

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ALCEU MIGUEL GREBOGI

PERFIL SÉRICO DE MINERAIS EM VACAS LEITEIRAS NO PARANÁ

(Serum rate of minerals in Paraná dairy cows)

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2014

ALCEU MIGUEL GREBOGI

PERFIL SÉRICO DE MINERAIS EM VACAS LEITEIRAS NO PARANÁ

(Serum rate of minerals in Paraná dairy cows)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff.

Co-Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida.

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2014

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	Vii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO.....	Viii
RESUMO GERAL.....	Ix
ABSTRACT.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	Xi
LISTA DE TABELAS.....	Xii
LISTA DE FIGURAS.....	Xiii
CAPÍTULO 1	
1 INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2	
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 MINERAIS NO CONTEXTO DE BOVINOS LEITEIROS.....	3
2.1.1 CÁLCIO.....	8
2.1.2 FÓSFORO.....	9
2.1.3 MAGNÉSIO.....	10
2.1.4 COBRE.....	10
2.1.5 ZINCO.....	11
2.1.6 FERRO.....	13
CAPÍTULO 3	
3 PERFIL SÉRICO DE MACRO- E MICROMINERAIS EM BOVINOS	
LEITEIROS NO ESTADO DO PARANÁ	14
Resumo.....	14
Abstract.....	15
3.1 INTRODUÇÃO.....	16
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
3.4 CONCLUSÃO.....	30

CAPÍTULO 4

4 PERFIL SOROLÓGICO DE MINERAIS NO PERÍODO PERIPARTAL

DA VACA LEITEIRA..... 31

Resumo..... 31

Abstract..... 32

4.1 INTRODUÇÃO..... 33

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS..... 33

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 36

4.4 CONCLUSÃO..... 44

CAPÍTULO 5

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 45

REFERÊNCIAS..... 46

“A sabedoria começa com a dúvida.”
Provérbio

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

À professora e coordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUC PR, Prof. Dr^a. Cristina Santos Sotomaior, pelo apoio, convívio, compreensão e pela amizade.

Ao professor Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior e sua esposa Dr^a. Daniela Becker Birgel pela colaboração técnica e analítica e também pela acolhida e paciência.

Aos professores, Prof. Dr. Saulo H. Weber, Prof. M. Sc. André Ostrensky e Prof. Dr. Rodrigo de Almeida pela ajuda e incentivo na realização deste estudo.

Aos alunos do Programa de Bolsas de Iniciação Científica, Alesson Rodrigo Bueno Debas e Wagner Sabino Lourenço Alves, pela ajuda na colheita do material.

Aos meus alunos do curso Técnico em Agropecuária, Marcus Vinícius Pissaia e Diego Félix da F. H. Silveira, pela colaboração e companheirismo.

Ao Sr. Reginaldo pelo apoio durante as visitas às propriedades do município de Arapoti.

Ao Sr. Almiro Lourenço Alves e sua esposa Claudinéia, pela amizade e hospedagem, durante a visita das propriedades.

A todos os produtores que disponibilizaram seus animais para colheita de material, sendo essencial para a realização deste estudo.

A minha família e a todos que diretamente e indiretamente contribuíram me apoiando.

E a todas as vacas que muito me ensinaram.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma introdução geral e os objetivos de estudo desta dissertação.

O capítulo 2 revisa a literatura consultada, apresentando o conhecimento do estado dos níveis sorológicos de minerais em bovinos.

O capítulo 3 enfoca o *status* sorológico mineral de bovinos de leite adultos no estado do Paraná, apresentando um panorama atual das deficiências ou excessos de minerais mensurados no soro.

O capítulo 4 descreve, a partir de um rebanho específico, as variações sorológicas dos minerais no período peripartal da vaca de leite.

O Capítulo 5 finaliza esta dissertação com conclusões gerais deste trabalho e com sugestões para estudos futuros.

As referências de todos os capítulos se encontram em lista única ao final da dissertação.

RESUMO GERAL

Os minerais são elementos essenciais ao metabolismo animal. Suas deficiências ou excessos podem acarretar diversos aspectos negativos à saúde dos animais, principalmente nos períodos mais próximos à parturição. Apesar de relatos em diferentes estados brasileiros sobre as deficiências minerais, ainda são raros os informes sobre o estado do Paraná e também no período peripartal da vaca, período crítico para as vacas de leite. O propósito do estudo foi quantificar microminerais importantes à bovinocultura leiteira como o Cu, Fe e Zn, bem como os macrominerais Ca, P e Mg, relevantes como causadores de distúrbios em vacas de leite. Traçou-se um perfil sérico mineral de 366 vacas leiteiras com idade superior ou igual a 2 anos, de 34 rebanhos de 18 municípios e 4 regiões do estado do Paraná, sendo 43 no período peripartal através da análise de um total de 571 amostras de soro. Para mensurar a variação no período peripartal amostras de soro foram colhidas em 8 períodos diferentes no pré- e pós-parto com 60; 30; 15 e 7 dias pré-parto e 7; 15; 30 e 60 dias pós-parto. As amostras foram analisadas, por espectroscopia com uso de aparelho RANDOX DAYTONA®. Os valores médios com desvio padrão encontrados foram: Ca $8,07 \pm 0,91$ mg/dL; P $6,11 \pm 1,19$ mg/dL; Mg $2,27 \pm 0,37$ mg/dL; Cu $83,64 \pm 18,83$ µg/dL; Zn $93,99 \pm 23,43$ µg/dL; Fe $129,24 \pm 44,22$ µg/dL. Do total de vacas examinadas 66,85 % apresentaram-se sorologicamente deficientes, no momento da análise para um a cinco elementos minerais ao mesmo tempo. A deficiência mais prevalente encontrada foi o Ca. O macromineral com a menor prevalência de deficiência foi o P. Foram encontradas deficiências no estado do Paraná de todos os minerais avaliados. No período peripartal de vacas saudáveis, os minerais analisados, com exceção do Ca, mantiveram-se dentro de limites considerados fisiológicos, respectivamente para o P 5,81 a 8,94 mg/dL; Ca 7,96 a 9,44 mg/dL; Mg 2,08 a 2,56 mg/dL; Cu 80,18 a 104,95 µg/dL; Fe 96,90 a 170,08 µg/dL. Observou-se queda dos valores séricos dos minerais avaliados na primeira parte do período de vaca seca (Ca, Cu, Mg) e período pré-parto próximo (Fe, P), demonstrando a grande demanda por estes minerais para a finalização da gestação e preparo do colostro. O macromineral P, assim como o micromineral Fe mantiveram-se em patamares fisiológicos próximos ao limite inferior do padrão durante todo o período pós-parto. Após o parto verificou-se uma variabilidade maior dos níveis séricos (Mg e Cu) refletindo as grandes mudanças fisiológicas e de manejo, principalmente alimentar deste período.

Palavras-chave: Macrominerais. Microminerais. Bovino. Período Peripartal.

ABSTRACT

Minerals are essential elements for the animal metabolism. Their deficiencies or excesses can lead to several negative health issues for ruminants especially closer to the calving moment. Despite reports in different states of the union on mineral deficiencies, reports on the state of Paraná are still rare. Also the transition period of the dairy cow, a critical period, remains unexplored. The purpose of the study was to measure the amount of some important trace minerals in dairy cattle such as Cu, Fe and Zn, as well as the macrominerals Ca, P and Mg most implicated as causing disorders in dairy cows. Through assaying serum levels and the occurrence of possible variations in dairy cows, we sought to draw a serum profile of minerals in dairy cattle in the state of Paraná. A mineral serum profile of 366 healthy dairy cows with ≥ 2 years, from 34 herds of 18 municipalities and four regions of the state of Paraná, including 43 in the transition period were analyzed totaling 571 serum samples. To evaluate the variation in the transition period, serum samples were collected in 8 different moments before and after calving, with 60, 30, 15 and 7 days prepartum and 7, 15, 30 and 60 days postpartum. The samples were analyzed by spectroscopy using RANDOX DAYTONA ®. The serum profile of dairy cattle in the state of Paraná showed the following mean values with standard deviation for the minerals: Ca 8.07 ± 0.905 mg / dL , P 6.11 ± 1.19 mg / dL , Mg 2.27 ± 0.37 mg / dL ; Cu 83.64 ± 18.83 mg / dL ; Zn 93.99 ± 23.43 mg / dL ; Fe 129.24 ± 44.22 mg / dL. 66.85 % of the examined cows showed serological deficiencies at the time of analysis for one up to five mineral elements at the same time. The most prevalent deficiency was Ca. The less prevalent deficiency was P. Deficiencies of all examined minerals were found in the state of Paraná. During the transition period of healthy cows, the evaluated minerals, except Ca, remained within physiologic limits, respectively, for P from 5.81 to 8.94 mg / dL; Ca 7.96 to 9.44 mg / dL; Mg 2.08 to 2.56 mg / dL; Cu 80.18 to 104.95 mg / dL; Fe 96.90 to 170.08 mg / dL. A decrease in serum concentration of the evaluated minerals in the first part of the dry cow period (Ca, Cu, Mg) and proximal pre-calving period (Fe, P) were observed, demonstrating the high demand for these minerals for the completion of pregnancy and preparation of colostrum. The macromineral P, as well as the trace mineral Fe remained at physiological levels near to the lower limit of the standard during the postpartum period. After birth there is a greater variability in serum levels (Mg and Cu), reflecting the broad physiological and management changes, especially concerning the diet of this period.

Keywords: Macrominerals. Microminerals. Cattle. Transition period.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca	Microgramas por decilitro
Co	Miligramas por decilitro
Cu	Cobre
CTLF	Capacidade total de ligação ao Ferro
Fe	Ferro
HPB	Holandês Preto e Branco
HVB	Holandês Vermelho e Branco
K	Potássio
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Mo	Molibidênio
mg/dL	Miligrama por decilitro
Na	Sódio
P	Fósforo
SATTF	Saturação da transferrina
Se	Selênio
UIBC	Capacidade de união ao ferro
Zn	Zinco
µg/dL	Micrograma por decilitro

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Valores de referência dos microminerais Zn, Cu, Fe e dos macrominerais Ca, P e Mg, compilados da literatura.....	6
Tabela 2. Valores e referência utilizados para a composição da média visando classificar os resultados das análises séricas.....	19
Tabela 3. Valores médios das concentrações séricas de minerais dos grupos 1 e 2 e a frequência (%) de deficiências em bovinos (n=323) do estado do Paraná.....	20
Tabela 4. Correlação de Pearson entre os minerais analisados no grupo G1.....	21
Tabela 5. Correlação de Pearson entre os minerais analisados no grupo G2.....	22
Tabela 6. Numero de vacas analisadas, média e desvio padrão das concentrações séricas de macro e microminerais analisados por grupo (G1 e G2) e municípios do Estado do Paraná.....	27
Tabela 7. Análise estatística dos grupos G1 e G2 e relação aos valores de ferro satura e % de animais deficientes no elemento dentro de cada grupo.....	29

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Mapa das principais deficiência minerais (P, Cu, Se, Co, Mn, Zn) segundo a literatura revisada e adaptada de Tokarnia et al., (2010), verifica-se a ausência de dados sobre o Paraná	7
Figura 2. Mapa do Estado do Paraná, enfatizando os municípios em que foram realizadas colheita de material.....	17
Figura 3. Frequências relativas e acumuladas de número de deficiências minerais entre o grupo 1 (n=208) e grupo 2 (n=115) em bovinos do estado do Paraná.....	21
Figura 4. Valores médios das concentrações séricas de Ca no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=248).....	36
Figura 5. Valores médios das concentrações séricas de P no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=248).....	38
Figura 6. Valores médios das concentrações séricas de Mg no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=244).....	39
Figura 7. Valores médios das concentrações séricas de Fe no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=234).....	42
Figura 8. Valores médios das concentrações séricas de Cu no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=247).....	43

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Os minerais possuem funções bem conhecidas no corpo do animal, descritas como sendo de ação regulatória (ex. na transcrição, replicação e diferenciação celular), catalítica (ex. metaloenzimas), fisiológica (ex. no equilíbrio acidobásico dos fluidos corporais) e estrutural (ex. o cálcio e fósforo do esqueleto) (Underwood e Suttle, 1999).

As deficiências, o excesso e toxicidade de minerais estão abordados pela literatura nacional, que estuda o assunto há décadas. Chama-se a atenção que não há pesquisas, com exceção do Ca (Frigotto et al., 2009), realizadas no Estado do Paraná abordando diretamente o tema, portanto poderá ocorrer a necessidade de uma mineralização propriedade específica e na falta desta, a ocorrência de deficiências ou o uso excessivo de minerais na alimentação, portanto um desperdício de um suplemento caro em uma atividade competitiva e de pequenas margens de lucro, como é a bovinocultura leiteira.

Existe a dúvida na escolha de quais suplementos minerais e concentrados a serem utilizados para a vaca leiteira de alta produtividade. A decisão é tomada muito mais em função da capacidade de convencimento ou preços ofertados pelos fornecedores de insumos, ao invés de fundar-se no conhecimento da realidade local, sobre o “status” metabólico de minerais nos animais em período de lactação e peripartal, que no Paraná inexistem.

A suplementação correta das vacas leiteiras leva a um aumento na produtividade e diminuição na ocorrência de distúrbios da saúde (Nocek et al., 2006).

O propósito geral deste projeto foi investigar os níveis sorológicos dos minerais cálcio, fósforo magnésio, cobre, ferro e zinco em vacas leiteiras criadas no Paraná.

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar os níveis séricos de minerais no período de peripartal da vaca leiteira;
- Averiguar a ocorrência de deficiência ou excesso de minerais em bovinos de leite;

Esses objetivos decorrem de demandas apresentadas por produtores de leite de diversas regiões paranaenses e pela ausência de dados sobre as características e usos da suplementação mineral no Paraná, principalmente na atividade leiteira. Com a realização de diagnósticos sobre o “status” mineral dos bovinos ou rebanhos específicos, tanto o profissional que trabalha com a nutrição animal quanto o clínico estarão melhor amparados para reverter situações de desequilíbrio e a implementação das melhores soluções.

CAPÍTULO 2

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MINERAIS NO CONTEXTO DE BOVINOS LEITEIROS

Os minerais essenciais aos processos metabólicos são divididos classicamente em macrominerais e microminerais ou minerais traços. Os macrominerais mais importantes são o cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), sódio (Na) e potássio (K), cloro (Cl), enxofre (S), ao passo que os minerais traços mais importantes para ruminantes são: o ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), iodo (I), zinco (Zn), selênio (Se), molibdênio (Mo) e manganês (Mn) (Tokarnia et al., 2010).

Os minerais possuem diversas funções no organismo dos ruminantes, como a formação do tecido ósseo (Ca, P e Mg), estabilização e proteção de membranas, transcrição de DNA e controle do ciclo celular (Zn), geração e propagação de impulsos nervosos (Ca, Na, K e Mg), participação no metabolismo energético (Fe, Co e Mg), contração muscular (Ca) e nos processos antioxidantes (Zn, Cu, Mn, Fe e Se) (Underwood e Suttle, 1999; Kaneko et al., 2008).

