



GIOVANNA TAVARES PETRUCELLI

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE NO PÓS-PARTO DE VACAS DE
LEITE DE ALTA PRODUÇÃO TRATADAS COM
SUPLEMENTO MINERAL INJETÁVEL**

**LAVRAS – MG
2023**

GIOVANNA TAVARES PETRUCELLI

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE NO PÓS-PARTO DE VACAS DE LEITE DE ALTA
PRODUÇÃO TRATADAS COM SUPLEMENTO MINERAL INJETÁVEL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. José Camisão de Souza
Orientador

**LAVRAS – MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Petrucci, Giovanna Tavares.

Avaliação da saúde no pós-parto de vacas de leite de alta
produção tratadas com suplemento mineral injetável / Giovanna
Tavares Petrucci. - 2023.

75 p. : il.

Orientador(a): José Camisão de Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Bovinocultura de leite. 2. Minerais. 3. Nutrição. I. de Souza,
José Camisão. II. Título.

GIOVANNA TAVARES PETRUCELLI

**AVALIAÇÃO DA SAÚDE NO PÓS-PARTO DE VACAS DE LEITE DE ALTA
PRODUÇÃO TRATADAS COM SUPLEMENTO MINERAL INJETÁVEL**

**POSTPARTUM HEALTH EVALUATION OF HIGH PRODUCTION MILK COWS
TREATED WITH INJECTABLE MINERAL SUPPLEMENT**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de janeiro de 2023.

Dr. José Camisão de Souza

UFLA

Dr. Marcelo Siqueira El Azzi

UW-Madison

Dr. Geraldo Márcio da Costa

UFLA

Prof. Dr. José Camisão de Souza
Orientador

**LAVRAS – MG
2023**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por abençoar o meu caminho e me dar forças para continuar quando eu pensava não mais conseguir.

Aos meus pais, Nilton e Margarete, por estarem sempre ao meu lado, me incentivando a crescer tanto como pessoa quanto como profissional. Obrigada por nunca desistirem de mim, por se fazerem presentes ainda que nem sempre possam estar por perto.

Aos meus avós, por todo o amor e carinho, sem os quais eu jamais seria quem sou. Ao meu tio que me incentivou a ter gosto pela leitura e me ajuda com suas correções.

Aos amigos próximos que estiveram comigo ao longo dessa jornada, em especial à Natália Martins e ao Marcelo, por toda a paciência e apoio.

Ao meu amigo e orientador, José Camisão de Souza, que esteve disposto a me ensinar e me orientar com sabedoria e humildade, bem como aos membros da banca, Marcelo e Geraldo, por aceitarem o convite e enriquecerem ainda mais este trabalho com suas considerações e ensinamentos.

Aos membros do Grupo de Estudos em Reprodução (GERE), pelo auxílio na realização das atividades, especialmente aos estagiários, que acompanharam o experimento mais de perto.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, que me deu a oportunidade de realização do mestrado.

À Fazenda Palmito – Agropecuária Rex, por permitir a realização do experimento, e toda a sua equipe de profissionais, que tornaram minhas manhãs agradáveis e animadas, onde pude aprender muito e fazer novas amizades.

À empresa Virbac®, pelo financiamento deste projeto e todo o suporte que foi dado. A realização desta pesquisa não teria sido possível sem a parceria.

Aos animais que fizeram parte deste trabalho: Eles foram fundamentais para o desenvolvimento do mesmo.

Por fim, meus mais sinceros agradecimentos a todos que participaram de alguma forma dessa trajetória.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a beleza libertadora do intelecto para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

(Albert Einstein)

RESUMO

O período de transição, que abrange as três semanas que antecedem o parto e as três semanas após o parto, é considerado crítico para as vacas, podendo comprometer sua saúde. A suplementação mineral parenteral é uma alternativa para diminuir a incidência de problemas reprodutivos e sanitários que afetam as vacas durante essa fase, uma vez que os minerais se fazem necessários em diversos aspectos no organismo animal. Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do uso da suplementação mineral parenteral sobre a incidência de doenças que acometem vacas de leite de alta produção no pós-parto. Foram utilizadas 108 vacas da raça Holandesa, primíparas e múltíparas, com peso médio de 600 kg. Estas foram blocadas por produção de leite, paridade e data prevista do parto. Foram alocadas em um de dois grupos, controle (CONT, n=54) ou suplementado (SUPL, n=54). O grupo SUPL recebeu 10 ml de suplemento mineral via intramuscular 30 (± 15) dias antes da data prevista do parto, ao parto e 30 (± 15) dias após o parto, o grupo CONT não recebeu suplementação. Todos os animais do experimento foram submetidos a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Foram coletadas amostras de sangue, para obtenção de plasma, de um sub-grupo de 27 animais de cada tratamento, 30 (± 15) dias após o parto, no D0 e D7 do protocolo de IATF, para mensuração dos níveis de beta-hidroxibutirato (BHB) e glicose. Os dados foram processados pelo pacote estatístico Jmp Pro12 (SAS®). A contagem de células somáticas (CCS) média foi mais baixa ($P=0,005$) no grupo SUPL ($66,1 \times 10^3$) comparado ao CONT ($163,6 \times 10^3$). A concentração média de glicose foi semelhante ($P=0,22$) entre o SUPL (7,5) e o CONT (7,6). A incidência de cetose foi semelhante ($P=0,20$) entre o SUPL (37,5%) e o CONT (25,5%). A ocorrência de retenção de placenta foi semelhante ($P=0,69$) entre o SUPL (18,8%) e o CONT (15,7%). Dessa forma, a CCS foi o único parâmetro afetado positivamente pela suplementação mineral, contribuindo positivamente na qualidade do leite, uma vez que, houve redução na CCS, podendo ser recomendada para incrementar a saúde da glândula mamária. Contudo, não houve alteração na incidência das doenças mais comuns pós-parto.

Palavras-chave: Bovinocultura de leite. Minerais. Nutrição. Sanidade.

ABSTRACT

The transition period, which covers the three weeks before parturition and the three weeks after parturition, is considered critical for cows, potentially compromising their health. Parenteral mineral supplementation is an alternative to reduce the incidence of reproductive and health problems that affect cows during this phase, since minerals are necessary in several aspects in the animal organism. The objective of this work was to investigate the effects of the use of parenteral mineral supplementation on the incidence of diseases that affect high-yielding dairy cows in the postpartum period. 108 Holstein cows, primiparous and multiparous, with an average weight of 600 kg were used. These were blocked by milk production, parity and expected delivery date. They were allocated into one of two groups, control (CONT, n=54) or supplemented (SUPL, n=54). The SUPL group received 10 ml of mineral supplement intramuscularly 30 (\pm 15) days before the expected date of delivery, at delivery and 30 (\pm 15) days after delivery, the CONT group did not receive supplementation. All animals in the experiment were submitted to a fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol. Blood samples were collected, to obtain plasma, from a subgroup of 27 animals from each treatment, 30 (\pm 15) days after parturition, on D0 and D7 of the FTAI protocol, to measure beta-hydroxybutyrate levels (BHB) and glucose. Data were processed using the statistical package Jmp Pro12 (SAS®). The mean somatic cell count (SCC) was lower ($P=0.005$) in the SUPL group (66.1×10^3) compared to the CONT (163.6×10^3). Mean glucose concentration was similar ($P=0.22$) between SUPL (7.5) and CONT (7.6). The incidence of ketosis was similar ($P=0.20$) between SUPL (37.5%) and CONT (25.5%). The occurrence of retained placenta was similar ($P=0.69$) between SUPL (18.8%) and CONT (15.7%). Thus, CCS was the only parameter positively affected by mineral supplementation, contributing positively to milk quality, since there was a reduction in CCS, which can be recommended to increase the health of the mammary gland. However, there was no change in the incidence of the most common postpartum diseases.

Keywords: Dairy cattle. Minerals. Nutrition. Health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Inter-relações entre nutrição e doença em vacas leiteiras periparturientes.	24
Figura 2 – Breve resumo dos patomecanismos relacionados às deficiências minerais e à incidência de mastite.....	32
Figura 3 – Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).	45
Figura 4 – Protocolo experimental de suplementação mineral.....	48
Figura 5 – Protocolo experimental de coleta de amostras de sangue.	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Média da contagem de células somáticas (CCS) ¹ em vacas Holandesas de alta produção no período de transição (-30±15 a 30±15 dias) em relação aos grupos (controle e suplemento ²).....	55
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química do suplemento mineral injetável ¹	47
Tabela 2 – Escore de condição corporal (ECC) ¹ em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral.	52
Tabela 3 – Variação percentual relativo de escore de condição corporal (ECC) em vacas Holandesas suplementadas com mineral no período de transição - antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15).....	54
Tabela 4 – Incidência de retenção de placenta e cetose em vacas Holandesas suplementadas com mineral no período de transição - antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15).	57
Tabela 5 – BHB em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral.	58
Tabela 6 – BHB em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral em diferentes períodos.....	59
Tabela 7 – Concentração média de glicose em vacas Holandesas suplementadas com mineral no período de transição - antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15).....	60
Tabela 8 – Glicose em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral em diferentes períodos.	60

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos	15
3.	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	Período de transição e estresse oxidativo.....	16
3.2	Balço energético negativo (BEN).....	17
3.2.1	Monitoramento do balço energético negativo	19
3.2.1.1	β -hidroxibutirato (BHB)	19
3.2.1.2	Glicose.....	20
3.3	Escore de Condição Corporal (ECC).....	22
3.4	Doenças no pós-parto	23
3.4.1	Hipocalcemia	24
3.4.2	Cetose	25
3.4.3	Retenão de placenta	27
3.4.4	Endometrite, metrite e piometra	28
3.4.5	Mastite	30
3.5	Vitaminas x reproduão	32
3.6	Minerais x reproduão	34
3.6.1	Fósforo	35
3.6.2	Selênio	37
3.6.3	Magnésio	38
3.6.4	Cobre.....	39
3.6.5	Potássio	41
3.7	Suplementação mineral injetável	42
4.	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	Preceitos Éticos	44
4.2	Local e duração do experimento	44
4.3	Coleta de dados dos animais	44
4.4	Manejo alimentar.....	45
4.5	Manejo reprodutivo e sanitário	45
4.6	Desenho experimental e tratamentos	47

4.7	Escore de condição corporal (ECC)	48
4.8	Coleta de sangue e análises laboratoriais	49
4.8.1	β-hidroxibutirato (BHB)	50
4.8.2	Glicose	50
4.9	Análise estatística	51
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1	Escore de condição corporal (ECC)	52
5.2	Contagem de células somáticas (CCS)	54
5.3	Retenção de placenta e cetose	56
5.4	β-hidroxibutirato (BHB)	58
5.5	Glicose	59
6.	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)	75

1. INTRODUÇÃO

O período compreendido entre as três semanas antes do parto até as três semanas após o parto é definido como “período de transição”, o qual é considerado crítico para as vacas, pois estas passam por diversas alterações fisiológicas e metabólicas, além do comprometimento do seu sistema imunológico, fatores estes que podem levar ao desenvolvimento de doenças metabólicas e predispondo a doenças infecciosas, como a mastite (DRACKLEY, 1999). Cerca de 75% das doenças que acometem bovinos leiteiros em idade reprodutiva se concentram no primeiro mês pós-parto e possuem relação com o sistema imunológico desses animais, o qual está ligado ao baixo consumo de alimentos no início do período de transição, que seria entre 2 e 3 semanas antes do parto (LEBLANC et al., 2006).

Durante essa fase as vacas têm uma diminuição aproximada de até 30% do consumo de matéria seca e logo após o parto há um aumento na produção de leite, o que leva a um balanço negativo e, conseqüentemente, à necessidade da utilização de energia da gordura corporal, que é mobilizada como ácidos graxos não esterificados (AGNE) (BAUMAN; CURRIE, 1980; HAYIRLI et al., 2002). A maior parte desses AGNE são metabolizados de forma completa no fígado em acetil-coA e de forma incompleta em corpos cetônicos, como o β -hidroxibutirato (BHB), ou ainda são reesterificados em triglicerídeos, assim, altos níveis de AGNE no período pré-parto estão correlacionados com alterações na função neutrofílica, comprometendo a defesa contra patógenos (CHAPINAL et al., 2011; HAMMON et al., 2006).

Ao longo dos anos diversos estudos foram publicados correlacionando doenças no início da lactação com problemas de nutrição e manejo, evidenciando a importância da alimentação na melhora do desempenho dos animais e no controle de patologias. Enquanto buscavam-se alternativas de prevenção para diversas doenças que acometiam vacas de leite, ficou clara a relevância que a nutrição desempenhava nesse aspecto (LEBLANC et al., 2006). Essa importância pode ser observada na resposta medida por enzimas antioxidantes à formação de radicais livres durante o período de transição. Estas são reguladas por minerais, que por sua vez são de grande importância para a saúde da vaca, atuando em seu sistema imunológico e reprodutivo, além de exercer influência no desenvolvimento fetal (SHANKAR; PRASAD, 1998; VAN EMON; SANFORD; MCCOSKI, 2020; WARKEN et al., 2018).

Os minerais se fazem necessários durante toda a vida do animal e ao longo do período de transição de vacas leiteiras estes se tornam ainda mais importantes para sua saúde e desempenho. Por esse motivo, e devido ao baixo consumo de matéria seca nesse período, os

minerais são comumente suplementados através da alimentação (VAN EMON; SANFORD; MCCOSKI, 2020; WARKEN et al., 2018). Contudo, essa forma de suplementação é bastante imprecisa, uma vez que, não é possível mensurar a quantidade de minerais que foi ingerida por cada animal, desta forma, o uso de suplementação mineral injetável pode ser uma alternativa para garantir que o animal receba a quantidade adequada destes nutrientes (VAN EMON; SANFORD; MCCOSKI, 2020; WARKEN et al., 2018).

Dessa forma, hipotetizamos que a administração de suplementação mineral parenteral no periparto pode reduzir a incidência de afecções reprodutivas, doenças metabólicas e mastite em vacas de leite de alta produção no pós-parto.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo é avaliar índices sanitários no pós-parto de vacas de leite de alta produção submetidas ou não a um protocolo de administração parenteral supra nutricional de um complexo de minerais no periparto.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do projeto contemplam: (a) determinação do efeito da suplementação mineral na incidência de cetose e retenção de placenta de vacas Holandesas de alta produção; (b) monitoramento da CCS individual para determinação do efeito de suplementação mineral na saúde da glândula mamária de vacas Holandesas de alta produção; (c) análises de β -hidroxibutirato (BHB) e glicose para interpretação da saúde e reprodução dos animais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Período de transição e estresse oxidativo

A mudança do estado da vaca de gestante para lactante é conhecida como “período de transição”, este abrange as três semanas que antecedem o parto e se estende até as três semanas após o parto, sendo um período desafiador para as vacas de leite em decorrência das várias alterações metabólicas e endócrinas às quais estas são submetidas por conta da alta demanda de nutrientes para a produção de leite (BELL, 1995; DRACKLEY, 1999). Quando a vaca não se adapta ao período de transição, ou seja, quando não consegue atender de forma satisfatória às demandas requeridas para o crescimento do feto, para o evento do parto e para a lactação, há um estresse metabólico devido à queda de glicose no sangue (ABUELO et al., 2015; DE KOSTER; OPSOMER, 2013). Dessa forma, vacas recém paridas normalmente apresentam um quadro de hipoglicemia, devido à alta demanda de glicose pelo úbere para síntese de lactose, assim, a resposta de insulina fica desregulada para atender ao requerimento de glicose pela glândula mamária (ABUELO et al., 2015; DE KOSTER; OPSOMER, 2013). Contudo, nessas primeiras semanas pós-parto a energia proveniente da dieta não é suficiente para atender toda essa mobilização energética necessária para a produção de leite, fazendo com que a vaca recorra ao uso das próprias reservas de energia (ABUELO et al., 2015; DE KOSTER; OPSOMER, 2013).

Quando a vaca está nesse desequilíbrio energético, onde o balanço de energia se encontra negativo, é comum que haja uma mobilização lipídica, que leva à liberação de NEFA na corrente sanguínea para que estes possam ser usados como fonte de energia (ABUELO et al., 2015; SCHÖNFELD; WOJTCZAK, 2008). Entretanto, quando há intensa mobilização de lipídeos e as concentrações de AGNE se tornam abundantes há um acúmulo de triglicerídeos no fígado e intensa produção de corpos cetônicos, como BHB, ainda, quando os AGNE são usados como fonte de energia pelos tecidos próximos, estes aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (ABUELO et al., 2015; SCHÖNFELD; WOJTCZAK, 2008).

Como subproduto do metabolismo celular, formam-se as ERO, radicais livres que estão presentes em maior quantidade. Estes são importantes para diferenciação e proliferação celular, além de atuar na resposta imunológica, esta última por conta da sua participação na eliminação de patógenos e envolvimento na expressão de citocinas. Contudo, quando as ERO são produzidas em excesso, atuam na peroxidação lipídica e causam danos aos tecidos

(ABUELO et al., 2015; MILLER; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA; MADSEN, 1993). A presença de substâncias antioxidantes no organismo é essencial, pois estas atuam na redução das ERO, evitando o acúmulo desses radicais livres, porém, quando há uma produção exacerbada de ERO e as substâncias antioxidantes não conseguem neutralizá-las, inicia-se um estado conhecido por “estresse oxidativo” (ABUELO et al., 2015). Esse estresse tem relação com falhas na gestação e com o aparecimento de doenças, podendo haver peroxidação de componentes celulares, levando à morte celular, necrose e danos ao material genético (AUROUSSEAU; GRUFFAT; DURAND, 2006; GUERIN; EL MOUATASSIM; MENEZO, 2001).

Os ácido graxos não esterificados em concentrações muito altas e expressiva produção de ERO estão diretamente relacionadas à incidência de doenças no período de transição de vacas leiteiras, como fígado gorduroso, cetose, retenção de membranas fetais e mastite (HERDT, 2000; SORDILLO; RAPHAEL, 2013). Dessa forma, uma compreensão mais clara das mudanças fisiológicas pelas quais as vacas passam ao longo desse período, bem como das doenças que acometem esses animais no periparto podem levar à elaboração de técnicas mais adequadas de manejo e nutrição para vacas em transição (DRACKLEY et al., 2005).

3.2 Balanço energético negativo (BEN)

Logo após o parto de vacas leiteiras de alta produção, verifica-se uma alta demanda de energia e proteína para que haja produção de leite, contudo, o consumo de alimentos nessa fase não é suficiente para suprir essa demanda, dessa forma, o pico de lactação se dá antes do pico de ingestão de matéria seca (IMS), resultando no que é conhecido por balanço energético negativo (BEN) (GRUMMER, 2009). Assim, espera-se que a vaca apresente algum grau de BEN no período de transição por conta da adaptação às novas necessidades de energia que o seu organismo requer para a alta produção de leite (OSPINA et al., 2010a).

