

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KIALANE CRISTINA DE ALMEIDA PAGNO

CONCENTRAÇÕES DE MICROMINERAIS (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) NO FÍGADO DE
VACAS DE LEITE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

CURITIBA

2014

KIALANE CRISTINA DE ALMEIDA PAGNO

CONCENTRAÇÕES DE MICROMINERAIS (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) NO FÍGADO DE
VACAS DE LEITE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Patologia Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Co-orientador: Prof. Dr. Aldo Gava

CURITIBA

2014

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

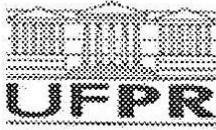
A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“CONCENTRAÇÕES DE MICROMINERAIS NO FÍGADO DE VACAS DE LEITE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL”** apresentada pela Mestranda **KIALANE CRISTINA DE ALMEIDA PAGNO** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata aprovada para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 28 de março de 2014

Professor Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Presidente/Orientador

Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch
Membro

Professor Dr. Aldo Gava
Membro



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 048/2012, referente ao projeto “Concentração hepática de cobre em vacas de produção leiteira”, sob a responsabilidade de Kialane Cristina de Almeida Pagno, na forma em que foi apresentado (uso de 54 vacas), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 29 de julho de 2013.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 048/2012, regarding the project “Hepatic copper concentration in dairy cows”, under Kialane Cristina de Almeida Pagno’s supervision, in the terms it was presented (use of 54 cows), was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on July 29, 2013.

Curitiba, 29 de julho de 2013.

Patrick Schmidt

Presidente

Ricardo Guilherme D’Otaviano
de Castro Vilani
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.

*Ao meu filho **Artur** e meu marido **Jefferson**,
meus pais **Teodomiro** e **Edile**, e irmãos **Robson** e **Andrei***

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a **Deus**, que em todos os momentos me deu força, que me permitiu chegar até aqui; coragem, para sempre seguir em frente, mesmo quando tudo parecia desabar; sabedoria, para entender e confiar em Seus planos; e fé, para compreender que as coisas acontecem da melhor maneira e na melhor hora, sempre!

Aos meus amados pais, **Teodomiro** e **Edile**, e irmãos **Robson** e **Andrei**, que estiveram ao meu lado em todos os momentos, me erguendo durante as dificuldades e se alegrando comigo a cada etapa vencida. Mesmo estando fisicamente longe, sei que estavam junto a mim sempre.

Ao meu marido, melhor amigo, paizão do meu filho e colega de profissão, **Jefferson**, obrigada por todo o apoio, não só emocional, mas também nas tarefas diárias da casa e no desenvolvimento do projeto. Sei que em muitos momentos, enquanto estive ausente estudando e trabalhando, ele foi pai e mãe para nosso filho. Sem essa parceria, nada seria possível.

Ao meu filho **Artur**, agradeço pela compreensão na minha ausência e carinho em todos os momentos. Foi por ele que sempre mantive a cabeça erguida e segui em frente.

À minha grande amiga, colega de profissão, ex-aluna e ex-monitora, **Tanaane Ienk**, por estar sempre ao meu lado me apoiando e encorajando, principalmente nos momentos difíceis e de muito trabalho.

Ao meu orientador, professor doutor **Ivan Roque de Barros Filho**, por ter me aceito como orientada e aberto a mim as portas da Universidade Federal do Paraná.

Ao meu co-orientador, professor doutor **Aldo Gava**, pelo auxílio na leitura das lâminas e interpretação dos resultados, pela amizade e confiança. Sem suas brilhantes ideias e seu profundo conhecimento, tudo teria sido mais difícil. Desejo levar para toda a vida seu exemplo de humildade e de grande mestre!

Aos professores membros do comitê de orientação, professor doutor **Peterson Triches Dornbush** e professora doutora **Rosângela Locatelli Dittrich** pelas considerações feitas no projeto de pesquisa.

Aos professores doutores **Antonio Waldir Cunha da Silva** e **Rosângela Locatelli Dittrich**, pela participação no exame de qualificação e colaboração com seus apontamentos.

Aos médicos veterinários **Carlos Couto (Bagé)** e **Viviane Luczyszyn**, do matadouro de bovinos Lagoa Grande Ltda., da cidade de Araucária, ao proprietário **Sr. João** e aos funcionários da linha de abate, por terem permitido e muitas vezes até auxiliado na coleta.

Aos motoristas dos caminhões, em especial ao **Vanderlei**, que foram de extrema importância no fornecimento da causa de descarte e procedência dos animais.

Ao Laboratório de Patologia animal da Universidade Federal do Paraná, professor **Renato Silva de Sousa**, seus residentes e técnico de laboratório, pelo auxílio no processamento do material e confecção das lâminas para histopatologia.

Ao professor doutor **José Diomedes Barbosa Neto**, seu pós-graduando **Henrique dos Anjos** e ao **Laboratório Evandro Chagas**, pelo processamento e análise química das amostras. Em especial ao Henrique, que disponibilizou seu tempo e apesar de não termos nos conhecido pessoalmente, foi um grande amigo.

Ao **Cnpq**, pela bolsa de mestrado a mim concedida.

A todos que colaboraram diretamente ou indiretamente com esta pesquisa.

À banca examinadora desta dissertação.