A biodisponibilidade de um mineral é a quantidade de um elemento presente na dieta que é ofertada ao animal e aproveitada nas suas funções biológicas. Entretanto, é dependente de múltiplos fatores, abrangendo níveis do elemento ingerido, idade, estado nutricional, condições ambientais, pH intestinal, presença de antagonistas e principalmente das fontes minerais, que mais comumente utilizadas na nutrição animal são fontes inorgânicas (sulfatos, carbonatos, óxidos, cloretos e fosfatos) (Underwood e Suttle, 1999).

No rúmen, a disponibilidade dos minerais e a sua utilização metabólica estão sujeitas à taxa de passagem e à interação com a população de microrganismos. Em condições habituais de pastejo, o desenvolvimento microbiano não é limitado pelo fornecimento de microminerais essenciais. No entanto, da mesma forma que a digestão microbiana pode colaborar para tornar os nutrientes mais disponíveis para os ruminantes, os microrganismos também complexam alguns minerais, tornando-os

indisponíveis, ao serem incorporados nas células microbianas, dependendo das exigências intracelulares (Lee et al., 2002).

Existem muitas variáveis no trato digestivo, como o pH, o conteúdo do meio e principalmente, a presença de outros minerais e suas alterações antagônicas, que inibem a absorção de minerais. Por outro lado existem quelatos, compostos formados por íons metálicos sequestrados por aminoácidos, peptídeos ou complexos polissacarídeos, que proporcionam a esses íons alta disponibilidade biológica, estabilidade e solubilidade. A palavra quelatos vem do grego “chele” que significa “garra”, termo adequado para descrever a maneira pela qual íons metálicos polivalentes são ligados a compostos orgânicos (Mellor, 1964; Underwood e Suttle, 1999).

A planta em estado muito avançado de maturidade, assim com maior compleição de oxalatos, diminui a solubilidade dos minerais. De fato, a presença de ácido oxálico forma complexos com os minerais. Eles motivam o menor aproveitamento dos minerais no intestino. Isso é o que se ressalta no caso do Ca das leguminosas forrageiras, abundante, mas pouco utilizado pelos líquidos digestivos. Ocorrendo o mesmo com o Zn e o Cu das forragens colhidas tardiamente, bem como os minerais presentes nas palhas, material de baixa digestibilidade (Cotta, 2001).

A exigência mineral está diretamente ligada com o nível de produtividade, como o aumento da taxa de crescimento, reprodução e produção leiteira, que aumentam a demanda mineral, e também está ligada com as condições de estresse impostas ao animal (Moraes, 2001).

O período peripartal da vaca leiteira refere-se ao intervalo de tempo que compreende as três semanas antes do parto e as três semanas pós-parto (Grummer, 1995). Considera-se que o período peripartal entre o final da gestação e o início da lactação é o mais desafiador e de maior interesse do ciclo reprodutivo de uma vaca leiteira (Drackley, 1999). Neste estágio, severas alterações metabólicas, fisiológicas e anatômicas ocorrem na vaca parturiente, favorecendo a ocorrência de diversos distúrbios, que podem prejudicar a futura lactação, pela diminuição de leite, redução do desempenho reprodutivo e aumento na taxa de descarte (Huzzey et al., 2007).

As principais complicações deste período ocorrem nas duas primeiras semanas de lactação. Tipicamente exibem algum elemento metabólico como componente causal destes distúrbios. São observados sintomas como retenção de placenta, endometrite, hipocalcemia, cetose, deslocamento de abomaso, laminite, aumento dos intervalos entre estros, juntamente com deficiências minerais, e cuja relação pode ser direta ou indireta (Goff e Horst, 1997; Wilde, 2006; Duffield e Leblanc, 2009).

A sintomatologia das deficiências e do uso excessivo de suplementação mineral, vem sendo estudada em diferentes países e no Brasil há décadas (Puls, 1994; Dirksen et al., 2002; Fürll, 2005; Tokarnia et al., 2010), sendo que diversos autores como demonstrado na tabela 1, estabeleceram valores considerados padrões para suas respectivas regiões.

Tabela 1 – Valores de referência dos microminerais Zn, Cu, Fe e dos macrominerais Ca, P e Mg, compilados da literatura.

AUTOR	Zn (µg/dL)		Cu (µg/dL)		Fe (µg/dL)		Ca (mg/dL)		P (mg/dL)		Mg (mg/dL)	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
(1)	50	150	50	150	57	162	9,7	12,4	5,6	6,5	1,8	2,3
(2)	60	190	60	110	110	250						
(3)	80	140	65	150								
(4)	80	120	80	120								
(5)	70	120	50	120	57	230	7,4	13	2	9,6	1,8	3
(6)					100		7,6	10,5	3	6	1,9	2,4
(7)									3,5		1,8	3,2
(8)	80	140	60	150	100	200	8	11	4,5	7	1,8	3,5
(9)			79,4	120,7			8,01	10,2	4,64	9,26	2,18	3,2

Nota: Autores: (1) Kaneko et al.,(2008); (2) Herdt e Hoff,(2011); (3) Gadberry et al.,(2003); (4) Díaz González; Silva, (2006); (5) Díaz Gonzáles et al.,(2000); (6) Smith, (2009); (7) Tokarnia et al.,(2010); (8) Puls, (1994); (9) Füll, (2005).

Quanto a distribuição geográfica das deficiências de minerais no Brasil, Tokarnia et al., (2010) observaram as de P, Cu, Mn e Zn nas regiões Norte, Centro-oeste e Sudeste do país, bem como as mesmas deficiências, a exceção do Mn, na região Nordeste e de Mg em Roraima e Mato Grosso.

Chama a atenção como perceptivo na Fig.1, que não há observações a respeito realizadas no Estado do Paraná no mais completo livro texto nacional.

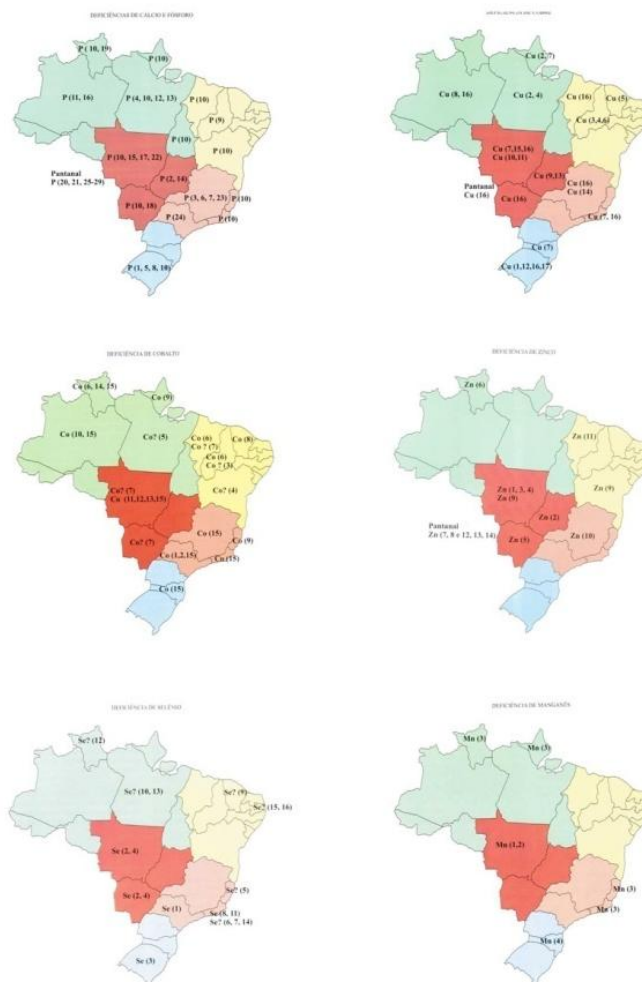


Figura 1- Mapa das principais deficiências minerais (P, Cu, Se, Co, Mn, Zn) segundo a literatura revisada e adaptada de Tokarnia et al., (2010), verifica-se a ausência de dados sobre o Paraná.

Deficiências e deslocamento de minerais em ruminantes são relatados em quase todas as regiões do mundo e os sintomas clínicos sugestivos destas deficiências de minerais nos ruminantes são: a perda e despigmentação de pêlos, diarreia, anemia,

perda de apetite, doenças de pele, aborto não infeccioso, diarreia, anemia, anormalidades ósseas, baixa fertilidade e depravação do apetite (ingerir terra, casca de árvore, ossos, madeira, entre outros) (McDowell, 1999).

Deve ser ressaltado que o estudo da ocorrência de minerais nos bovinos é também de interesse da saúde humana, pois os minerais possuem importância semelhante no homem, são ingeridos juntamente com o leite e a carne e ainda podem interferir com a presença de minerais pesados em nossos alimentos (Alonso et al., 2004; Ramos e Cabrera, 2012).

Baruselli (2005), baseado nas estimativas de produção e consumo de fosfatos aplicados na nutrição animal, estima que 38% do rebanho brasileiro recebem suplementação mineral devidamente balanceada.

A conclusão semelhante chega Morgulis (2005), que considera a carência marginal de minerais no Brasil pouco estudada, mas de grandes dimensões. Em 2004, o consumo de suplementos minerais no país foi de 1.850.000 t para uma demanda potencial de 4.100.000 t (45% do total), o que permitiu a este autor concluir que mais da metade do rebanho é mal mineralizado.

As deficiências marginais dos microminerais são de complexo diagnóstico, pois não exibem sinais clínicos peculiares. Normalmente as deficiências se refletem nos índices zootécnicos como o baixo ganho de peso, estro prolongado, repetições de cio e abortos. Deficiências latentes de minerais afetam não apenas no desempenho reprodutivo, mas também a imunidade (Barbosa e Sousa, 2009).

O Cu, Zn, Se e Mn, são microminerais que agem no sistema celular antioxidante, melhorando a resposta imunológica e colaborando para o aumento da resistência às infecções. Estes nutrientes evitam a ação deletéria de radicais livres, sendo classificados como antioxidantes de prevenção (Cortinhas, 2009). E se destacam por fazer parte de enzimas que participam da formação e ação das células de defesa do organismo dos ruminantes (Borges e Paschoal, 2013).

2.1.1 CÁLCIO (Ca)

O Ca é o mais abundante mineral do organismo bovino, sendo que 98% do Ca corporal encontram-se nos ossos e dentes, e o restante distribuído nos fluídos

extracelulares e tecidos moles, exceção a gordura (NRC, 1996). Um quadro clássico de sua deficiência, conhecido como febre do leite, afeta 5% das vacas do Brasil e Estados Unidos (Ortolani, 1995), e 10% em partes da Europa (Goof, 2004). Segundo Marçal (1996), vacas com uma produção láctea de 20 litros perdem diariamente de 20 a 30 gramas de Ca por ordenha, mas o colostro possui concentração de Ca cerca de duas vezes maior que o leite (Ortolani, 1995). A hipocalcemia caracteriza-se por deficiências na contração muscular, aumentando o risco para desenvolvimento de mastite e retenção de membranas fetais (Hosseini e Ardalan, 2011).

2.1.2 FÓSFORO (P)

O P é o segundo elemento mineral mais abundante no corpo dos bovinos. Sua absorção varia de acordo com a idade do animal, e é observada a diminuição na eficiência de absorção acima dos 14 meses de idade (ARC, 1980; NRC2001). O coeficiente de absorção aparente do P, em bezerros de idade inferior ou igual a um ano, foi de 78% e animais acima desta idade, apresentaram queda de 20% na eficiência de absorção (Boin, 1993). O coeficiente real de absorção do P, em animais castrados e não castrados da raça Holandesa, na etapa final de crescimento, obtidos em pesquisas realizadas no Brasil, foi de 63% (Coelho da Silva, 1995).

Alguns minerais como, Mg, Cu e Fe podem, segundo McDowell (1999), prejudicar direta ou indiretamente a eficiência de absorção do P.

O P desempenha funções vitais, tais como formação óssea, metabolismo energético, síntese de fosfolípidios e proteínas, componente de ácidos nucleicos, ativação enzimática, armazenagem de energia, e outros. Também sua presença na saliva garante pH e nutrição adequada aos microrganismos do rúmen, potencializando o processo digestivo e absorção de outros nutrientes. É ligado diretamente aos processos de crescimento e reprodução (Haddad e Alves, 2006).

Na deficiência prolongadas de P com teores séricos abaixo de 4,0 mg/dL, pode-se encontrar fraturas ósseas frequentes e espontâneas, com marcada perda de peso, baixa taxa de reprodução, anestro prolongado e possibilidade de sinais neurológicos associados à ingestão de ossos contaminados pela toxina botulínica (Tokarnia et al., 2010).

2.1.3 MAGNÉSIO (Mg)

O rúmen é o principal local de absorção de Mg nos ruminantes. Essa absorção ocorre de maneira mais eficiente nas primeiras fases do desenvolvimento dos bovinos, diminuindo com a idade (ARC, 1980; NRC, 2001).

A deficiência de Mg pode ocorrer em bezerros alimentados exclusivamente com leite, que é pobre no elemento, podendo ocorrer hiperexcitabilidade muscular, chegando à convulsão e frequentemente morte (Smith, 2009; Tokarnia et al., 2010). Em animais adultos pode ocorrer tetania hipomagnesêmica, que inclui andar trôpego, contrações crônicas faciais, convulsões e morte (Tokarnia et al., 2010).

2.1.4 COBRE (Cu)

O cobre é um mineral traço considerado tanto essencial quanto tóxico e é cofator catalítico essencial em importantes metaloenzimas como: Cu-Zn superóxido dismutase, citocromo oxidase, gilsil oxidase e tirosinase (McDowell, 1999).

O cobre compõe diversas proteínas como a ceruloplasmina, que realiza parte do transporte de Fe. Também participa de etapas de síntese do grupamento heme e da absorção do Fe, explicando a anemia ferropriva observadas nas deficiências crônicas de Cu (Kaneko et al., 2008). Ele faz parte de enzimas que produzem ATP, colágenos, mielina e adrenalina.

A sua deficiência afeta os neutrófilos e macrófagos, resultando em decréscimo das células produtoras de anticorpos (McDowell, 1999). Deficiências de Cu levam a uma diminuição da atividade imunológica celular (leucócitos polimorfonucleares), podendo contribuir com uma maior predisposição às infecções, antes mesmo dos sinais clássicos de anorexia, perda de peso, diarreia, desenvolvimento retardado e caquexia mesmo na presença de alimento em quantidade suficiente (Graham, 1991).

A deficiência pode causar degeneração neuronal, hipertrofia cardíaca, aneurisma aórtico, desordens articulares, fraturas espontâneas e morte súbita (Underwood e Suttle, 1999).

Também ocorrem quadros de anemia hemolítica e redução da atividade de neutrófilos, levando a uma maior probabilidade de morte neonatal, baixa fertilidade, atraso e depressão dos sinais de cio (Underwood e Suttle, 1999; Kaneko et al., 2008).