A redução no consumo de matéria seca (MS) ocorre durante as últimas três semanas de gestação (no início do período de transição), onde há queda de 10 a 30% comparado com o consumo no início do período seco. Acreditava-se que essa queda no consumo era devido ao crescimento do feto, que ocupa grande parte da cavidade abdominal, contudo, as altas concentrações de estrogênio próximo ao parto podem ser responsáveis pela diminuição, ainda assim, o real motivo da menor ingestão de MS não está bem esclarecido (DRACKLEY et al., 2005).

Quando a vaca mobiliza energia corporal em excesso na tentativa de reverter ou tornar mais brando esse BEN, há um aumento exacerbado de alguns metabólitos na corrente sanguínea, entre eles estão o BHB e os AGNE. Estes causam danos à saúde do animal, comprometendo seu sistema imunológico, predispondo às doenças do pós-parto, como hipocalcemia, retenção de placenta, cetose, deslocamento de abomaso, metrite e mastite, além de causar queda na produção de leite (CHUNG et al., 2008; DRACKLEY, 1999; GOFF; HORST, 1997; GRUMMER, 1995; OSPINA et al., 2010a).

Durante o período de transição, o tecido adiposo passa por mudanças ocasionadas pela lipólise, que ocorrem ao mesmo tempo em que há uma diminuição da resposta à insulina, assim, essa alteração redireciona a energia para a produção de leite na glândula mamária (CONTRERAS; STRIEDER-BARBOZA; RAPHAEL, 2017; DE KOSTER; OPSOMER, 2013). Havendo, portanto, um avanço na lactação, os adipócitos nas vacas se tornam mais sensíveis à insulina, o que leva a uma diminuição da lipólise e um aumento na lipogênese (CONTRERAS; STRIEDER-BARBOZA; RAPHAEL, 2017; MCNAMARA, 1994). Ao longo do período de transição, é benéfico que o tecido adiposo apresente uma resistência moderada à insulina, pois isso assegura que haja uma boa lactação, contudo, se essa resistência for excessiva e por um tempo maior, as vacas se tornam mais propensas a desenvolver doenças inflamatórias e metabólicas, o que limita a capacidade do tecido adiposo de armazenar energia adequadamente e contribui para o aumento de ácidos graxos no sangue (CONTRERAS; STRIEDER-BARBOZA; RAPHAEL, 2017; DE KOSTER; OPSOMER, 2013; FAULKNER; POLLOCK, 1990).

Acredita-se que dentre todos os danos que o BEN pode causar ao desempenho reprodutivo, o atraso do retorno à ciclicidade seja o pior deles, uma vez que, para o sucesso da concepção, o crescimento do folículo dominante e a produção de estradiol são fundamentais, enquanto a redução dos pulsos do hormônio luteinizante (LH) e das concentrações de IGF-1 podem causar falhas nesses processos. Além disso, a relação do BEN com a supressão do sistema imunológico pode estar ligada ao comprometimento da função dos neutrófilos (CARDOSO; KALSCHEUR; DRACKLEY, 2020; HAMMON et al., 2006).

Contudo, o aparecimento de algumas dessas doenças ocorre de forma silenciosa, ou seja, o animal tem queda na produção, podendo chegar a uma diminuição de até 25% na produção de leite, e está com a saúde debilitada, porém, não apresenta nenhum sinal clínico, sendo um grande problema, principalmente pela dificuldade de detecção da causa, onde muitas vezes só é descoberta quando a doença está avançada, tornando o tratamento mais difícil (BOUDA et al., 1995). Assim, visando identificar precocemente e prevenir o

agravamento de algumas doenças e a conseqüente redução na produção, ou ainda, acompanhar a situação do animal, o monitoramento da saúde das vacas no período de transição é uma ferramenta eficaz para que os produtores possam intervir no manejo e na nutrição dos animais de forma adequada, com a finalidade de prevenir os problemas (LEBLANC, 2010; OSPINA et al., 2010a).

3.2.1 Monitoramento do balanço energético negativo

A maioria dos distúrbios que ocorre durante o periparto possui algum metabólito envolvido, como por exemplo, a síndrome do fígado gorduroso, a cetose e o deslocamento de abomaso, que têm relação direta com mobilização de gordura, aumento de corpos cetônicos e balanço energético negativo, dentre outras patologias (DUFFIELD; LEBLANC, 2009). O monitoramento dos metabólitos pode ser uma ferramenta útil na identificação de doenças, uma vez que é possível acompanhar a resposta do organismo em diferentes condições e, dessa forma, verificar alterações em seu equilíbrio fisiológico, onde as falhas na capacidade de manter esse equilíbrio são um sinal patológico (PATINO, 2000).

Além disso, uma série de hormônios e fatores de crescimento estão envolvidos na regulação da distribuição de nutrientes, assim, a avaliação do perfil hormonal, principalmente dos hormônios que têm relação com a utilização de carboidratos e gorduras, estes que funcionam como fontes de energia, são de grande relevância no monitoramento energético dos animais, sobretudo quando analisados em conjunto com metabólitos (PATINO, 2000).

3.2.1.1 β -hidroxibutirato (BHB)

O β -hidroxibutirato (BHB) é um corpo cetônico produzido pelo fígado, sendo principalmente um indicador de balanço energético negativo ou cetose em vacas. Assim, quando há um aumento anormal das concentrações desse metabólito, significa que o animal não está se adaptando bem. A medição das concentrações circulantes de BHB é uma das melhores opções para avaliar essa resposta adaptativa (DUFFIELD; LEBLANC, 2009; OSPINA et al., 2010b). Altas concentrações de BHB são normalmente associadas às doenças características do período de transição, como cetose, retenção de placenta, metrite e deslocamento de abomaso. Níveis elevados de BHB estão diretamente relacionados com o aparecimento de distúrbios, assim, acredita-se que a cetose subclínica se inicia com concentrações de BHB $> 1.000 \mu\text{mol/L}$, enquanto o risco de deslocamento de abomaso foi

associado com concentrações de BHB equivalentes a 1.200 $\mu\text{mol/L}$ (LEBLANC; LESLIE; DUFFIELD, 2005; OSPINA et al., 2010a).

McArt et al (2012) relataram que vacas com concentrações muito altas de BHB no sangue, 2,4 mmol/L, apresentam 3 vezes mais chances de deslocamento de abomaso, 50 vezes mais chances de serem removidas do rebanho e é esperado que haja uma redução significativa na produção de leite durante os primeiros 30 dias. Além disso, pesquisas demonstraram que o aumento de BHB está associado com casos de metrite após o parto por conta da baixa disponibilidade de glicose, que juntamente com altas concentrações de BHB causam danos ao sistema imune (HAMMON et al., 2006; SUTHAR et al., 2013). Níveis elevados de AGNE e BHB, juntamente com baixos níveis de cálcio próximo ao momento do parto, foram associados à diminuição da produção de leite no início da lactação (CHAPINAL et al., 2012). Além disso, a baixa concentração de cálcio antes do parto pode ter um impacto negativo na capacidade reprodutiva durante o início desse período de lactação, portanto, vacas que não conseguem ajustar rapidamente o seu metabolismo energético para sustentar a síntese de leite, podem produzir leite abaixo do potencial ou ficar passíveis a distúrbios metabólicos (CHAPINAL et al., 2012).

O monitoramento precoce dos corpos cetônicos é de suma importância. O ideal é que se inicie logo após a concepção, pois o primeiro mês pós-parto é o momento em que há ocorrência de cetose subclínica, sendo que as maiores ocorrências são nas primeiras duas semanas de lactação e em torno de 11 dias após o aparecimento da doença, esta evolui para cetose clínica, assim, quanto antes as vacas forem diagnosticadas, maiores as chances de prevenir o agravamento da doença, além de evitar o aparecimentos de demais distúrbios provenientes dessa patologia (DUFFIELD; LEBLANC, 2009).

3.2.1.2 Glicose

A glicose é a principal responsável por fornecer energia para o cérebro e tecidos corporais dos animais, assim, diversas funções e processos fisiológicos dependem de uma quantidade significativa de glicose, tais como o funcionamento do sistema imunológico, o metabolismo energético, a produção de leite e a reprodução (SILVA et al., 2022a). Os alimentos ingeridos passam pelo rúmen, onde ocorre fermentação, gerando ácidos graxos de cadeia curta que são utilizados como fonte de energia pelo animal, já que os carboidratos da dieta servem de substrato para os microrganismos (BAUMAN; CURRIE, 1980; REYNOLDS et al., 1988; SASAKI, 2002).

De forma diferente do que ocorre em monogástricos, os ruminantes obtêm glicose a partir da gliconeogênese hepática, na qual vacas produzindo cerca de 40kg/dia de leite conseguem recuperar aproximadamente 3kg de glicose (ASCHEBACH et al., 2010; HABEL; SUNDRUM, 2020). Contudo, ao final da gestação e início da lactação, a demanda por glicose se torna alta, sendo necessária a otimização da utilização de glicose no fígado, tecido adiposo, músculo esquelético e demais tecidos maternos (ALDORETTA; HAY JR, 1999; FIORE et al., 2014; MORGANTE et al., 2012).

Com a intensa produção de leite no início da lactação há um aumento na necessidade de glicose, cerca de 2,7 vezes maior do que o normal, para que haja produção de lactose, que é o principal componente do leite (SUNDRUM, 2015). Assim, o organismo passa a direcionar a glicose para onde é mais requerido, favorecendo a glândula mamária em relação aos outros tecidos (BELL, 1995; BELL; BAUMAN, 1997). Isso se dá principalmente pelo fato de haver na glândula mamária transportadores de glicose que não dependem de insulina, enquanto nos demais tecidos (como adiposo e músculos) o transportador dependente da insulina (BELL; BAUMAN, 1997; ZHAO; GLIMM; KENNELLY, 1993).

A mobilização de glicose para a glândula mamária e a consequente diminuição do aporte de glicose para os demais tecidos, tais como aqueles envolvidos na barreira imunológica do animal, pode predispor este à doenças no período de transição, uma vez que terão sua imunidade comprometida (BICALHO et al., 2017). Além disso, as células imunes dependem de quantidades significativas de glicose para o bom desempenho de suas funções e quando o animal apresenta um quadro de inflamação as quantidades de glicose requeridas pelo sistema imune podem ser tão altas a ponto de se assemelhar à quantidade de glicose necessária para uma alta produção de leite (HABEL; SUNDRUM, 2020).

Zarrin et al. (2017) relataram ainda que vacas Holandesas que receberam infusão intravenosa de BHB duas semanas antes e duas semanas após o parto, apresentaram redução nas concentrações plasmáticas de glicose. Verificaram que a hipoglicemia resultante do BHB após o parto pode estar relacionada com sua capacidade reguladora no metabolismo da glicose. Estes autores relataram que as concentrações mais baixas de glicose em decorrência das concentrações mais altas de BHB podem ser devido à redução da gliconeogênese. Dessa forma, a mensuração dos níveis de glicose é uma ferramenta promissora para a avaliação do status metabólico em vacas de leite de alta produção no período de transição, podendo ser utilizada para a verificação de adaptação do animal ao BEN.

3.3 Escore de Condição Corporal (ECC)

O escore de condição corporal é um indicador do estado nutricional do animal, uma vez que este se dá através da avaliação visual de sua gordura corporal. A escala utilizada para essa avaliação pode variar, contudo, valores mais altos de ECC correspondem à obesidade, enquanto valores mais baixos estão relacionados ao emagrecimento (ROCHE et al., 2009). Por exemplo, uma escala muito utilizada é a de Edmonson et al. (1989), na qual as vacas são classificadas em uma escala de um a cinco pontos, com acréscimos de um quarto de ponto, onde vacas pontuadas com 1 (um) são consideradas emaciadas e vacas pontuadas com 5 (cinco) consideradas obesas.

Dessa forma, levando em consideração que o ECC avalia a gordura corporal do animal, as alterações nesse valor são um importante indicador individual de BEN em vacas de leite, sendo esse desequilíbrio energético um dos elementos que mais interferem no desempenho reprodutivo (ROCHE et al., 2009; STOCKDALE, 2001). Sabendo-se que o NEFA e o BHB são indicadores do BEN no início da lactação, verificou-se que vacas com ECC maior ao parto apresentaram maiores concentrações desses biomarcadores do que vacas com menor ECC (AKBAR et al., 2015; PIRES et al., 2013; ZHAO et al., 2019).

De acordo com Roche et al. (2009), um alto ECC ao parto está relacionado com uma maior probabilidade de aparecimento de doenças metabólicas após o parto, enquanto um ECC baixo no momento do parto, relacionado com menores chances de prenhez e menor produção de leite. Esse comprometimento do desempenho reprodutivo subsequente em decorrência do ECC pode estar associado ao BEN pelos quais as vacas passam no início da lactação, bem como pela maior suscetibilidade à doenças metabólicas em vacas obesas (STOCKDALE, 2001).

Observou-se que vacas Holandesas com $ECC > 4$ no pré-parto tiveram uma diminuição significativa no consumo de matéria seca no periparto, e apresentaram também BEN mais profundo após o parto quando comparadas com vacas mais magras (GRUMMER; MASHEK; HAYIRLI, 2004). Concordando com essa afirmação, Bastin & Gengler (2013) relataram que um alto ECC ao parto pode agravar os efeitos do BEN. Verificaram ainda que a perda exacerbada de ECC no início da lactação, bem como, o baixo ECC ao longo da lactação, não somente poderiam comprometer o desempenho reprodutivo, como vir a desencadear outros problemas de saúde nesses animais.

Sugere-se, portanto, que a vaca deve estar com $ECC \leq 3$ no momento do parto, como uma tentativa de minimização dos efeitos causados pelo BEN, uma vez que, um valor maior

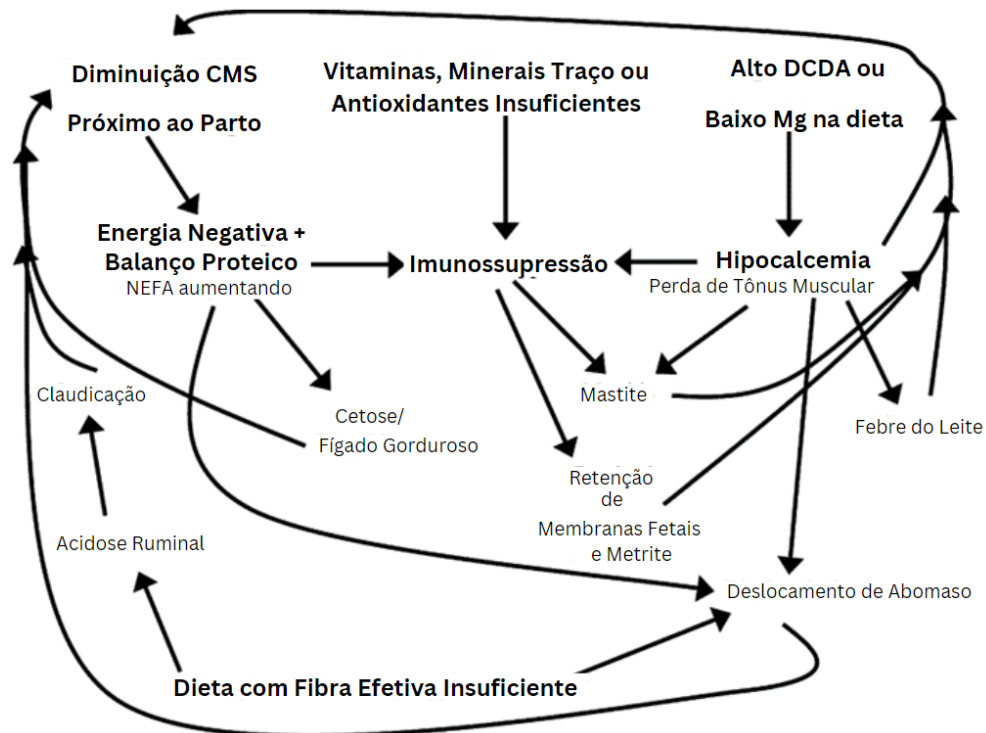
do que este pode aumentar as chances do aparecimento de doenças metabólicas características do período de transição (GARNSWORTHY, 2008). Da mesma forma um valor muito baixo também pode vir a causar problemas reprodutivos, como já mencionado.

3.4 Doenças no pós-parto

A vaca leiteira passa por diversas alterações fisiológicas e metabólicas quando sai do período seco e inicia a lactação. Essas mudanças predisõem os animais à ocorrência de distúrbios, tais como cetose, hipocalcemia e retenção de membranas fetais. Assim, a forma como as vacas no período de transição são manejadas irá refletir diretamente em seu estado de saúde, fertilidade e produção de leite (DRACKLEY, 1999; LEBLANC, 2010; ROCHE et al., 2018). Para que a lactação seguinte ocorra de forma satisfatória, deve ser dada a devida atenção à vaca em transição, pois o estresse fisiológico nesse período também causa danos ao seu sistema imunológico, tornando-o debilitado e fazendo com que a resposta a patógenos fique prejudicada, permitindo assim que agentes patogênicos se instalem no organismo do animal, resultando em doenças infecciosas, como metrites e mastite (ANDRIEU, 2008).

A maioria desses distúrbios acomete as vacas de leite nas duas primeiras semanas de lactação, sendo que a incidência de tais doenças metabólicas e infecciosas podem ser potencialmente agravadas quando funções fisiológicas como a manutenção da normocalcemia e do sistema imunológico são comprometidas (FIGURA 1). Portanto, a prevenção de condições que levam à ocorrência de patologias no periparto pode não somente melhorar o bem estar do animal, como a produção de leite (GOFF; HORST, 1997).

Figura 1 – Inter-relações entre nutrição e doença em vacas leiteiras periparturientes.



CMS: Consumo de matéria seca; DCDA: Diferença cátion-ânion dietético; NEFA: Ácidos graxos não esterificados.

Fonte: Adaptado de Goff (2006).

3.4.1 Hipocalcemia

A mobilização de cálcio dos ossos é regulada pelo paratormônio (PTH). Este é produzido quando há redução nos níveis de cálcio sanguíneo e é responsável pelo aumento da reabsorção de Ca pelos rins (GOFF, 2006a). Contudo, no início da lactação, onde há intensa demanda de cálcio, somente a diminuição da excreção de Ca pela urina não é suficiente para manter seus níveis adequados, sendo necessária a absorção de Ca pela dieta, que se dá através do hormônio 1,25-dihidroxitamina D (produzido nos rins quando há aumento do PTH) que promove essa absorção por estímulo intestinal (GOFF, 2006a).

