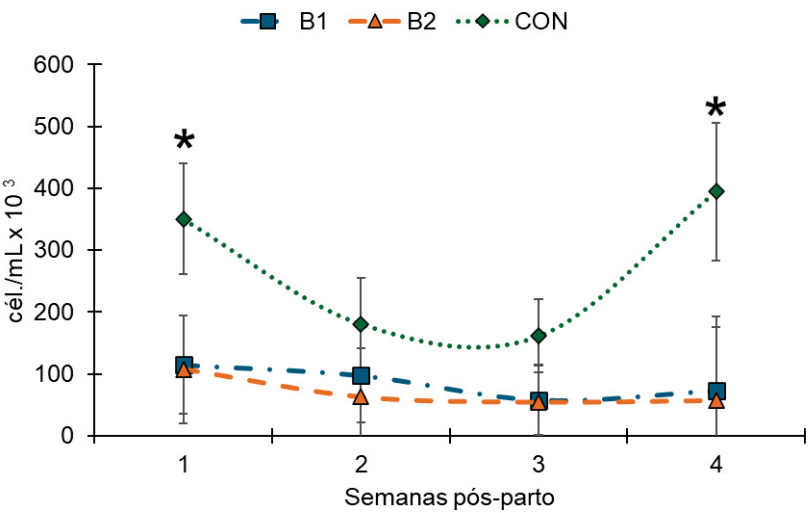
TABELA 7- EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) E O ESCORE LINEAR DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (ELCS)

						Valor <i>P</i>	
Item	CON	B1	B2	EPM	Grupo	B1 vs. B2	EMC vs. Controle
ELCS ³	2,69	2,55	2,55	0,08	0,29	0,99	0,11
CCS, cél. /mL x 10 ³	288,33	78,77	65,45	67,84	<0,01	0,98	<0,01

³CCS Linear = [Log2 (CCS/100.000)] + 3.

As vacas do grupo CON apresentaram um aumento da CCS ao passar das semanas, diferentemente das vacas dos grupos B1 e B2 que conseguiram manter a CCS estável nas primeiras semanas de lactação (GRÁFICOS 3 e 4). Tanto a CCS como a evolução do parâmetro ao longo das semanas revelam que as vacas que receberam o EMC foram mais eficazes em regular a inflamação na glândula mamária. Os dados encontrados no presente estudo estão em acordo com estudos em cabras em lactação (Ling *et al.*, 2023), os quais também observaram menores valores de CCS para animais tratados com EMC.

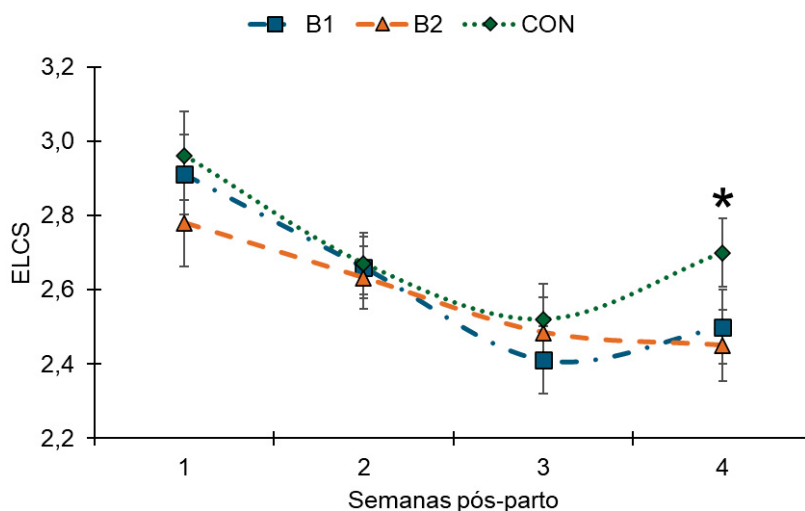
GRÁFICO 3 – EVOLUÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) AO LONGO DAS



PRIMEIRAS QUATRO SEMANAS PÓS-PARTO

EMC vs. Controle = Semana 1 *P* =0,03; Semana 2 *P* =0,28; Semana 3 *P* =0,35; Semana 4 *P* =0,02.

GRÁFICO 4 - EVOLUÇÃO DO ESCORE LINEAR DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (ELCS) AO LONGO DAS PRIMEIRAS QUATRO SEMANAS PÓS-PARTO



EMC vs. Controle = Semana 1 $P=0,42$; Semana 2 $P=0,85$; Semana 3 $P=0,67$; Semana 4 $P=0,05$.

Apesar da ação específica do EMC e seus princípios ativos na glândula mamária de bovinos ainda ser incerta, os estudos farmacológicos focados em outras espécies conseguem demonstrar que a ação anti-inflamatória do composto pode justificar o não aumento da CCS nos grupos suplementados com EMC no presente estudo.

A ação anticancerígena do EMC e seus componentes em casos de câncer de mama em humanos é bastante explorada pela indústria farmacêutica. A inibição do TNF- α (Messeha *et al.*, 2022) e da via MAPK (Candas *et al.*, 2014) na glândula mamária pela sanguinarina presente no EMC contribui para a atenuação da inflamação e redução do recrutamento de células imunes. A sanguinarina mostrou-se eficaz em reduzir a ação da COX-2 em ensaios farmacológicos simulando câncer de mama (Park *et al.*, 2014), resultado que demonstra o potencial de redução do dano tecidual pelo estresse oxidativo na glândula mamária.