Segundo os mesmos autores, a principal alteração nos casos de carência de cobre ocorre devido a uma menor atividade da enzima tirosinase, que transforma o aminoácido tirosina em melanina, sendo a despigmentação do pelo, principalmente ao redor dos olhos, um dos primeiros sinais clínicos visíveis.

A quantidade de Cu dietético requerido para suprir o que é necessário para manutenção, crescimento e lactação irá variar de acordo com a idade do animal, com a forma química do cobre dietético e com a presença de substâncias na dieta que interfiram na sua absorção. Nos animais monogástricos e ruminantes jovens, com rúmen ainda não muito desenvolvido, 40 a 70% do cobre dietético são absorvidos. Entretanto, com o desenvolvimento do rúmen, verifica-se grande redução na absorção do Cu. Entre 1 e 5% do Cu dietético são absorvidos pelos bovinos adultos (Reece et al., 2006).

Fazzio et al.(2005) assinalam que o Cu entra espontaneamente no organismo com a dieta, sendo absorvido no intestino delgado e transportado pela veia porta até o fígado, ligado especialmente à albumina.

A toxicidade pelo cobre pode ocorrer em qualquer espécie; entretanto, os ruminantes são muito mais suscetíveis do que os monogástricos. Os bovinos geralmente conseguem tolerar até 100 mg de cobre por quilograma de matéria seca na dieta. Eles parecem possuir maior capacidade de eliminar o cobre do organismo por meio da bile do que os ovinos. Os caprinos toleram mais cobre, porém não tanto quanto os bovinos (Underwood e Suttle, 1999). A toxicose pelo cobre pode ocorrer nos ruminantes que consomem quantidades excessivas de cobre suplementar ou alimentos preparados para monogástricos ou que foram contaminados com compostos de cobre utilizados para outros objetivos agrícolas ou industriais (Church, 2003). As intoxicações naturais de minerais em ruminantes são raras, com exceção à do cobre em ovinos (Smith, 2009).

2.1.5 ZINCO (Zn)

O Zn é o mineral traço que existe em maior quantidade no meio intracelular. Está envolvido em funções catalíticas, estruturais e regulatórias (Pechova et al., 2006), além de participar do metabolismo de carboidratos e proteínas (NRC, 2001).

A absorção do Zn acontece primeiramente no intestino delgado onde este microelemento entra prontamente nos enterócitos e é transportado através das células mediado por uma proteína intestinal, rica em cisteína e liberado na circulação, disponível para ser transportado inicialmente pela transferrina e a albumina (Reece et al., 2006). Nos animais com altos níveis de zinco circulante age a metalotioneína, uma segunda proteína, encontrada nas células mucosas, que compete com a PIRC – proteína intestinal rica em cisteína, pelo Zn proveniente da ingesta. O Zn ligado à metalotioneína permanece nos enterócitos e é eliminado juntamente as fezes, quando da morte do enterócito. Assim, a quantidade de Zn na dieta absorvido pode ser controlada através do teor de metalotioneína nos enterócitos. O mecanismo de controle da metalotioneína intestinal é desconhecido, mas nos animais que são submetidos a dietas com deficiência de Zn a oscilação da quantidade de metalotioneína intestinal ocorre em períodos semanais (Reece et al., 2006).

São dois os principais fatores dietéticos que possuem potencialidade para modificar a eficiência da absorção de Zn, que são respectivamente, as interações do microelemento com outros íons metálicos e a presença de agentes quelantes orgânicos na dieta (Church, 2003).

O excesso de Zn dietético é relativamente bem tolerado, entretanto, níveis de toxicidade foram observadas em bovinos que foram submetidos a 900 mg de Zn por quilograma de dieta. Níveis elevados de Zn apresentam efeitos sobre a absorção e o metabolismo do microelemento Cu, conseqüentemente o teor de Zn dietético deve ficar limitado. O Zn é importante para a síntese de RNA e transcrição do DNA, essencial para o crescimento de células somáticas e germinais, participando da produção, liberação e ação de hormônios como o cortisol, insulina e testosterona (Kaneko et al., 2008).

Os sinais de deficiência incluem perda muscular, paraqueratose, teratogênese fetal e reduzida resposta a mitógenos por insuficiência da produção e ação do hormônio tímico, responsável pela maturação de linfócitos (Underwood e Suttle; 1999; Kaneko et al., 2008).

2.1.6 FERRO (Fe)

O Fe é um elemento essencial requerido em vários processos metabólicos, que pode ser encontrado em todas as células do corpo (Underwood e Suttle, 1999; Herdt e Hoff, 2011).

Segundo Kaneko et al., (2008), 60 a 70% do Fe total encontram-se na forma de hemoglobina; 20 a 30% estão estocados em forma de ferritina ou hemossiderina, e macrófagos e células hepáticas; 3 a 7% encontram-se na mioglobina e apenas 1% compõe enzimas como a citocromo oxidase, catalases, peroxidases, hidrolases e algumas enzimas importantes para o funcionamento do ciclo do ácido cítrico o que expande seu espectro de ação para a formação de tecidos e a neutralização de moléculas reativas de oxigênio. Ele também é constituinte essencial da hemoglobina e mioglobina o que reforça a sua importância na manutenção da produção tecidual de ATP (Underwood e Suttle, 1999; Smith, 2009; Tokarnia et al., 2010).

A deficiência de Fe em animais adultos não é comum, em parte pelos seus requerimentos reduzidos em relação aos animais jovens e, em outra parte, pelo conteúdo rico em Fe presente nas pastagens, sendo que muitas vezes os requerimentos nutricionais deste são supridos ou até mesmo excedidos (NRC, 2001; Tokarnia et al., 2010).

Em relação aos bezerros, pode-se observar taxas de anemia que variam de 15 a 30 %, no primeiro mês de vida, de origem multifatorial (outras deficiências nutricionais em vitaminas do complexo B e ácido fólico, por exemplo), mas que inclui a deficiência de Fe como um dos fatores causais, sendo que deficiências leves de Fe foram encontradas em animais adultos (Gadberry et al., 2003), o que pode se refletir nos índices aumentados de anemia nos bezerros encontrados entre o 15º e 30º dia após o nascimento (Rengifo et al., 2010). Recentes estudos corroboram com esta assertiva demonstrando existir anemia do tipo ferropriva em bezerros (Kaneko et al., 2008; Figueiredo et al., 2010).

CAPÍTULO 3

3 PERFIL SÉRICO DE MACRO- E MICROMINERAIS EM BOVINOS LEITEIROS NO ESTADO DO PARANÁ (*Serologic profile of macro- and micromineral status of dairy cattle in Paraná, Brazil*).

RESUMO

O propósito deste estudo foi mensurar a quantidade de Ca, P, Mg, Cu, Fe, Zn, mais envolvidos em afecções da vaca de leite, visando proporcionar uma visão ampla sobre o *status* sérico desses minerais em bovinos de leite do estado do Paraná. O estudo transversal foi realizado com 323 vacas em lactação, com idade ≥ 2 anos, de 34 rebanhos em 18 municípios em 4 regiões do estado do Paraná, amostrado no período de agosto de 2012 a fevereiro de 2013. As amostras foram colhidas por venopunção em tubos livres de minerais, centrifugadas e o soro obtido congelado até o momento das análises bioquímicas, realizadas por espectroscopia utilizando-se de kits comerciais RANDOX®, UK. Os valores médios com desvio padrão encontrados foram: Ca – $8,07 \pm 0,91$ mg/dL; P – $6,11 \pm 1,19$ mg/dL; Mg – $2,27 \pm 0,37$ mg/dL; Cu – $83,64 \pm 18,83$ µg/dL; Fe – $129,24 \pm 44,22$ µg/dL; Zn – $93,99 \pm 23,43$ µg/dL. Das vacas examinadas, 66,85 % apresentaram sorologia deficiente, para um a 5 elementos minerais simultaneamente. A deficiência mais prevalente foi a de Ca e a menor prevalência de deficiência foi o P. Conclui-se que os bovinos de leite, supostamente melhor nutridos, portavam deficiências dos minerais pesquisados em proporção superior à 50 %, ressaltando-se a necessidade de um acompanhamento dos níveis sorológicos de minerais, que permita identificar bovinos e rebanhos acometidos, otimizar a saúde e consequentemente a produção animal.

Palavras-chave: Sorologia. Vacas Leiteiras. Deficiência Mineral.

ABSTRACT

The purpose of the study was to measure the amount of some important trace minerals in dairy cattle such as Cu, Fe and Zn, as well as the macrominerals Ca, P and Mg more involved in diseases of dairy cows, providing a broad overview on serum mineral status in the state of Paraná. The cross-sectional study with 323 dairy cows, with age ≥ 2 years, from 34 herds of 18 municipalities and 4 regions of the state of Paraná, were sampled from August 2012 to February 2013. The samples were collected by venipuncture into mineral free tubes, centrifuged and the obtained serum frozen and stored until biochemical analysis, performed by spectroscopy using commercial kits RANDOX ©, UK. Mean values with standard deviation were: Ca - 8.07 ± 0.91 mg / dL, P - 6.11 ± 1.19 mg / dL, Mg - 2.27 ± 0.37 mg / dL; Cu - 83.64 ± 18.83 mg / dL; Zn - 93.99 ± 23.43 mg / dL; Fe - 129.24 ± 44.22 mg / dL. 66.85 % of the examined cows showed serological deficiencies at the time of analysis for one up to five mineral elements at the same time. The most prevalent deficiency was Ca. The less prevalent deficiency was P. This evaluation of dairy cattle, considered better nourished than beef cattle, demonstrated the occurrence of mineral deficiencies, including Fe, in more than 50 % of the observed cows, emphasizing the need to diagnose and monitor serum mineral levels, identifying cattle and affected herds, thereby optimizing health and animal production.

Keywords: Serology. Dairy cattle. Mineral Deficiency.

3.1 INTRODUÇÃO

Os minerais possuem diversas funções no organismo animal, como a formação do tecido ósseo (Ca, P e Mg), estabilização e proteção de membranas, transcrição de DNA e controle do ciclo celular (Zn), geração e propagação de impulsos nervosos (Ca, Na, K e Mg), participação no metabolismo energético (Fe, Co e Mg), na contração muscular (Ca) e nos processos antioxidantes (Zn, Cu, Mn Fe e Se) (Underwood e Suttle, 1999; Kaneko et al., 2008). São sete os microminerais ou minerais traços, sendo eles: o ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), iodo (I), zinco (Zn), selênio(Se) e manganês(Mn), ao passo que os macrominerais mais importantes são o cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), cloro (Cl), enxofre (S), sódio (Na) e potássio (K) (Tokarnia et al., 2010).

Tão variados quanto suas funções são os sinais clínicos de suas deficiências. Para o Ca, observa-se um quadro clássico, conhecido como febre do leite, que se estima, afete 5% de vacas no Brasil (Ortolani, 1995), e 10 % em partes da Europa (Goof, 2004). Caracteriza-se por deficiências na contração muscular, aumentando o risco para desenvolvimento de mastite e retenção de membranas fetais (Hosseini e Ardalan, 2011).

Quanto ao P, com valores prolongados abaixo de 4,0 mg/dL, pode-se encontrar fraturas ósseas frequentes e espontâneas, com marcante perda de peso, baixa taxa de eficiência reprodutiva, anestros prolongados, e sinais neurológicos associados à ingestão de ossos contaminados pela toxina botulínica (Tokarnia et al., 2010).

Em relação ao Mg, sua deficiência pode ocorrer em bezerros alimentados exclusivamente com leite, que é pobre no elemento, podendo ocorrer hiperexcitabilidade muscular, chegando à convulsão e frequentemente à morte (Smith, 2009; Tokarnia et al., 2010). Em animais adultos, pode ocorrer tetânia hipomagnesêmica, que inclui andar trôpego, contrações crônicas faciais, convulsões e morte (Tokarnia et al., 2010).

O excesso de um ou outro mineral deve ser visto clinicamente principalmente em seu efeito inibidor sobre outros minerais, como por exemplo, o excesso de Fe e Mo diminuindo a absorção de Cu, bem como excesso de Ca, reduzindo a absorção do Zn

(NRC, 2001; Kaneko et al., 2008). As intoxicações naturais são raras, com exceção do cobre (Underwood e Suttle, 1999; Smith, 2009).

Frente à escassez de dados a respeito dos perfis dos principais minerais no estado do Paraná, o objetivo do presente estudo foi a de executar uma avaliação sorológica dos minerais Ca, P, Mg, Cu, Fe e Zn em vacas de leite do estado.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 323 vacas leiteiras, ≥ 2 anos de idade, oriundos de 34 rebanhos em 18 municípios das regiões centro oriental, norte pioneiro, noroeste e região metropolitana de Curitiba, do estado do Paraná.

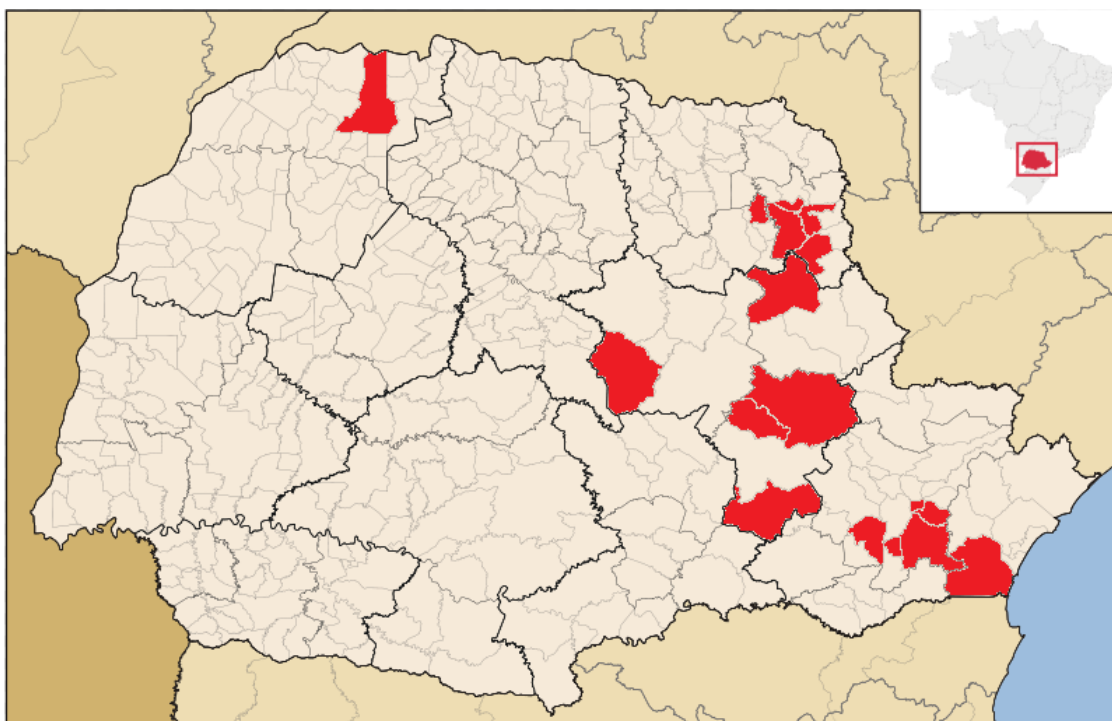


Figura 2. Mapa do Estado do Paraná, enfatizando os municípios que foram realizadas as colheitas de material (fonte: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Parana_MesoMicroMunicip.svg).