Dessa forma, quando a absorção do cálcio da dieta ou dos ossos não é suficiente para a vaca manter a quantidade adequada desse mineral, que é perdida na intensa produção de leite no início da lactação, inicia-se um quadro de hipocalcemia (GOFF, 2006a). As vacas apresentam então sintomas como falta de apetite, tetania, bloqueio da micção e defecação, decúbito lateral e até morte, caso a doença se agrave e não seja tratada da forma correta (HORST et al., 1997).

Acredita-se que a maioria das vacas acaba por desenvolver algum grau de hipocalcemia ao parto, isso se dá por conta do intenso requerimento de mecanismos implicados na manutenção da homeostase do cálcio no início da lactação, onde as concentrações plasmáticas de cálcio passam a ser tão baixas que comprometem as funções nervosa e muscular (GOFF; HORST, 1997; ROCHE et al., 2018). Vacas nessas condições têm perda de tônus muscular do útero e considera-se que essa perda também esteja presente no esfíncter dos tetos, assim, esses fatores juntamente com a imunossupressão podem levar a maiores ocorrências de retenção de placenta, prolapso uterino e mastite (GOFF; HORST, 1997; RISCO; REYNOLDS; HIRD, 1984).

A redução no consumo de alimentos após o parto, que normalmente acontece em vacas com hipocalcemia, leva à redução do preenchimento do rúmen e da profundidade do assoalho ruminal, aumenta os ácidos graxos voláteis (AGV) no abomaso e diminui a contratilidade deste, tendo como consequência o deslocamento de abomaso (GOFF; HORST, 1997). Alterações no sistema imune do animal, bem como em seu metabolismo de energia também são decorrentes desse baixo consumo de matéria seca, provocando outras doenças como hipercetonemia e metrite, além de aumentar os riscos de descarte (MARTINEZ et al., 2012, 2018).

Buscando atender às demandas de Ca para a produção de leite, no início da lactação, as necessidades desse macromineral aumentam até 4 vezes e quando as concentrações não são suficientes, podem ocorrer atrasos na involução uterina e na atividade cíclica dos ovários (CARDOSO; KALSCHEUR; DRACKLEY, 2020; HORST et al., 1997). A hipocalcemia também interfere na secreção de insulina, reduzindo a absorção de glicose pelo tecido e aumentando a mobilização de lipídios no parto, resultando em maiores chances de ocorrência de cetose (GOFF; HORST, 1997; LITTLEDIKE et al., 1970). Dervishi et al. (2021) verificaram ainda que a hipocalcemia e a cetose têm as mesmas características metabólicas pré-parto (antes do aparecimento da doença), sugerindo a possibilidade de planejamento nutricional a fim de evitar os efeitos desfavoráveis dessas doenças na reprodução e produção como um todo.

3.4.2 Cetose

A cetose é um distúrbio que acomete vacas em torno de 2 a 4 semanas após o parto, onde estas apresentam baixo consumo de matéria seca e alta produção de leite, resultando em BEN, conseqüentemente, fazendo com que haja mobilização da gordura corporal para atender

às necessidades de energia do organismo. Contudo, uma mobilização excessiva leva à intensa liberação de NEFA, sobrecarregando o fígado, que por sua vez não consegue fazer uso de todo o ácido graxo disponível, assim, há conversão destes em corpos cetônicos (acetona, ácido acético e BHB) (BAIRD, 1982; GOFF, 2006b).

Para que a vaca passe pelo período de transição sem complicações, saindo do estado de não lactante para uma intensa produção de leite, é de suma importância que a função hepática esteja preservada, uma vez que a infiltração de gordura pode resultar em cetose (DRACKLEY et al., 2005). Vacas com cetose possuem altas quantidades de ácidos graxos livres no sangue e acúmulo de gordura no fígado, fatores estes que levam ao estresse oxidativo e causam danos severos ao fígado, sendo assim, o melhor método para verificar a incidência de cetose é através da avaliação de BHB no sangue, uma vez que, entre os corpos cetônicos produzidos, este é o mais estável (DU et al., 2017; OETZEL, 2004).

Redução no apetite, no peso e na produção de leite também são característicos da cetose, contudo, esses animais são mais propensos a desenvolver a forma subclínica da doença que é verificada a partir das concentrações séricas de BHB $> 1,0$ a $1,4$ mmol/L, sem que haja sinais clínicos, a qual é prevalente nas primeiras semanas de lactação (DUFFIELD et al., 2009; MCART; NYDAM; OETZEL, 2012; OETZEL, 2004). Esse tipo de cetose pode predispor a vaca à ocorrência de outras doenças, sendo associada com cistos ovarianos, metrite, deslocamento de abomaso e cetose clínica, sendo essa última uma “evolução” da cetose subclínica (SUTHAR et al., 2013).

Dessa forma, foi verificada uma diminuição nas chances de prenhez após a primeira IA em vacas diagnosticadas com cetose subclínica, com concentrações de BHB acima dos limites de $1,1$ mmol/L (primeira semana pós-parto) e $1,4$ mmol/L (segunda semana pós-parto) (WALSH et al., 2007). Também foi verificado que vacas multíparas com altas concentrações de BHB nas duas primeiras semanas após o parto apresentaram menor produção de leite (OSPINA et al., 2010b).

Foi observado ainda que vacas apresentando cetose subclínica na primeira semana pós-parto tiveram maiores riscos de deslocamento de abomaso e de serem removidas do rebanho nos primeiros 30 dias em lactação (DEL). Também foram menos predispostas a conceber ao primeiro serviço e a quantidade de leite produzida por essas vacas foram menores nos primeiros 30 DEL em comparação com vacas que desenvolveram cetose subclínica após a primeira semana de lactação (MCART; NYDAM; OETZEL, 2012).

3.4.3 Retenção de placenta

Logo após o parto, deve ocorrer a involução uterina, regeneração do endométrio, eliminação de qualquer contaminação bacteriana no útero e retorno da atividade cíclica ovariana. Somente após esses eventos, é que a vaca pode gestar novamente, contudo, essas alterações só acontecem após a expulsão do feto juntamente com suas membranas fetais, além da expulsão da placenta (SHELDON et al., 2008). Portanto, as membranas fetais devem se desprender do endométrio durante o parto, nesse momento ocorre então uma diminuição do aporte sanguíneo para a placenta, em que esta passará a ser considerada um “corpo estranho” pelo sistema imunológico da vaca, que tentará atacá-lo e por fim expulsá-lo (HAJIBEMANI; JAFARI; RASHIDZADEH, 2020).

Dentro de um período máximo de 24 horas e preferencialmente até 6 horas a placenta deve ser expelida, contudo, se passar dessas 24 horas, é considerado um caso de retenção de placenta. Essa situação acomete de 2% a 5% das vacas de um rebanho (podendo haver um aumento nessa proporção) e pode ter maiores ocorrências em vacas com gestações gemelares, após um parto distócico ou ainda quando há presença de agentes infecciosos (SHELDON et al., 2008; ZHANG et al., 2021). Apesar de não se ter um entendimento pleno dos fatores que predis põem os animais à essa patologia, parâmetros como o estado hormonal do animal, idade, nutrição, ambiente e imunidade também podem ser alguns dos motivos que levam ao aparecimento da doença (HAJIBEMANI; JAFARI; RASHIDZADEH, 2020). Três processos agindo de forma concomitante são responsáveis pela expulsão normal da placenta, são eles: maturação da placenta ligada às mudanças endócrinas no final da gestação; sangramento do lado fetal da placenta e contrações uterinas com distorção dos placentomas (SHELDON et al., 2008). Assim, se após 24 horas esses eventos não ocorrerem, haverá presença de membranas com odor fétido e aparência descolorida e degenerada penduradas na vulva, indicando a retenção da placenta (DERVISHI et al., 2016).

O comprometimento do sistema imunológico de vacas leiteiras em decorrência do parto e da retenção da placenta prejudica a saúde e bem-estar do animal, assim como do rebanho, além de causar danos à fertilidade, que é observada pelo aumento do período de serviço e maiores riscos de ocorrência de metrite, levando também à redução da produção de leite, gerando grandes perdas econômicas ao produtor e à indústria do leite (DERVISHI et al., 2016).

A retenção de membranas fetais foi associada à menor produção de leite em um estudo que demonstrou que vacas normais tiveram maior produção nos primeiros 60 dias de lactação

em comparação com vacas com membranas fetais retidas nesse mesmo período (SHELDON; RYCROFT; ZHOU, 2004). Essa queda na produção de leite também foi observada em um estudo realizado por Dervishi et al. (2016), onde vacas acometidas por retenção de placenta produziram 9,79 L de leite/dia menos do que vacas em condições normais.

Vacas com retenção de placenta apresentam taxas de perdas de gestação mais altas do que vacas que não apresentam a patologia. López-Gatius et al. (1996) relataram que vacas com placenta retida tiveram 1,8x mais perdas gestacionais do que as demais. Além disso, a retenção de placenta foi associada a maiores riscos de endometrite e distúrbios metabólicos, bem como maiores intervalos entre o parto e primeiro serviço, sugerindo que partos anormais, ocorrência de doenças pós-parto e queda no desempenho reprodutivo subsequente estão relacionados com retenção de placenta (HAN; KIM, 2005).

A ingestão de nutrientes também está envolvida na ocorrência de retenção de placenta. Há indícios de que animais que ingeriram baixa quantidade de selênio e vitamina E tiveram maiores incidências de retenção de membranas fetais. Estas foram reduzidas com a suplementação desses nutrientes via dieta ou de forma injetável, assim, deficiências de selênio e vitamina E foram associadas com função neutrofílica prejudicada, sendo que quando a vaca apresenta comprometimento dos neutrófilos antes do parto, há maiores chances de desenvolver a patologia (GOFF, 2006b).

3.4.4 Endometrite, metrite e piometra

O evento do parto é arriscado tanto para a vaca, quanto para o bezerro, pois além das lesões físicas que podem ocorrer nesse momento ou ainda após o parto, na expulsão da placenta, também há um aumento dos riscos de contaminação por micro-organismos que podem resultar em infecções uterinas (SHELDON et al., 2008). O aparecimento dessas inflamações no útero de vacas leiteiras de alta produção é um problema comum no período pós-parto, sendo responsável em grande parte por falhas ligadas à reprodução e pelo descarte de animais, fatores estes que causam prejuízos econômicos significativos ao produtor (VALDMANN et al., 2018).

Diversos micro-organismos, incluindo fungos e bactérias aeróbicas e anaeróbicas, podem crescer no lúmen uterino, sendo que as espécies *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* e *Prevotella* sp. estão mais relacionadas com doenças uterinas (SHELDON et al., 2008; WILLIAMS et al., 2005). Enquanto *T. pyogenes*, *F. necrophorum* e *Prevotella* agindo de forma conjunta aumentam as chances de ocorrência de

doenças uterinas, além de aumentar os riscos de endometrite clínica. Assim, as maiores prevalências, se tratando de números, são *T. pyogenes* (49%) e *E. coli* (37% das bactérias isoladas) (SHELDON et al., 2008; WILLIAMS et al., 2005).

A inflamação que acomete toda a espessura da parede do útero é denominada “metrite”, sendo esta caracterizada pela presença de edema, infiltração de leucócitos e deterioração do miométrio (BONDURANT, 1999; KENNEDY, 1993; SHELDON et al., 2006). Nas definições de doenças uterinas pós-parto, Sheldon et al. (2006) separaram a metrite em duas categorias, sendo elas metrite puerperal e metrite clínica. A primeira é caracterizada pelo aumento anormal do útero e secreção uterina fétida de cor vermelho-acastanhada, sinais de doença sistêmica e febre (temperatura acima de 39,5°C) em até 21 dias pós-parto. Enquanto a metrite clínica foi definida, pelos mesmos autores, por vacas apresentando tamanho anormal do útero e secreção uterina purulenta dentro do mesmo período, contudo, sem apresentar sinais relacionados à doença sistêmica (SHELDON et al., 2006).

Com relação à endometrite, esta é um tipo de inflamação superficial, que se limita ao endométrio, e pode ser classificada em endometrite clínica e endometrite subclínica. A primeira é caracterizada por apresentar secreção uterina purulenta (> 50% pus), que é verificada a partir de 21 dias pós-parto ou mucopurulenta (50% pus e 50% muco) após 26 dias do parto (SHELDON et al., 2006). Já a endometrite subclínica é constatada através de citologia uterina, onde é observada a proporção de neutrófilos na amostra, sendo > 18% de neutrófilos em amostras coletadas entre 21 e 33 dias após o parto ou > 10% de neutrófilos em amostras entre 34 e 47 dias pós-parto (SHELDON et al., 2006).

Sugere-se, ainda, que a persistência de um corpo lúteo ativo no ovário, secretando progesterona (P4), por um tempo maior do que é esperada a duração da fase lútea, predispõe à ocorrência de endometrite que, por sua vez, pode evoluir para piometra (KENNEDY, 1993). Assim, há três possibilidades para o primeiro folículo dominante pós-parto: atresia, por conta de uma ou mais ondas foliculares, formação de um cisto folicular ou ainda ovulação e formação de corpo lúteo (CL). Este último representa o retorno da atividade cíclica ovariana (BEAM; BUTLER, 1997), contudo, quando esta ocorre de forma precoce, enquanto há infecção uterina, pode resultar em piometra (OLSON et al., 1984).

A piometra é descrita pelo acúmulo de conteúdo mucopurulento no lúmen uterino, com colo do útero fechado, e distensão do útero quando há presença de corpo lúteo (CL) ativo. Assim, quando o CL se forma, aumenta-se a quantidade de bactérias patogênicas no lúmen uterino, levando à ocorrência da patologia em questão. No entanto, esta que é

considerada rara, correspondendo a menos de 5% das ocorrências de doenças uterinas (SHELDON et al., 2006, 2008).

Em um estudo no qual se avaliou a função de neutrófilos em relação à saúde uterina, observou-se que vacas com metrite puerperal tiveram as funções de células polimorfonucleares comprometidas durante o parto, além de quantidades mais elevadas de NEFA, redução na ingestão de matéria seca e concentrações mais elevadas de BHB no início da lactação, quando comparadas com vacas saudáveis (HAMMON et al., 2006).

Além disso, foi observado que vacas com endometrite apresentaram baixas concentrações séricas de Ca, Mo, P, Se e Zn, enquanto vacas com endometrite apresentaram concentrações de Ca, Cu, Mo e Zn reduzidas em comparação às vacas com útero saudável (BICALHO et al., 2014), ainda observou-se que os animais suplementados com Se, Zn, Cu e Mn foram menos predispostos a desenvolver esses distúrbios (MACHADO et al., 2013).

Uma pesquisa avaliando o desempenho reprodutivo em gado de leite com a utilização de um dispositivo intravaginal (metricheck) para diagnóstico de endometrite, verificou que vacas com endometrite tiveram atrasos no estabelecimento do ciclo estral, maior dificuldade de serem inseminadas e taxas de concepção mais baixas (MCDOUGALL; MACAULAY; COMPTON, 2007). Regassa et al. (2002) verificaram ainda que o crescimento de folículos dominantes é mais lento em vacas com endometrite, além de apresentarem concentrações plasmáticas de estradiol mais baixas, indicando chances reduzidas de ovulação.

Já em um estudo empregando citometria endometrial e ultrassonografia, constatou que as taxas de prenhez foram mais baixas em vacas com endometrite subclínica (KASIMANICKAM et al., 2004). Assim, esses resultados demonstram que vacas com inflamação no endométrio, seja clínica ou subclínica, têm o desempenho reprodutivo seguinte comprometido. Além dessas questões reprodutivas, há também impactos econômicos provenientes das doenças uterinas, pois além dos gastos gerados por conta do tratamento da doença e da redução na produção de leite, o comprometimento da fertilidade desses animais, com redução significativa nas taxas de concepção, leva ao aumento de descarte de animais na propriedade (SHELDON et al., 2009).

3.4.5 Mastite

Sendo considerada uma das doenças que gera as maiores perdas à pecuária leiteira, desde os produtores à indústria, a mastite é responsável por grandes prejuízos econômicos. Estes envolvem a qualidade e quantidade de leite produzido por animal, as despesas com

antibióticos, descarte e óbitos de animais e gastos com mão-de-obra necessária para o tratamento. Além destas questões, essa doença causa danos à saúde pública e ao bem-estar dos animais (LIBERA et al., 2021).

Segundo Abebe et al. (2016) a mastite pode ser classificada de duas formas, sendo elas clínica e subclínica, na qual a primeira é caracterizada por início repentino, com queda na produção de leite, alteração na composição e na aparência do leite e presença de sinais cardinais de inflamação nos tetos infectados. Enquanto a mastite subclínica não apresenta nenhum sinal aparente de infecção do úbere ou no leite, contudo, também causa redução na produção de leite, alterações na composição físico-química deste e há aumento na contagem de células somáticas (ABEBE et al., 2016).

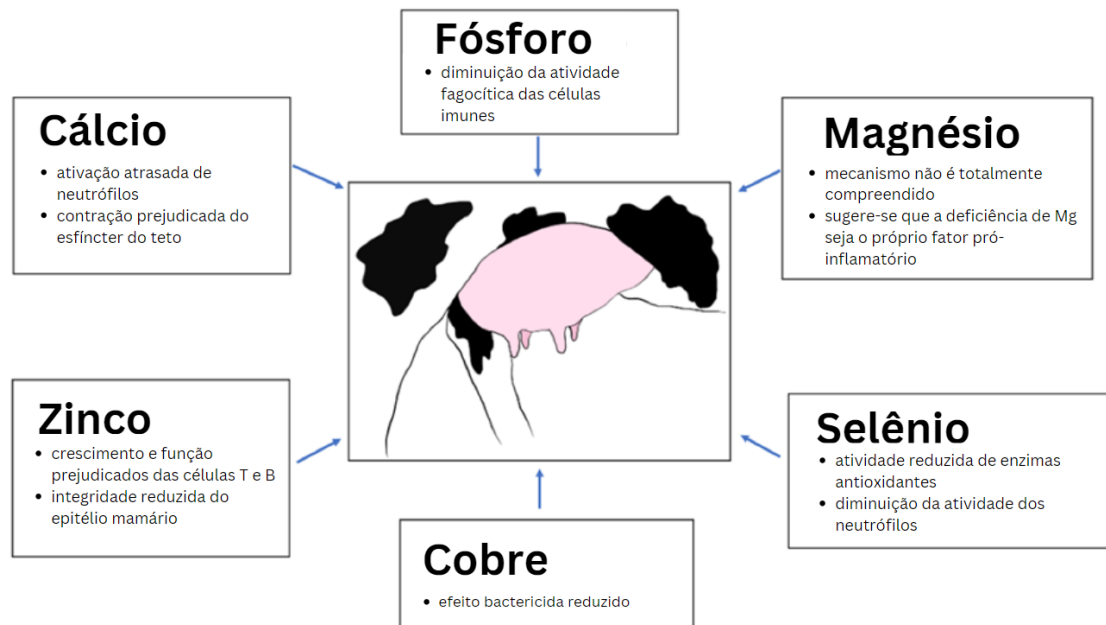
Bactérias como dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* são as principais responsáveis por inflamações no úbere. No entanto, dezenas de patógenos diferentes podem causar a enfermidade, incluindo outros agentes bacterianos, vírus, fungos e algas (SANTOS; FONSECA, 2019). Além disso, fatores não infecciosos também podem influenciar no aparecimento dessa doença e em seu nível de gravidade, tais como os traumas, ambiência e a alimentação fornecida aos animais (ABEBE et al., 2016; RUEGG, 2017).