Um estudo conduzido por Zheng *et al.* (2022) conseguiu demonstrar a ação da sanguinarina na inibição do estresse oxidativo na glândula mamária em camundongos desafiados com LPS (lipopolissacarídeos). Camundongos tratados com sanguinarina reduziram a secreção de mieloperoxidase, um biomarcador que indica dano tecidual vascular. Além disso, a sanguinarina tem o efeito de garantir a integridade da barreira sangue-leite, diminuindo a entrada de possíveis patógenos na corrente sanguínea.

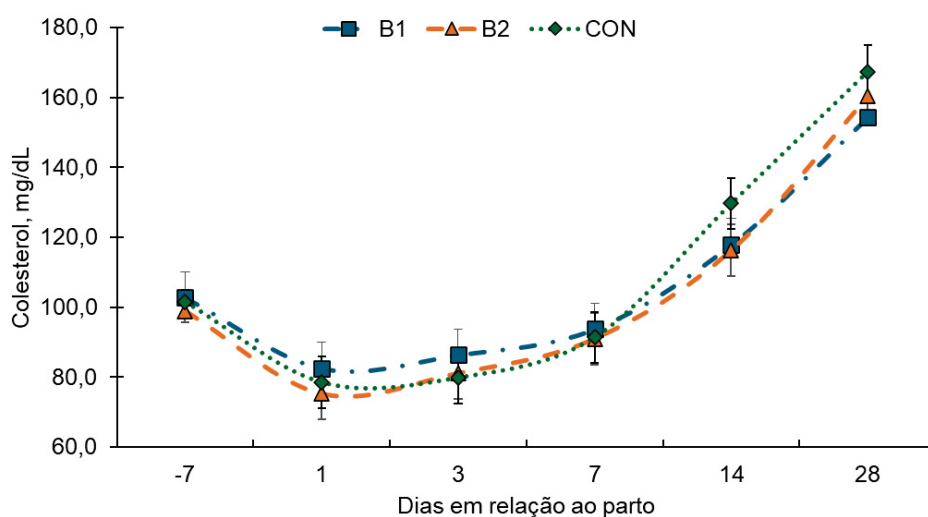
No presente estudo não foi realizada análise de CCS diferencial. A técnica por citometria de fluxo é bem estabelecida e pode esclarecer melhor qual o perfil de células que estão sendo liberadas no leite (Kikerby *et al.*, 2020). Para futuros estudos torna-se recomendável a avaliação da CCS diferencial a fim de entender os efeitos do EMC sobre o recrutamento de células imunes e quais as correlações com a inflamação do úbere.

2.3.3 Metabólitos séricos e marcadores de metabolismo hepático

As medidas ao longo do tempo (-7, 1, 3, 7, 14 e 28 dias em relação ao parto) estão representadas juntas nos GRÁFICOS para a observação da evolução ao longo do tempo, porém os tempos pré- e pós-parto foram analisados separadamente.

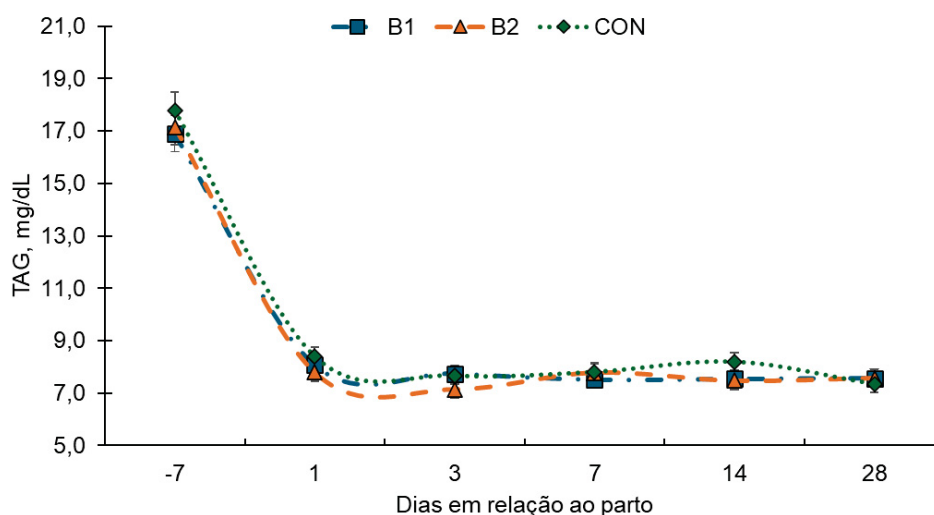
Tanto colesterol (GRÁFICO 5) como TAG (GRÁFICO 6) não sofreram influência da administração de EMC no pré-parto. Ambos os marcadores não representaram nenhuma diferença entre os grupos, em nenhum dos tempos avaliados.