Foram colhidos ao menos 5 % dos animais de cada rebanho, no período compreendido entre agosto de 2012 e fevereiro de 2013. Classificaram-se as amostras em dois grandes grupos: o grupo 1 (G1, n=208) criados em sistemas de confinamento,

do tipo *freestall* com histórico de suplementação mineral conhecido e informado no momento da realização da colheita; o grupo 2 (G2, n = 115) formado de rebanhos em que o sistema de criação a pasto suplementado no cocho e histórico de suplementação mineral desconhecido.

Foram amostrados 323 vacas em lactação, sendo 217 das raças Holandesa (HPB & HVB), Parda Suíça, Jersey e 106 de raças taurinas azebuadas. As amostras de soro sanguíneo foram colhidas através de venopunção jugular, coccígea ou mamária, com agulha de calibre 40/12, em tubos (Falcon®) livres de minerais contaminantes. Foram centrifugadas a 2500 RPM por 20 minutos, o soro foi então separado do coágulo e congelado a -20°C até o momento da análise.

As análises bioquímicas foram realizadas por espectroscopia, utilizando-se de kits comerciais (RANDOX®, UK). Para a análise do Ca utilizou-se o método do arsenazo III; para o P a reação do fosfato inorgânico com o molibdato de amônia formando o fosfomolibdato; o Mg foi mensurado pelo método do azul de xilidil, o Cu pela técnica do 3,5-Di-Br-PAESA 4-(3,5 Dibromo – 2 piridilazo) N-ETIL-N-(3 sulfopropil) anilina, no qual o Cu ligado a ceruloplasmina é liberado e quantificado (NOMA et al., 1989). Para o Zn, o método utilizado foi o do 5-Br- PAPS (2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(N-propil-N-sulfopropilamina)-fenol), utilizando-se de solução desproteinizante (ácido tricloroacético) na proporção de 1:1, (soro desproteinizante), em seguida centrifugou-se as amostras a 10000 g por 10 minutos e a mensuração do elemento foi realizada em menos de duas horas após a centrifugação (Homsher e Zak 1985, Etsuo et. al.1982).

A análise de fosfatase alcalina foi realizada em todas as amostras para complementar a interpretação dos dados. Igualmente calculou-se a SATTF e UIBC para auxiliar na interpretação dos valores do Fe.

Na ausência de valores normais de referência para o estado do Paraná, calculou-se um intervalo de valores médios (mínimos e máximos) que foram usados como padrão (Tabela 1), obtidos da literatura de referência nacional e internacional.

Tabela 2. Valores de referência utilizados para a composição da média visando classificar os resultados das análises séricas.

AUTOR	Zn (µg/dL)		Cu (µg/dL)		Fe (µg/dL)		Ca (mg/dL)		P (mg/dL)		Mg (mg/dL)	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
(1)	50	150	50	150	57	162	9,7	12,4	5,6	6,5	1,8	2,3
(2)	60	190	60	110	110	250						
(3)	80	140	65	150								
(4)	80	120	80	120								
(5)	70	120	50	120	57	230	7,4	13	2	9,6	1,8	3
(6)					100		7,6	10,5	3	6	1,9	2,4
(7)									3,5		1,8	3,2
(8)	80	140	60	150	100	200	8	11	4,5	7	1,8	3,5
(9)			79,4	120,7			8,01	10,2	4,64	9,26	2,18	3,2
Média	70	143,33	63,48	131,52	84,8	210,5	8,14	11,42	3,87	7,67	1,88	2,93

Nota: Autores: (1) Kaneko et al.,(2008); (2) Herdt e Hoff,(2011); (3) Gadberry et al.,(2003); (4) Díaz González; Silva, (2006); (5) Díaz Gonzáles et al.,(2000); (6) Smith, (2009); (7) Tokarnia et al.,(2010); (8) Puls, (1994); (9) Fürll, (2005).

Para as análises estatísticas utilizou-se o software GraphpadPrism6©, onde verificou-se a distribuição normal dos dados através do teste de D'Agostino & Person. Para a comparação de grupos dos elementos Ca, P, Mg e Zn, utilizou-se o teste de Mann-Whitney, para o Cu utilizou-se o teste T não pareado. Para avaliação das porcentagens de animais deficientes nos dois grupos utilizou-se o teste exato de Fisher. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais PUC-PR sob nº753.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O intervalo médio calculado e que serviu de referência para a classificação das amostras colhidas e mensuradas foi para Ca de 8,14 - 11,42 mg/dL; P 4,24 - 7,67 mg/dL; Mg 1,88 – 2,93 mg/dL; Zn de 70,0 -143,33 µg/dL; Cu de 63,48 - 131,52 µg/dL; Fe de 84,8 - 210,5 µg/dL.

O G2 obteve valores menores de Ca quando comparado com o G1 (Tabela 2).

Tabela 3 - Valores médios das concentrações séricas de minerais dos grupos 1 e 2 e a frequência (%) de deficiências respectiva em bovinos leiteiros (n= 323) do estado do Paraná.

	Ca(mg/dl)	P(mg/dl)	Mg(mg/dl)	Cu(µg/dl)	Zn(µg/dl)
Grupo 1 (n=208)	8,25±0,98 ^a	6,25±1,13 ^c	2,29±0,40 ^e	86,79±19,16 ^f	97,39±22,80 ^h
Grupo 2(n=115)	7,81±0,70 ^b	5,67±1,27 ^d	2,22±0,33 ^e	77,94±16,8 ^g	85,72±23,62 ⁱ
<i>Valor de P</i>	0,0001	0,0008	0,2021	<0,0001	<0,0001
Grupo 1(% de deficientes)	43,06% ^a	2,87% ^c	13,39% ^e	7,17% ^f	10,52% ^h
Grupo 2 (% de deficientes)	66,08% ^b	7,82% ^c	13,91% ^e	18,26% ^g	23,47% ⁱ
<i>Valor de P</i>	<0,0001	0,0537	0,8686	0,0055	0,0032

Nota: Letras diferentes na mesma coluna demonstra que houve diferença estatística significativa $p < 0,05$. O grupo 1 é composto de animais confinados em sistema *Freestall* com histórico de mineralização conhecido, ao passo que o grupo 2 era composto de animais criados em sistemas em que a alimentação volumosa predominava e com histórico de suplementação mineral impreciso.

O Mg não apresentou diferença significativa entre as médias, nem para a concentração sérica e nem para a porcentagem de animais deficientes dentro dos grupos. Para o Cu 36 animais (11,14%) apresentavam valores séricos inferiores a 63,48 µg/dL e 3 animais (0,9%) apresentavam valores superiores a 131,5 µg/dL o grupo G2 apresentou menores valores séricos médios de Cu, bem como uma maior porcentagem de animais deficientes. Quanto ao Zn, encontramos 49 animais (15,17%) que apresentavam valores abaixo de 70 µg/dL, 9 deles (2,78 %) apresentavam valores superiores a 143,33 µg/dL o grupo G2 apresentou média sérica menor e número de animais considerados deficientes mais alto do que o grupo G1 (G2 23,47% contra 10,42% no G1).

A figura 3 demonstra a % acumulativa de animais com valores séricos de minerais inferiores aos valores mínimos de referência. A tabela 3 mostra um comparativo entre as médias dos dois grupos, bem como a % de animais deficientes em cada grupo. Para a fosfatase alcalina encontramos médias de $111,2 \pm 56,65$ UI para o G1, e $149,2 \pm 102,9$ ($p = 0,0011$) para o G2.

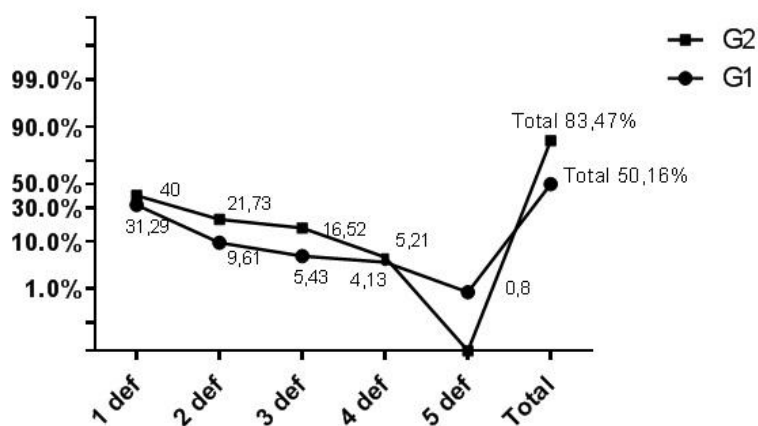


Figura 3. Frequências relativas e acumuladas de número de deficiências minerais entre o grupo 1 ($n=208$) e grupo 2 ($n=115$) em bovinos do estado do Paraná.

Tabela 4: Correlação de Pearson entre os minerais analisados no grupo G1

	Ca	P	Mg	Cu	Fe	Zn
Ca		0,2941654	0,4725828	0,3075545	0,3576714	-0,01395141
P	0,2941654		0,2227487	0,1780172	0,1357594	0,1087284
Mg	0,4725828	0,2227487		0,2859257	0,3688197	4,683615e-005
Cu	0,3075545	0,1780172	0,2859257		0,1161457	-0,08189613
Fe	0,3576714	0,1357594	0,3688197	0,1161457		0,154596
Zn	-0,01395141	0,1087284	4,683615e-005	-0,08189613	0,154596	

Tabela 5: Correlação de Pearson entre os minerais analisados no grupo G2

	Ca	P	Mg	Cu	Fe	Zn
Ca		0,3430599	0,427734	-0,01850301	0,4389844	0,3810708
P	0,3430599		0,2122453	0,09001622	0,2397284	0,4926362
Mg	0,427734	0,2122453		0,01614357	0,2448521	0,3675169
Cu	-0,01850301	0,09001622	0,01614357		-0,06763154	0,001214983
Fe	0,4389844	0,2397284	0,2448521	-0,06763154		0,4696433
Zn	0,3810708	0,4926362	0,3675169	0,001214983	0,4696433	

Os resultados obtidos demonstraram que 167 animais, dos grupos 1 e 2, ou seja 51,54% do total apresentavam teores de Ca abaixo de 8,14 mg/dL, conforme o padrão utilizado (tabela 1). Verificou-se ainda que 22,6% dos animais analisados apresentavam teores de Ca sérico inferiores a 7,5 mg/dl sendo considerados como indicativos de hipocalcemia latente. A média de Ca sérico foi menor no G2 que no G1. Valores séricos baixos de Ca podem ser encontrados em animais que ingerem compostos ricos em oxalatos como pastagens degradadas, bem como em bovinos mais velhos que tendem a apresentar menores concentrações séricas do elemento por um declínio nas respostas dos receptores intestinais de vitamina D (NRC, 2001). Os animais em períodos de parto recente podem mobilizar grandes quantidades de Ca para o leite levando a uma falha no mecanismo homeostático de manutenção da calcemia (Tokarnia et al., 2010).

Frigotto et al., (2009), trabalhando no Paraná, obtiveram valores de Ca mais altos do que a média aqui registrada, porém o enfoque foram vacas de alta produção e no período peripartal onde sabidamente ocorrem alterações nas concentrações séricas de diversos minerais. Outros fatores como os teores séricos de fosfatase alcalina e de Zn podem alterar os valores encontrados de Ca.

Somando-se os animais com valores baixos para o Zn, baixos em fosfatase alcalina e baixos em Ca, obteve-se um total de 83,67% da população observada, o que pode demonstrar uma menor capacidade de mobilização de Ca das reservas ósseas

causada pela deficiência de Zn (Kwun et. al., 2010). Também Heilig et al., (2014) relacionaram o Zn como potencial desencadeador de hipocalcemia clínica.

Os animais que atendiam ao critério de teores séricos baixos de Ca, Zn e fosfatase alcalina concomitantemente representaram 13,77 % do total de animais analisados com hipocalcemia. Teores baixos de fosfatase alcalina também podem ser encontrados em casos de deficiência de Mn, não mensurado neste trabalho (Rojas e Cassat 1965).

Para o P, 4,62% dos animais apresentavam concentrações séricas abaixo do padrão de 4,24 mg/dL, sendo que (2,78% do total) apresentavam valores inferiores a 4,0 mg/dl, o que os classifica como tendo hipofosfatemia. O grupo G2, como verificado anteriormente no Ca, apresentou teores séricos médios de P menores do que o G1, sendo que a porcentagem de animais deficientes tendeu ($p = 0,0537$) a ser maior no G2 que no G1 (2,87% contra 7,82%). Não podemos excluir a possibilidade de mais animais serem afetados por uma hipofosfatemia incipiente, pois basta que os animais ingiram quantidades suficientes de P por períodos curtos de tempo para que o valor sérico se normalize (Underwood e Suttle 1999; NRC, 2001; Tokarnia et. al., 2010). A deficiência crônica de P por outro lado não se cura rapidamente, portanto na clínica bovina deve-se analisar caso a caso, não interpretando o P inorgânico sérico isoladamente de outras manifestações clínicas como a osteofagia (Tokarnia et. al., 2010). Foram encontrados 34 animais (10,5%) que estavam com valores de P inorgânico sérico acima da média dos valores de referência.

A intoxicação pelo P não é comum de acontecer, sendo que os excessos poderão causar desconfortos abdominais, diarreia e redução da absorção de Mg. Os excessos na dieta são compensados pelo aumento da excreção fecal e salivar de P (NRC 2001, Smith 2009). Foram encontrados 4 animais (1,23% do total), que apresentavam ao mesmo tempo teores séricos elevados de P e reduzidos de Mg (1,43 a 1,7 mg/dl), porém as correlações tanto no G1 quanto no G2 foram positivas entre o P e o Mg (tabela 4 e 5).

Fontes adicionais de P que ultrapassem a 80 g por dia podem aumentar as concentrações séricas do elemento o que pode inibir a produção de vitamina D aumentando as chances de hipocalcemia puerperal (NRC, 2001). Não existe evidência de que a suplementação com P, acima do máximo recomendado, seja eficaz em melhorar os índices reprodutivos (Underwood e Suttle 1999; NRC, 2001, Bjelland et al. 2011)

O Mg apresentou valores séricos médios dentro da média dos valores de referência ($>1,88$ mg/dL) e que se aproximam dos encontrados por Roldán et. al., (2006) que variaram de $1,89 \pm 0,24$ até $2,19 \pm 0,22$ mg/dL nos períodos e regiões analisadas na Argentina. Almaráz et. al., (2007) trabalhando no México encontraram valores médios maiores do que no presente estudo (2,94 a 3,54 mg/dL), com as menores concentrações sendo encontradas em fêmeas com menores condições corporais.