O método padrão para monitorar a qualidade do leite se iniciou há mais de 25 anos e se dá através da contagem de células somáticas (CCS), sendo esta uma forma de se detectar a infecção intramamária, uma vez que estas são células de defesa do animal que migram para a glândula mamária e, conseqüentemente, estão presentes no leite (LEBLANC et al., 2006; PEREIRA; MACHADO; SARRÍES, 2001). Estima-se que a CCS média de 200.000 células/mL esteja dentro dos limiares para vacas com úberes saudáveis, podendo haver variação de acordo com outros fatores (SCHEPERS et al., 1997). Dessa forma, foram se estabelecendo limites máximos de CCS no leite para que este seja aceito na indústria, assim, no início dos anos 1990 foram estabelecidos valores entre 750.000 células/mL (Estados Unidos) e 400.000 células/mL (União Europeia), atualmente, tais valores continuam em vigor (RUEGG, 2017).

Um estudo realizado com vacas Jersey, demonstrou que a mastite tem efeito negativo na fertilidade dos animais, os pesquisadores relataram que a mastite subclínica afetou a reprodução de vacas em lactação de forma semelhante à mastite clínica e vacas que desenvolveram a forma clínica logo após a subclínica tiveram perdas mais graves no desempenho reprodutivo (SCHRICK et al., 2001). A deficiência mineral aumenta as chances de ocorrência da mastite (FIGURA 3) e acredita-se que a suplementação de minerais nas

dietas pode trazer benefícios à saúde do úbere, reduzindo os riscos de inflamação, pois estes atuam nas células do sistema imunológico (LIBERA et al., 2021).

Figura 2 – Breve resumo dos patomecanismos relacionados às deficiências minerais e à incidência de mastite.



Fonte: Adaptado de Libera et al. (2021).

3.5 Vitaminas x reprodução

As vitaminas são fundamentais para a saúde, o crescimento e a reprodução dos animais (OMUR et al., 2016), principalmente quando utilizadas em conjunto com minerais. Dentre as diversas atuações das vitaminas no organismo animal, as vitaminas A, D e E se destacam quando se trata da nutrição de vacas leiteiras no período de transição, já que estão envolvidas em processos fisiológicos com impacto na reprodução (OMUR et al., 2016; SUCUPIRA et al., 2019). Ao longo do período de transição as vacas passam por um estresse oxidativo, que ocorre quando há falha na resposta antioxidante do animal, devido a uma produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ROS) e, conseqüentemente, favorecendo o surgimento de doenças (BORDIGNON et al., 2019).

As vitaminas com função antioxidante são desejáveis nessa fase, uma vez que estas atuam na defesa contra o estresse oxidativo, conferindo proteção às células (KIRDECI; ÇETIN; RAZA, 2021). Como é o caso da vitamina E, que é conhecida principalmente por

apresentar essas propriedades (PONTES et al., 2015). Estudos demonstraram haver associação entre vitamina E e a ocorrência de retenção de membranas fetais, onde baixos níveis circulantes de α -tocoferol foram relacionados com o surgimento da patologia (MILLER; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA; MADSEN, 1993).

Essas baixas concentrações podem estar relacionadas ao fato de haver transferência dessa substância para o colostro, resultando na redução do α -tocoferol perto do momento do parto (GOFF; KIMURA; HORST, 2002), sendo necessário aumentar as concentrações dietéticas de vitamina E durante o final da gestação, como é recomendado pelo NRC (2001). Quando esta recomendação não é atendida, o animal pode não consumir as quantidades adequadas de vitamina E, levando ao aumento do risco de retenção de membranas fetais, que irá comprometer a saúde uterina da vaca e conseqüentemente seu desempenho reprodutivo (DUBUC et al., 2010; PONTES et al., 2015).

Assim como a vitamina E, a vitamina A também tem ação antioxidante, sendo necessária para o sistema imunológico do animal, onde baixas concentrações dessas vitaminas no periparto de vacas leiteiras podem prejudicar essa importante função (LEBLANC et al., 2004). A vitamina A também participa da diferenciação celular e embriogênese, além de atuar na manutenção e função de tecidos epiteliais, como a glândula mamária (CABEZUELO et al., 2019).

De acordo com o NRC (2001), a vitamina A está relacionada com a resistência às doenças que acometem vacas de leite no periparto, no qual dá destaque para a mastite. Ainda com relação a essa afirmação, um estudo sobre os efeitos de diferentes combinações de vitamina A na dieta, realizado por Agostinho et al. (2021), verificou que a suplementação de vitamina A no período pré-parto tardio em vacas leiteiras resultou na diminuição da contagem de células somáticas no leite.

Já a vitamina D tem um importante papel na regulação do cálcio e formação óssea, sendo essencial no período de transição de vacas leiteiras, devido à intensa demanda de Ca requerida nesse momento e na lactação subsequente. A vitamina D atua diretamente nos mecanismos de absorção desse mineral, que se dá através da dieta, tecidos e ossos (DEGARIS; LEAN, 2008; GOLDBER; MCGRATH; LEAN, 2021). Um estudo realizado por Martinez et al. (2018) demonstrou que vacas alimentadas com calcidiol (25(OH)D₃) tiveram menor incidência de retenção de placenta e metrite, bem como diminuição no número de vacas com doenças múltiplas no início da lactação.

Lippolis et al. (2011) observaram que vacas leiteiras em lactação infectadas de forma intramamária com *Streptococcus uberis* e posteriormente tratadas com infusão de 25(OH)D₃

tiveram redução nas contagens de bactérias do leite, além de apresentarem diminuição nos efeitos sintomáticos da mastite. Contudo, consideraram que somente a aplicação de 25(OH)D₃ não é suficiente para eliminar a infecção, uma vez que, ao final do experimento, se fez necessária a utilização de antibióticos para este fim. Ressaltaram ainda que a combinação de ambos os tratamentos pode ser uma alternativa para redução do uso de antibióticos, levando em consideração a necessidade de diminuição de resíduos em produtos lácteos e de resistência dos animais.

Em estudo mais recente, Poindexter et al. (2020) obtiveram resultados semelhantes, onde verificaram que vacas alimentadas com calcidiol (3mg de 25(OH)D₃) apresentaram mastite menos intensa após serem desafiadas com *Streptococcus uberis*, apontando a vitamina D na proteção da glândula mamária. Sugeriram também que o aumento de cálcio e fósforo séricos, por conta dessa alimentação, pode levar a uma melhora na mineralização óssea em vacas lactantes.

Omur et al. (2016), em um estudo sobre o efeito das vitaminas A, D e E, e dos microminerais Cu, Mn, Se e Zn, no período de transição, verificaram que a utilização de oligoelementos e vitaminas antioxidantes, visando controlar as concentrações circulantes de NEFA, o BEN e BHB, podem atuar de forma favorável no metabolismo. Observaram também que micronutrientes, como selênio e vitamina E, quando ofertados na dieta em quantidades adequadas podem ser uma alternativa para controle do estresse oxidativo.

3.6 Minerais x reprodução

Desde o século XIX, tem-se o conhecimento de que minerais são importantes para o organismo animal, contudo, não se sabia ao certo quais minerais precisavam ser consumidos, tampouco a quantidade que deveriam ser ingeridos. Assim, apesar da limitação nos avanços do estudo de minerais, ao longo dos anos esse assunto foi bastante discutido e as pesquisas evoluíram o suficiente para tornar possível a determinação das exigências desses nutrientes, bem como estratégias de suplementação na dieta (WEISS, 2017).

Os minerais podem ser divididos em dois grupos, sendo eles os macrominerais, que englobam o cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), enxofre (S) e magnésio (Mg), e os microminerais, que incluem o ferro (Fe), cobre (Cu), manganês (Mn), zinco (Zn), cobalto (Co), cromo (Cr), iodo (I), molibdênio (Mo), selênio (Se), vanádio (V), flúor (F), sílica (Si), níquel (Ni), arsênio (As) e estanho (Sn), ambos os grupos são igualmente importantes, contudo, o primeiro é requerido em maiores quantidades pelo organismo,

enquanto este último é necessário em menores quantidades (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006).

Quando se trata de bovinos, a falta de minerais está principalmente relacionada com desordens metabólicas, como a hipocalcemia periparturiente, contudo, a deficiência mineral pode comprometer o sistema imunológico dos animais, resultando em imunossupressão, que predispõe a doenças infecciosas como, mastite, metrite e retenção de placenta (LIBERA et al., 2021).

3.6.1 Fósforo

O fósforo está presente principalmente nos ossos, sendo estes compostos por cerca de 85% desse mineral. Também faz parte dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), fosfolipídeos, fosfoproteínas e de moléculas como o ATP, além de fazerem parte do sistema de tamponamento ácido-base (tampão de fosfato) (GOFF, 2006a; LIBERA et al., 2021). De acordo com o NRC (2001), conforme a gestação avança, a demanda por fósforo é ainda maior, sendo que a exigência desse mineral aumenta de 1,9 g/dia (dia 190 de gestação) para 5,4 g/dia (dia 280 de gestação). Dessa forma, as concentrações plasmáticas de P materno podem diminuir consideravelmente no final da gestação por conta do intenso crescimento do feto, sendo que gestações gêmeares podem afetar ainda mais a vaca (GOFF, 2006a).

Já para vacas lactantes, na formulação de rações utiliza-se o valor de 0,90 g de fósforo por Kg de leite (NRC, 2001). Esta recomendação se faz necessária por conta da redução nos níveis plasmáticos de P no início da lactação, que é resultado da produção de colostro e leite, que “consomem” grandes quantidades de fósforo extracelular. Ainda, em vacas com hipocalcemia haverá um aumento na secreção do paratormônio (PTH), que, por sua vez, leva à perda de fósforo pela urina e saliva (GOFF, 1998, 2006a).

A absorção do fósforo ocorre em todo o trato intestinal e pode se dar por dois processos distintos: um processo passivo por via paracelular e um processo ativo por via transcelular, que é saturável (HOENDEROP; NILIUS; BINDELS, 2005; WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020). Assim, no processo de fermentação e síntese de proteínas microbianas, ocorre a secreção de grandes quantidades de fósforo juntamente com a saliva, e esse P é posteriormente reabsorvido no trato digestivo inferior (WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020).

A homeostase do P é mantida por meio da reciclagem salivar e da excreção fecal, de modo que esteja em consonância com a quantidade de fósforo consumida e absorvida, dessa

forma, a reciclagem ocorre através da presença do P no rúmen, devido à necessidade do sistema de tamponamento fosfato (NRC, 2001). Portanto, a quantidade de fosfato presente no rúmen é influenciada tanto pela quantidade de fósforo ingerido na dieta quanto pela taxa de secreção salivar de fosfato (BREVES; SCHRÖDER, 1991).

O fósforo na dieta dos animais pode ter um efeito indireto na proteção celular quando se combina com lipídios para formar fosfolipídios, que são componentes essenciais das membranas celulares, demonstrando assim um papel relevante na integridade e função das células (SOLDÁ et al., 2017). O equilíbrio homeostático do fosfato é particularmente desafiado no início da lactação, assim, é comum observar a hipofosfatemia subclínica próxima ao parto em mais de 50% das vacas leiteiras (MACRAE et al., 2006; WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020).

A hipofosfatemia, que se manifesta próxima ao parto e no início da lactação, é uma das ocorrências frequentes decorrentes da deficiência de fósforo em vacas leiteiras e isso acontece devido à alta demanda de P para o desenvolvimento fetal, uma vez que o feto necessita de até 10g de P por dia para crescer, além da necessidade para a produção de leite (GRÜNBERG, 2014; MACWILLIAMS; SEARCY; BELLAMY, 1982). As baixas concentrações séricas de fosfato em vacas que sofrem de febre do leite estão relacionadas a um maior risco de desenvolver a síndrome da vaca deprimida (MÉNARD; THOMPSON, 2007).

Mais precisamente relacionado com a reprodução, a deficiência de P resulta no aparecimento de desordens reprodutivas como estro irregular, anestro, diminuição da taxa de concepção, redução da atividade ovariana, maiores chances de aparecimento de folículos com cistos e baixa fertilidade (HURLEY; DOANE, 1989). Em vista disso, acredita-se que o envolvimento do P com a reprodução se dê principalmente por este estar relacionado com a síntese de fosfolipídios e AMPc (HURLEY; DOANE, 1989).

No entanto, nas vacas leiteiras, 60-80% do P consumido é excretado nas fezes, e essa excreção está diretamente relacionada à quantidade de fósforo ingerida na dieta (KNOWLTON; RAY, 2013). Portanto, fornecer um excesso de P para as vacas leiteiras resulta em esterco com alta concentração de P, levando a uma relação N:P desequilibrada, além de contribuir para a poluição ambiental, como a eutrofização dos corpos d'água (KNOWLTON; RAY, 2013; WANG et al., 2014).

Dessa forma, é altamente recomendado formular dietas com níveis específicos de P para vacas agrupadas de acordo com a produção de leite e estágios de lactação, isso se deve ao fato de que as necessidades de fósforo de uma vaca variam conforme o estágio de

crescimento, lactação e gestação (KEBREAB; HANSEN; LEYTEM, 2013). Portanto, fornecer níveis precisos de fósforo na dieta é essencial para atender às exigências nutricionais específicas de cada grupo de vacas, além de reduzir a excreção excessiva deste mineral (KEBREAB; HANSEN; LEYTEM, 2013).

3.6.2 Selênio

O selênio é um micromineral que faz parte de diversas selenoproteínas como a glutathione peroxidase, a tioredoxina redutase e a iodotironina desiodinase. Tem função antioxidante, principalmente por estar no centro ativo da enzima glutathione peroxidase, que atua na redução de espécies reativas de oxigênio (ROS) e com a regulação do estado redox, sendo que a sua deficiência pode causar imunossupressão e problemas reprodutivos (ANDRIEU, 2008; LIBERA et al., 2021).

O Se, juntamente com o Cu, mantêm a atividade dos neutrófilos, estes que atuam no combate às infecções, dessa forma, mesmo que as concentrações de Cu estejam adequadas, quando há falta de Se na dieta, a eficiência da glutathione peroxidase de neutrófilos é reduzida, demonstrando que o Se pode manter a atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase quando o cobre é limitado (ARTHUR; BOYNE, 1985; VAN EMON; SANFORD; MCCOSKI, 2020). Em acordo com essas informações, os resultados de um estudo utilizando suplementação mineral injetável, contendo selênio e cobre, nos dias 230 e 260 de gestação e 35 dias após o parto demonstraram que as vacas suplementadas apresentaram maior atividade da SOD (MACHADO et al., 2014).

Visando demonstrar a importância do selênio na função reprodutiva, um estudo utilizando imagens de fluorescência de raios-X de ovários bovinos possibilitou observar em folículos grandes (> 10 mm) saudáveis a expressão de GPX1 (gene de selenoproteína) nas células da granulosa, levando à conclusão de que esta selenoproteína está relacionada com a dominância do folículo, assim, pressupõe-se que a suplementação de Se pode reduzir os distúrbios ovarianos (CEKO et al., 2015).

Através da avaliação do status antioxidante de vacas suplementadas com vitamina E e Se no pré-parto, foi observada uma menor atividade de antioxidantes no plasma e menores concentrações circulantes de glutathione peroxidase até duas semanas antes do parto em vacas com retenção de placenta por 12 horas ou mais em comparação com as vacas que tiveram a placenta retida por menos de 12 horas. Portanto, quantidades inadequadas de nutrientes

antioxidantes podem resultar em maior ocorrência de retenção de membranas fetais (BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA et al., 1994).

Em um estudo realizado por Jovanović et al. (2013), verificou-se que vacas tratadas com selenito de sódio e acetato de tocoferol injetável três semanas antes da data do parto, reduziu de forma significativa a retenção de placenta nos animais que receberam o tratamento. Dessa forma, consideraram que a retenção de placenta pode ser ocasionada principalmente por conta do estresse oxidativo, apesar de este não ser o único fator, uma vez que houve aumento da atividade plasmática da glutathione peroxidase.

3.6.3 Magnésio

De acordo com o NRC (2001), a ingestão dietética recomendada de magnésio (Mg) é de 1,2 a 3g/Kg matéria seca (MS). No colostro, a concentração de Mg é aproximadamente três vezes maior quando comparada à concentração do leite normal; assim, em vacas lactantes o magnésio extracelular pode ser rapidamente mobilizado por conta da intensa produção de leite, dessa forma, se não houver uma ingestão adequada do mineral em questão, há a possibilidade de o animal desenvolver hipomagnesemia (GOFF, 2006a; TSILOULPAS; GRANDISON; LEWIS, 2007). A hipomagnesemia, ou tetania das pastagens, é uma condição metabólica em ruminantes caracterizada pela falta de Mg, já que esse mineral não é armazenado nos tecidos, requerendo a ingestão diariamente (GOFF, 2008).

A deficiência de Mg leva à apresentação de sintomas clínicos como crescimento lento, irritabilidade, espasmos musculares, falta de apetite, falta de coordenação motora e episódios convulsivos (GOFF, 2004). Pesquisas realizadas anteriormente concluíram que a hipomagnesemia (baixas concentrações de Mg no organismo) está associada com o surgimento de endometrite, além de ter associação com dano hepatocelular no início da lactação e maior ocorrência de anovulação entre 9 e 10 semanas após o parto (BURKE et al., 2010).

Essas informações são consistentes com o encontrado no estudo realizado por Jeong et al. (2018), no qual a hipomagnesemia foi associada a maior incidência de endometrite. Neste mesmo estudo, no qual avaliou as relações entre a concentração sérica de magnésio, a incidência de distúrbios periparto e pós-parto e o desempenho reprodutivo em vacas leiteiras, foi constatado que altas concentrações de magnésio sérico no período de transição melhoraram o desempenho reprodutivo das vacas, além de reduzir doenças como distocia, retenção de placenta e endometrite (JEONG et al., 2018).