GRÁFICO 5 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE COLESTEROL AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P=0,86$; Tempo +1 $P=0,91$; Tempo +3 $P=0,33$; Tempo +7 $P=0,90$; Tempo +14 $P=0,21$; Tempo +28 $P=0,13$

GRÁFICO 6 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TRIGLICERÍDEOS AO LONGO DO TEMPO

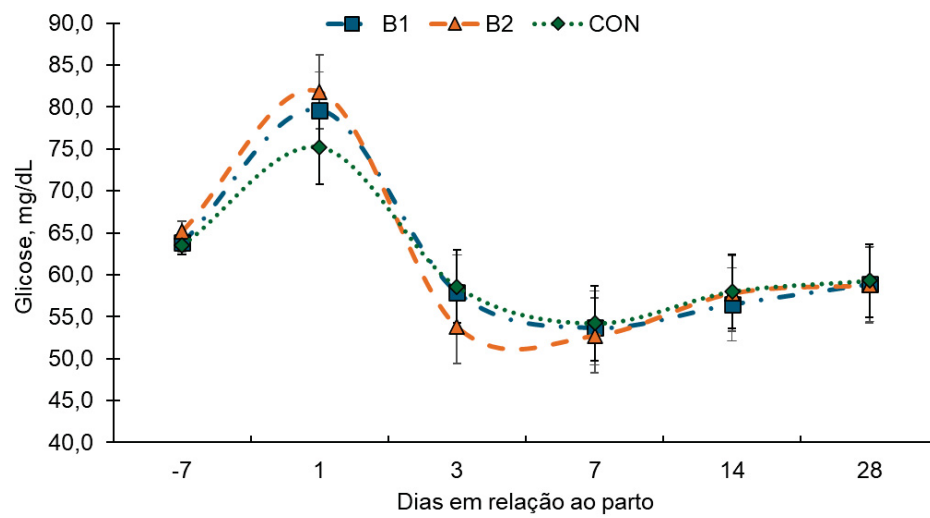


EMC vs—. Controle = Tempo -7 - $P=0,38$; Tempo +1 $P=0,28$; Tempo +3 $P=0,61$; Tempo +7 $P=0,69$; Tempo +14 $P=0,11$; Tempo +28 $P=0,57$

A concentração sérica de glicose também não sofreu influência da suplementação de EMC (GRÁFICO 7). Em nenhum dos tempos foi possível observar alguma diferença entre os tratamentos. O mesmo resultado foi encontrado para os dados coletados pela mensuração utilizando o glicosímetro portátil. As alterações de AGNE (GRÁFICO 8) ao longo das primeiras semanas foram similares entre os três grupos de tratamento. Ou seja, a lipomobilização pós-parto não foi afetada pela administração de bolus de EMC no pré-parto.

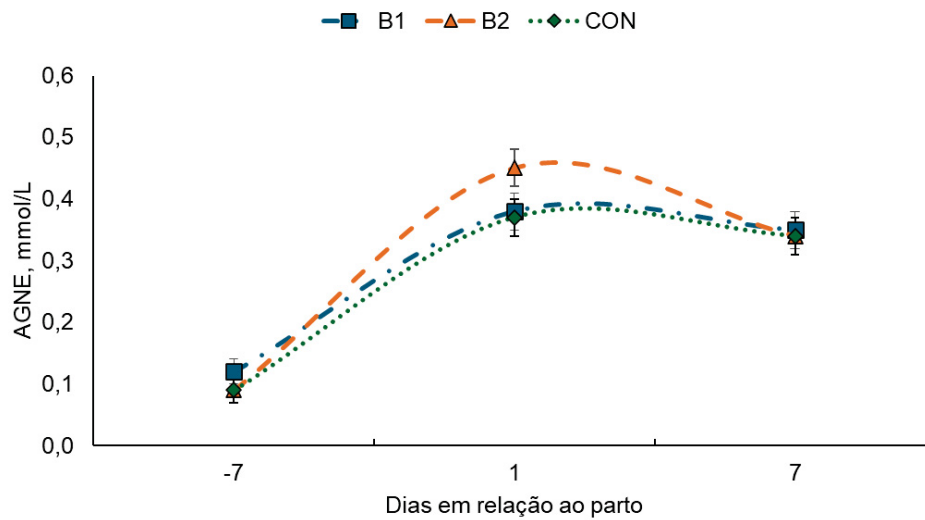
No entanto, quanto as concentrações de BHB (GRÁFICO 9), no dia +7 em relação ao parto, o grupo CON apresentou tendência ($P = 0,07$) de maiores concentrações séricas de BHB em comparação aos grupos B1 e B2 (TABELA 8). O mesmo resultado foi encontrado para os dados coletados pela mensuração utilizando o glicosímetro portátil. Além disso, a mudança nos níveis séricos de BHB entre os dias +3 e +7 também foi maior ($P = 0,09$) para o grupo CON. O mesmo resultado não se repetiu ($P = 0,34$) quanto a mudança do dia +7 para o dia +14 (TABELA 8). Esse dado indica que o EMC conseguiu auxiliar na regulação da hipercetonemia, indicando seu potencial na proteção hepática. Maiores concentrações de BHB no sangue nas primeiras duas semanas pós-parto, e especialmente na primeira semana, estão relacionadas com maiores riscos de descarte nos primeiros 60 dias de lactação (Roberts *et al.*, 2012).

GRÁFICO 7 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GLICOSE AO LONGO DO TEMPO