RESUMO

Os minerais desempenham funções essenciais para o organismo dos animais. Dietas com quantidade insuficiente de minerais ou rações desequilibradas que resultem na carência de um ou mais elementos devem ser corrigidas para que os animais que as ingerirem possam desenvolver seu potencial genético, além de se manterem saudáveis. O estudo dos desequilíbrios minerais em vacas leiteiras é escasso no Brasil, apesar da sua importância para a realização de suplementação mineral seletiva em um rebanho especializado. O Brasil ocupa a sexta posição na produção de leite mundial e o estado do Paraná a terceira em produção de leite do país, com 3.968.506 mil litros produzidos no ano de 2012. Primeiro é apresentado um capítulo de revisão sobre deficiência de cobre em ruminantes, que assim como a carência de cobalto, são as mais comuns no Brasil. Posteriormente, um capítulo com o estudo das concentrações de microminerais (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) no fígado de vacas de leite do estado do Paraná, Brasil. Para este estudo foram coletadas amostras de 50 animais da espécie bovina, adultos, da raça Holandesa, todas fêmeas, a maior parte criada intensivamente e oriunda da região dos Campos Gerais/PR, com média individual de produção de leite de 30,21L/dia. Realizou-se coleta de fígado, baço e linfonodos para determinação dos níveis de cobre, cobalto, ferro, molibdênio e zinco. Baço e linfonodo foram submetidos à análise histopatológica e avaliação do grau de hemossiderose. Foi verificado que a média das concentrações de cobre (495,05 ppm), molibdênio (4,19 ppm) e zinco (274,49 ppm) encontravam-se acima dos níveis estabelecidos para bovinos. Para o mineral cobalto, quando se considerou os valores detectados e não detectados pela metodologia, observou-se que 26% dos animais apresentaram níveis abaixo do estabelecido, o que caracterizou deficiência de cobalto nesses animais. Apenas o ferro (299,12 ppm) apresentou níveis médios adequados. Na histopatologia, marcada hemossiderose foi observada, principalmente no baço (78%), e com menos frequência nos linfonodos (20%). Apesar da criação intensiva e alimentação rica em nutrientes e minerais dos animais estudados, verificou-se a ocorrência de desequilíbrio mineral nas vacas leiteiras do estado do Paraná.

Palavras-chave: Bovinos. Deficiência mineral. Cobre. Fígado.

ABSTRACT

Minerals perform essential functions for the animals' body. Diets with mineral insufficiency or unbalanced feed portions, what results in deficiency of one or more elements, must be suited in order to animals' genetic potential development and its healthful conditions. The study of mineral imbalances in dairy cows is a scarce subject in Brazil, despite its importance for the realization of selective mineral supplementation in a specialized herd. Brazil is the sixth country in world's milk production and the state of Paraná third in national one - in a country with 3,968,506,000 liters produced in 2012. As a First step we present a review chapter on copper deficiency in ruminants, which as well as lack of cobalt, are the most common in Brazil. After that, a chapter with concentrations of trace elements (Cu, Co, Fe, Mo and Zn) study in the liver of dairy cows in the state of Paraná, Brazil. For this study, samples were collected from 50 bovine animals, adults, Holstein, all females, mostly from intensively breeding and from the region of Campos Gerais/PR, with individual average milk yield of 30,21 L/day. Liver, spleen and lymph nodes were collected to determine levels of copper, cobalt, iron, molybdenum and zinc. Spleen and lymph nodes were subjected to histopathological analysis and evaluation of hemosiderosis' degree. It was observed that the average concentrations of copper (495,05 ppm), molybdenum (4,19 ppm) and zinc (274,49 ppm) were above the levels established for cattle. To the mineral cobalt, when considering the values detected and not detected by the methodology, it was observed that 26% of the animals had levels below established, featuring cobalt deficiency in these animals. Only iron (299,12 ppm) had adequate average levels. Histopathology showed marked hemosiderosis, mainly in the spleen (78%) and less frequently in lymph nodes (20%). Despite the intensive breeding and a diet rich in nutrients and minerals from the studied animals, was verified the occurrence of mineral imbalance in dairy cows in the state of Paraná.

Key words: Cattle. Mineral deficiency. Copper. Liver.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – MAPA DO ESTADO DO PARANÁ	43
FIGURA 2 – HEMOSSIDEROSE EM LINFONODO	51
QUADRO 1 – QUANTIDADE DE AMOSTRAS COLETADAS POR MUNICÍPIO.....	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – QUANTIDADE DE ANIMAIS E CAUSAS DE DESCARTE NO ABATEDOURO.....	46
TABELA 2 – VALORES MÉDIOS DE Cu, Co, Fe, Mo E Zn NO TECIDO HEPÁTICO.....	46
TABELA 3 – QUANTIDADE E PORCENTAGEM DOS ANIMAIS DEFICIENTES, SUB-DEFICIENTES, VALORES ADEQUADOS E EM EXCESSO DE COBRE, COBALTO, ZINCO, FERRO E MOLIBDÊNIO NO TECIDO HEPÁTICO.....	47
TABELA 4 – GRAU DE HEMOSSIDEROSE EM BAÇO E LINFONODO DE VACAS DE PRODUÇÃO LEITEIRA DO PARANÁ	47

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP – trifosfato de adenosina

cm – centímetro(s)

g - grama(s)

HE – hematoxilina e eosina

kg – quilograma(s)

l - litro(s)

mg - miligrama

ml - mililitro(s)

mm – milímetro(s)