O Mg também desempenha um papel crucial na via homeostática, pois está intimamente ligado à regulação das concentrações de cálcio no sangue de vacas leiteiras (VAN MOSEL; VAN'T KLOOSTER; MALESTEIN, 1990; VAN MOSEL; VAN 'T KLOOSTER; WOUTERSE, 1991). Devido a relação desses minerais, a falta de Mg também pode levar ao desenvolvimento de hipocalcemia, ou “febre do leite”, sendo está caracterizada por hipomagnesemia e níveis plasmáticos reduzidos de cálcio ($<1,4$ mmol / L) (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006).

Durante o parto de vacas leiteiras, observou-se uma significativa diminuição nos níveis de magnésio em comparação com os valores durante o pico de lactação, sugerindo um aumento no consumo de Mg pelas vacas durante este período (HOLTENIUS et al., 2008). Assim, um estudo que avaliou o efeito de diferentes fases da lactação em relação aos níveis séricos de macrominerais concluiu que o pós-parto é crítico para o Mg, pois foi constatado que este apresentou valores mais baixos ao longo das diversas fases da lactação (FADLALLA; OMER; ATTA, 2020).

O magnésio desempenha um papel essencial na nutrição de bovinos leiteiros, sendo importante para os processos enzimáticos ao atuar como regulador da função mitocondrial e como cofator durante a fosforilação oxidativa (SOLDÁ et al., 2017). Além disso, o Mg participa do metabolismo do Ca e sua deficiência está relacionada ao aparecimento de outras doenças, assim, este é fundamental para garantir o funcionamento adequado das atividades metabólicas e bioquímicas de vacas de leite (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006; SOLDÁ et al., 2017).

3.6.4 Cobre

O cobre (Cu) é um elemento fundamental para a existência e desempenha um papel indispensável como co-fator em inúmeras reações enzimáticas que estão relacionadas com a produção de glóbulos vermelhos, geração de energia, síntese de hormônios, formação de colágeno e defesa contra os efeitos danosos do estresse oxidativo (LÓPEZ-ALONSO; MIRANDA, 2020). Em dietas de vacas em lactação é recomendado que contenha 11 mg de Cu por kg de matéria seca (MS) (NRC 2001).

Determinar com precisão os requisitos minerais dos bovinos é uma tarefa bastante desafiadora, pois apesar de os oligoelementos serem necessários em quantidades mínimas, a composição das rações e o consumo de MS podem variar consideravelmente, tornando difícil obter medições exatas da ingestão desses elementos (LÓPEZ-ALONSO; MIRANDA, 2020).

No caso do Cu, costuma-se utilizar o modelo de exigência de nutrientes, no qual diversos fatores são levados em consideração, tais como a manutenção, lactação, reprodução e crescimento, de acordo com suas necessidades específicas (NRC, 2001; LÓPEZ-ALONSO; MIRANDA, 2020).

A deficiência de cobre pode manifestar-se de duas maneiras, sendo que a primária ocorre quando a quantidade de cobre na dieta não atende às necessidades nutricionais do animal e a deficiência secundária, que ocorre quando a dieta contém altas concentrações de elementos antagonistas do Cu, o que leva a uma disponibilidade extremamente baixa desse mineral (LÓPEZ-ALONSO; MIRANDA, 2020). Dessa forma, o grau de absorção do Cu em ruminantes pode variar consideravelmente, dependendo das concentrações dos principais antagonistas do cobre, como o molibdênio (Mo) e o enxofre (S), assim, estes devem ser devidamente considerados ao calcular as necessidades de Cu para garantir uma adequada disponibilidade e utilização desse mineral pelos animais (LÓPEZ-ALONSO; MIRANDA, 2020; SPEARS, 2003).

A deficiência de cobre é uma questão bastante importante no que diz respeito às doenças que acometem bovinos, uma vez que causam alterações nas enzimas cobre-dependentes como citocromo-c oxidase, superóxido dismutase (SOD), entre outras (LIBERA et al., 2021; OLIVARES et al., 2019). Esse micromineral tem participação em diversas atividades no organismo, podemos citar, por exemplo, a função antioxidante nas células, por fazer parte da SOD, atuação na respiração celular, formação óssea e função imunológica (ANDRIEU, 2008).

Nazari et al. (2019) relataram que concentrações de cobre foram mais altas em vacas com atividade lútea normal e em vacas gestantes quando comparadas às vacas com atividade lútea anormal ou não gestantes, demonstrando que para o bom funcionamento do sistema antioxidante é necessário que haja um consumo adequado de minerais, como o cobre, durante o parto. Além da atividade lútea normal, este estudo observou ainda que maiores níveis de antioxidantes no início do período pós-parto está associado com menores perdas gestacionais e aumento da taxa de concepção ao primeiro serviço em vacas Holandesas (NAZARI et al., 2019).

Um estudo que avaliou a eficácia antimicrobiana de soluções de cobre na inativação de micro-organismos relacionados à mastite verificou que o cobre foi capaz de inibir a proliferação de bactérias que causam a mastite bovina, como a *Escherichia coli*, demonstrando, assim, que esse mineral apresenta características antibacterianas (REYES-JARA et al., 2016). Essa observação está de acordo com um estudo realizado *in vivo* onde a

suplementação de cobre na dieta de vacas Holandesas resultou em contagens bacterianas mais baixas e redução da CCS, quando estas foram infectadas por via intramamária, com *E. coli* (SCALETTI et al., 2003).

3.6.5 Potássio

O potássio (K) é o principal íon mineral encontrado no interior das células de humanos e animais. Os alimentos de origem vegetal são uma fonte significativa de K na dieta da maioria dos animais e a regulação dos níveis extracelulares de potássio, incluindo o plasma sanguíneo, é fundamental para a manutenção da saúde e o funcionamento adequado das células do organismo (PRESTON; JOHN, 1985). A recomendação para a adição de K na dieta de vacas leiteiras é de 1,0% da MS, no entanto, vacas de alta produção podem ter uma exigência elevada de potássio, chegando a 1,9% da MS da dieta (NRC, 2001).

Tanto para humanos quanto para animais, o potássio é de suma importância, pois está relacionado à diversas funções no organismo, com relação ao seu requerimento em animais, este é maior em ruminantes quando comparado a não ruminantes, uma vez que é essencial para os micro-organismos do rúmen. Com relação às vacas lactantes, o requerimento de potássio dietético é ainda maior, principalmente para vacas leiteiras de alta produção (GOFF, 2006a). Contudo, o potássio é bem suplementado na dieta de bovinos, por esse motivo, seu metabolismo em vacas é pouco estudado, ainda assim, a deficiência desse mineral pode levar a hipocalemia grave, que está fortemente relacionada com fraqueza muscular e decúbito dorsal em vacas (GOFF, 2006a).

O potássio extracelular é essencial no equilíbrio osmótico e é fundamental para a manutenção do equilíbrio ácido-base, já o potássio intracelular além de estar relacionado com o equilíbrio osmótico intracelular e ácido base, é um cofator de enzimas que fazem parte da síntese de proteínas, bem como no metabolismo de carboidratos (GOFF, 2006a). Assim, variações no gradiente de concentração do potássio, por conta da movimentação desse mineral dentro e fora da célula, exercem efeitos no potencial de membrana em repouso de células musculares e nervosas (GOFF, 2006a).

Baixas concentrações de K no plasma podem ser advindas de captação excessiva de K pelas células ou ainda excreção renal exagerada, esta última pode ocorrer devido à secreção anormal de aldosterona (responsável por aumentar a secreção de K pelos rins em troca de íons de Na) pela glândula adrenal que, apesar de ser rara em bovinos, pode ocorrer devido à administração de drogas glicocorticoides no início da lactação (GOFF, 2006a). Estes fármacos

são utilizados para tratar inflamações ou ainda com a finalidade de estimular a gliconeogênese em vacas com cetose, que podem também ter ação mineralocorticoide, a qual irá estimular a secreção urinária de potássio (GOFF, 2006a).

A biodisponibilidade das fontes de K pode ser afetada por diversos fatores, como a idade do animal, os níveis de elementos interativos e o tamanho das partículas (PRESTON; JOHN, 1985). Assim, é indispensável a atenção à composição mineral do alimento fornecido, a fim de realizar uma suplementação adequada do elemento, garantindo que a dieta dos animais contenha os nutrientes em quantidades apropriadas para atender às suas necessidades, mantendo a saúde e o ótimo desempenho, bem como evitando o bloqueio na absorção de um elemento devido à interação com outros que possam estar em excesso (BARUSELLI, 2000).

3.7 Suplementação mineral injetável

O fornecimento de dietas com baixas concentrações de minerais pode levar à ingestão insuficiente, causando assim diversos distúrbios, uma vez que estes têm participação direta no desenvolvimento dos animais e na reprodução. Além disso, os minerais de têm um importante papel no sistema imune, dessa forma, a otimização na ingestão desses nutrientes pode ser realizada através de uma suplementação (ANDRIEU, 2008).

Minerais e vitaminas podem ser fornecidos aos animais por meio da dieta ou de forma injetável. Apesar de a primeira ser mais comumente utilizada nas fazendas leiteiras, através de “premix” que são adicionados às rações, a administração parenteral facilita a suplementação de apenas um grupo de animais, que tenha maior necessidade desses antioxidantes durante um determinado período, como ao longo do período de transição (ABUELO et al., 2015; MACHADO et al., 2013). Essa via de administração também permite uma melhor estimativa da quantidade que cada animal está recebendo, uma vez que não haverá problemas relacionados à absorção, por conta da interação com outros nutrientes, ou ainda variações na quantidade ingerida, problemas estes que podem vir a ocorrer quando o fornecimento do suplemento é realizado através da alimentação (ABUELO et al., 2015; MACHADO et al., 2013).

Uma pesquisa realizada por Soldá et al. (2017), com a finalidade de investigar os efeitos de um complexo de minerais injetáveis à base de Se, Cu, Mg, P e K durante o período de transição de vacas de leite, obteve resultados significativos com relação ao sistema imunológico das vacas suplementadas. Os níveis de radicais livres foram menores nos animais que receberam a injeção de minerais, além disto, nos animais suplementados houve

aumento da enzima catalase em relação às vacas do grupo controle no segundo dia após o parto (6 nmol CAT/mg de proteína vs 3 nmol de CAT/mg de proteína) (SOLDÁ et al., 2017).

Machado et al. (2014) também avaliaram a utilização de minerais injetáveis (Zn, Mn, Se e Cu), relacionando estes minerais com as atividades da enzima SOD. Nesse estudo foi observado um aumento dessas enzimas nos animais que foram tratados com minerais injetáveis quando comparados aos animais do grupo controle, que não receberam a suplementação.

Em um outro estudo utilizando suplementação mineral injetável (magnésio, fósforo, potássio, selênio e cobre) realizado por Warken et al. (2018), verificou-se que vacas leiteiras primíparas apresentaram efeitos positivos na saúde do úbere, menores quantidades de contagem de células somáticas (CCS) e níveis menores de BHB nos dias 30, 45 e 60 quando comparadas às vacas do grupo controle. Os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) também foram menores em vacas suplementadas, além de haver maior atividade da enzima SOD nestes animais. Acredita-se, portanto, que o resultado esteja relacionado ao complexo mineral, que reduziu o estresse oxidativo no período pós-parto, atuando, principalmente, no sistema imunológico (WARKEN et al., 2018).

Dessa forma, estudos recentes revelaram que a administração de minerais de forma injetável pode ser um método viável para aprimorar a absorção desses nutrientes pelos animais (COLLET et al., 2017). Em vista destas informações, a suplementação mineral parenteral pode ser uma alternativa promissora para reduzir os efeitos adversos do período de transição, proporcionando melhora no desempenho reprodutivo e sanitário de vacas leiteiras.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Preceitos Éticos

Este experimento foi realizado seguindo as diretrizes de bem-estar animal, sendo submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, protocolo nº 009/2021 da Universidade Federal de Juiz de Fora (ANEXO A).

4.2 Local e duração do experimento

O experimento foi realizado na Fazenda Palmito, localizada no município de Boa Esperança, Minas Gerais, Brasil, e teve duração aproximada de 5 meses. O clima da região é caracterizado como subtropical, sendo o verão quente e úmido e o inverno frio e seco. Os animais ficam em instalações do tipo free-stall, com cama de areia, alimentação disposta nos corredores e bebedouros espalhados pela instalação. Tanto o free-stall, como a sala de espera e a sala de ordenha são dotados de um sistema de aspersão com ventilação para manutenção da temperatura e resfriamento dos animais.

4.3 Coleta de dados dos animais

A fazenda conta com 1020 vacas Holandesas em lactação, sendo todas de alta produção, com média de 38 kg de leite/dia, as quais passam diariamente por três manejos de ordenha (às 04:00, às 12:00 e às 20:00). Para a realização do experimento foram utilizadas vacas Holandesas, com peso médio de 600kg e média de 5 anos, divididas em blocos de 1 a 5.

Foram selecionadas vacas da raça Holandesa do rebanho leiteiro comercial, criadas respeitando boas práticas de manejo e monitoradas em relação aos diagnósticos veterinários (reprodutivos e clínicos), com registros individuais de produção de leite, CCS, problemas sanitários e reprodutivos.

Foram incluídas nesta seleção as vacas leiteiras primíparas e múltíparas de alta produção e excluídas todas as vacas que apresentaram algum problema sanitário, como sinais de inflamação, dor, infecções e alta incidência de ectoparasitas. Após o início do experimento foram excluídas as vacas descartadas, que não possuíam dados suficientes ou que abortaram antes da data prevista do parto.

4.4 Manejo alimentar

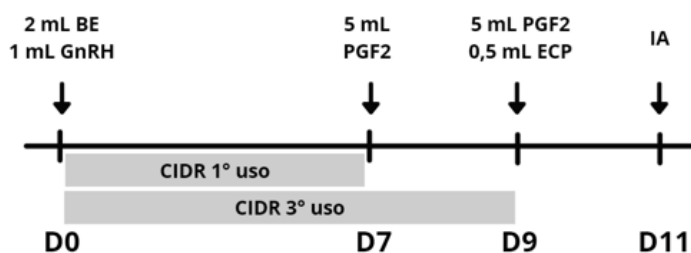
A alimentação das vacas é composta por uma dieta específica fornecida pela fazenda de acordo com a categoria e exigência de cada animal, sendo baseada principalmente em silagem de milho, silagem de sorgo e tifton verde, este último cortado diariamente. A distribuição da dieta se dá por meio da integração do vagão forrageiro com a balança eletrônica, com controle em tempo real. Já o fornecimento de água é à vontade em bebedouros espalhados por toda a instalação.

As vacas ficam em quatro lotes, nos quais são suplementadas de acordo com a produção, número de dias em lactação, escore de condição corporal (ECC) e situação reprodutiva, sendo um lote para vacas de primeira cria. Os animais que estão no pré-parto recebem suplementação específica para essa fase.

4.5 Manejo reprodutivo e sanitário

Após a avaliação, por meio de ultrassonografia do trato reprodutivo das vacas que passaram por um período voluntário de espera de 30 dias, as que estavam saudáveis (com o útero recuperado) foram submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (FIGURA 3) descrito a seguir: D0 - 2 mL de benzoato de estradiol (Gonadiol®), 1 mL de GnRH (Fertagyl®) e inserção de 2 implantes intravaginais de progesterona (CIDR®), sendo um de primeiro uso e o outro de terceiro uso; D7 - 5 mL de prostaglandina (Lutalyse®) e retirada do primeiro implante; D9 - 5 mL de prostaglandina (Lutalyse®), 0,5 mL de cipionato de estradiol (ECP®) e retirada do segundo implante de progesterona; D11 - realização da inseminação artificial (IA).

Figura 3 – Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).



D0 - 2 mL de BE (Benzoato de Estradiol), 1 mL de GnRH (Hormônio Liberador de Gonadotrofinas) e inserção de 2 CIDRs, (primeiro e terceiro uso); D7 - 5 mL de PGF2 (prostaglandina) e retirada do CIDR de primeiro uso; D9 - 5 mL de PGF2 (prostaglandina), 0,5 mL de ECP (Cipionato de Estradiol) e retirada do CIDR de terceiro uso; D11 - IA (Inseminação Artificial). D: Dia do protocolo de IATF.

Fonte: Do Autor (2023).

Foram realizados três diagnósticos de gestação (DG) por meio de ultrassonografia transretal, sendo o primeiro aos 30 dias após a IA, o segundo aos 60 dias e o terceiro aos 120 dias. No caso de resultado negativo no DG, a vaca em questão entrou novamente no protocolo de IATF (descrito anteriormente).

Com relação ao manejo sanitário, as vacas foram vacinadas contra as principais doenças reprodutivas (Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, Diarreia Viral Bovina e Leptospirose), além de receberem vacinas contra a Febre Aftosa, Clostridioses, Raiva e Brucelose. Foram monitoradas as incidências de doenças reprodutivas no pós-parto e no período de espera voluntária (PEV). Após o PEV foi registrada a taxa de serviço aos 60 dias, bem como a taxa de concepção após a 1ª IATF.

O monitoramento clínico das vacas inclusas no experimento foi realizado pelos responsáveis técnicos, os quais registraram as ocorrências de retenção de placenta no pós-parto e cetose clínica. Para o monitoramento de cetose foi utilizado um teste rápido (Ketovet[®], ECO Diagnóstica, Nova Lima - MG), que mede a quantidade de corpos cetônicos no sangue do animal, este foi realizado cinco dias após o parto. O controle de retenção de placenta foi feito através da marcação com tinta em bastão nos animais após o parto. Também foram registrados os tratamentos feitos nos animais integrantes do experimento. Assim, foram tratados cetose dos animais com concentração de cetona acima de 1,3 mmol/L (considerado cetose subclínica) e retenção de placenta após 24 horas.

Foi realizado também o monitoramento de mastite clínica e subclínica pelos responsáveis técnicos da fazenda. Para diagnóstico de mastite clínica foi feito o teste de caneca de fundo escuro, que consiste na retirada dos primeiros três jatos de leite de cada teto em uma caneca de fundo escuro, observando se há presença de grumos, pus ou conteúdo amarelado, que é indicativo de mastite clínica.

Já o diagnóstico de mastite subclínica foi realizado através da análise de CCS individual, em média a cada dois meses. As coletas das amostras de leite foram realizadas após o término da ordenha, onde retira-se o coletor de leite, agita-o manualmente, faz-se a transferência do leite para o frasco de coleta e, por fim, a homogeneização para dissolução do conservante. Após esse processo, as amostras eram armazenadas em caixas isotérmicas e posteriormente enviadas para um laboratório para serem feitas as análises.