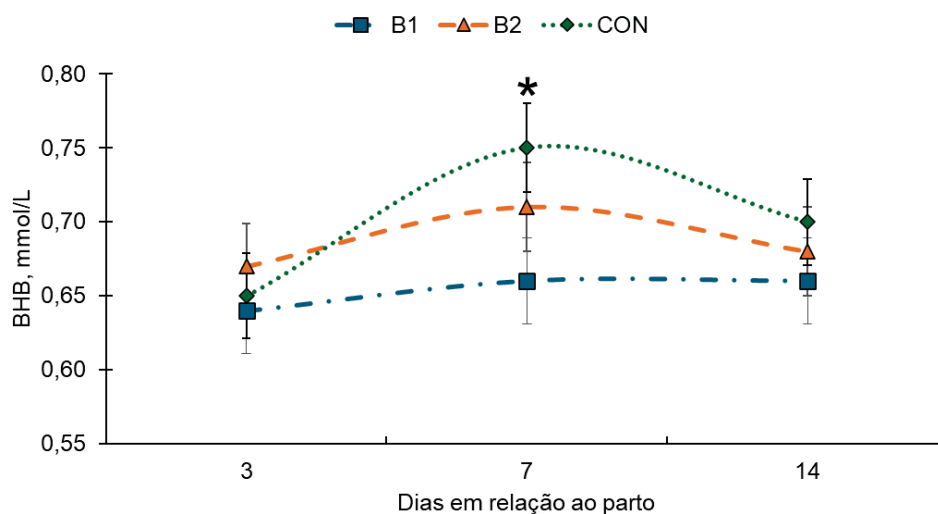
EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P=0,48$; Tempo +1 $P=0,38$; Tempo +3 $P=0,11$; Tempo +7 $P=0,48$; Tempo +14 $P=0,50$; Tempo +28 $P=0,80$

GRÁFICO 8 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE AGNE AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P=0,75$; Tempo +1 $P=0,43$; Tempo +7 $P=0,98$;

GRÁFICO 9 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BHB AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = Tempo +3 $P=0,63$; *Tempo +7 $P=0,07$; Tempo + 14 $P=0,50$.

TABELA 8 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BHB DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL

BHB, mmol/L	CON	B1	B2	EPM	Grupo	Valor P	
						B1 vs. B2	EMC vs. Controle
Dia +3	0,65	0,64	0,67	0,03	0,61	0,66	0,63
Dia +7	0,75	0,66	0,71	0,03	0,09	0,45	0,07
Dia +14	0,70	0,66	0,68	0,04	0,71	0,88	0,50
Mudança (+3 p/ +7) ¹	0,10	0,02	0,04	0,04	0,21	0,83	0,09
Mudança (+7 p/ +14) ²	-0,05	0,00	-0,03	0,04	0,40	0,61	0,34

¹ Diferença no BHB entre os dias +3 e +7 em relação ao parto (Mudança = BHB +7 - BHB+3)

² Diferença no BHB entre os dias +7 e +14 em relação ao parto (Mudança = BHB +14 - BHB+7)

Baixos níveis de cálcio sérico nos primeiros três dias de lactação estão associados a maiores incidências de doenças no período pós-parto (Venjakob *et al.*, 2021). A concentração de cálcio total no sangue foi similar ($P = 0,95$) entre os três grupos no dia +1, porém tendeu a ser mais alta ($P = 0,09$) para as vacas do grupo CON vs. B1 e B2 no dia +3 em relação ao parto (GRÁFICO 10). No entanto as vacas

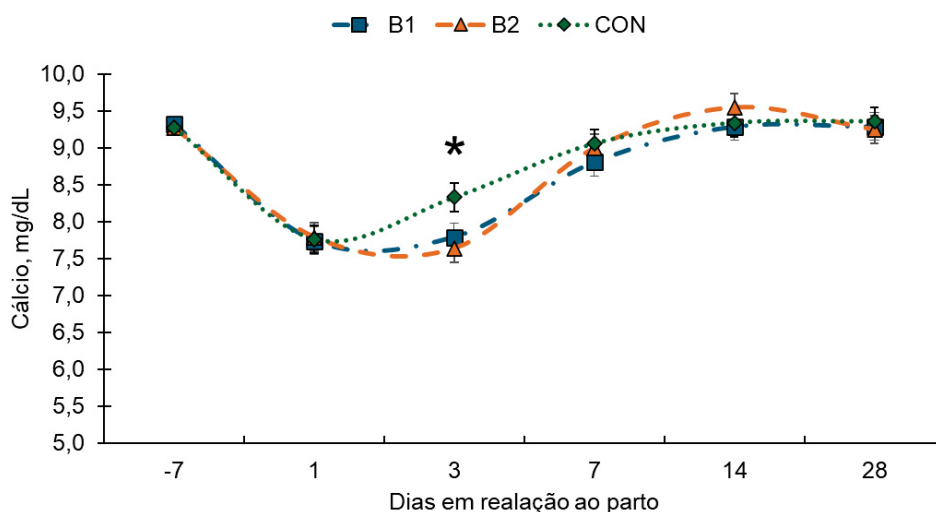
que receberam o EMC recuperaram os níveis de cálcio e não houve diferença ($P = 0,20$) entre os grupos no dia +7 em relação ao parto.

A secreção de bilirrubina do pré-parto ao fim do período experimental não foi diferente entre os grupos de tratamento (GRÁFICO 11). O aumento na secreção de bilirrubina é esperado ao redor do parto (Bossaert *et al.*, 2012), mas não foi influenciado pelos tratamentos testados.

Já a secreção de albumina foi maior para o grupo controle no pré-parto (GRÁFICO 12). Porém, a diferença entre os tempos, isto é a capacidade de recuperação hepática foi melhor para os grupos que receberam o EMC (TABELA 9). A albumina é uma proteína de fase aguda negativa, e a sua redução no periparto é indesejável, pois é um indicativo do aumento de proteínas inflamatórias de fase aguda positiva, que levarão a uma resposta inflamatória intensa e exacerbada (Rowlands *et al.*, 1980; Piccione *et al.*, 2011).