MMC - mistura mineral comercial

MT - metalotioneína

obj. – objetiva

P.A. – pro analyse

ppm – parte(s) por milhão

PR - Paraná

°C – graus Celsius

LISTA DE SÍMBOLOS

Ag - prata
Ca - cálcio
Ca - cálcio
Cd - cádmio
Cl - cloro
Co - cobalto
Cr - cromo
Cu - cobre
CuS - Sulfeto cúprico
F - flúor
Fe - ferro
Hg - mercúrio
I - iodo
K - potássio
Mg - magnésio
Mn - manganês
Mo - molibdênio
Na - sódio
NaCl - cloreto de sódio
Ni - níquel
P - fósforo
Pb - chumbo
S - enxofre
Se - selênio
Si - silício
V - vanádio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVO GERAL	17
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
REFERÊNCIAS	18
2 DEFICIÊNCIA DE COBRE EM RUMINANTES: REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 COPPER DEFICIENCY IN RUMINANTS: REVIEW.....	21
2.2 INTRODUÇÃO.....	22
2.3 ABSORÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DO COBRE	22
2.4 FUNÇÕES DO COBRE	24
2.5 INTERAÇÃO COM OUTROS MINERAIS	25
2.6 HISTÓRICO DOS ESTUDOS SOBRE DEFICIÊNCIA HEPÁTICA DE COBRE..	26
2.7 CLASSIFICAÇÃO E SINAIS CLÍNICOS	29
2.8 ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS	30
2.9 ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS	30
2.10 DIAGNÓSTICO	30
2.11 PROFILAXIA	32
2.12 CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS	34
3 CONCENTRAÇÕES DE MICROMINERAIS (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) NO FÍGADO DE VACAS DE LEITE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL	39
3.1 TRACE MINERALS (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) LEVELS IN LIVER SAMPLES OF DAIRY CATTLE FROM PARANÁ, BRASIL	40
3.2 INTRODUÇÃO	41
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	42
3.3.1 Animais e local da coleta	42
3.3.2 Coleta das Amostras	43
3.3.3 Determinação dos Parâmetros	44
3.3.3.1 Dosagens bioquímicas – fígado (Cu, Co, Mo, Fe e Zn)	44
3.3.3.2 Análise histopatológica de baço e linfonodo	45
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46

3.5 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	52
ANEXO - CAUSA DE DESCARTE, PRODUÇÃO, GRADUAÇÃO DA HEMOSSIDEROSE EM BAÇO E LINFONODO E CONCENTRAÇÕES INDIVIDUAIS DE Cu, Co, Mo, Fe E Zn NO FÍGADO DE VACAS LEITEIRAS DOS MUNICÍPIOS DO PARANÁ, BRASIL	55

1 INTRODUÇÃO

Os minerais desempenham funções essenciais para o organismo dos animais, como a participação na forma de componentes estruturais dos tecidos corporais (cálcio, fósforo); atuação nos tecidos e fluidos corporais como eletrólitos para manutenção do equilíbrio ácido-básico, da pressão osmótica e da permeabilidade das membranas celulares (cálcio, fósforo, sódio, cloro); ativadores de processos enzimáticos (cobre, manganês); integrantes da estrutura de metaloenzimas (zinco, manganês); e vitaminas (cobalto) (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010).

De 50 minerais presentes no organismo, 14 são essenciais aos processos metabólicos e por isso devem estar presentes na alimentação. São eles: cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), enxofre (S), ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), iodo (I), manganês (Mn), zinco (Zn) e selênio (Se) (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). Os primeiros sete são necessários aos animais em maior quantidade, por isso são denominados macromelementos, diferente dos últimos sete que são chamados microelementos, oligoelementos ou elementos-traço, visto que são necessários aos animais em quantidades muito pequenas. O flúor (F), molibdênio (Mo), cromo (Cr), níquel (Ni), vanádio (V) e silício (Si) foram adicionados a estas listas nos últimos anos (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010)

Dietas com quantidade insuficiente de minerais ou rações desequilibradas que resultem na carência de um ou mais elementos devem ser corrigidas para que os animais que as ingerirem possam desenvolver seu potencial genético, além de se manterem saudáveis (PEIXOTO et al., 2005). Em muitas partes do mundo, ruminantes ingerem quantidades deficientes de minerais devido ao fato dos alimentos frequentemente serem pobres em determinados elementos ou os conterem em proporções desequilibradas entre si (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; VALLE et al., 2003; PEIXOTO et al., 2005; TOKARNIA et al., 2010; MARQUES et al., 2013; DERMAUW et al., 2014).

As deficiências minerais podem se manifestar de maneiras distintas, desde alterações graves até sinais clínicos não específicos, como desenvolvimento lento, problemas de fertilidade, baixo rendimento da carcaça e pouca produção de leite (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010).

A deficiência de fósforo é a de maior importância econômica na criação de bovinos do Brasil (TOKARNIA et al., 1999; TOKARNIA et al., 2010), e as deficiências minerais de cobre e cobalto são as mais comuns (TOKARNIA et al., 1999; MORAES; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1999; TOKARNIA et al., 2010).

Muitos fatores afetam o requerimento de minerais, como nível de produção, idade, inter-relação com outros nutrientes, nível e fórmula química dos elementos minerais, raça, ingestão e adaptação animal (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). No caso do cobre, a exigência para vacas durante a lactação é de 0,15 mg/Kg de leite produzido. Em 1980, o valor preconizado era de 0,10 mg/Kg de leite produzido, onde se observa um aumento de 50 por cento nos 21 anos subsequentes (NRC, 2001). Em áreas onde a necessidade de um mineral específico é muito grande, as necessidades dos animais podem não ser cumpridas pelas misturas minerais comerciais, pois são formuladas para situações gerais (PEIXOTO et al., 2005).