Segundo Underwood e Suttle, (1999) pode haver uma variação entre grupos genéticos diferentes no que diz respeito à absorção do elemento e suas concentrações séricas. A média de deficiência e de concentração sérica do Mg não diferiu entre os grupos analisados. Existem poucos dados da ocorrência de deficiência latente de Mg no Brasil e os encontrados se relacionam a achados da análise da cinza óssea, com deficiências relatadas nas regiões do nordeste de Roraima e no Pantanal Mato-grossense (Tokarnia et. al., 2010). Vários são os fatores que interferem na absorção do Mg da dieta, e podemos incluir o excesso de adubação das pastagens com potássio, que reduz a quantidade de Mg na forragem, bem como a presença de alumínio em altas quantidades na dieta que pode reduzir a resposta ao paratormônio, a ingestão de gorduras que podem facilitar a formação de sabões insolúveis de Mg, o excesso de ingestão de potássio, que pode reduzir a atividade de bombas de sódio responsáveis pelo transporte e absorção de Mg pelas células do trato gastrointestinal (NRC, 2001; Roldán et. al., 2006; Tokarnia et al., 2010).

O Cu apresentou valores séricos médios de (G1 e G2 somados) de $83,64 \pm 18,83$ µg/dl valores superiores aos encontrados em bovinos de corte em outras regiões de nosso país (69,40 e 75 µg/dL) (Borges et. al., 2005; Valle, 2002). Borges et al., (2005),

analisando amostras hepáticas e de soro, reportaram que as concentrações séricas de Cu não se reduzem até que os estoques hepáticos tenham diminuído expressivamente. Os mesmos autores encontraram uma correlação de Cu sérico e hepático baixo (0,12 a 0,15), que variaram de acordo com o método analítico utilizado. No presente estudo 41 animais (12,69%) apresentavam valores séricos inferiores a 63,48 µg/dL, e 3 animais (0,9%) apresentavam valores superiores a 131,5 µg/dL, não ultrapassando os 140,78 µg/dL. Segundo Costa, (2011), em casos de intoxicação, na fase hemolítica, podemos encontrar valores entre 495,3 a 723,9 µg/dL o que não aconteceu neste estudo, pois as vacas eram aparentemente saudáveis. O G2 apresentou mais do que o dobro da prevalência de deficiência de Cu que o G 1.

Quanto ao Zn, encontramos um valor médio de $93,99 \pm 23,43$ µg/dL, menores do que o encontrado por Valle, 2002 (102,22 µg/dL), mas dentro dos valores de referência. 15,17% das vacas apresentavam valores abaixo de 70 µg/dL. Almáraz et. al., (2007) encontraram em seu estudo 79% das amostras de soro sanguíneo analisadas com menos de 80 µg/dL, que coincidiram com os 92 % de deficiências encontrados nas forragens o que pode ser utilizado para explicar as deficiências aqui encontradas, apesar de não terem sido feitas análises bromatológicas.

Os presentes valores, como média geral, foram próximos aos encontrados por Róldan et. al., (2006) que variaram de 87 ± 17 a 94 ± 18 µg/dL de acordo com os diferentes estados fisiológicos de gestação e lactação.

O G2 apresentou mais do que o dobro de prevalência de deficiência de Zn do que o G 1, ressaltando-se que 83,67% dos animais com teores séricos baixos de Zn, também apresentavam teores baixos de Ca; além de 8,16 % dos animais com Zn sérico baixo apresentavam valores baixos de P. Vários são os fatores que podem interferir na absorção do Zn. A sua interação com outros minerais da dieta como o Fe, Ca, Cd bem como com quelantes orgânicos como fitatos, podem reduzir a sua absorção e concentração sérica (NRC 2001). Ele é armazenado em pequenas quantidades no fígado, por isso pequenos períodos de deficiência são suficientes para causar declínio em sua concentração sérica (Kaneko et. al., 2008). Sua concentração sérica também pode estar diminuída no estresse calórico, cetose e mastite (Batista

2009), bem como pode estar implicado diretamente no metabolismo ósseo participando de fases de ativação e ação da fosfatase alcalina (Kwun et. al., 2010; Heilig et al., 2014).

Tanto o Zn quanto os demais minerais foram dosados somente no soro sanguíneo por refletir o estado momentâneo de disponibilidade do mineral para o animal (Tokarnia 2012).

Os grupos G1 e G2 eram distribuídos de maneira desuniforme nos municípios, ocorrendo uma concentração de propriedades com suplementação conhecida nos municípios mais próximos à região metropolitana e norte pioneiro. Dez municípios apresentaram Ca (n total municípios=18) com valores médios abaixo dos de referência, seguido por Cu com 2 municípios e Zn e Fe cada um com um município apresentando valores abaixo dos de referência. Nenhum município, em sua média, apresentou valores abaixo do normal para P e Mg (Tabela 6).

Tabela 6. Número de vacas analisadas, média e desvio padrão das concentrações séricas de macro e microminerais analisados, por grupo (G1 e G2) e município do estado do Paraná.

Municípios	Nº de animais	Ca	P	Mg	Cu	Fe	Zn
G1							
Arapoti	66	8,06±1,17	6,44±1,09	2,22±0,32	89,19±16,18	117,07±39,1	104,58±24,88
Castro	65	7,98±1,47	6,06±1,27	2,24±0,49	79,82±21,10	136,39±50,7	95,81±21,25
Carambeí	20	8,34±0,21	7,13±0,13	1,97±0,12	72,89±3,48	134,33±8,24	106,66±2,56
Palmeira	9	8,75±0,65	7,54±0,61	2,28±0,18	77,55±9,09	186,26±21,9	127,57±11,97
Piraquara	31	8,40±0,37	6,03±0,35	2,56±0,12	92,54±6,00	163,95±13,7	86,00±7,05
Pinhais	15	8,37±0,34	5,71±0,33	2,44±0,12	103,29±5,46	162,67±12,1	86,89±6,02
Fazenda Rio Grande	11	8,88±0,15	6,07±0,29	2,34±0,09	100,15±2,05	153,56±4,75	87,00±5,75
G2							
Reserva	37	7,57±0,58	4,95±0,62	2,05±0,23	77,10±15,95	100,93±23,68	68,24±10,64
Ortigueira	7	7,87±0,49	6,34±0,45	1,88±0,14	84,01±6,89	99,95±16,46	83,43±8,89
Tomazina	18	7,51±0,46	5,44±0,42	2,31±0,13	78,48±6,67	101,8±15,5	88,25±8,25
Wenceslau Braz	10	7,95±0,44	5,30±0,39	2,18±0,13	60,85±6,43	119,15±14,8	83,81±7,78
Conselheiro Mairinck	3	7,65±0,33	6,38±1,16	2,21±0,05	74,81±4,46	50,66±8,43	80,06±80,06
Siqueira Campos	3	7,73±0,59	6,65±1,05	2,87±0,42	82,89±5,66	67,53±11,4	98,81±25,94
Quatiguá	3	8,01±0,13	6,43±0,41	2,05±0,19	103,84±0,99	107,16±3,19	88,44±11,20
Paranavaí	8	7,97±0,17	6,64±0,30	2,40±0,11	78,63±4,29	129,88±6,75	128,08±6,28
Araucária	4	8,58±0,21	6,42±0,43	2,49±0,16	61,65±2,00	141,90±3,42	88,55±9,48
Tijucas do Sul	6	9,00±0,18	7,48±0,37	2,74±0,13	77,91±2,09	127,86±4,55	102,15±7,59
São José dos Pinhais	7	8,05±0,17	6,09±0,35	2,47±0,12	96,34±2,04	153±4,35	98,77±7,05

Nota: Em negrito os valores considerados abaixo da média, conforme padrão adotado.

Em relação ao Fe, foram encontrados 30 animais com valores séricos de Fe baixos concomitantemente com índices de saturação de transferrina (SATTF%) abaixo de 29%, o que surpreendeu pelo fato do Brasil ser considerado um país com solos e pastos abundantes em Fe (Tokarnia et al. 2010).

A média de Fe sérico foi de 129,24 ± 44,22 µg/dL, sendo que em 49 animais (15,17%), o valor sérico encontrava-se abaixo de 84,8 µg/dL, e 9 animais (2,78%) apresentavam valores séricos superiores a 210,5 µg/dL. Ao levar-se em conta o índice de saturação de transferrina, encontramos 9,28% dos animais analisados considerados como sendo deficientes no elemento.

A transferrina, representada pela CTLF, é uma proteína negativa de fase aguda de infecção, e estará diminuída em quadros inflamatórios, assim como o Fe sérico, portanto quadros infecciosos podem levar a uma queda das concentrações séricas de Fe e CTLF, sem no entanto reduzir a SATTF%, o que explica a diferença entre as baixas concentrações de Fe e a prevalência de deficiência do mesmo, também encontradas no presente estudo (Kaneko et al., 2008).

A média de CTLF foi de $334,0 \pm 79,07$ $\mu\text{g/dL}$ e a média de saturação de transferrina foi de $38,94\% \pm 10,24$. Gadberry et al., (2003), trabalhando nos Estados Unidos encontraram um valor médio de Fe sérico de 160 ± 9 $\mu\text{g/dL}$ e concluíram que a maioria dos animais estava com teores séricos de Fe maiores do que os adotados como adequados no trabalho e que são mais próximos dos por nós encontrados (130 - 140 $\mu\text{g/dL}$) não sendo encontrada deficiência.

Almaráz et al., (2007) encontraram, no México, valores que ficaram entre 178 a 240 $\mu\text{g/dL}$, sendo o maior valor encontrado no período das chuvas e concluíram não haver deficiência de Fe na região estudada, ao contrário do nosso estudo.

Rengifo et al. (2010), trabalhando com animais mestiços no Brasil, encontraram um valor médio de Fe de $138,8$ $\mu\text{g/dL}$, mais próximos, portanto dos valores por nós obtidos. Alguns bovinos deste estudo, fêmeas adultas durante a gestação, demonstravam concentrações de ferritina reduzidas, o que segundo os autores poderia ser considerado como uma fase inicial de deficiência do elemento, idéia esta reforçada pelas nas observações deste estudo.

Vários são os fatores que podem alterar as concentrações séricas do elemento, um dos principais fatores de perda crônica de sangue, e consequentemente de Fe é o parasitismo, sendo comum ocorrer deficiências de Fe onde as infecções por parasitas sugadores de sangue são intensas (Kaneko et al., 2008; Smith 2009).

As vacas analisadas no estudo, pela inspeção não apresentarem parasitismos intensos, não se pode descartar a possibilidade disto ter ocorrido em período anterior à colheita do sangue.

Os resultados demonstraram que houve diferença entre os grupos G1 e G2 na média de concentração de Fe sérico, sendo que o grupo que apresentava-se confinado em sistema de criação intensivo apresentou valores maiores de Fe sérico, (tabela 7) no

entanto não houve diferença significativa na porcentagem de animais com deficiência de Fe dentro de cada grupo, sendo que comparamos os valores médios da literatura, e também os valores isolados de 100 e 110µg/dl como limites mínimos para se determinar a existência ou não de deficiência.

Tabela 7 - Análise estatística dos grupos G1 e G2 em relação aos valores de Fe sérico e % de animais deficientes no elemento dentro de cada grupo

G1	G2	Valor de P	Autor(s)
136,90±44,776µg/dL ^a	115,27±39,709µg/dL ^b	0,0261	M. 1,2,3,4,5
Fe abaixo de 84,8µg/dL; SATT%< 29%	Fe abaixo 84,8µg/dL; SATT%< 29%		M. 1,2,3,4 e 5
9,61% ^a	11,3% ^a	0,702	
Fe abaixo de 100µg/dl e SATT%< 29%	Fe abaixo 100 µg/dL; SATT%< 29%		4 e 5
13,46% ^a	16,52% ^a	0,510	
Fe abaixo de 110µg/dL; SATT%< 29%	Fe abaixo 110 µg/dL; SATT%< 29%		2
11,3% ^a	16,52% ^a	0,340	

Nota: M = média dos autores, autores: 1, Kaneko et al., (2008); 2 Herdt; Hoff.,(2011); 3 Díaz Gonzáles et al., (2000); 4 Smith, (2009); 5 Puls, (1994)

Também podem ocorrer perdas do elemento por hemólises intravasculares causadas por protozoários (*Babesia sp.*) ou por bactérias (ex. *Anaplasma sp.*, *Leptospira sp.*), bem como por deficiência acentuada de P, que pode levar a uma hemoglobínúria puerperal, que acredita-se seja secundária a perturbações na glicólise, com consequente rompimento de hemácias (Smith, 2009; Tokarnia et al., 2010).

Algumas intoxicações por plantas (*Pteridium aquilinum*, *Ditaxis desertorum*; *Brachiaria radicans*; *Indigofera suffruticosa*) podem levar a hemoglobínúria e hematúria com perda continuada de hemácias consequentemente de Fe (Tokarnia et al., 1997; Neto et al., 2001; Smith 2009; Gava et al., 2010).

O Fe interage com oxalatos, fosfatos, fitatos e taninos, da dieta, os quais formam complexos insolúveis, reduzindo assim a sua absorção (Underwood e Suttle, 1999; NRC 2001; Kaneko et al., 2008). Alguns minerais como o Cu, Mn, Co e Mo podem interferir direta ou indiretamente na absorção do elemento, inclusive pela competição

por sítios de absorção e transportadores de metais bivalentes da mucosa do intestino (Mn e Co) (Underwood e Suttle, 1999).

3.4 CONCLUSÃO

O macromineral com a maior prevalência de deficiência foi o Ca e o macromineral com a menor prevalência de deficiência foi o P. Em sua maioria os bovinos de leite avaliados não apresentam níveis sorológicos tóxicos para o Cu. Encontrou-se deficiência de Fe nas vacas criadas no Paraná. Apesar de avaliadas vacas leiteiras, supostamente melhor nutridas, observaram-se deficiências minerais em mais da metade das vacas analisadas, ressaltando-se a necessidade da aplicação de uma ferramenta diagnóstica rotineira que permita identificar os animais acometidos de rebanhos examinados.

CAPÍTULO 4

4 PERFIL SOROLÓGICO DE MINERAIS NO PERÍODO PERIPARTAL DA VACA LEITEIRA. *(Serological observation of minerals in the transition period of the dairy cow).*

RESUMO

Os minerais são elementos essenciais ao metabolismo bovino, suas deficiências ou excessos podem acarretar diversos aspectos negativos à saúde das vacas principalmente nos períodos mais próximos ao parto. Com o intuito de se analisar os níveis e possíveis variações nos teores minerais no soro sanguíneo de vacas leiteiras de alta produção, pertencentes à Fazenda Experimental Gralha Azul - PUCPR, localizada no município de Fazenda Rio Grande – Paraná, foram colhidos e analisados o soro de 44 animais em 8 períodos diferentes no pré- (60; 30; 15 e 7 dias) e pós-parto (7; 15; 30 e 60 dias). O soro foi analisado para os macrominerais Ca, P, Mg e microminerais Fe e Cu por espectroscopia com aparelho RANDOX DAYTONA®. Observa-se uma queda dos valores séricos dos minerais avaliados nos primeiros 30 dias de período de vaca seca (Ca, Cu, Mg) e período pré-parto próximo (Fe, P), demonstrando a grande demanda por estes minerais para a finalização da gestação e preparo do colostro. O P, assim como o Fe, manteve-se em níveis fisiológicos próximos ao limite inferior do padrão durante todo o período pós-parto. Após o parto existe uma variabilidade maior dos níveis séricos (Mg e Cu) refletindo as grandes mudanças fisiológicas e de manejo, principalmente alimentar deste período.