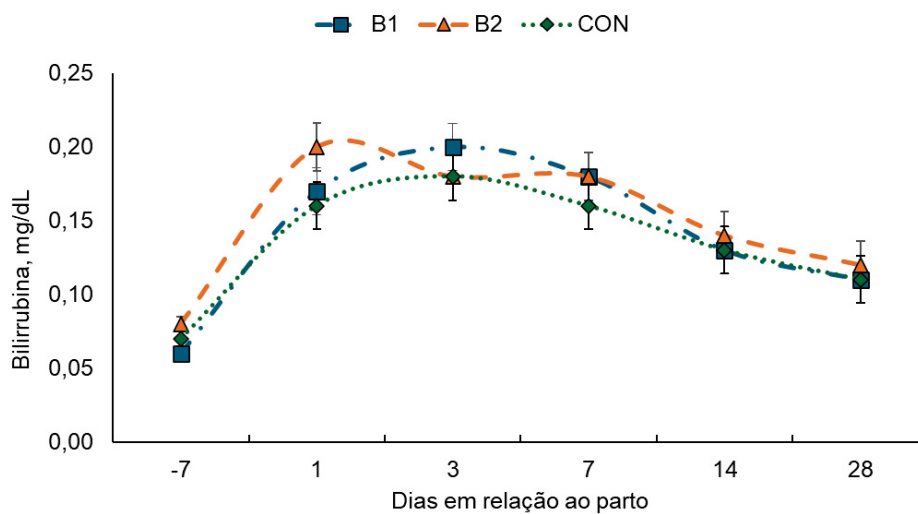
O índice de funcionabilidade hepática (LFI) foi calculado de acordo com Bertoni e Trevisi (2013). Os valores de LFI entre os grupos de tratamento foram similares (TABELA 10), em acordo com os resultados encontrados para as variáveis colesterol, bilirrubina e albumina.

GRÁFICO 10 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CÁLCIO AO LONGO DO TEMPO



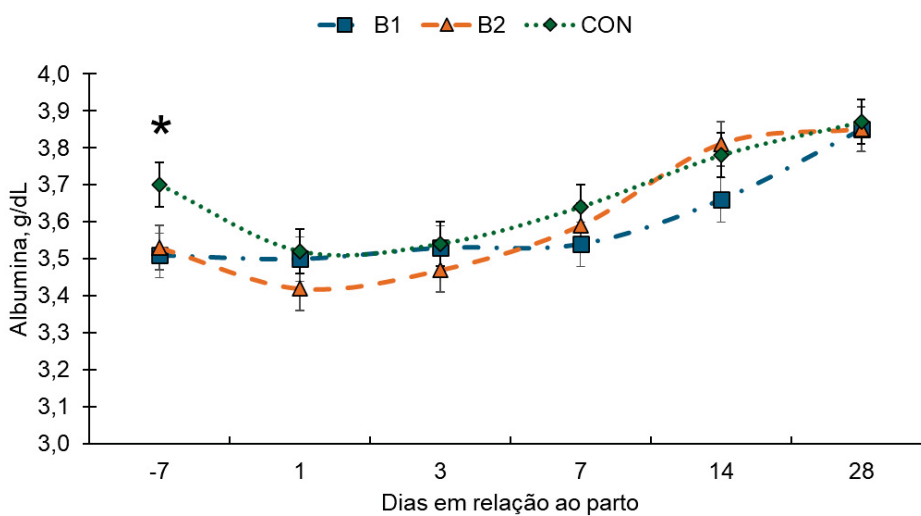
EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P = 0,72$; Tempo +1 $P = 0,95$; Tempo +3 $P = 0,09$; Tempo +7 $P = 0,20$; Tempo +14 $P = 0,43$; Tempo +28 $P = 0,52$

GRÁFICO 11 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BILIRRUBINA AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P=0,71$; Tempo +1 $P=0,36$; Tempo +3 $P=0,86$; Tempo +7 $P=0,64$; Tempo +14 $P=0,75$; Tempo +28 $P=0,37$

GRÁFICO 12 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALBUMINA AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = *Tempo -7 - $P=0,03$; Tempo +1 $P=0,59$; Tempo +3 $P=0,23$; Tempo +7 $P=0,20$; Tempo +14 $P=0,62$; Tempo +28 $P=0,94$.

TABELA 9 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALBUMINA DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL

Albumina, g/dL	CON	B1	B2	EPM	Grupo	Valor <i>P</i>	
						B1 vs. B2	EMC vs. Controle
Dia -7	3,70	3,52	3,54	0,07	0,09	0,96	0,03
Dia +7	3,66	3,56	3,60	0,06	0,32	0,72	0,20
Dia +28	3,90	3,88	3,87	0,07	0,99	0,99	0,94
Mudança (+3 - +7) ¹	-0,04	0,04	0,06	0,08	0,58	0,97	0,31
Mudança (+7 - +14) ²	0,24	0,32	0,27	0,07	0,74	0,73	0,88

¹ Diferença na concentração de albumina entre os dias -7 e +7 em relação ao parto

(Mudança = ALB+7 - ALB -7)

² Diferença na concentração de albumina entre os dias +7 e +28 em relação ao parto

(Mudança = ALB+28 - ALB+7)

TABELA 10 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE O ÍNDICE DE FUNCIONALIDADE HEPÁTICA (LFI)

Item	CON	B1	B2	EPM	Grupo	Valor <i>P</i>	
						B1 vs. B2	EMC vs. Controle
Albumina (Alb-I) ¹	19,36	19,5	19,37	0,39	0,97	0,98	0,89
Colesterol (Col-I) ²	2,14	1,97	2,05	0,08	0,23	0,69	0,13
Bilirrubina (Bil-I) ³	2,60	2,93	2,37	0,43	0,56	0,53	0,90
LFI ⁴	2,13	1,67	2,05	0,51	0,71	0,80	0,59