A carência de Cu está amplamente distribuída em muitos estados brasileiros devido à baixa disponibilidade deste elemento nas pastagens (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000; VALLE et al., 2003; TOKARNIA et al., 2010). Ela pode ocorrer por menor aporte deste nutriente na dieta ou maior presença de outros elementos antagonizantes que diminuem a sua disponibilidade, tais como o molibdênio, enxofre, zinco e ferro (ORTOLANI, 2002; RIET-CORREA, 2004; PICCO et al., 2012).

Os sinais clínicos característicos da deficiência de Cu são anemia, pelos eriçados, mucosas pálidas, osteoporose, diarreia, hipomielinogênese congênita, morte súbita e despigmentação dos pelos ao redor dos olhos (GOONERATNE et al., 1989; LUCCI, 1997; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; NRC, 2001; RADOSTITS et al., 2002; ROSA; MATTIOLI, 2002). Já a subdeficiência do mineral pode levar ao desenvolvimento de quadros clínicos inespecíficos, como crescimento retardado dos animais jovens, baixa produção de leite e capacidade reprodutiva deficiente (GOONERATNE et al., 1989; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; RADOSTITS et al., 2002; ROSA; MATTIOLI, 2002; TOKARNIA et al., 2010).

Esta dissertação divide-se em dois capítulos: o primeiro é uma revisão de literatura sobre a deficiência de Cu em ruminantes; o segundo demonstra os resultados obtidos em dosagens dos microelementos minerais Cu, Co, Fe, Mo e Zn, em vacas de leite de alta produção, no estado do Paraná.

1.1 OBJETIVO GERAL

Definir níveis médios de microminerais hepáticos (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) em bovinos de produção leiteira.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir níveis médios de cobre, molibdênio, ferro, cobalto e zinco no fígado;
- Avaliar presença de hemossiderose em baço e linfonodo;
- Graduar a hemossiderose em baço e linfonodo;

REFERÊNCIAS

DERMAUW, V.; ALONSO, M. L.; DUCHATEAU, L.; LAING, G. D.; TOLOSA, T.; DIERENFELD, E.; CLAUSS, M.; JANSSENS, G. P. J. Trace element distribution in selected edible tissues of zebu (*Bos indicus*) cattle slaughtered at Jimma, SW Ethiopia. **PLoS ONE**, v. 9, n.1, p.1-8, 2014.

Gooneratne S.R., Buckley W.T., Christensen D.A. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. **Can J Anim Sci**, v. 69, p. 819-845, 1989.

LUCCI, C. S.; **Nutrição e Manejo de Bovinos Leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997.

MARQUES, A. P. L.; BOTTEON, R. de C. C. M.; AMORIM, E. B. de; BOTTEON, P. de T. L. Deficiência de cobre condicionada a altos teores de zinco, manganês e ferro na região do Médio Paraíba, RJ, Brasil. **Semina: Cien. Agr**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1293-1300, 2013.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.511- 513.

PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. J. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.

PICCO, S.; PONZZINIBIO, M. V.; MATTIOLI, G.; ROSA, D.; MINATEL, L.; FAZZIO, L.; SEOANE, A. Physiological and genotoxic effects of molybdenum-induced copper deficiency in cattle. **Agrociencia**, Texcoco, v. 46, p. 107-117, 2012.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no semi-árido. **Ciênc. Vet. Trópicos**, v. 7, n. 2/3, p. 112-130, 2004.

ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. **Analect Vet**, La Plata, v. 22, n. 1, p. 7-16, 2002.

Subcommittee On Dairy Cattle Nutrition, Committee On Animal Nutrition, National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7 ed. revised , 2001.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J. Sobre o “ronca”, doença de etiologia obscura em bovinos, caracterizada por respiração ruidosa. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3/4, p. 93-98, 1998.

TOKARNIA, C. H., DOBEREINER, J.; MORAES, S. S.; PEIXOTO, P. V. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos. Revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 19, p. 47-62, 1999.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO P.V. Deficiências minerais em animais de fazenda. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 91-138, 2000.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BARBOSA, J. D.; BRITO, M. F.; DÖBEREINER, J. **Deficiências Minerais em Animais de Produção**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 3. ed. London: CABI Publishing, 1999.

VALLE, S. de F.; GONZÁLEZ, F. D.; ROCHA, D.; SCALZILLI, H. B.; CAMPO, R.; LAROSA, V. L. Mineral deficiencies in beef cattle from Southern Brazil. **Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 47-53, 2003.

2 Deficiência de Cobre em Ruminantes: Revisão de Literatura

RESUMO

Em muitas partes do mundo, ruminantes ingerem alimentos com quantidades deficientes de minerais. As deficiências de cobre e cobalto são as mais comuns em bovinos no Brasil. O cobre tem a função ser um componente estrutural de macromoléculas e um cofator redox comum para várias cuproenzimas. Absorção e utilização do cobre pelos tecidos podem ser prejudicadas pela presença de antagonistas como o molibdênio, ferro, zinco, cádmio, cálcio, chumbo, mercúrio, prata e ácido ascórbico. A deficiência de cobre pode ocorrer na forma primária, quando o fornecimento na dieta é deficiente, ou secundária, quando o fornecimento na alimentação é correto, mas o seu uso pelos tecidos é impedido por antagonistas. Os principais sinais clínicos são anemia, osteoporose, diarreia, perdas devido ao baixo desempenho reprodutivo, menor desenvolvimento corporal e despigmentação dos pelos ao redor dos olhos. Na necropsia, palidez de carcaça e vísceras, além de pigmento marrom amarelado em linfonodos são encontrados. O exame histopatológico revela hemossiderose no baço, linfonodos e eventualmente no fígado e rim. Para se obter a forma correta de profilaxia e de medidas corretivas para deficiências de minerais, é preciso estudar as diversas manifestações e explorar o conjunto de exames dos dados obtidos. Este trabalho terá por objetivo revisar as funções do cobre e as alterações ligadas à sua deficiência, em bovinos.