Palavras-chave: Período Peripartal. Minerais. Vaca Leiteira.

ABSTRACT

Minerals are essential elements for the bovine metabolism, their deficiencies or excesses can affect negatively cattle health close to calving. In order to analyze these levels and possible variations in mineral content in the blood serum of high producing dairy cows, belonging to the Experimental Farm PUCPR, located in the municipality of Fazenda Rio Grande - Paraná, sera from 44 animals were analyzed in 8 different moments in pre-(60, 30, 15 and 7 days) and postpartum (7, 15, 30 and 60 days). The serum was analyzed for Ca, P, Mg, Fe and Cu through spectroscopy with RANDOX DAYTONA ®. We observed a decrease in serum concentration of the minerals evaluated in the first part of the dry cow period (Ca, Cu, Mg) and proximal pre-calving period (Fe, P), demonstrating the high demand for these minerals for the completion of pregnancy and preparation of colostrum. P, as well as Fe remained at physiological levels near to the lower limit of the standard during the postpartum period. After birth there is a greater variability in serum levels (Mg and Cu), reflecting the broad physiological and management changes, especially concerning the diet of this period.

Keywords: Transition period. Minerals. Dairy cow.

4.1 INTRODUÇÃO

As vacas que entram no período peripartal, que corresponde a três semanas antes até três semanas depois do parto, encontram-se em uma fase de mudanças fisiológicas, comportamentais e de manejo (Hidiroglou, 1980). As práticas de alimentação e manejo usadas nas últimas semanas de gestação afetam profundamente a incidência de doenças no início do período de lactação. Considera-se que o período peripartal entre o final da gestação e o início da lactação seja o estágio mais desafiador e de maior interesse do ciclo produtivo de uma vaca leiteira (Grummer, 1995; Drackley, 1999).

Neste estágio, severas alterações metabólicas, fisiológicas e anatômicas ocorrem na vaca parturiente, favorecendo a ocorrência de diferentes enfermidades que prejudicam a eficiência produtiva da futura lactação pela diminuição da produção leiteira, redução do desempenho reprodutivo e aumento na taxa de descarte, além de poder ter reflexos sobre a vida produtiva em futuras lactações (Huzzey et al., 2007).

A maioria das doenças metabólicas em vacas leiteiras (retenção de placenta, endometrite, hipocalcemia, cetose, deslocamento de abomaso e outras) ocorrem nas primeiras duas semanas da lactação (Goff e Horst, 1996). Duffield e Leblanc, (2009) acrescentam que os problemas deste período tipicamente possuem algum elemento metabólico como componente causal da doença clínica. Sintomas como a retenção de placenta e aumento do intervalo entre estros são também comuns a deficiências minerais, o que justificaria averiguar esta possível relação. No entanto, pouco tem se pesquisado sobre a influência dos minerais neste período (Goff, 2004).

O objetivo do presente estudo foi verificar a variação dos minerais Ca, P, Mg, Fe, Cu, Zn no soro de vacas no período peripartal estendido, entre dois meses antes e após o parto, da vaca leiteira.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Avaliaram-se sorologicamente 43 vacas leiteiras de alta produção da raça Holandesa, com média de 10.200 kg por lactação, com idade igual ou superior a 2 anos, sem sinais aparentes de enfermidade, pertencentes ao rebanho da Fazenda

Experimental Gralha Azul - PUCPR, localizada no município de Fazenda Rio Grande – Paraná. As colheitas de soro foram feitas em oito períodos diferentes no pré-(60; 30; 15 e 7 dias)e pós-parto (7; 15; 30 e 60 dias). As amostras de soro sanguíneo foram colhidas através de venopunção jugular, coccígea ou mamária, com agulha de calibre 40/12, em tubos (Falcon®) livres de minerais contaminantes. O sangue foi deixado para coagular em temperatura ambiente por até 6 horas. As amostras foram centrifugadas a 2500 rpm por 20 minutos, o soro foi então separado do coágulo e congelado a -20°C até o momento da análise. Para cada análise o número de amostras variou. Os critérios de exclusão foram de ordem técnico-laboratorial.

As análises bioquímicas foram realizadas por espectroscopia, utilizando-se de kits comerciais (RANDOX®, UK) em laboratório de análises clínicas da FZEA-USP em Pirassununga – São Paulo.

Para a análise do Ca foi utilizado o método do Arsenazo III, que se liga ao Ca formando um complexo colorido que é mensurado através de espectrofotometria a 660 nanômetros (nm).

Para o P utilizou-se a reação na qual o fosfato inorgânico reage com o molibdato de amônia na presença de ácido sulfúrico formando um complexo de fosfomolibdato que é mensurado a 340 nm. O Mg foi dosado pelo método do azul de xilidil, no qual este reage com o Mg em meio alcalino formando um quelato vermelho púrpura, sendo que o Ca presente na amostra é complexado ao EGTA para que não interfira na reação.

Em relação aos microminerais o Cu foi mensurado pela técnica que utiliza o 3.5-Di-Br-PAESA 4-(3,5 Dibromo – 2 piridilazo) N-ETIL-N-(3sulfopropil) anilina, no qual o Cu ligado a ceruloplasmina é liberado da mesma em pH 4,7 (ácido ascórbico), para reagir com o 3.5- Di-Br-PAESA, formando um complexo colorido estável, com intensidade de cor proporcional à concentração do elemento na amostra. Para o Zn, o método utilizado foi o do 5-Br-PAPS (2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(N-propil-N-sulfopropilamina)-fenol), utilizando-se previamente uma solução desproteinizante (ácido tricloroacético) na proporção de 1:1, (soro:solução desproteinizante), em seguida foram centrifugadas as amostras a 10.000 rpm por 10 minutos.

O Fe foi mensurado, após ter sido dissociado de sua proteína transportadora, a transferrina, em meio ácido (ácido ascórbico) e simultaneamente reduzido em sua forma ferrosa, que complexa-se com o cromógeno para gerar um cromóforo de cor azul mensurado a 595 nm.

Para a medição da capacidade ligante do Fe não saturado (UIBC) uma quantidade conhecida de Fe ferroso é adicionada ao soro em pH alcalino que irá saturar os sítios de ligação da transferrina não ocupados. A partir da soma da concentração de Fe total com a UIBC obtemos a capacidade total de ligação do Fe (CTLF). A partir da fórmula: $[Fe] \text{ sérico} / CTLF \times 100$ obtêm-se o índice de saturação de transferrina (SATTF), usado na interpretação dos resultados obtidos para o Fe. Para o SATTF foi usado o valor de 29% (Herdt e Hoff, 2011), como sendo o valor mínimo de saturação de transferrina considerado normal, a ser interpretado juntamente com a concentração sérica de Fe.

Os valores encontrados foram comparados com um valor padrão obtido através da média dos valores de referência na literatura consultada (tabela XXXXX)

Para a análise estatística foram utilizados os métodos Tukey HSD ou o teste de Bonferroni, ambos com probabilidade de acerto de 95%, na dependência do valor de variância. Correlação entre os minerais nos diferentes momentos de observação foram avaliados segundo Pearson.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao Ca encontram-se expressos na figura 4.

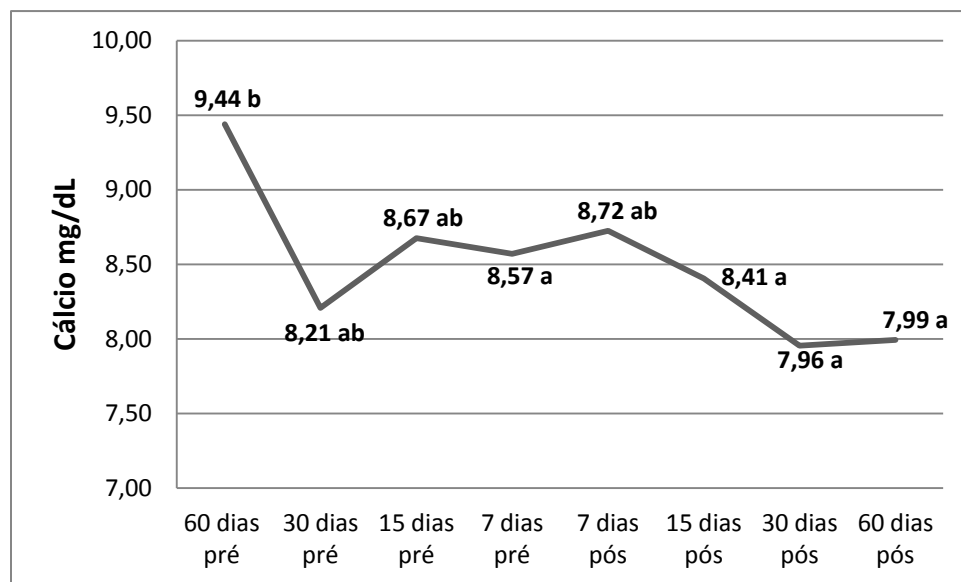


Figura 4. Valores médios das concentrações séricas de Ca no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=248), letras diferentes representam diferenças significativas entre os valores médios obtidos.

Nota-se queda nas concentrações de Ca nos períodos de um mês antes e um mês depois do parto. No período pré-parto houve uma mobilização deste mineral do sangue para a formação do feto e também do colostro, produzido neste período, que contém cerca de duas vezes maior concentração de Ca que o leite comum.

Os níveis mais baixos de Ca concentram-se nos 30 dias após o parto, talvez levando em consideração a involução uterina, que corresponde a uma grande demanda deste mineral no momento do parto (Drackley, 1999; NRC,2001), assim predispondo a vaca à hipocalcemia (Ortolani,1995).

Hädrich, (2007) observando diferentes parâmetros bioquímicos no período peripartal verificou uma queda dos níveis séricos do Ca aos 3 dias pós-parto em vacas saudáveis. No entanto, os níveis de Ca sérico se equiparam aos 28 dias pós-parto aos mesmos níveis observados 28 e 10 dias pré-parto.

A demanda no pós-parto também é proporcional à produção de leite, pois uma vaca necessita de em média 2,2 g de Ca ingerido para cada litro de leite produzido, além das quantidades indispensáveis a sua manutenção (Dantas et al.,1999). À medida que a vaca converge para o pico da lactação os níveis sanguíneos tendem a cair, principalmente em uma fase inicial onde o apetite ainda encontra-se pouco desenvolvido. O teor mais crítico apresenta-se no período de 30 e 60 dias pós-parto (Figura 4), pois é quando o animal está no seu pico de lactação.

O fato dos valores séricos de Ca nas vacas de alta produção permanecerem abaixo do limite inferior justamente no pico de lactação, pode sugerir um manejo alimentar aquém do ótimo. Logo após a secagem os valores de Ca sérico caem e permanecem em níveis relativamente baixos durante todos os momentos de observação, independentemente do advento do parto. Segundo Marçal, (1996), uma vaca com uma produção láctea de 20 litros perde diariamente de 20 a 30 gramas de Ca por ordenha.

Porém estes valores, com exceção dos valores de 30 e 60 dias pós, variaram dentro de limites considerados fisiológicos, se considerarmos o padrão adotado para o mineral Ca, que corresponde 8,08-11,4 mg/dL (tabela 2).

Os resultados referentes ao P encontram-se expressos na figura 5.

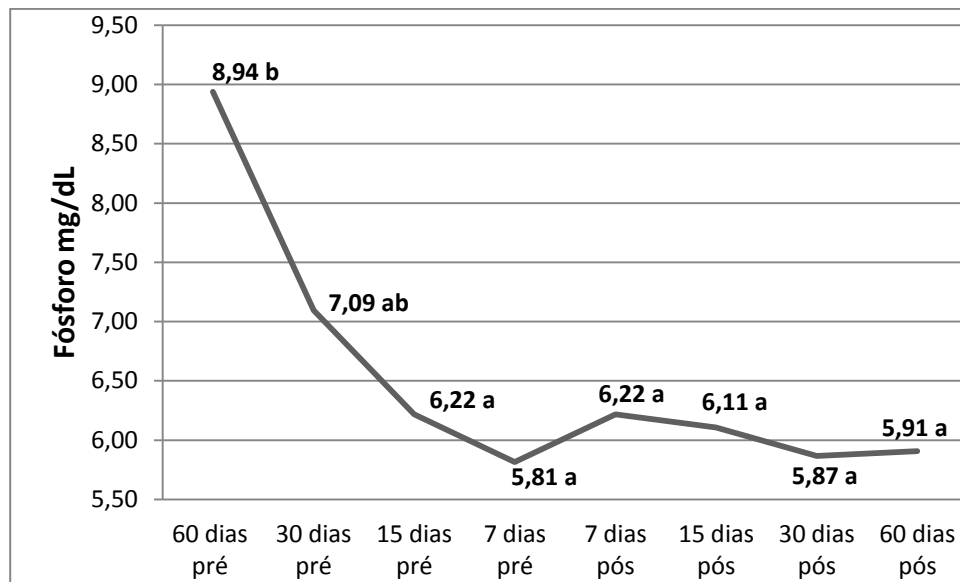


Figura 5. Valores médios das concentrações séricas de P no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=248), letras diferentes representam diferenças significativas entre os valores médios obtidos.

Os níveis de P na maioria dos períodos encontram-se dentro dos padrões fisiológicos adotados de 3,87 – 7,67 mg/dL (tabela 2). Observou-se uma queda significativa dos 60 dias pré-parto até os 7 pré-parto. Os valores séricos se mantiveram baixos até os 60 dias pós parto, sem variação estatística.

A vaca de leite perde aproximadamente 10-70 g de P por dia no leite e 30-90 g na saliva. Outras perdas menores ocorrem nas fezes, 1,2 g/kg de matéria seca e de 2-12 g na urina (Fürl, 2005). A absorção do P do alimento ocorre principalmente no intestino delgado e por reabsorção de tecido ósseo estimulado pelo paratormônio. A diminuição da ingestão por queda no apetite provoca rapidamente a diminuição dos valores séricos de P. A diminuição no apetite e portanto o início de um balanço energético negativo da vaca de leite inicia-se já alguns dias antes do parto (Hayirli et al., 1998).

Observa-se que os valores de P diminuem a partir de 30 dias pré-parto, provavelmente pela retirada do P do compartimento extracelular para o feto e na

sequência para a alta produção leiteira. Um fator de inibição da reabsorção óssea de P ao final da gestação, beneficiando o desenvolvimento ósseo fetal é a calcitonina (Swenson e Dukes, 2008). Houve uma correlação positiva ($r = 0,41$) altamente significativa entre o Ca e o P refletindo a interação dos diferentes hormônios reguladores como o paratormônio, a vitamina D e a calcitonina.