¹ Albumina (Alb-I) subíndice = 50% Alb3 + 50% (Alb28 - Alb3); Valores utilizados de albumina para o cálculo em g/L

² Colesterol (Col-I) subíndice = 50% Col3 + 50% (Col28 - Col3) ; Valores utilizados de colesterol para o cálculo em mmol/L

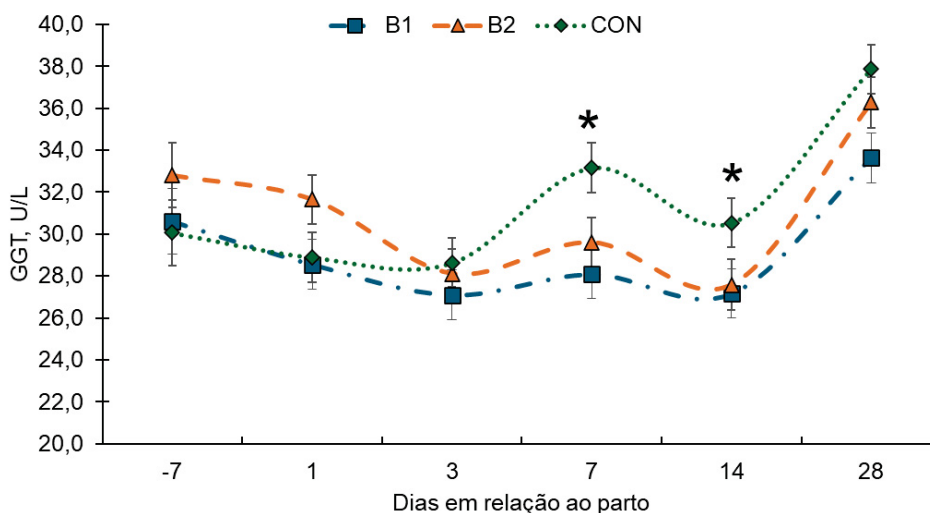
³ Bilirrubina (Bil-I) subíndice = 67% Bil3 + 33% (Bil3 - Bil28); Valores de bilirrubina utilizados para o cálculo em µmol/L

⁴ Índice de Funcionalidade Hepática (LFI) = (Alb-I - 17,71) - 1,08 + (Chol-I - 2,57)/0,43 - (Bil-I - 6,08)/2,17

As enzimas hepáticas GGT (GRÁFICO 13) e AST (GRÁFICO 14) tiveram comportamento similar ao longo do período de transição. A GGT foi mais alta em vacas do grupo CON nos tempos +7 e +14 pós-parto. Ao passo que a AST foi mais alta para vacas no grupo CON nos tempos +7, +14 e +28.

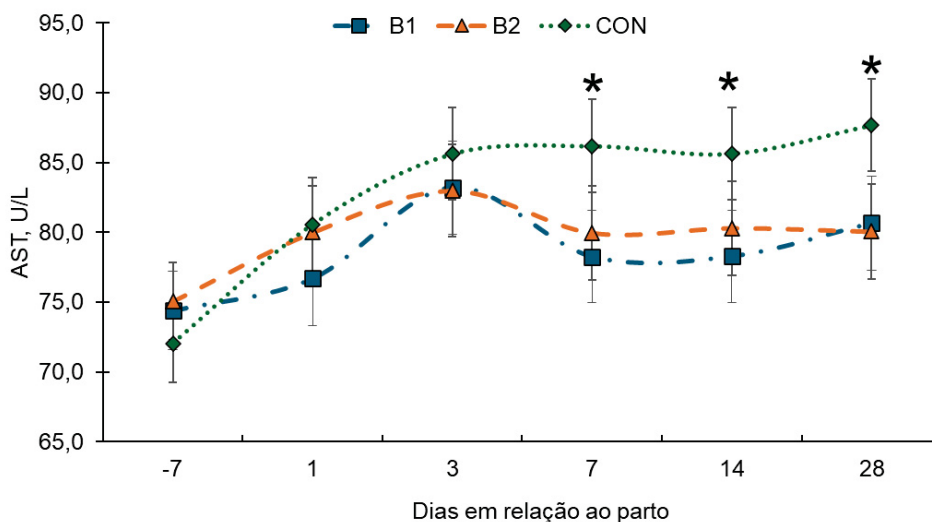
A GGT tem como função regular o metabolismo de glutathiona, um importante antioxidante. O nível elevado de GGT no sangue indica estresse oxidativo demasiado. A AST tem ação inespecífica, é atuante no fígado, mas também em tecido muscular; além disso, é uma das enzimas ligadas ao transporte hepático de proteínas. Altos níveis de AST indicam além de lesão hepática, também lesão muscular (Hoffmann; Solter, 2008). A elevação das concentrações séricas de ambas as enzimas pode estar correlacionada com as alterações no *clearance* hepático, isto é, na modificação do perfil de exportação de proteínas pelo fígado, durante o início da lactação que tendem a causar danos teciduais e esteatose hepática (Ametaj *et al.*, 2005; Hoffmann; Solter, 2008).