Palavras-chave: Bovinos. Deficiência mineral. Cobre. Fígado.

2.1 COPPER DEFICIENCY IN RUMINANTS: REVIEW

ABSTRACT

In many parts of the world, ruminants are feed with deficient amount of minerals. Deficiencies of copper and cobalt are the most common in cattle in Brazil. Copper has the function to be a structural component of macromolecules, and a redox cofactor for several common cuproenzymes. Copper uptake and utilization by the tissues can be adversely affected by the presence of antagonists such as molybdenum, iron, zinc, cadmium, calcium, lead, mercury, silver and ascorbic acid. Copper deficiency can occur in the primary form, when the supply is deficient in the diet, or secondary form, when the diet supply is correct, but its use by the tissues is prevented by antagonists. Clinical signs includes anemia, osteoporosis, diarrhea, losses due to low reproductive performance, lower body development and depigmentation of hair around the eyes. At necropsy pale carcass and viscera, and yellowish brown pigment in lymph nodes are found. Histopathological examination shows hemosiderosis in the spleen, lymph nodes and eventually liver and kidney. To obtain the correct prophylactic and corrective measures to mineral deficiencies is needed to study the various manifestations and explore the set of tests of the data obtained. This work will aim to review the functions of copper and changes linked to its deficiency in cattle.

Key words: Cattle. Mineral deficiency. Copper. Liver.

2.2 INTRODUÇÃO

O papel biológico do cobre (Cu) refere-se, sobretudo, a sua atuação como agente catalítico oxidativo, estando envolvido em diversos processos metabólicos sob forma de cuproenzimas. O mineral está presente também em algumas metaloproteínas, como a ceruloplasmina, que regula a atividade da transferrina e a metalotioneína, que entre várias funções regula a absorção do zinco (Zn) e do próprio Cu (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; KANEKO et al., 2008; ORTOLANI, 2002).

A carência de Cu está amplamente distribuída em muitos estados brasileiros devido à baixa disponibilidade deste elemento nas pastagens (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000; VALLE et al., 2003; TOKARNIA et al., 2010). Pode ocorrer na forma primária, quando o fornecimento na dieta é deficiente, ou secundária, quando o fornecimento na alimentação é correto, mas o seu uso pelos tecidos é impedido por antagonistas. (RADOSTITS et al., 2002; ROSA; MATTIOLI, 2002; RIET-CORREA et al., 2007). O excesso de molibdênio (Mo) na dieta é um dos fatores mais comuns de deficiência de Cu secundária (RADOSTITS et al., 2000; PICCO et al., 2012).

2.3 ABSORÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DO COBRE

Monogástricos absorvem até 50% do Cu presente da dieta e diferem muito dos ruminantes, que apresentam uma menor absorção do mineral. Isso se deve ao processo digestivo no rúmen, que por um lado promove a redução de Cu^{+2} a Cu^{+1} , o último mais difícil de ser absorvido, e por outro lado leva à formação de sulfetos (S^{-2}) a partir de sulfatos (SO_4^{-2}), que se combinam com o Cu para formar o Sulfeto cúprico (CuS), que não pode ser absorvido (ROSA; MATTIOLI, 2002). Em vacas holandesas em lactação, a absorção de Cu foi estimada em $5,1 \pm 1,5$ % (BUCKLEY, 1991). A absorção varia também em função da raça, forma química do Cu e da presença de fatores de interferência (GOONERATNE, 1989).

As raças bovinas Simental e Charolês não são capazes de manter os mesmos níveis de cobre baseado na concentração plasmática de Cu e atividade da ceruloplasmina como a raça Angus, alimentados com a mesma dieta. Isto pode ser devido ao fato de bovinos da raça Simental absorverem e reterem menor quantidade de cobre da dieta (WARD; SPEARS; GENGELBACH, 1995).

Apesar do local e mecanismo de absorção do Cu não estarem bem esclarecidos, acredita-se que nos ruminantes a maior absorção do mineral ocorra no trato gastrointestinal, especificamente no intestino grosso, onde se liga a L-aminoácidos no lume intestinal, secretado pelos enterócitos, que atuam como carreadores do Cu para dentro da célula. Rúmen, retículo e abomaso não são locais de absorção (ROSA; MATTIOLI, 2002). A absorção do Cu é regulada pela metalotioneína. O mineral se liga principalmente à albumina e é levado para o fígado, onde fica estocado. De acordo com as necessidades, é ligado à ceruloplasmina, e então é distribuído pelo organismo do animal (ORTOLANI, 2002).

O fígado é a principal fonte de armazenamento de Cu no organismo, o que o torna órgão importante no seu metabolismo. Nele, o mineral é distribuído entre núcleo (20%), lisossomos (20%) e na fração solúvel das células do parênquima hepático (50%). A distribuição de parte do Cu nos tecidos e sangue está unida no interior de metaloproteínas, metaloenzimas ou proteínas carreadoras (GOONERATNE, 1989; ORTOLANI, 2002).