Os níveis séricos de Mg mensurados em todos os períodos não se encontraram abaixo de 1,9 mg/dL, limite inferior considerado para fins de comparação como demonstra a figura 6. Permaneceu oscilando dentro de valores padrões estabelecidos também pelo NRC, (2001); Underwood e Suttle (1999) e Róldan et al., (2006).

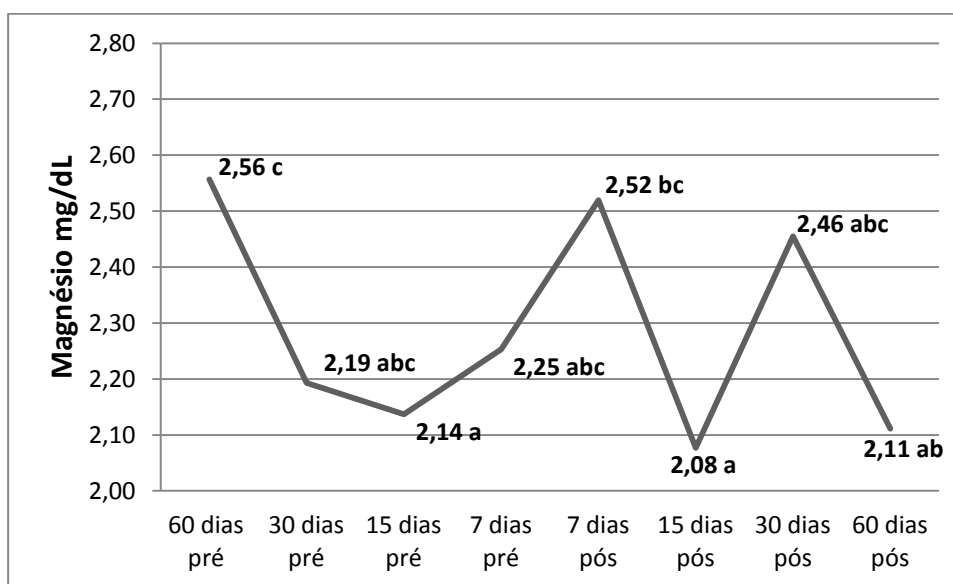


Figura 6. Valores médios das concentrações séricas de Mg no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=244), letras diferentes representam diferenças significativas entre os valores médios obtidos.

As diferenças estatísticas nos valores de Mg, apontam após uma queda inicial entre os dias 60 e 15 pré parto, para oscilações expressivas no período pós-parto.

A absorção do Mg é dependente dos valores de K e Na da ingesta, principalmente relacionados à ingestão de grande quantidade de volumoso jovem com pouca fibra e muito conteúdo de água, contribuindo também para uma aceleração da passagem intestinal (Fürrl, 2005). Como a alimentação permaneceu adequada e balanceada para cada categoria animal durante todo o período de observação, não

sendo fornecido nenhum volumoso recém-cortado como extra, outros fatores podem ter influenciado estas oscilações. Uma possibilidade é a própria mudança no ambiente da vaca, que ao passar do estágio de vaca seca para o de vaca em lactação, é introduzida em um sistema de estabulação livre com duas ordenhas diárias e em outro grupo de animais, causando considerável stress, que pode ser mensurado através de altos níveis de cortisol no período peripartal (Campos et al., 2008).

Campos et al., (2008) observaram em condições sul-brasileiras justamente o maior aumento de cortisol duas semanas após o parto o que coincide com uma das quedas observadas. O stress causa um influxo do Mg no espaço intracelular sendo retirado do espaço extracelular (Fürl, 2005).

Observando o Fe, vários são os fatores que podem alterar suas concentrações séricas, seja pela redução de sua absorção, seja pela perda do elemento absorvido através de hemorragias ou hemólise por exemplo. Doenças inflamatórias crônicas reduzem a concentração sérica de Fe, o que pode estar associado ao aumento da expressão de Inter leucinas, de lactohaptoferrina, e hepcidina, que aumentam o sequestro de Fe por parte dos macrófagos (Thrall et al., 2006; Kaneko et al., 2008). A CTLF estará aumentada em casos de deficiência primária, e poderá estar diminuída em quadros inflamatórios. O que portanto explica concentrações séricas baixas de ferro com a SATTF dentro da normalidade (Herdt e Hoff, 2011; Kaneko et al., 2008).

Com exceção dos animais em fase de amamentação, a grande maioria dos casos de deficiência está relacionada à perda crônica de sangue, que pode ser o resultado de parasitoses e parasitemias intensas, ser secundária a neoplasias, carcinomas de trato digestório, trombocitopenia ou úlceras gastrointestinais (Smith, 2009). Como os animais observados permaneceram saudáveis durante todo o período de observação, não há como relacionar estes acontecimentos possíveis com o presente experimento. Birgel, (2013) em estudos sobre parasitoses gastrointestinais de ovinos, encontraram uma redução significativa do Fe sérico aos 60 e 80 dias após o início da alimentação dos animais com o antagonista da absorção do Fe o Mn, e uma relação aparente entre o fenômeno de resiliência ao parasitismo e o melhor metabolismo de Fe nestes animais. Um dos principais fatores de perda crônica de

sangue, e conseqüentemente de Fe, é ecto- e endoparasitismo, sendo que é comum deficiências de Fe onde as infestações por parasitas sugadores de sangue são intensas (Kaneko et al., 2008; Smith, 2009).

Algumas intoxicações por plantas (*Pteridium aquilinum*, *Ditaxis desertorum*; *Brachiaria radicans*; *Indigofera suffruticosa*) podem levar a hematúria enzoótica com perda continuada de sangue e de Fe. (Gava et al., 2010; Neto et al., 2001; Smith 2009; Tokarnia et al., 1997). O Fe interage com oxalatos, fosfatos, fitatos e taninos, da dieta, os quais formam complexos insolúveis, reduzindo assim a sua absorção (NRC 2001; Kaneko et al., 2008). Alguns minerais como o Cu, Mn e Co, Mo e podem interferir direta ou indiretamente na absorção do elemento, seja por participarem da formação de enzimas como a xantina oxidase e hefaestina (Cu e Mo) ou por competirem por sítios de ligação em transportadores de metais divalentes (Mn e Co) (Underwood e Suttle, 1999).

As concentrações séricas de Fe podem se encontrar aumentadas em estados hemolíticos, na toxicose por Fe e em casos de contaminação laboratorial da amostra o que aconteceu em apenas 2,78% do total. Em casos de excesso, o Fe tenderá a se acumular no fígado, a síntese de ferritina e secundariamente de hemossiderina, aumentará para minimizar as quantidades de espécies reativas de oxigênio, que estes produzirão, diminuindo os danos às membranas celulares, organelas, e ao DNA; Quando em excesso, no intestino, ele ligar-se-á a ferritina e daí será excretado junto com as células intestinais de descamação (NRC, 2001).

A intoxicação aguda pelo Fe pode ocorrer, quando se administra por via parenteral ou oral, grandes quantidades de soluções de Fe podendo ocorrer sinais neurológicos centrais, vocalização, dispnéia, hemorragias, vômito, icterícia, diarreia, desidratação, acidose sistêmica, choque hipovolêmico e edema pulmonar (Kaneko et al., 2008). A quantidade máxima de ingestão de Fe para bovinos e ovinos é de 500 mg/kg de dieta ingerida, animais jovens apresentam uma maior absorção do elemento o que pode reduzir esta quantidade (Herd e Hoff, 2011).

Os valores das médias encontradas para os teores de Fe em todos os períodos mostraram não haver deficiência deste mineral e nem toxidez, quando comparado com o padrão fisiológico adotado, que foi de 84,8 – 210,5 µg/dL (tabela 2), corroborando com valores de Reginfo et al., (2010).

As médias das concentrações séricas do micromineral Fe referentes ao período de peripartal encontram-se na figura 7.

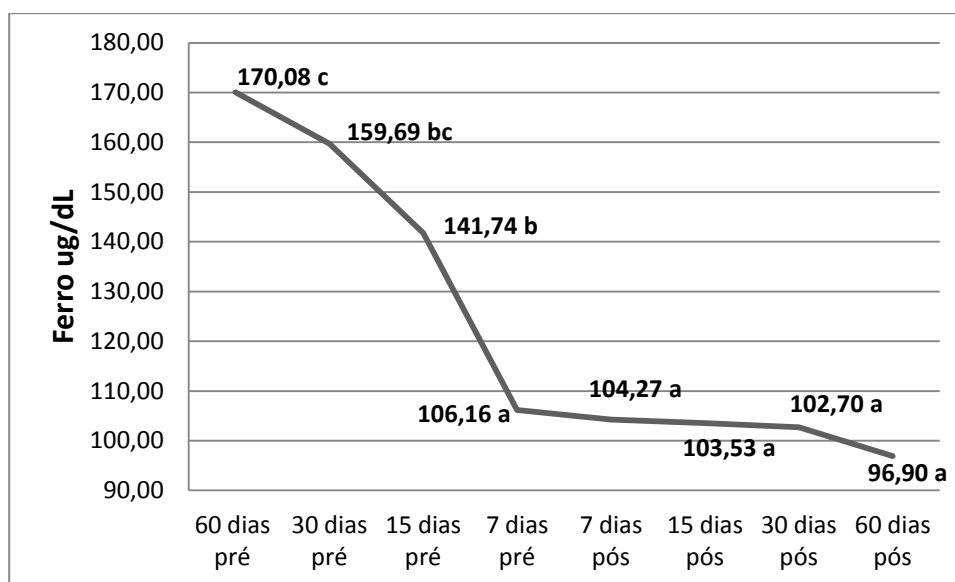


Figura 7. Valores médios das concentrações séricas de Fe no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=234), letras diferentes representam diferenças significativas entre os valores médios obtidos.

Os valores séricos observados no período entre 60 até 7 dias antes do parto, apresentam uma queda significativa. Podendo-se considerar que as taxas de Fe no organismo animal são maiores no nascimento que durante toda, as fases de sua vida e também é possível que uma taxa elevada de nutrientes, incluindo o Fe sejam exportadas para o bezerro ainda no período de gestação para a formação de tecido muscular e hematopoiético (Gonçalves, 2007; Buture, 2009; Weiss et al., 2010).

Após o parto (Fig. 7), a manutenção dos níveis relativamente baixos de Fe semelhantes ao sétimo dia pré-parto em todas as observações subsequentes pode ser causado, na ausência de fatores alimentares mais relacionados ao gado de corte como os oxalatos e taninos ao incremento da quantidade de Ca na dieta, suplementado além de uma nova ração balanceada para a produção de leite com um extra de 100 gramas

de Ca na forma de calcário calcítico por vaca. Apesar do antagonismo entre Ca e Fe (Underwood e Suttle, 1999), verificamos uma correlação positiva ($r=0,5342$) altamente significativa entre as concentrações séricas do Ca e do Fe. Ambos os minerais se comportam na fase pré-parto de maneira semelhante, pois são usados igualmente de forma intensa na formação do feto.

Os resultados das médias das concentrações séricas para o Cu, se encontram na figura 8.

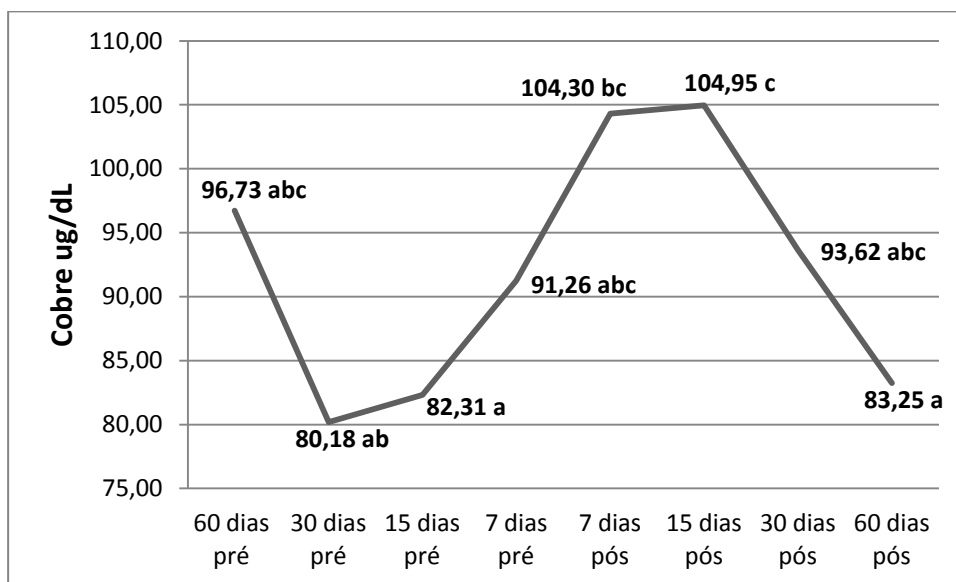


Figura 8. Valores médios das concentrações séricas de Cu no período peripartal em vacas Holandesas em 120 dias de observações (n=247), letras diferentes representam diferenças significativas entre os valores médios obtidos.

Verificou-se a ocorrência de teores mínimos deste mineral no período de 30 dias pré-parto (80,18 µg/dL) e um valor máximo nos quinze dias pós-parto (104,95 µg/dL). Todos os valores encontrados variaram no entanto dentro dos limites estabelecidos como normais entre 63,3 e 131,56 µg/dL (Puls, 1994; Davis, 2003; Gadberry et al., 2003; Fűrll, 2005; Silva, 2006; Kaneko et al., 2008; Herdt e Hoff, 2011). As propriedades avaliadas não possuem histórico nem de deficiência de Cu nem de casos de intoxicação, portanto não parece haver fatores como por exemplo contaminações por Cd, excesso de S ou Mo ou fitatos que pudessem ser responsabilizados por uma má-absorção do mineral Cu (Fűrll, 2005). Igualmente o Fe é considerado um

importante antagonista da absorção do Cu (Underwood e Suttle, 1999; Fürll, 2005), porém experimentos recentes com vacas no periparto sendo suplementadas com dietas ricas em Fe não alteraram significativamente os teores de Cu sérico (Weiss et al., 2010).

Comparativamente com gado de corte, os teores de Cu encontrados nas médias dos respectivos períodos foram superiores (Valle, 2002; Borges et al., 2005; Moura e Silva, 2006).

4.4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que houve uma queda dos valores séricos dos minerais avaliados na primeira parte do período de vaca seca (Ca, Cu, Mg) e período pré-parto próximo (Fe, P), demonstrando a demanda por estes minerais para a finalização da gestação e preparo do colostro. Após o parto o P, assim como o Fe mantiveram-se em níveis fisiológicos próximos ao limite inferior do padrão adotado durante todo o período. Uma variação maior dos níveis séricos (Mg e Cu) ocorreu no pós-parto, refletindo as grandes mudanças fisiológicas e de manejo.