GRÁFICO 13 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GGT AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P=0,39$; Tempo +1 $P=0,58$; Tempo +3 $P=0,46$; *Tempo +7 $P<0,01$; *Tempo +14 $P=0,01$; Tempo +28 $P=0,11$

GRÁFICO 14 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC SOBRE A CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE AST AO LONGO DO TEMPO



EMC vs. Controle = Tempo -7 - $P=0,43$; Tempo +1 $P=0,48$; Tempo +3 $P=0,23$; *Tempo +7 $P<0,01$; *Tempo +14 $P=0,03$; *Tempo +28 $P=0,06$

2.3.4 Saúde e sobrevivência

Os efeitos da suplementação de EMC na saúde, doenças e sobrevivência são apresentados na TABELA 11. Não houve nenhum caso de hipocalcemia clínica e deslocamento de abomaso entre as vacas experimentais. Os tratamentos não influenciaram na incidência de RMF ($P = 0,61$), metrite puerperal ($P = 0,91$), hiperketonemia ($P = 0,79$) e mastite ($P = 0,93$). O grupo CON teve maior número de vacas com múltiplas doenças, porém a magnitude dos casos não resultou em significância estatística.

Até os 60 DEL apenas seis vacas foram descartadas, e não houve nenhuma morte. A taxa de descarte foi igual para os três grupos. Três vacas foram descartadas por mastite (B1=1 e CON=2), duas por lesões causadas por acidentes dentro do barracão (B1=1 e B2=1) e uma por problemas de casco (B2=1).

O rebanho que recebeu o presente estudo tem um histórico de baixa incidência de doenças, com animais muito saudáveis e produtivos. Como a saúde das vacas não é desafiada, já que os animais não enfrentam grandes desafios, o EMC não refletiu em resultados palpáveis neste cenário. O potencial do EMC pode ser explorado em rebanhos com diferentes cenários para comprovar se realmente não há consequências sobre a incidência de doenças em vacas leiteiras. Outro ponto

relevante é que o número de animais experimentais por tratamento foi estimado para alcançar diferenças entre CCS, o que foi de fato alcançado. Para buscar diferenças na incidência de doenças entre os tratamentos, provavelmente teríamos que ter centenas de animais experimentais para cada grupo experimental.

TABELA 11 - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE EMC NO PRÉ-PARTO SOBRE A INCIDÊNCIA DE DOENÇAS E SOBREVIVÊNCIA NO PÓS-PARTO

Item	Incidência (%)	CON	B1	B2	Valor <i>P</i>	
					Grupo	EMC vs. Controle
Mastite ²	13,2 (n=17)	13,9 (n=6)	13,9 (n=6)	11,6 (n=5)	0,93	0,85
Metrite puerperal ²	7,7 (n=10)	6,9 (n=3)	6,9 (n=3)	9,3 (n=4)	0,91	0,81
RMF ²	4,6 (n=6)	6,9 (n=3)	4,6 (n=2)	2,3 (n=1)	0,61	0,36
Hipercetonemia ²	15,5 (n=20)	13,9 (n=6)	13,9 (n=6)	18,6 (n=8)	0,79	0,74
Múltiplas doenças ²	8,5 (n=11)	11,6 (n=5)	6,9 (n=3)	6,9 (n=3)	0,69	0,39
Descarte ²	4,6 (n=6)	4,6 (n=2)	4,6 (n=2)	4,6 (n=2)	1,00	1,00

¹Hipercetonemia foi considerada quando concentração de BHB no sangue total foi $\geq 1,2$ mM no dia 3 ou no dia 7 pós-parto.

²Eventos considerados nos primeiros 60 DEL.

2.4 CONCLUSÃO

A suplementação de EMC no pré-parto não impactou de forma significativa o desempenho produtivo ou a incidência de doenças no período pós-parto. No entanto, o fornecimento de EMC mostrou uma associação positiva com a redução da CCS, o que sugere um efeito protetor sobre a glândula mamária, com a mediação da inflamação. Além disso, os grupos tratados com EMC apresentaram menores concentrações de GGT e AST, indicando uma redução no estresse oxidativo e menor lesão hepática. Esses achados reforçam o potencial do EMC em promover uma melhor função hepática e saúde metabólica durante o período de transição. Não houve resultados significativamente diferentes entre os grupos B1 e B2, o que indica que ambas as doses de EMC são capazes de proporcionar os resultados encontrados. Apesar de não terem sido observadas diferenças marcantes na produção ou qualidade do leite entre os tratamentos, a suplementação do EMC em rebanhos

leiteiros pode ser viável, especialmente em sistemas onde a saúde do úbere é uma preocupação central, e/ou onde a contagem de células somáticas é critério de pagamento de leite por qualidade. No entanto, estudos adicionais são recomendados para avaliar o potencial do EMC em cenários de maior desafio sanitário e seu impacto a longo prazo sobre a saúde e o desempenho produtivo das vacas.