No animal recém-nascido há uma grande quantidade de Cu depositado no fígado se comparado a um animal adulto, que possui maior concentração nos outros tecidos. Para os neonatos isso representa uma reserva que será utilizada no seu rápido crescimento (KANEKO et al., 2008).

A principal via de excreção do Cu absorvido é a bile (ROSA; MATTIOLI, 2002). Buckley (1999) registrou, em vacas holandesas em lactação, uma perda biliar diária de 0,87% do Cu hepático. Esse valor pode variar entre raças conforme já comprovado por Ward et. al (1995).

2.4 FUNÇÕES DO COBRE

O Cu é superado apenas pelo Zn no que diz respeito ao número de enzimas que ativa. Esse fato torna difícil a interpretação do mecanismo de algumas anormalidades que ocorrem em rebanhos deficientes desse mineral. (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Suas principais funções são ser componente estrutural de macromoléculas e um cofator redox comum para várias oxidases e monooxidases (cuproenzimas) essenciais para a vida, podendo ciclar entre os estados reduzido e oxidado (KANEKO et al., 2008). Segundo Rosa e Mattioli (2002), as principais enzimas cobre dependentes são a ceruloplasmina, a superóxido dismutase, a tirosinase, a citocromo oxidase e a lisil oxidase. Perturbações na atividade dessas enzimas devido à deficiência de Cu podem levar a lesões ligadas às funções que aquelas desempenham (KANEKO et al., 2008).

A Ceruloplasmina é uma α -2 globulina, composta por seis átomos de Cu. Sua principal função está ligada ao transporte de ferro, pois é essencial para a redução do Fe^{+3} em Fe^{+2} , podendo apenas o último ser transportado pela transferrina. Se há deficiência de cobre, o transporte de ferro diminui, levando o animal ao desenvolvimento de anemia e acúmulo de ferro nas células, sem evidência de disfunção no órgão, chamado de hemossiderose (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; ROSA; MATTIOLI, 2002; KANEKO et al., 2008).

A Superóxido dismutase é uma enzima amplamente distribuída pelo organismo, que contém dois átomos de cobre e dois de zinco. É um importante antioxidante intracelular e atua inativando os íons superóxidos com a produção de oxigênio e peróxido de hidrogênio, o último, tóxico e inativado pelas enzimas catalase e glutathione peroxidase. Quando há depleção da superóxido dismutase, os neutrófilos não atuam adequadamente, o que leva o animal à imunossupressão (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; ROSA; MATTIOLI, 2002). Segundo Spears e Weiss (2008), isso é explicado pelo fato das células imunes terem grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados em suas membranas, o que as torna muito suscetíveis à peroxidação.

A enzima tirosinase está envolvida no processo de pigmentação, pois participa na oxidação da tirosina, que dará origem à melanina (ROSA; MATTIOLI,

2002). Bovinos com baixos níveis de tirosinase apresentam pelos despigmentados, principalmente ao redor dos olhos, sinal clínico conhecido como acromotriquia (TOKARNIA et al., 2010).

Citocromo oxidase é uma enzima terminal da cadeia respiratória. Cataliza a transferência de quatro elétrons de oxigênio e forma duas moléculas de água e ATP. É essencial para a manutenção da vida do animal e a diminuição nos níveis dessa enzima no organismo pode levar à anóxia, degeneração neuronal e hipertrofia cardíaca (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; ROSA; MATTIOLI, 2002).

A função da enzima lisil oxidase é a de promover a desaminação oxidativa de resíduos da lisina nas fibras de colágeno e elastina. Desta forma, essas fibras formam uma ponte reticulada que proporciona resistência mecânica e todas as características funcionais. Animais com deficiência de cobre e consequente baixa dessa enzima podem apresentar má formação dos ossos e até defeitos cardiovasculares ligados à formação de artérias (ROSA; MATTIOLI, 2002; KANEKO et al., 2008).

2.5 INTERAÇÃO COM OUTROS MINERAIS

A absorção e utilização do cobre pelos tecidos podem ser prejudicadas pela presença de antagonistas como o molibdênio, ferro (Fe), zinco, enxofre (S), cádmio (Cd), cálcio (Ca), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), prata (Ag) e ácido ascórbico (RIET-CORREA et al., 2007).

O molibdênio e enxofre foram identificados como os antagonistas do Cu de maior importância (GOONERATNE, 1989; ROSA; MATTIOLI, 2002; PICCO et al., 2012).

A concentração de cobre, enxofre e molibdênio nas pastagens e forragens - dependendo da espécie da planta, uso de fertilizantes e condições do solo – pode variar. Além disso, uma pequena mudança na concentração de Mo e S na forragem, que acontece naturalmente nos alimentos, pode provocar mudança na absorção, distribuição e excreção do Cu, levando a sinais clínicos de deficiência ou intoxicação (GOONERATNE; BUCKLEY; CHRISTENSEN, 1989; PICCO et al., 2012; MARQUES et al., 2013).

Os bovinos são mais suscetíveis à deficiência de Cu secundária induzida pelo Mo do que as ovelhas, mas estas são mais suscetíveis à intoxicação por aquele mineral (GOONERATNE; BUCKLEY; CHRISTENSEN, 1989).

FORAGEM com alto nível de S provoca baixa disponibilidade de Cu, manifestada por baixo nível plasmático e clinicamente por descoloração da pelagem e baixo ganho de peso (VÁSQUEZ; HERRERA; SANTIAGO, 2001).