4.6 Desenho experimental e tratamentos

O delineamento utilizado foi de blocos inteiramente ao acaso, com cinco blocos divididos em dois tratamentos e uma repetição. Foram utilizadas 108 vacas para a realização do experimento, sendo 54 animais por tratamento, onde a seleção se deu de acordo com os critérios de inclusão e exclusão já mencionados. Os animais foram divididos em cinco blocos (com relação à data prevista de parto) e distribuídos de forma aleatória em dois grupos, a partir da paridade e produção total da lactação passada, sendo eles: o grupo controle (CONT) e o grupo suplemento (SUPL).

As vacas do grupo CONT não receberam nenhum suplemento, enquanto os animais do grupo SUPL receberam 10 mL de suplemento mineral injetável (Fosfosal[®], Virbac, França), o qual possui a seguinte composição (em 100 mL de produto): glicerofosfato de sódio (5.5H₂O: 14 g), fosfato monossódico (2H₂O:20,1g), cloreto de cobre (2H₂O: 0,4g), cloreto de potássio (0,6g), cloreto de magnésio (2,5g) e selenito de sódio (0,24 g) (TABELA 1).

Tabela 1 - Composição química do suplemento mineral injetável¹.

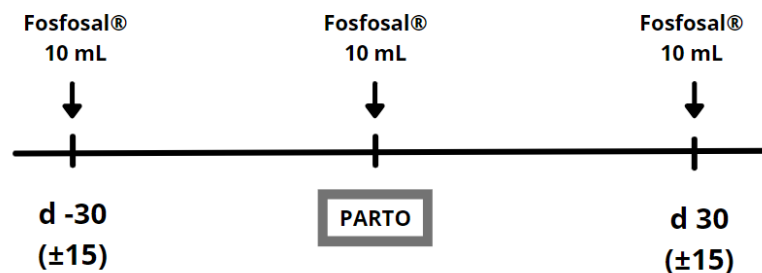
Componente	Quantidade
Glicerofosfato de sódio 5.5 H ₂ O, g	14,00
Fosfato monossódico 2 H ₂ O, g	20,10
Cloreto de cobre 2 H ₂ O, g	0,40
Cloreto de potássio, g	0,60
Cloreto de magnésio 6 H ₂ O, g	2,50
Selenato de sódio, g	0,24
Excipiente, mL	100,00

¹ Fosfosal (Virbac, França).

Fonte: Do autor (2023).

Foram administrados 10 mL do suplemento mineral injetável (Fosfosal[®]), através de uma seringa de 10 mL e agulha de calibre 25x8 nas vacas do grupo SUPL por via intramuscular (aplicação no músculo da coxa), em três ocasiões: 30 (±15) dias da data prevista do parto, ao parto e 30 (±15) dias após o parto (FIGURA 4).

Figura 4 – Protocolo experimental de suplementação mineral.



Suplemento: 10 mL de Fosfosal (Virbac, França) via IM antes do parto ($-45 \leq d \leq -35$), ($-34 \leq d \leq -25$), ($-24 \leq d \leq -15$), no dia do parto e após o parto ($15 \leq d \leq 25$), ($24 \leq d \leq 35$), ($34 \leq d \leq 45$). d: dia do protocolo experimental.

Fonte: Do Autor (2023).

A primeira aplicação, 30 (± 15) dias antes da data prevista do parto, foi feita na instalação de pré-parto, onde as vacas já estão alocadas, a fim de evitar qualquer tipo de estresse aos animais. A segunda aplicação foi realizada no tronco de contenção da instalação de partos e ocorreu imediatamente após o parto, sendo o intervalo máximo da aplicação dois dias após o nascimento do bezerro. A terceira e última aplicação, 30 (± 15) dias após a data do parto, foi realizada logo após a ordenha das 09:00 horas, no tronco de contenção localizado próximo à sala de ordenha.

4.7 Escore de condição corporal (ECC)

O ECC foi realizado por três pessoas treinadas, com a finalidade de diminuir as variações de resultado, em quatro momentos, sendo eles: 30 (± 15) dias antes do parto, ao parto, 30 (± 15) dias após o parto e no D0 do protocolo de IATF (cerca de 45 dias após o parto). A avaliação ao parto foi realizada pelo menos um dia após a data do parto para evitar a interferência do relaxamento das regiões anatômicas decorrentes do parto, principalmente dos ligamentos da base da cauda.

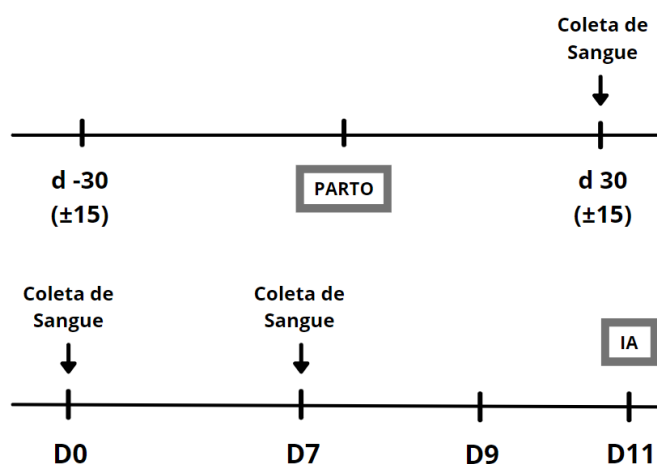
A avaliação do ECC foi realizada em vacas em posição de estação e foi utilizado um sistema de pontuação com escala de cinco pontos, com acréscimos de um quarto de ponto, onde vacas pontuadas com 1 (um) foram consideradas emaciadas e vacas pontuadas com 5 (cinco) consideradas obesas (EDMONSON et al., 1989). Na aferição do ECC foram avaliadas e consideradas a região de costelas, os processos espinhosos da coluna vertebral, os processos transversos da coluna vertebral, a fossa paralombar, a ponta do ílio, a tuberosidade isquiática, as vértebras coccígeas da base da cauda, o sacro e as vértebras lombares.

4.8 Coleta de sangue e análises laboratoriais

A coleta de sangue se deu pela utilização de uma seringa de 5 mL e agulha de calibre 25x8 que foi inserida perpendicularmente na artéria/veia coccígea entre a 2^a e a 5^a vértebras a uma distância aproximada de 10 cm da base da cauda, sendo a profundidade de inserção de 0,5-1,0 cm.

As amostras de sangue foram coletadas de um subgrupo de 27 animais de cada tratamento 30 dias após o parto, no D0 e no D7 do protocolo de IATF da fazenda (FIGURA 5). Essas amostras foram armazenadas temporariamente em tubos de coleta de sangue com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético, fator anticoagulante do sangue) de 4 mL, com a finalidade de se obter uma amostra de plasma para mensuração dos níveis de β -hidroxibutirato (BHB) e glicose.

Figura 5 – Protocolo experimental de coleta de amostras de sangue.



IA: Inseminação artificial; D: dia do protocolo de IATF; d: dia do protocolo experimental.

Fonte: Do Autor (2023).

Após a coleta na fazenda, as amostras de sangue foram acondicionadas em caixas térmicas de isopor com gelo (a -5°C) por 3 horas até chegarem ao Laboratório de Pesquisa Animal (LPA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) onde foram centrifugadas em uma centrífuga Centrilab®, com capacidade para 12 tubos de coleta, a uma velocidade de 2500 rpm durante 15 minutos. Após a centrifugação coletaram-se as amostras de plasma, estas que foram armazenadas em microtubos (Eppendorf®) numerados e identificados e permaneceram congeladas em freezer a -20°C para posterior avaliação, de acordo com as recomendações dos

fabricantes dos kits, no Laboratório de Enzimologia, localizado no Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.8.1 β -hidroxibutirato (BHB)

As concentrações de BHB foram definidas a partir do plasma das amostras de sangue (total de 108 amostras) que foram coletadas 30 dias após o parto e no D7 da IATF. A determinação do BHB se deu de acordo com as instruções do fabricante do kit comercial Ranbut, Randox[®] e foi realizada em um analisador bioquímico automático (Multiskan GO, Thermo Scientific).

O princípio da determinação do BHB é a oxidação de D-3-hidroxibutirato a acetoacetato pela enzima 3-hidroxibutirato desidrogenase. Concomitante a esta oxidação, o cofator NAD⁺ é reduzido a NADH e a mudança de absorbância associada pode ser diretamente correlacionada com a concentração de D-3-hidroxibutirato. Os reagentes são compostos por uma solução tampão (R1A), de “tris” tampão, em 100 mmol/L e pH 8,5, 2 mmol/L de EDTA e 20 mmol/L de ácido oxálico; solução enzima/coenzima composta por 2,5 mmol/L de NAD⁺ e 0,12 U/mL de 3-HBDH (R1B); e solução padrão composta por D-3-hidroxibutirato, para observar a inserção no lote específico. A preparação do reagente se dá através da adição de 10 mL do reagente tampão (R1A) no reagente enzima/coenzima (R1B) e em seguida é feita a homogeneização. A solução formada é colocada no disco de reagentes do analisador bioquímico automático (Multiskan GO, Thermo Scientific), sendo que uma solução padrão (concentração 1,03 mmol/L) é utilizada para calibrar o equipamento.

Após serem encontrados os valores de absorbância das amostras, foi determinada a concentração de D-3-betahidroxibutirato em mmol/L através do cálculo da diferença entre Amostra e Padrão multiplicada pela concentração padrão, de acordo com a fórmula:

$$\frac{\Delta A_{\text{amostra}}}{\Delta A_{\text{padrão}}} \times \text{Concentração padrão}$$

4.8.2 Glicose

As concentrações de glicose foram definidas a partir do plasma das amostras de sangue (total de 162 amostras) que foram coletadas 30 (± 15) dias após o parto, no D0 e D7 da IATF. A determinação de glicose se deu de acordo com as instruções do fabricante do kit

comercial GLICOSE Liquiform, Labtest[®], em um analisador bioquímico automático (Multiskan GO, Thermo Scientific).

A finalidade do kit é determinar a glicose no sangue por meio de um sistema enzimático, utilizando líquido e líquidos ascíticos, pleural e sinovial, por método cinético ou de ponto final. O princípio de funcionamento é a glicose oxidase catalisar a oxidação da glicose, assim, formando o peróxido de hidrogênio, que reage com 4 – aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento. Assim, formando uma antipirilquinomina vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração da glicose presente em determinada amostra.

4.9 Análise estatística

Para as análises estatísticas, os escores ao parto, 30 dias pós-parto e D0 do protocolo de IATF, foram convertidos em percentual do escore pré-parto. As mudanças dos valores absolutos de ECC foram calculadas como: mudança 1 - escore ao parto menos o escore 30 dias antes do parto; mudança 2 - escore 30 dias pós-parto menos escore ao parto; mudança 3 - escore no D0 do protocolo (\pm 45 dias pós-parto) menos escore aos 30 dias pós-parto; e mudança 4 - escore no D0 do protocolo menos o escore ao parto.

Todos os dados foram processados pelo pacote estatístico Jmp Pro12 (SAS[®]). Para análise dos efeitos de tratamento sobre as mudanças de condição corporal os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homocedasticidade da variância, sendo ajustados quando necessário. O modelo foi composto dos efeitos fixos de tratamento, paridade, tempo de tomada do escore e interações e submetido ao procedimento de modelos mistos, considerando os escores absoluto e as mudanças de escore absoluto e percentuais ao longo do tempo como medidas repetidas, e o menor valor de Akaike como estrutura de covariância de escolha. O erro aleatório (*random error*) foi vaca dentro de tratamento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Escore de condição corporal (ECC)

Houve efeito de período ($P=0,0001$) sobre o ECC, isso pode ser observado na Tabela 2, onde há queda gradual do ECC entre os 30 dias antes do parto e o D0 do protocolo de IATF em ambos os grupos (CONT e SUPL). Contudo, não houve efeito do tratamento, nem efeito da interação entre tratamento e período.

Tabela 2 - Escore de condição corporal (ECC)¹ em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral.

Período	Grupo ²		Trat	P-valor ³	
	Controle	Suplemento		Período	Trat x Período
Pré-Parto	3,56±0,08 (n=54)	2,74±0,08 (n=54)			
Periparto	3,09±0,08 (n=54)	3,03±0,08 (n=54)			
Pós-Parto	2,79±0,08 (n=54)	2,86±0,08 (n=54)	0,65	0,0001*	0,36
D0 IATF	2,74±0,08 (n=54)	2,56±0,08 (n=54)			

¹ Pré-parto: ECC ao parto menos ECC antes do parto (d-30±15); Periparto: ECC 30 dias pós-parto (d30±15) menos ECC ao parto; Pós-parto: ECC no D0 da IATF (± 45 dias pós-parto) menos ECC pós-parto (d30±15); D0 IATF: ECC no D0 da IATF menos ECC ao parto.

² Suplemento: 10mL de Fosfosal[®] (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

³ Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

Nossos resultados estão de acordo com o encontrado por Cortinhas et al. (2012), onde o escore de condição corporal e a mudança no escore não foram influenciados pelo fornecimento dos minerais Zn, Cu e Se durante o pré e pós-parto de vacas leiteiras. Contudo o ECC e a mudança de ECC diminuíram até a quarta semana pós-parto, demonstrando um efeito de tempo sobre essa variável. Já em um estudo realizado por Alegria et al. (2021) foi observada uma queda no ECC após o parto em relação ao início do experimento. Os autores verificaram ainda que os animais suplementados sofreram uma queda menos severa do ECC em comparação com os animais do grupo controle.

Estudos com ganho no peso corporal e conseqüente alterações no ECC em animais tratados com suplemento mineral são mais observados em vacas de corte, como no estudo realizado por Molefe & Mwanza (2020), com vacas da raça Bonsmara onde houve ganho de

peso nos animais suplementados. Entretanto a comparação dos resultados deste estudo com os obtidos no presente trabalho se faz menos interessante, uma vez que, tanto o manejo como o metabolismo dos animais são bastante diferentes.

Coletamos ECC aos 30 dias antes do parto, ao parto, aos 30 dias após o parto e no D0 do protocolo de IATF (± 45 dias pós-parto). Foram observadas as variações de ECC em períodos, onde a primeira variação corresponde ao intervalo de mudança do ECC do pré-parto (animais não tratados) ao parto (animais tratados uma única vez; d-30 \pm 15); a segunda variação, do parto (animais tratados uma única vez; d-30 \pm 15) ao pós-parto (animais tratados duas vezes; d-30 \pm 15 e d parto); a terceira do pós-parto (animais tratados duas vezes; d-30 \pm 15 e d parto) ao D0 da IATF (animais tratados três vezes; d-30 \pm 15, d parto e d30 \pm 15). Foram feitas classes de ECC, onde ganho de escore foi classificado como igual ou acima de 6 (≥ 6), escore intermediário de -10,9 a 5,9 e a perda de escore como menor ou igual a -11 (≤ -11) de acordo com a média \pm DP.

Os animais foram distribuídos dentro dessas classes em três momentos, onde foi observada a variação percentual de ECC nos grupos (TABELA 3). Assim, observamos que no primeiro momento, 30 dias antes do parto até o parto, a maior parte dos animais (53%) perdeu ECC. Já em relação aos grupos, o equivalente a 55,0% do grupo controle perdeu mais escore, enquanto a perda de escore no grupo suplementado foi de 52,1%, demonstrando assim não haver diferença significativa ($P=0,81$) do suplemento mineral sobre o ECC nessa fase.

No segundo momento, do parto até 30 dias após o parto, a maior parte dos animais (42%) perdeu mais ECC, entretanto, não houve diferença entre os tratamentos ($P=0,63$). Por fim, no terceiro momento, dos 30 dias após o parto até o D0 da IATF (± 45 dias pós-parto), 43% do total de animais perdeu mais escore. Observamos que 54,4% dos animais do grupo suplemento perderam mais ECC, enquanto 35,3% das vacas do grupo controle perderam mais ECC, contudo esses valores também não foram significativos ($P=0,17$).

Tabela 3 - Variação percentual relativo de escore de condição corporal (ECC) em vacas Holandesas suplementadas com mineral no período de transição - antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15).

ECC ¹	Grupo ²		P-valor ³
	Controle	Suplemento	
30d pré-parto – parto, % (n=99)			
≤ -11	55,0 (n=28)	52,1 (n=25)	0,81
-10,9 a 5,9	21,6 (n=11)	27,1 (n=13)	-
≥ 6	23,5 (n=12)	20,8 (n=10)	-
Parto – 30d pós-parto, % (n=99)			
≤ -11	47,1 (n=24)	37,5 (n=18)	0,63
-10,9 a 5,9	31,4 (n=16)	37,5 (n=18)	-
≥ 6	21,6 (n=11)	25,0 (n=12)	-
30d pós-parto – D0 IATF, % (n=97)			
≤ -11	35,3 (n=18)	54,4 (n=25)	0,17
-10,9 a 5,9	31,4 (n=16)	21,7 (n=10)	-
≥ 6	33,3 (n=17)	23,9 (n=11)	-

¹ Os percentuais de variação de ECC foram categorizados em 3 grupos de variação (≤-11; -10,9 a 5,9; ≥ 6) de acordo com a média ± DP da primeira variação de ECC, do pré-parto (animais não tratados) ao parto (animais tratados uma única vez; d-30±15); da segunda variação de ECC, do parto (animais tratados uma única vez; d-30±15) ao pós-parto (animais tratados duas vezes; d-30±15 e d parto); da terceira variação de ECC, do pós-parto (animais tratados duas vezes; d-30±15 e d parto) ao D0 da IATF (animais tratados três vezes; d-30±15, d parto e d30±15). O percentual de mudança do ECC foi calculado a partir de duas diferenças, a primeira através dos valores de ECC do período observado e período anterior e a segunda através do resultado da primeira diferença subtraído de 100.

² Suplemento: 10 mL de Fosfosal (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d-30±15). Controle: não recebeu nada.

³ Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

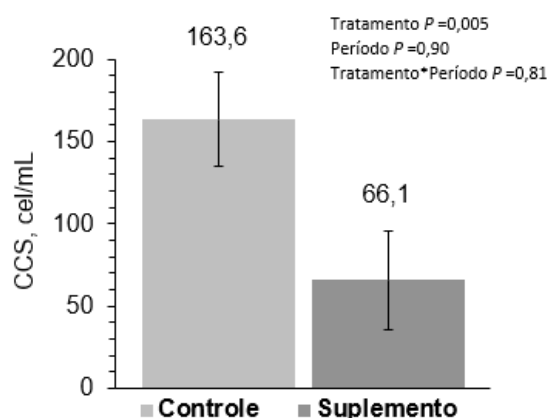
Nossos resultados apontaram que não houve efeito do suplemento mineral sobre o escore de condição corporal em nenhum dos momentos ao longo do período de transição. O efeito do tratamento não foi significativo, havendo variação no ECC apenas nos períodos, o que já era esperado. Isso demonstra que tanto as vacas do grupo controle quanto as vacas suplementadas mobilizaram lipídeos das reservas corporais buscando atender às demandas nutricionais decorrentes do BEN.

5.2 Contagem de células somáticas (CCS)

O grupo que recebeu o suplemento mineral injetável (66,1±30,1) apresentou uma contagem média de células somáticas (CCS) significativamente menor ($P=0,005$) em

comparação com as vacas do grupo controle (163,6±28,2), como evidenciado no Gráfico 2. Essa diferença sugere um efeito benéfico do suplemento mineral na saúde da glândula mamária das vacas leiteiras.

Gráfico 1 – Média da contagem de células somáticas (CCS)¹ em vacas Holandesas de alta produção no período de transição (-30±15 a 30±15 dias) em relação aos grupos (controle e suplemento²).



¹ Coleta de leite para análise de CCS, em média, a cada 2 meses.

² Suplemento: 10 mL de Fosfosal® (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

³ Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

A redução na contagem de células somáticas em vacas suplementadas com mineral também foi descrita por Machado et al. (2013), que avaliou o efeito da suplementação mineral injetável contendo Zn, Mn, Se e Cu (Multimin®) em três momentos, aos 230 dias de gestação, 260 dias de gestação e 35 dias pós-parto em comparação com um grupo controle (não suplementado). No estudo observou-se que a contagem de células somáticas foi significativamente mais baixa nas vacas multíparas suplementadas. Os autores ainda verificaram menor incidência de mastite subclínica nos animais suplementados.

Foi sugerido também que a melhora na saúde do úbere pode ser devido ao Se e ao Cu, o que poderia estar de acordo com os nossos achados, uma vez que o suplemento aqui utilizado possui esses minerais em sua composição. Essa teoria seria suportada pelo fato do selênio e do cobre estarem envolvidos na resposta imune e saúde da glândula mamária (SALMAN et al., 2009; SCALETTI et al., 2003). Destacaram também que as fazendas participantes do estudo eram bem manejadas, com dietas adequadas e não apresentavam histórico de deficiência de minerais. Essas condições se assemelham também às do presente

estudo, nos quais as vacas eram bem manejadas, além de serem tratadas com dietas já contendo minerais.

Um outro estudo realizado por Warken et al. (2018), no qual se utilizou o mesmo suplemento mineral aqui estudado (Fosfosal[®], Virbac, França), com três aplicações de 10mL, 20 dias antes do parto, ao parto e 20 pós-parto, também obteve bons resultados de CCS, sendo que vacas primíparas tratadas com o suplemento apresentaram redução na CCS. Os autores atribuíram esse resultado à capacidade de minimização do estresse oxidativo e da ativação do sistema imunológico, ambos relacionados com os minerais do suplemento.

A redução na CCS pode então estar associada à resposta imunológica do animal, em vista da correlação de baixa CCS com minerais, como o Se e o Cu, como mostram algumas literaturas. Contudo, seria necessário a realização de novos estudos com a utilização de análises voltadas para o perfil imunológico dos animais, podendo assim, trazer resultados ainda mais claros a respeito da atividade desses minerais na saúde do úbere de vacas leiteiras no período de transição.

5.3 Retenção de placenta e cetose

A ocorrência de retenção de placenta foi semelhante entre os grupos, no qual o grupo suplementado apresentou 18,8% de ocorrência da patologia, onde apenas 9 animais, de um total de 48, tiveram retenção de placenta. Já no grupo controle houve ocorrência de 15,7% de retenção de placenta, sendo 8 animais de um total de 51, não havendo, portanto, diferença significativa ($P=0,69$) entre os tratamentos.

Com relação à incidência de cetose, os resultados dos grupos também se assemelharam, onde 18 vacas de um total de 48 animais do grupo suplementado apresentaram cetose, o equivalente a 37,5% e 13 vacas de um total de 51 animais do grupo controle apresentaram a doença, cerca de 25,5%, não havendo diferença entre os tratamentos ($P=0,20$). Os resultados descritos podem ser mais bem observados na Tabela 4.

Tabela 4 - Incidência de retenção de placenta e cetose em vacas Holandesas suplementadas com mineral no período de transição - antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15).

	Grupo ³		P-valor ⁴
	Controle	Suplemento	
Retenção de placenta ¹ , % (n)	15,7 (n=51)	18,8 (n=48)	0,69
Cetose ² , % (n)	25,5 (n=51)	37,5 (n=48)	0,20

¹ Registrada após 24 horas em relação ao parto.

² Realizada 5 dias pós-parto.

³ Suplemento: 10 mL de Fosfosal® (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

⁴ Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

Dessa forma, podemos verificar que não houve efeito do suplemento sobre a incidência dessas doenças que são comuns no período de transição de vacas leiteiras. Nossos resultados em relação à retenção de placenta estão de acordo com o encontrado por Silva et al. (2022), onde a suplementação mineral injetável (Cu, Se, Zn e Mn) não influenciou a retenção de placenta ($P = 0,657$) em comparação com vacas leiteiras não suplementadas.

Yazlik et al. (2021) também não encontraram resultados significativos entre suplementação mineral e retenção de placenta. Em um estudo avaliando os efeitos da suplementação com minerais (zinco, manganês, cobre e selênio), suplementação com vitaminas (A, D3 e E) ou ainda a combinação dos tratamentos em vacas leiteiras, não houve interação para retenção de placenta entre os grupos.

Já em um estudo realizado por Gregghi et al. (2014) a retenção de placenta foi significativamente menor nos animais tratados na dieta em comparação com o controle (22% versus 67%). Os autores correlacionaram essa diminuição na ocorrência de retenção de placenta com o selênio presente na composição do suplemento mineral aniônico. Contudo, os efeitos apresentados nesse estudo consistiram em animais do grupo controle com balanceamento cátion-ânion dietético positivo, enquanto os animais do grupo suplementado com balanceamento cátion-ânion dietético negativo, o que pode ter levado a essa divergência em comparação com os nossos resultados.

Apesar do aumento nas concentrações de BHB, corpo cetônico mais importante, estes permaneceram dentro dos limites para a ocorrência de cetose tanto no grupo suplementado ($0,37 \pm 0,02$) quanto no grupo controle ($0,31 \pm$). Concentrações acima de 1,0 mmol/L já podem ser indicativas de sinal clínico da doença (DIAZ GONZALEZ, 2000). Esse resultado de BHB

pode estar relacionado com o resultado de cetose, já que em ambos não houve diferença significativa entre animais do grupo controle e suplemento. Além disso, ocorreram mais animais com cetose no grupo suplementado em comparação com o controle, que também concordou com nossos resultados de BHB, onde o grupo suplementado apresentou concentrações um pouco maiores em relação ao controle.

5.4 β -hidroxibutirato (BHB)

A concentração média de BHB não diferiu ($P=0,07$) entre o grupo suplementado ($0,37\pm 0,02$) e o grupo controle ($0,31\pm 0,02$), ou seja, o suplemento não influenciou a concentração de BHB em vacas no período de transição (TABELA 5).

Tabela 5 - BHB em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral.

	Grupo ²		<i>P</i> -valor ³ Tratamento
	Controle	Suplemento	
BHB ¹ , mmol/L (n)	0,31±0,02 (n = 22)	0,37±0,02 (n = 25)	0,07

¹Coletadas 30±15 dias pós-parto e no D7 do protocolo de IATF.

²Suplemento: 10 mL de Fosfosal (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

³Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

O mesmo foi observado no estudo feito por Yazlik et al. (2021), onde a concentração de BHB não foi afetada pela suplementação com minerais (zinco, manganês, cobre e selênio), suplementação com vitaminas (A, D3 e E) ou ainda pela combinação dos tratamentos.

Entretanto, houve efeito de período ($P=0,04$) sobre o BHB (TABELA 6), no qual podemos verificar um aumento no BHB do momento 1, equivalente à coleta de sangue 30±15 dias pós-parto, para o momento 2, equivalente à coleta de sangue no D7 do protocolo de IATF, tanto no grupo controle quanto no grupo suplementado. Ainda parece haver uma tendência de maior BHB nos animais suplementados em comparação com os animais do grupo controle. Contudo, não houve efeito do tratamento, nem efeito da interação entre tratamento e período sobre o BHB.

Tabela 6 - BHB em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral em diferentes períodos.

Período ¹	Grupo ²		Trat	P-valor ³	
	Controle	Suplemento		Período	Trat x Período
Momento 1	0,27±0,03	0,34±0,03		0,04*	
Momento 2	0,35±0,04	0,40±0,03	0,07		0,68

¹Momento 1: 30±15 dias pós-parto; momento 2: D7 do protocolo de IATF.

²Suplemento: 10 mL de Fosfosal (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

³Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

Nossos resultados estão de acordo com o encontrado por Collet et al. (2019), onde foram verificados valores mais elevados de BHB na terceira semana pós-parto tanto no grupo suplementado com minerais (cobre, zinco, selênio e manganês) e vitaminas (A e E), quanto no grupo controle. Esses resultados podem ser devido à alta demanda por glicose, levando a um aumento do BHB entre 3 e 6 semanas após o parto, em decorrência de um BEN (CHAPINAL et al., 2011).

Por outro lado, Machado et al. (2014) e Omur et al. (2016) utilizaram minerais e vitaminas no período de transição e observaram concentrações mais baixas de BHB em animais suplementados. Machado et al. (2014) observou ainda que essa tendência se deu em vacas de alta produção acima do terceiro parto. Os autores relacionaram as concentrações elevadas de BHB com o estresse oxidativo, que está ligado ao perfil metabólico do animal e a animais com alto ECC ao parto.

5.5 Glicose

A concentração média de glicose foi semelhante ($P=0,22$) entre o grupo que recebeu suplemento mineral ($7,5\pm 0,08$) e o grupo controle ($7,6\pm 0,09$), demonstrando não haver diferença significativa (TABELA 7).

Tabela 7 - Concentração média de glicose em vacas Holandesas suplementadas com mineral no período de transição - antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15).

	Grupo ²		P-valor ³ Tratamento
	Controle	Suplemento	
Glicose ¹ , mg/dL (n)	7,6 (n=22)	7,5 (n=25)	0,22

¹Coletadas 30 (±15) dias pós o parto, no D0 e no D7 da IATF.

²Suplemento: 10 mL de Fosfosal (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

³Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

Contudo, observamos que houve efeito de período ($P=0,0001$) sobre a glicose (TABELA 8). Há, portanto, um aumento gradativo nas concentrações de glicose do momento 1, coleta de sangue 30 (±15) dias pós-parto, para o momento 3, D7 do protocolo de IATF. Esse resultado era esperado, uma vez que, passado o início da lactação, onde possivelmente havia um quadro de balanço energético negativo, diminuiu a mobilização de energia do tecido adiposo e aumentou a gliconeogênese.

Tabela 8 - Glicose em vacas Holandesas tratadas ou não com suplemento mineral em diferentes períodos.

Período ¹	Grupo ²		Trat	P-valor ³	
	Controle	Suplemento		Período	Trat x Período
Momento 1	7,00±0,14	6,81±0,13			
Momento 2	7,55±0,15	7,33±0,13	0,22	<0,0001*	0,73
Momento 3	8,30±0,16	8,29±0,14			

¹Momento 1: 30 (±15) dias pós o parto; momento 2: D0 da IATF; momento 3: D7 da IATF.

²Suplemento: 10 mL de Fosfosal (Virbac, França) via IM antes do parto (d-30±15), no dia do parto e após o parto (d30±15). Controle: não recebeu nada.

³Diferenças foram consideradas com valor de $P \leq 0,05$.

Fonte: Do Autor (2023).

Esse resultado está de acordo com o encontrado por Warken et al. (2018), onde houve aumento gradativo nas concentrações sanguíneas de glicose após 30 dias de lactação tanto nos animais suplementados com injeção mineral (Fosfosal®, Virbac, França), quanto nos animais do grupo controle (não suplementados). Os autores relacionaram esse resultado com o aumento da ingestão de matéria seca após o parto.

Alegría et al. (2021), avaliando metabólitos energéticos durante o período de transição (15 dias antes do parto até 30 dias pós-parto) de vacas leiteiras, observou que a concentração de glicose aumentou em todos os tratamentos em um período aproximado de 30 dias após o parto. Sugeriram aumento na concentração de glicose nesse período como indicativo do impacto causado pelo início da lactação, uma vez que foi observada uma queda na concentração de glicose no momento do parto.

Avcı & Kizil (2013) relacionou a suplementação mineral (contendo principalmente Se, Cu, Zn e Mn) com concentrações estáveis de glicose no período de transição. Contudo, esse estudo foi realizado com uma aplicação de suplemento mineral no início do período de transição, além de contar com um número relativamente baixo de animais (n=20).

6. CONCLUSÃO

A aplicação do suplemento mineral 30 (± 15) dias antes da data prevista do parto, ao parto e 30 (± 15) dias após o parto, contribuiu de forma positiva na qualidade do leite, em vista da redução na contagem de células somáticas. A utilização do suplemento mineral parenteral pode ser recomendada para a saúde da glândula mamária de vacas de leite de alta produção em período de transição submetidas às condições semelhantes ao do presente experimento. Os resultados indicam a necessidade de novas pesquisas com condições nutricionais menos favoráveis a fim de se obter resultados ainda melhores em relação à saúde reprodutiva dos animais.

REFERÊNCIAS

- ABEBE, R. et al. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. **BMC veterinary research**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2016.
- 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, n. 6, p. 1003–1016, 2015.
- AGUSTINHO, B. C. et al. Effect of Different Combinations of Dietary Vitamin A, Protein Levels, and Monensin on Inflammatory Markers and Metabolites, Retinol-Binding Protein, and Retinoid Status in Periparturient Dairy Cows. **Animals**, v. 11, n. 9, p. 2605, 2021.
- AKBAR, H. et al. Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 2, p. 1019–1032, 2015.
- ALDORETTA, P. W.; HAY JR, W. W. Effect of glucose supply on ovine uteroplacental glucose metabolism. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 277, n. 4, p. R947–R958, 1999.
- ALEGRÍA, K. G. et al. Insulin resistance indexes of grazing cows and mineral or vitamin supplementation under tropical conditions. **Open Veterinary Journal**, v. 11, n. 4, p. 587–597, 2021.
- ANDRIEU, S. Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 77–83, 2008.
- ARTHUR, J. R.; BOYNE, R. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. **Life sciences**, v. 36, n. 16, p. 1569–1575, 1985.
- ASCHENBACH, J. R. et al. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB life**, v. 62, n. 12, p. 869–877, 2010.
- AUROUSSEAU, B.; GRUFFAT, D.; DURAND, D. Gestation linked radical oxygen species fluxes and vitamins and trace mineral deficiencies in the ruminant. **Reproduction Nutrition Development**, v. 46, n. 6, p. 601–620, 2006.
- AVCI, C.; KIZIL, O. The effects of injectable trace elements on metabolic parameters in transition cow. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 19, n. Supplement A, 2013.
- BAIRD, G. D. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 1, p. 1–10, 1982.
- BARUSELLI, M. S. Minerais orgânicos: o que são, como funcionam e vantagens do seu uso em ruminantes. **SIMPÓSIO DE PECUÁRIA DE CORTE**, v. 2, p. 2–19, 2000.

- BASTIN, C.; GENGLER, N. Genetics of body condition score as an indicator of dairy cattle fertility. A review. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 17, n. 1, 2013.
- BAUMAN, D. E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of dairy science**, v. 63, n. 9, p. 1514–1529, 1980.
- BEAM, S. W.; BUTLER, W. R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. **Biology of reproduction**, v. 56, n. 1, p. 133–142, 1997.
- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of animal science**, v. 73, n. 9, p. 2804–2819, 1995.
- BELL, A. W.; BAUMAN, D. E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 2, n. 3, p. 265–278, 1997.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. DE. Nutrição de ruminantes. 2006.
- BICALHO, M. L. S. et al. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4281–4295, 2014.
- BICALHO, M. L. S. et al. The association of plasma glucose, BHBA, and NEFA with postpartum uterine diseases, fertility, and milk production of Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 88, p. 270–282, 2017.
- BONDURANT, R. H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of animal science**, v. 77, n. suppl_2, p. 101–110, 1999.
- BORDIGNON, R. et al. Nutraceutical effect of vitamins and minerals on performance and immune and antioxidant systems in dairy calves during the nutritional transition period in summer. **Journal of thermal biology**, v. 84, p. 451–459, 2019.
- BOUDA, J. et al. Nuevos aspectos en el diagnóstico y tratamiento de trastornos metabólicos en el bovino. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría. Torreón, México. 1995, 175–179. **Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos**, 1995.
- BREVES, G.; SCHRÖDER, B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. **Nutrition research reviews**, v. 4, n. 1, p. 125–140, 1991.
- BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E. et al. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 10, p. 3087–3095, 1994.
- BURKE, C. R. et al. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 11, p. 5363–5373, 2010.

- CABEZUELO, M. T. et al. Role of vitamin A in mammary gland development and lactation. **Nutrients**, v. 12, n. 1, p. 80, 2019.
- CARDOSO, F. C.; KALSCHEUR, K. F.; DRACKLEY, J. K. Symposium review: Nutrition strategies for improved health, production, and fertility during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 6, p. 5684–5693, 2020.
- CEKO, M. J. et al. X-Ray fluorescence imaging and other analyses identify selenium and GPX1 as important in female reproductive function. **Metallomics**, v. 7, n. 1, p. 71–82, 2015.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 10, p. 4897–4903, 2011.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy science**, v. 95, n. 3, p. 1301–1309, 2012.
- CHUNG, Y.-H. et al. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 7, p. 2744–2758, 2008.
- COLLET, S. G. et al. Effect of injectable trace mineral supplement and vitamins A and E on production and milk composition of Holstein cows. **Revista de Ciencias Agroveterinarias**, v. 16, n. 4, p. 463–472, 2017.
- COLLET, S. G. et al. Effect of using trace minerals (copper, zinc, selenium, and manganese) and vitamins A and E on the metabolic profile of Holstein cows in the transition period. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 5, p. 1879–1890, 2019.
- CONTRERAS, G. A.; STRIEDER-BARBOZA, C.; RAPHAEL, W. Adipose tissue lipolysis and remodeling during the transition period of dairy cows. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2017.
- CORTINHAS, C. S. et al. Organic and inorganic sources of zinc, copper and selenium in diets for dairy cows: intake, blood metabolic profile, milk yield and composition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1477–1483, 2012.
- COUNCIL, N. R. **Nutrient requirements of dairy cattle: 2001**. [s.l.] National Academies Press, 2001.
- DE KOSTER, J. D.; OPSOMER, G. Insulin resistance in dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 299–322, 2013.
- DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The veterinary journal**, v. 176, n. 1, p. 58–69, 2008.
- DERVISHI, E. et al. Occurrence of retained placenta is preceded by an inflammatory state and alterations of energy metabolism in transition dairy cows. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2016.