REFERÊNCIAS

- AMETAJ, B. N. *et al.* Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 85, p. 165-175, 2005.
- BAMPIDIS, V. *et al.* Safety and efficacy of a feed additive consisting of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. extract and leaves (Sangrovit® extra) for all poultry species (excluding laying and breeding birds) (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH). **EFSA Journal**, v. 21, 2023.
- BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, p. 413-431, 2013.
- BOSSAERT, P. *et al.* The association between indicators of inflammation and liver variables during the transition period in high-yielding dairy cows: An observational study. **Veterinary Journal**, v. 192, p. 222-225, 2012.
- BOX, G. E. P.; COX, D. R. boxcox64.pdf. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 26, p. 211-252, 1964.
- BRADFORD, B. J. *et al.* Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 6631-6650, 2015.
- CAMPOS, C. C. *et al.* Effects of clinical mastitis and puerperal diseases on reproductive efficiency of dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, p. 3061-3068, 2020.
- CANDAS, D. *et al.* Mitochondrial MKP1 is a target for therapy-resistant HER2-positive breast cancer cells. **Cancer Research**, v. 74, p. 7498-7509, 2014.
- CARVALHO, M. R. *et al.* Long-term effects of postpartum clinical disease on milk production, reproduction, and culling of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 11701-11717, 2019.
- DUBUC, J.; DENIS-ROBICHAUD, J. A dairy herd-level study of postpartum diseases and their association with reproductive performance and culling. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 3068-3078, 2017.
- FERNANDES, L. *et al.* Effect of subclinical mastitis detected in the first month of lactation on somatic cell count linear scores, milk yield, fertility, and culling of dairy cows in certified organic herds. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 2140-2150, 2021.
- FUKUMORI, R. *et al.* Evaluation of relationship between ruminal pH and the proportion of de novo fatty acids in milk. **JDS Communications**, v. 2, p. 123-126, 2021.

GIULIODORI, M. J. *et al.* Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 3621-3631, 2013.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 50-57, 2008.

HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic enzymology of domestic animals. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. [s.l.] Elsevier, 2008. p. 351-378.

IWERSEN, M. *et al.* Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2618-2624, 2009.

JØRGENSEN, E.; PEDERSEN, A. R. How to obtain those nasty standard errors from transformed data – and why they should not be used. **Danish Institute of Agricultural Sciences**, v. 7, p. 1-20, 1997.

KIRKEBY, C. *et al.* Differential somatic cell count as an additional indicator for intramammary infections in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 1759-1775, 2020.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 159-170, 2005.

LING, H. *et al.* Effects of *Macleaya cordata* extract on performance, nutrient apparent digestibilities, milk composition, and plasma metabolites of dairy goats. **Animals**, v. 13, 2023.

MATULKA, R. A. *et al.* Assessing performance and safety of feeding a standardized *Macleaya cordata* extract to calves. **Animals**, v. 12, 2022.

MESSEHA, S. S. *et al.* Sanguinarine inhibition of TNF- α -induced CCL2, IKBKE/NF- κ B/ERK1/2 signaling pathway, and cell migration in human triple-negative breast cancer cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, 2022.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES ENGINEERING AND MEDICINE. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2021.

OSPINA, P. A. *et al.* Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 546-554, 2010.

PARK, S. Y. *et al.* Sanguinarine inhibits invasiveness and the MMP-9 and COX-2 expression in TPA-induced breast cancer cells by inducing HO-1 expression. **Oncology Reports**, v. 31, p. 497-504, 2014.

PICCIONE, G. *et al.* Pattern of serum protein fractions in dairy cows during different stages of gestation and lactation. **Journal of Dairy Research**, v. 78, p. 421-425, 2011.

PIEPHO, H. P. Data transformation in statistical analysis of field trials with changing treatment variance. **Agronomy Journal**, v. 101, p. 865-869, 2009.

ROBERTS, T. *et al.* Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3057-3063, 2012.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 7427-7434, 2017.

ROWLANDS, G. J. *et al.* Changes in albumin, globulin, glucose and cholesterol concentrations in the blood of dairy cows in late pregnancy and early lactation and relationships with subsequent fertility. **The Journal of Agricultural Science**, v. 94, p. 517-527, 1980.

RUEGG, P. L. Managing mastitis and producing quality milk. *In*: C. A. Risco; P. M. Retamal (Orgs.); **Dairy Production Medicine**. 1o ed, p. 207-232, 2011. John Wiley & Sons, Inc

EFSA. Sangrovit® Extra (Preparation of *Macleaya cordata* extract & leaves) Zootechnical Feed Additive for all Avian Species Functional Groups: Other, Performance Enhancer, 4 out. 2021. Disponível em: <www.phytobiotics.com>

SAUN, R. J. VAN. Indikatoren für Risiken bei Kühen in der Transitphase – eine Übersicht zu metabolischen Profilen. **Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere**, v. 44, p. 118-126, 2016.

SCHWARZ, D. *et al.* Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 5033-5044, out. 2011.

SCHWARZ, D. *et al.* Investigation of dairy cow performance in different udder health groups defined based on a combination of somatic cell count and differential somatic cell count. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 183, 2020.

SHELDON, I. M. *et al.* Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, p. 1516-1530, 2006.

SHELDON, I. M. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 1025-1032, 2009.

STER, C.; LOISELLE, M. C.; LACASSE, P. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 708-717, 2012.

STRNAD, P. *et al.* Liver-guardian, modifier and target of sepsis. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, p. 55-66, 2017.

TUZIMSKI, T. *et al.* Isoquinoline alkaloid contents in *Macleaya cordata* extracts and their acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition. **Molecules**, v. 27, p. 3606, 2022.

VENJAKOB, P. L. *et al.* Association between serum calcium dynamics around parturition and common postpartum diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 2243-2253, 2021.

WANG, W. *et al.* Safety of standardized *Macleaya cordata* extract in an eighty-four-day dietary study in dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p. e61-e68, 2018.

WILDMAN, E. E. *et al.* A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 495-501, 1982.

YOUSEF, M. K. **Stress physiology in livestock**. 1. ed. Boca Ranton, Florida: CRC Press, 1985. v. 1

ZHENG, Z. *et al.* Sanguinarine enhances the integrity of the blood-milk barrier and inhibits oxidative stress in lipopolysaccharide-stimulated mastitis. **Cells**, v. 11, 2022.