O mecanismo pelo qual as concentrações elevadas de ferro e zinco na dieta podem reduzir as reservas de Cu e induzir sua deficiência nos animais tem sido atribuído principalmente à diminuição da absorção do mineral via aprisionamento deste na forma de metalotioneína em células da mucosa intestinal e subsequente descamação destas células no lúmen intestinal (HALL; YOUNG; BREMNER, 1979; MARQUES et al., 2013).

Xiao-yun et al. (2006) relatam uma doença que acomete os iaques (*Bos grunniens*), na região oeste do planalto tibetano, secundária à deficiência de Cu, causada pela alta quantidade de ferro nas forragens. Denominada localmente como “swayback ailment”, leva o animal a desenvolver apetite depravado, crescimento retardado, diarreia, discinesia e hiperlordose.

2.6 HISTÓRICO DOS ESTUDOS SOBRE DEFICIÊNCIA HEPÁTICA DE COBRE

A primeira descrição de deficiência de Cu no Brasil parece ser aquela descrita por Tokarnia, Mitidieri e Affonso (1959) no estado do Piauí, em bovinos que apresentavam mau estado nutricional.

Análises químicas de fígado de oito cordeiros da costa do Piauí, que apresentavam perturbações de locomoção, revelaram valores baixos em todas as amostras examinadas (Tokarnia et al., 1966).

Tokarnia et al. (1968), em levantamento à deficiência de microminerais no Norte e Nordeste do Brasil, de 85 amostras de fígado coletadas de bovinos e ovinos, 11 apresentaram subdeficiência e 39 deficiência do mineral Cu.

Em Santa Catarina, foram determinados valores deficientes de Cu em amostras de fígados de 12 bovinos de 14 analisados, com valores de deficiência variando de quatro a 15 ppm. Apenas um animal apresentou subdeficiência (54

ppm). Neste mesmo trabalho, suspeitou-se de deficiência mineral devido à produção dos animais ser inferior à esperada. No Rio de Janeiro, de 35 animais examinados, sete apresentaram valor deficiente (de 4 a 45 ppm) e, outros sete, valor subdeficiente (de 64 a 96 ppm) de Cu no fígado (TOKARNIA et al., 1971), visto que os valores sugeridos como indicadores da deficiência de Cu variam entre 0 a 50 ppm (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; MORAES; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1999).

Em um levantamento de deficiências minerais, realizado em seis fazendas do norte do Mato Grosso, dedicadas à cria, recria e engorda de bovinos nelores, foi mensurado o nível de Cu no solo, forrageiras e fígado dos animais. Os autores encontraram níveis deficientes de Cu no solo de cinco fazendas e nas forrageiras em quatro fazendas, porém os níveis hepáticos estavam normais nos animais das seis fazendas. Os níveis de Cu no fígado dos bovinos na época chuvosa eram menores que na de seca (SOUZA et al., 1980).

Sousa, Nicodemo e Darsie (1980) coletaram amostras de solo, forrageira e fígado, de seis regiões a Nordeste do Território Federal de Roraima. Apesar dos níveis de Cu baixos nas forrageiras, os valores médios de Cu hepático de vacas em lactação e animais jovens, encontravam-se entre 157-271 ppm e 120-262 ppm, respectivamente.

Em estudo à “doença do peito inchado”, doença que ocorre no município de Urubici/SC, Tokarnia et al. (1989) verificaram níveis normais de Cu em 6 amostras de fígado coletadas por meio de necropsia.

Fichtner et al. (1990) analisaram amostras de fígado de 30 vacas e 30 bezerros, colhidas por meio de biópsia, no município de Rio Verde, Goiás e encontraram teores normais de Cu em todo o material.

Foram determinados os níveis de Cu de 365 amostras de fígado procedentes de bovinos da área de influência do Laboratório Regional de Pelotas. As concentrações de cobre iguais ou inferiores a 25 ppm (matéria seca) foram de 31,34% e 31,16% das amostras dos fígados de vaca e novilhos de abate, respectivamente, e em materiais de necropsia, de 36,36%, o que evidencia a depleção dos níveis hepáticos do mineral na região (BONDAM; RIET-CORREA; GIESTA, 1991).

Em estudo às doenças associadas à carência de Cu em Bovinos no Rio Grande do Sul, foram analisados teores do mineral em 11 amostras de cinco surtos de morte súbita, que ocorreram entre 1986 e 1990. Todos os animais eram

deficientes de Cu, sendo o maior nível encontrado de 8,4 ppm de Cu (RIET-CORREA et al., 1993).

Moraes, Silva e Döbereiner (1994), ao pesquisarem a importância de um possível desequilíbrio de microelementos na etiologia da “cara inchada”, obtiveram teores de Cu deficientes na maioria dos bovinos estudados na região de Rondonópolis, independentemente de serem afetados pela “cara inchada” ou não.

Lisbôa et al. (1996), em dosagem de elementos minerais de fígado de bovinos acometidos pelo botulismo epizootico, realizada na região de Botucatu/SP, observaram níveis normais de Cu nas amostras de 28 vacas de corte analisadas.

No Brasil, tem sido diagnosticada no Piauí, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul uma doença conhecida como "ronca". Sua principal característica é a respiração ruidosa, intensificada com a movimentação dos animais. Está associada a valores muito baixos de Cu e extremamente altos de ferro no fígado (TOKARNIA et al., 1971; TOKARNIA et al., 1999; MORAES, TOKARNIA, DÖBEREINER, 1999). Em estudo à doença, realizado por Tokarnia e Döbereiner (1998) nos três estados onde ocorre, de 14 amostras hepáticas, 12 apresentaram severa deficiência de Cu, com valores que variaram de zero a 30 ppm.