DERVISHI, E. et al. Common and specific mineral and metabolic features in dairy cows with clinical metritis, hypocalcaemia or ketosis. **Research in Veterinary Science**, v. 135, p. 335–342, 2021.

DIAZ GONZALEZ, F. H. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. p. 89-106, 2000.

DRACKLEY, J. K. 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. et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, v. 4, n. 4, p. 323–344, 2005.

DU, X. et al. Elevated apoptosis in the liver of dairy cows with ketosis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 43, n. 2, p. 568–578, 2017.

DUBUC, J. et al. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 12, p. 5764–5771, 2010.

DUFFIELD, T. F. et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 2, p. 571–580, 2009.

DUFFIELD, T. F.; LEBLANC, S. J. **Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period**. Southwest Nutrition and Management Conference. **Anais...**2009.

EDMONSON, A. J. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 72, n. 1, p. 68–78, 1989.

FADLALLA, I. M. T.; OMER, S. A.; ATTA, M. Determination of some serum macroelement minerals levels at different lactation stages of dairy cows and their correlations. **Scientific African**, v. 8, p. e00351, 2020.

FAULKNER, A.; POLLOCK, H. T. Metabolic responses to euglycaemic hyperinsulinaemia in lactating and non-lactating sheep in vivo. **Journal of endocrinology**, v. 124, n. 1, p. 59–66, 1990.

FIORE, E. et al. Glucose infusion response on some metabolic parameters in dairy cows during transition period. **Archives Animal Breeding**, v. 57, n. 1, p. 1–9, 2014.

GARNSWORTHY, P. **Influences of body condition on fertility and milk yield**. Proc Dairy Cattle Reproduction Council Convention 2008. **Anais...**2008.

GOFF, J. P. Phosphorus deficiency. **Current Veterinary Therapy**, v. 4, 1998.

GOFF, J. P. Macromineral disorders of the transition cow. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 471–494, 2004.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3–4, p. 237–257, 2006a.

GOFF, J. P. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1292–1301, 2006b.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The veterinary journal**, v. 176, n. 1, p. 50–57, 2008.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1260–1268, 1997.

GOFF, J. P.; KIMURA, K.; HORST, R. L. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and β -carotene status at parturition. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1427–1436, 2002.

GOLDER, H. M.; MCGRATH, J.; LEAN, I. J. Effect of 25-hydroxyvitamin D3 during prepartum transition and lactation on production, reproduction, and health of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 5, p. 5345–5374, 2021.

GREGHI, G. F. et al. Suplemento mineral aniônico para vacas no periparto: parâmetros sanguíneos, urinários e incidência de patologias de importância na bovinocultura leiteira. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 337–342, 2014.

GRUMMER, R. Qual o período mais crítico: Pré Parto vs Periparto vs Pós Parto. In. XIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2009, Uberlândia. **Anais do XIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, Uberlândia**, p. 237–243, 2009.

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.

GRUMMER, R. R.; MASHEK, D. G.; HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 447–470, 2004.

GRÜNBERG, W. Treatment of phosphorus balance disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 383–408, 2014.

GUERIN, P.; EL MOUATASSIM, S.; MENEZO, Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. **Human reproduction update**, v. 7, n. 2, p. 175–189, 2001.

HABEL, J.; SUNDRUM, A. Mismatch of glucose allocation between different life functions in the transition period of dairy cows. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1028, 2020.

HAJIBEMANI, A.; JAFARI, J.; RASHIDZADEH, H. Effects of supplementation of vitamin E and selenium during late gestation on milk somatic cells count and incidence of retained

- placenta in dairy cows. **Journal of Zoonotic Diseases**, v. 4, n. 4, p. 63–74, 2020.
- HAMMON, D. et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 113, n. 1–2, p. 21–29, 2006.
- HAN, Y. K.; KIM, I. H. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. **Journal of veterinary Science**, v. 6, n. 1, p. 53–59, 2005.
- HAYIRLI, A. et al. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 12, p. 3430–3443, 2002.
- HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215–230, 2000.
- HOENDEROP, J. G. J.; NILIUS, B.; BINDELS, R. J. M. Calcium absorption across epithelia. **Physiological reviews**, v. 85, n. 1, p. 373–422, 2005.
- HOLTENIUS, K. et al. Magnesium absorption by lactating dairy cows on a grass silage-based diet supplied with different potassium and magnesium levels. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 2, p. 743–748, 2008.
- HORST, R. L. et al. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1269–1280, 1997.
- HURLEY, W. L.; DOANE, R. M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 784–804, 1989.
- JEONG, J. K. et al. Relationship between serum magnesium concentration during the transition period, peri- and postpartum disorders, and reproductive performance in dairy cows. **Livestock Science**, v. 213, p. 1–6, 2018.
- JOVANOVIĆ, I. B. et al. Effects of different amounts of supplemental selenium and vitamin E on the incidence of retained placenta, selenium, malondialdehyde, and thyronines status in cows treated with prostaglandin F_{2α} for the induction of parturition. **Journal of veterinary medicine**, v. 2013, 2013.
- KASIMANICKAM, R. et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, n. 1–2, p. 9–23, 2004.
- KEBREAB, E.; HANSEN, A. V.; LEYTEM, A. B. Feed management practices to reduce manure phosphorus excretion in dairy cattle. **Advances in Animal Biosciences**, v. 4, n. s1, p. 37–41, 2013.
- KENNEDY, P. C. The female genital system. **Pathology of domestic animals**, p. 349–470, 1993.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 7, p. 2588–2595, 2006.

KIRDECI, A.; ÇETIN, H.; RAZA, S. Effect of vitamin C on pregnancy rate and 8-OHdG levels during heat stress in post-partum dairy cattle. **Journal of Animal Reproduction and Biotechnology**, v. 36, n. 4, p. 194–202, 2021.

KNOWLTON, K.; RAY, P. Water-related issues in sustainability: nitrogen and phosphorus management. **Sustainable animal agriculture**, p. 113–123, 2013.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of reproduction and Development**, v. 56, n. S, p. S29–S35, 2010.

LEBLANC, S. J. et al. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 3, p. 609–619, 2004.

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.

LIBERA, K. et al. The Association between Selected Dietary Minerals and Mastitis in Dairy Cows—A Review. **Animals**, v. 11, n. 8, p. 2330, 2021.

LIPPOLIS, J. D. et al. Treatment of an intramammary bacterial infection with 25-hydroxyvitamin D3. **PLoS One**, v. 6, n. 10, p. e25479, 2011.

LITTLEDIKE, E. T. et al. Insulin, corticoids, and parturient paresis. In: **Parturient hypocalcemia**. [s.l.] Academic Press New York, NY, 1970. p. 165.

LÓPEZ-ALONSO, M.; MIRANDA, M. Copper supplementation, a challenge in cattle. **Animals**, v. 10, n. 10, p. 1890, 2020.

LÓPEZ-GATIUS, F. et al. Effect of reproductive disorders previous to conception on pregnancy attrition in dairy cows. **Theriogenology**, v. 46, n. 4, p. 643–648, 1996.

MACHADO, V. S. et al. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. **The Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 451–456, 2013.

MACHADO, V. S. et al. The effect of injectable trace minerals (selenium, copper, zinc, and manganese) on peripheral blood leukocyte activity and serum superoxide dismutase activity of lactating Holstein cows. **The Veterinary Journal**, v. 200, n. 2, p. 299–304, 2014.

MACRAE, A. I. et al. Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. **Veterinary Record**, v. 159, n. 20, p. 655–661, 2006.

MACWILLIAMS, P. S.; SEARCY, G. P.; BELLAMY, J. E. C. Bovine postparturient hemoglobinuria: a review of the literature. **The Canadian veterinary journal**, v. 23, n. 11, p. 309, 1982.

MARTINEZ, N. et al. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 12, p. 7158–7172, 2012.

MARTINEZ, N. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Health and reproductive responses. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 3, p. 2563–2578, 2018.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 9, p. 5056–5066, 2012.

MCDOUGALL, S.; MACAULAY, R.; COMPTON, C. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. **Animal reproduction science**, v. 99, n. 1–2, p. 9–23, 2007.

MCNAMARA, J. P. Lipid metabolism in adipose tissue during lactation: a model of a metabolic control system. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. suppl_8, p. 1383S-1391S, 1994.

MÉNARD, L.; THOMPSON, A. Milk fever and alert downer cows: Does hypophosphatemia affect the treatment response? **The Canadian Veterinary Journal**, v. 48, n. 5, p. 487, 2007.

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.

MOLEFE, K.; MWANZA, M. Effects of mineral supplementation on reproductive performance of pregnant cross-breed Bonsmara cows: An experimental study. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 3, p. 301–308, 2020.

MORGANTE, M. et al. Response to glucose infusion in pregnant and nonpregnant ewes: changes in plasma glucose and insulin concentrations. **Comparative Clinical Pathology**, v. 21, n. 5, p. 961–965, 2012.

NAZARI, A. et al. Antioxidant levels, copper and zinc concentrations were associated with postpartum luteal activity, pregnancy loss and pregnancy status in Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 133, p. 97–103, 2019.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 651–674, 2004.

OLIVARES, R. W. I. et al. Biochemical and morphological alterations in hearts of copper-deficient bovines. **Biological Trace Element Research**, v. 189, n. 2, p. 447–455, 2019.

OLSON, J. D. et al. Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. **American journal of veterinary research**, v. 45, n. 11, p. 2251–2255, 1984.

OMUR, A. et al. Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. **Polish journal of veterinary sciences**, 2016.

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, n. 2, p. 546–554, 2010a.

OSPINA, P. A. et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 4, p. 1596–1603, 2010b.

PATINO, H. O. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. 2000.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRÍES, G. A. Somatic cell count and production characteristics of lactating Holstein cows. **Scientia Agricola**, v. 58, p. 649–654, 2001.

PIRES, J. A. A. et al. Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6423–6439, 2013.

POINDEXTER, M. B. et al. Feeding supplemental 25-hydroxyvitamin D3 increases serum mineral concentrations and alters mammary immunity of lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 1, p. 805–822, 2020.

PONTES, G. C. S. et al. Effect of injectable vitamin E on incidence of retained fetal membranes and reproductive performance of dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 4, p. 2437–2449, 2015.

PRESTON, R. L.; JOHN, L. R. Potassium in animal nutrition. **Potassium in agriculture**, p. 595–617, 1985.

REGASSA, F.; SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E. Effect of experimentally induced metritis on uterine involution, acute phase protein response and PGFM secretion in the postpartum ewe. **Veterinary Record**, v. 150, n. 19, 2002.

REYES-JARA, A. et al. Antibacterial effect of copper on microorganisms isolated from bovine mastitis. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 626, 2016.

REYNOLDS, C. K. et al. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate, and nitrogenous compounds in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 7, p. 1803–1812, 1988.

RISCO, C. A.; REYNOLDS, J. P.; HIRD, D. Uterine prolapse and hypocalcemia in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 185, n. 12, p. 1517–1519, 1984.

ROCHE, J. R. et al. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 12, p. 5769–5801, 2009.

ROCHE, J. R. et al. Fertility and the transition dairy cow. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 30, n. 1, p. 85–100, 2018.

RUEGG, P. L. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 12, p. 10381–10397, 2017.

SALMAN, S. et al. The role of dietary selenium in bovine mammary gland health and immune function. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, n. 1, p. 21–34, 2009.

SANTOS, M. V. DOS; FONSECA, L. F. L. DA. Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções. 2019.

SASAKI, S. Mechanism of insulin action on glucose metabolism in ruminants. **Animal Science Journal**, v. 73, n. 6, p. 423–433, 2002.

SCALETTI, R. W. et al. Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1240–1249, 2003.

SCHEPERS, A. J. et al. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1833–1840, 1997.

SCHÖNFELD, P.; WOJTCZAK, L. Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 45, n. 3, p. 231–241, 2008.

SCHRICK, F. N. et al. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 6, p. 1407–1412, 2001.

SHANKAR, A. H.; PRASAD, A. S. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **The American journal of clinical nutrition**, v. 68, n. 2, p. 447S–463S, 1998.

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

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

SHELDON, I. M. et al. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of reproduction**, v. 81, n. 6, p. 1025–1032, 2009.

SHELDON, I. M.; RYCROFT, A. N.; ZHOU, C. Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. **Veterinary Record**, v. 154, n. 10, p. 289–293, 2004.

SILVA, A. S. et al. Effects of feeding 25-hydroxyvitamin D3 with an acidogenic diet during

the prepartum period in dairy cows: Mineral metabolism, energy balance, and lactation performance of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 7, p. 5796–5812, 2022a.

SILVA, T. H. et al. Effect of injectable trace mineral supplementation on peripheral polymorphonuclear leukocyte function, antioxidant enzymes, health, and performance in dairy cows in semi-arid conditions. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 2, p. 1649–1660, 2022b.

SOLDÁ, N. M. et al. Injectable mineral supplementation to transition period dairy cows and its effects on animal health. **Comparative Clinical Pathology**, v. 26, n. 2, p. 335–342, 2017.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 267–278, 2013.

SPEARS, J. W. Trace mineral bioavailability in ruminants. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1506S–1509S, 2003.

STOCKDALE, C. R. Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, n. 6, p. 823–839, 2001.

SUCUPIRA, M. C. A. et al. Parenteral use of ADE vitamins in prepartum and its influences in the metabolic, oxidative, and immunological profiles of sheep during the transition period. **Small ruminant research**, v. 170, p. 120–124, 2019.

SUNDRUM, A. Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. **Animals**, v. 5, n. 4, p. 978–1020, 2015.

SUTHAR, V. S. et al. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 5, p. 2925–2938, 2013.

TSIOULPAS, A.; GRANDISON, A. S.; LEWIS, M. J. Changes in physical properties of bovine milk from the colostrum period to early lactation. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 11, p. 5012–5017, 2007.

VALDMANN, M. et al. Relationships between plasma insulin-like growth factor-1 and insulin concentrations in multiparous dairy cows with cytological endometritis. **Veterinary Record**, v. 183, n. 4, p. 126, 2018.

VAN EMON, M.; SANFORD, C.; MCCOSKI, S. Impacts of bovine trace mineral supplementation on maternal and offspring production and health. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 2404, 2020.

VAN MOSEL, M.; VAN 'T KLOOSTER, A. T.; MALESTEIN, A. Effects of an inadequate dietary intake of magnesium on osteogenesis in dairy cows during the dry period. **Research in Veterinary Science**, v. 48, n. 3, p. 280–287, 1990.

VAN MOSEL, M.; VAN 'T KLOOSTER, A. T.; WOUTERSE, H. S. Effects of a deficient

magnesium supply during the dry period on bone turnover of dairy cows at parturition. **Veterinary Quarterly**, v. 13, n. 4, p. 199–208, 1991.

WALSH, R. B. et al. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 6, p. 2788–2796, 2007.

WANG, C. et al. Effect of dietary phosphorus content on milk production and phosphorus excretion in dairy cows. **Journal of Animal science and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 1–6, 2014.

WARKEN, A. C. et al. Mineral supplementation stimulates the immune system and antioxidant responses of dairy cows and reduces somatic cell counts in milk. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 1649–1658, 2018.

WEISS, W. P. A 100-Year Review: From ascorbic acid to zinc—Mineral and vitamin nutrition of dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 12, p. 10045–10060, 2017.

WILKENS, M. R.; MUSCHER-BANSE, A. S. Regulation of gastrointestinal and renal transport of calcium and phosphorus in ruminants. **Animal**, v. 14, p. s29–s43, 2020.

WILLIAMS, E. J. et al. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. **Theriogenology**, v. 63, n. 1, p. 102–117, 2005.

YAZLIK, M. O. et al. Effects of injectable trace element and vitamin supplementation during the gestational, peri-parturient, or early lactational periods on neutrophil functions and pregnancy rate in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 225, p. 106686, 2021.

ZARRIN, M. et al. Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 3, p. 2323–2333, 2017.

ZHANG, G. et al. A targeted serum metabolomics GC-MS approach identifies predictive blood biomarkers for retained placenta in holstein dairy cows. **Metabolites**, v. 11, n. 9, p. 633, 2021.

ZHAO, F. Q.; GLIMM, D. R.; KENNELLY, J. J. Distribution of mammalian facilitative glucose transporter messenger RNA in bovine tissues. **The International journal of biochemistry**, v. 25, n. 12, p. 1897–1903, 1993.

ZHAO, W. et al. Prepartum body condition score affects milk yield, lipid metabolism, and oxidation status of Holstein cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 12, p. 1889, 2019.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE
FORA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

CERTIFICADO

A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 08/06/2021, analisou o protocolo nº. 009/2021 intitulado “**Suplementação mineral parental e desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção**”, projeto de pesquisa sob a responsabilidade de José Nélcio de Sousa Sales e colaboração de José Camisão de Souza, Giovanna Tavares Petrucelli e Natália Martins Barbosa a ser realizado no período de 20/06/2021 a 20/06/2022. Por estar de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado pela CEUA. Serão utilizados 112 bovinos (*Bos taurus indicus*) fêmeas da linhagem Holandesa com 5 anos de idade, projeto a ser realizado na Fazenda Palmito - Agropecuária Rex no Município de Boa Esperança/MG. O prazo de validade desse certificado é equivalente a vigência do projeto prorrogável por mais um ano, desde que seja enviada justificativa a CEUA durante a vigência do projeto de acordo com orientação técnica do CONCEA.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº. 009/2021-CEUA about “**Suplementação mineral parental e desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção**”, under responsibility of José Nélcio de Sousa Sales and collaboration of José Camisão de Souza, Giovanna Tavares Petrucelli and Natália Martins Barbosa, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (Concea) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF-ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 06/08/2021. For the development of this research 112 female bovine of Holandês lineage with 5 years old that will be delivered as requested in the period of 06/20/2021 to 06/20/2022. The Project will be performed at Palmito farm located in the city of Boa Esperança-MG. The term of validity of this certificate might be extended for one more year by means of justification during the period of validity.

Juiz de Fora, 17 de junho de 2021.

Coordenadora
CEUA

ViceCoordenadora
CEUA