CAPÍTULO 5

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de avaliadas vacas leiteiras, supostamente melhor nutridas, mais de 62 % das vacas analisadas apresentaram deficiências minerais. O macromineral com a maior prevalência de deficiência foi o Ca e com a menor foi o P. Baixos níveis de Fe foram encontrados, apesar de estudos anteriores não relatarem deficiência de Fe no Brasil, ressaltando-se a necessidade do uso rotineiro de análises minerais diagnósticas, para permitir a identificação dos bovinos com deficit ou um status sorológico mineral limítrofe de forma precoce.

Os resultados do acompanhamento sorológico mineral do período peripartal da vaca leiteira sadia corroboram a importância deste período para a saúde bovina. As alterações fisiológicas de manejo às quais as vacas de alta produção estão sujeitas foram refletidas nas variações séricas dos minerais analisados. Reforça-se a necessidade de um acompanhamento principalmente dos níveis de Ca, único elemento com níveis séricos deficientes.

Futuros estudos deverão abranger um maior número, tanto de micro- quanto de macrominerais e outros indicadores bioquímicos do soro bovino pela relativa facilidade de obtenção do soro e a necessidade de compreensão mais aprofundada dos eventos do parto nas condições brasileiras.

REFERÊNCIAS

- ARC –Agricultural research council. The nutrientes requirements of ruminant livestock. London: FNP Consultura & Comércio: Editora Argos, 2004, 498p.
- Almaráz E.M.; Vara I.D.; Ronquillo M.G.; Escutia G.J.; Ortega O.C.; Salás N.P.; Bravo M.H. Diagnóstico mineral en forraje y suero sanguíneo de bovinos lecheros en dos épocas en el valle central de México. *Técnica pecuaria en México*. v. 45, n. 3, p. 329-344, 2007.
- Alonso, M. L.; F. P. Montaña, M. Miranda, C. Castillo, Hernandez, J. L. Benedito. Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *BioMetals*, v.17, p.389–397, 2004.
- Barbosa, F.A. Sousa, G.M. Efeito dos microminerais na reprodução de bovinos. Belo Horizonte, 2009. [acesso em; 20 março 2012] Disponível em http://www.agronomia.com.br/conteúdo/artigos/artigos_efeito_microminerais.htm
- Baruselli, M.S. Minerais orgânicos: o que são, como funcionam e vantagens do seu uso em ruminantes. *II Simpósio Internacional de Patologia Clínica Veterinária. II Simpósio de Buiatria*. FMVZ- UNESP, Botucatu, SP, 2000
- Bjelland, D.W. , Weigel KA, Hoffman PC, Esser NM, Coblenz WK, The effect of feeding dairy heifers diets with and without supplemental phosphorus on growth, reproductive efficiency, health, and lactation performance. *Journal of Dairy Science*, 2011
- Batista, C G. Utilização de complexos orgânicos de minerais no pré-parto de vacas, e durante o aleitamento de bezerras Holandesas. 2009. 56 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- Boin, C. Exigências de minerais pelas categorias do rebanho bovino e funções desses nutrientes. In: Peixeto, A.M. (Ed.) *Nutrição de bovinos: conceitos básicos e aplicados*. Piracicaba FEALQ, 1993. P.407-450.
- Borges, A.S.; Amorim, R.M.; Kuchembuck, M.R.G.; Araujo, R.S.; Silva, S.B.; Benesi F.J.; Mirandola, R.; Morgano, M. Correlação entre atividade sérica de ceruloplasmina e teores sérico hepático de cobre em novilhas Nelore. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v 57, n2, p150-155, 2005.
- Borges, I., Paschoal, J. Influência dos microminerais (Cu, Mn, Se e Zn) no sistema imunológico dos bovinos. *Cadernos de Pós-Graduação da FAZU*, 2013.
- Buture, I.O. Avaliação metabólica de bovinos leiteiros no periparto como forma de diagnóstico precoce da hipocalcemia da vaca leiteira. 176f. 2009. Tese (Doutorado em Ciência Animal –Área de Concentração: Sanidade Animal)-Universidade Estadual de Londrina 2009.

Campos, R.; De Almeida Lacerda, L.; Terra, S. R., Gonzáles, F. H. D. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, n.5, p. 354-361, 2008.

Coelho da Silva, J.F. Exigências de microelementos inorgânicos para bovinos: o sistema ARC/AFRC e a experiência no Brasil. In: Pereira, J.C. (Ed.), *Simpósio Internacional sobre exigências nutricionais de ruminantes*, 1995, Viçosa. Anais ... Viçosa: Jard, 1995.p.467-504.

Church, D.C. *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición*. Editora Acribia, S.A. Zaragoza, 2003.p.641.

Costa T.N. Intoxicação por cobre aspectos clínicos e laboratoriais.2011.27f.Seminário aplicado do programa de pós graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, nível mestrado.Goiânia 2011.

Cotta, T. Minerais e vitaminas para bovinos, ovinos e caprinos/ Tadeu Cotta – Viçosa, Aprenda Fácil,2001.

Cortinhas, C. S. Fornecimento de zinco, cobre e selênio orgânicos para vacas leiteiras e efeitos sobre a qualidade e saúde da glândula mamaria. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

Dantas, M.O. et al; Avaliação dos Níveis Plasmáticos de Cálcio e Fósforo de Bovinos Leiteiros Suplementados com Ortofosfato Bicalcico e Cloreto de Sódio .*Agropecuária Técnica* .vol20 n°1.;1999-CCA/UFPB-Areia-PB.

Davis, C.L.; Drackley, J.K. Colostrum.*IN: The Development, Nutrition and Management of the Young Calf*. Iowa State University Press, 1998.p.179-206.

Duffield, T. F., Leblanc, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. *South West Nutrition and Management Conference*, p. 106-114, 2009.[atualizado em 30 Maio 2013; citado em 27 Setembro 2013] Disponível em:<http://ag.arizona.edu/ANS/swnmc/papers/2009/11%20Duffield%202%202009%20SWNMC.pdf>

Dirksen, G.; Gründer, H-D.; Stöber, M. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 4 ed. Parey Buchverlag im Blackwell Verlag GmbH, Berlin, Wien, 2002, 1325p.

Díaz González, F H. Barcellos J.;Patiño H O.;Ribeiro L A. Perfil metabólico em ruminantes seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Ed. Da UFRGS, 2000.106 p.

Díaz González F. H., Silva S.C. 2006. *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. 2 ed. Porto Alegre: Ed. Da UFRGS.2006. 358p.

Drackley, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

Fazzio, L. E. et al. Intoxicación aguda con cobre inyectable em bovinos. *Revista Medicina Veterinaria*, Buenos Aires, 2005.[citado em 7 novembro 2013]. Disponível em: http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/a_gua_y_minerales/61-intoxicacion_aguda_con_cobre.htm.

Figueiredo, J.M.; Abeledo, M. Antonia, V.E. Determinación de La prevalência de anemia em terneros em um sistema de cria artificial. *Revista electrónica de Veterinária*. v. 11, n.3, 2010.[atualizado em 21 de junho 2013, citado em 3 Novembro 2013] Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310.html>

Frigotto, A.F.; Ollhoff, R.D.; Filho, I.R.B.; Almeida, R. Parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas leiteiras de alta produção no período de peripartal. In: *Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. Ciência animal Brasileira– Suplemento 1*, 2009.

Fürll, M. Stoffwechsel- und Mangelkrankheiten in: Hofmann, W. *Rinderkrankheiten. Innere und chirurgische Erkrankungen*. 2 ed. Ulmer Verlag UTB, 2005, 666p.

Gadberry M.S.; Troxel T.R.; Davis G.V. blood trace mineral concentrations of cows and heifers from farms enrolled in the arkansas beef improvement program. *Arkansas Animal Science Departament Report*. Arkansas. p. 50-52. 2003.

Gava, A.; Deus, M.R.S.; Branco, J.V.; Mondadori, A.J.; Barth, A. Intoxicação espontânea e experimental por *Brachiaria radicans* (tanner-grass) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30,n.3.p.255-259,2010.

Graham, T. W. Trace element deficiencies in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 7(1), 153-214, 1991.

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

Goff, J. P. Micromineral disorders of the transition cow. *Veterinary clinics Food Animal Practice*, v.20, p. 471-494, 2004.

Goff, J. P.; Horst, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 1260-1268,1997.

Gonçalves, J.R; Determinação de Pb, Cd, Fe, Zn, e Cu em carnes de bovinos e Pb, Cd e P em suplementos minerais no estado de Goiás. *Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós – Graduação em Ciência Animal*. Pg. 45 ; Goiás 2007.

Haddad, C. M; Alves, F. V. "Novos conceitos e tecnologias na suplementação mineral de bovinos." *II Congresso Latino Americano De Nutrição Animal*. São Paulo. 2006.

Hädrich, G. Untersuchungen zu der Entwicklung der Körperkondition, dem peripartalen Stoffwechsel und der Morbidität von Hochleistungskühen. Tese de doutorado da Universidade de Leipzig, 2007, 121 p.

Hayirli, A., Grummer, R.R., Nordheim, E., Crump, P., Beede, D.K., VandeHaar, M.J., Kilmer, L.H., 1998. A mathematical model for describing dry matter intake of transition dairy cows. J. Dairy Sci. 81 (Suppl. 1), 269.

Hidiroglou, M. Trace elements in fetal and neonate ruminant: A review. Canadian Veterinary Journal, v.21, p.328-335, 1980.

Herdt, Th.; Hof, B. The use of blood analyses to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, v. 255 n.83, 2011.

Hossein, Z.N.G.; Ardalan, M. Cow specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. Veterinary Research Communications. v.35, p.345-354, 2011.

Huzzey, J. M.; Vieira, D. M.; Weary, D. M.; Von Keyserlingk, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. Journal of Dairy Science, v. 90, p. 3220-3233, 2007.

Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6 th ed. Burlington: Elsevier academic press, 2008, 916p

Lee, J.; Knowles, S.O.; Judson, G.J. Trace element and vitamin nutrition of grazing shepp. In: Freer, M.; Dove, H. (Eds.) *Shepp nutrition*. Carberra: CABI, 2002. p.285-311.

Mcdowell, L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3 ed., University of Florida, 92 p., 1999.

Marçal, W.S. Valores sanguíneos de bovinos Nelore em pastejo de *Brachiaria decubens*, suplementados com sal mineral naturalmente contaminado por chumbo. 1996. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.

Moraes, S. S. Principais deficiências em bovinos de corte. Embrapa. Campo Grande-MS, dezembro de 2001. www.cnpqg.embrapa.br/publicações, 28/09/2013.

Moura E Silva, F.C. .Avaliação dos valores hepáticos de elementos minerais em novilhas Nelore, criadas extensivamente, suplementadas com mistura mineral comercial/ Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Botucatu 2006.

Morgulis, S.C.F. Preço relativo dos suplementos minerais para bovinos. Disponível em [www.beef.point.com.br/bnespaçoaberto/artigo.asp?nv=1&id_artigo=25385&área,](http://www.beef.point.com.br/bnespaçoaberto/artigo.asp?nv=1&id_artigo=25385&área,29/10/2005) 29/10/2005

Neto, J.D.B.; Oliveira, C.Mc.; Peixoto, P.V.; Barbosa, I.B.P.; Ávila, S.C.; Tokarnia, C.H. Anemia hemolítica causada por *Indigofera suffruticosa* em bovinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.21, n.1, p.18-22, 2001.

NRC - (Nutrient Requirements of Dairy Cattle). Seventh Revised Edition 1996

NRC - (Nutrient Requirements of Dairy Cattle). Seventh Revised Edition 2001.

Nocek, J. E., M. T. Socha, D. J. Tomlinson The Effect of Trace Mineral Fortification Level and Source on Performance of Dairy Cattle Journal of Dairy Science., v.89, p.2679–2693, 2006.

Ortolani, E.L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia da vacas leiteiras. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.47, n.6, p.799-808, 1995.

Pechova, A.; Pavlata, L.; Lokajova, E. Zinc supplementation and somatic cell count in milk of dairy cows. Acta Veterinaria Brno, v. 75, n. 3, p. 355- 361, 2006.

Puls, R. Mineral levels in animal health. Diagnostic data. 2 ed. Sherpa International, Clear brook, Canada, 356p. 1994.

Ramos, A.M.C. Cabrera, A. Saadoun. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. Meat Science, v.91 p.116–124, 2012.

Reece, W.O.; Swenson, M.J. Dukes. Fisiologia dos animais domésticos, 12 ed., 2006, 855p.

Rengifo, S.A.; Silva, R.A.; Botteon, C.C.M.; Botteon, P.T.L. Hemograma e bioquímica sérica auxiliar em bezerros mestiços neonatos e ocorrência de enfermidades. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.62, n.4, p.993-997, 2010.

Roldan, P.V.; Gapel, C.; Baravalle, A.; Campacnoli, D.; Baldomenico, H.; Estudiodel perfil mineral em bovinos lecheros de La província de Santa Fe em distintos estados Santos, J.E.P. Efetividade do uso de minerais orgânicos para bovinos. In: Simpósio Sobre Nutrição De Bovinos, 8, 2006, Piracicaba, *Anais...FEAIQ*, p.191-213, 2006.

Silva, F.C. M. Avaliação dos Valores Séricos e Hepáticos de Elementos Minerais em Novilhas Mestiças Nelore, Criadas Extensivamente, Suplementadas com Mistura Mineral Comercial. 2007. 152 f. Dissertação (Pós – Graduação em Medicina Veterinária)- Universidade Estadual Paulista, Botucatu 2007.

Smith, B.P. Large animal internal medicine. 4th ed. St Louis: mosby, 2009, 1821p.

Swenson, M.J. & Dukes, H.H. Fisiologia dos Animais Domésticos. Ed. Guanabara-Koogan, 12 ed.; 2008.

Tokarnia, C. M. H. (comunicação pessoal): Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, email enviado no dia 13.03.2012

Tokarnia, C. H.; Peixoto, P. V.; Barbosa, J.D.; Brito, M. F.; Döbereiner, J. Deficiências Minerais em animais de produção. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2010, 200p.

Underwood, E J.,And N.F. Suttle. The Mineral of livestock 3 rev. ed. CABI Publishing, New York, NY.1999

Vanegas, J. A., J. Reynolds, E. R. Atwill Effects of an Injectable Trace Mineral Supplement on First-Service Conception Rate of Dairy Cows. Journal of Dairy Science, v.87, p.3665–3671, 2004.

Valle, S.F. Caracterização do perfil mineral em bovinos de corte em Cachoeira do Sul .(Região da depressão Central do Rio Grande do Sul).2002.92f. Dissertação .(Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre,2002.

Weiss W. P. Pinos-Rodríguez J. M., Socha, M. T.Effects of feeding supplemental organic iron to late gestation and early lactation dairy cows. Journal of Dairy Science,v.93 :2153–2160, 2010.

Wilde, D. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. Animal Reproduction Science, v.96, (3–4), p. 240–249, 2006.