Tokarnia et al. (1999) realizaram revisão dos trabalhos sobre deficiência mineral realizados no Brasil de 1987 a 1998 e concluíram que a maior parte dos solos brasileiros apresenta deficiência de Cu nas forragens. Além disso, obtiveram valores deficientes para o mineral em 28 e subdeficientes em 30 amostras de fígado, de um total de 163 coletadas.

Santos et al. (2006), em avaliação de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros no estado de Pernambuco, observaram níveis de Cu hepático deficientes em cinco, de seis animais necropsiados.

No experimento realizado por Legleiter e Spears (2007), os autores observaram que apesar de deficientes em Cu, os animais não apresentaram sinais clínicos característicos.

Níveis de Cu marginais foram detectados por Marques et al. (2011), no fígado de 141 ovinos e 141 caprinos, no estado de Pernambuco.

Pinheiro et al. (2011), em levantamento na Ilha de Marajó/PA, detectou teores de Cu deficientes, no fígado de 104 bubalinos,.

As últimas pesquisas sobre o assunto no Brasil mostram que, apesar de ser uma importante deficiência, ainda há poucos estudos em muitos estados do país

(MORAES; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1999). No Paraná, não foram encontrados levantamentos sobre níveis de Cu em animais de produção.

2.7 CLASSIFICAÇÃO E SINAIS CLÍNICOS

A deficiência Cu pode ocorrer na forma primária, quando o fornecimento na dieta é deficiente, ou secundária, quando o fornecimento na alimentação é correto, mas o seu uso pelos tecidos é impedido por antagonistas. (RADOSTITS et al., 2002; ROSA; MATTIOLI, 2002).

Em bovinos adultos, os sinais clínicos ficam evidenciados na época das chuvas, pois, apesar da grande oferta de pastagem, os animais emagrecem (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; TOKARNIA et al., 2000).

A deficiência primária de Cu é responsável pelo desenvolvimento de sinais clínicos como: anemia, pelos eriçados, mucosas pálidas, osteoporose, diarreia, hipomielinogênese congênita, morte súbita, baixo desempenho reprodutivo, menor desenvolvimento corporal e despigmentação dos pelos ao redor dos olhos. Na deficiência secundária de cobre, o animal pode apresentar diarreia crônica, quando esta é causada pelo excesso de molibdênio na alimentação, ou falhas cardíacas e ossos frágeis que são facilmente fraturados (GOONERATNE et al., 1989; LUCCHI, 1997; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; NRC, 2001; RADOSTITS et al., 2002.; ROSA; MATTIOLI, 2002).

Além destas manifestações, a subdeficiência do mineral pode levar ao desenvolvimento de quadros clínicos inespecíficos, como crescimento retardado dos animais jovens, baixa produção de leite e capacidade reprodutiva deficiente (GOONERATNE et al., 1989; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; ROSA; MATTIOLI, 2002). Vacas alimentadas com dietas deficientes em Cu, produzem bezerros com deficiência do mineral ainda antes do desmame (GENGELBACH; WARD; SPEARS, 1994).

Um recente relato sugere que a associação da deficiência de Cu e Se tenha levado novilhas da raça holandesa a desenvolverem laminite (EDMONDSON, 2013).

Ward e Spears (1997) concluíram que, com a adição de 5 mg de Cu /Kg de matéria seca a dietas que contém baixas concentrações de Cu, houve alterações à performance do animal e as características de carcaça, na raça Angus.

2.8 ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS

As principais lesões observadas na necropsia estão relacionadas ao quadro clínico do animal. Pode ser encontrada palidez de carcaça e vísceras, despigmentação dos pelos, aparência raquítica dos ossos, manchas brancas no miocárdio e pigmento marrom amarelado em baço, linfonodos e eventualmente no fígado (TOKARNIA et al., 1968; TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA, 2007).

2.9 ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS

O exame histopatológico revela hemossiderose no baço, linfonodos e eventualmente em fígado e rim, devido ao acúmulo de ferro. Outra lesão já descrita é caracterizada por córtex e trabéculas finos e epífises largas. Degeneração dos axônios e da mielina nos tratos cerebelar e motor da medula espinhal pode ser encontrada em animais jovens. Em casos raros, encontra-se atrofia e fibrose do miocárdio. (TOKARNIA et al., 1971; TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA, 2007).

Segundo Tokarnia et al. (2010), bovinos de uma mesma região que apresentarem marcada hemossiderose, em geral, possuem deficiência de Cu.

2.10 DIAGNÓSTICO

Para se empregar a forma correta de profilaxia e de medidas corretivas para deficiências de minerais, é preciso estudar as diversas manifestações e explorar o conjunto de exames dos dados obtidos. A primeira parte do diagnóstico deverá

consistir em anamnese, exame físico, no qual o animal deverá apresentar anemia, pelos eriçados, mucosas pálidas, diarreia, baixo desempenho reprodutivo, menor desenvolvimento corporal e despigmentação dos pelos ao redor dos olhos (GOONERATNE et al., 1989; LUCCI, 1997; NRC, 2001; RADOSTITS et al., 2002.; ROSA; MATTIOLI, 2002). Além disso, a realização de necropsia, que revelará palidez de carcaça e vísceras, despigmentação dos pelos, aparência raquítica dos ossos, manchas brancas no miocárdio e pigmento marrom amarelado em baço, linfonodos e eventualmente no fígado (TOKARNIA et al., 1968; TOKARNIA et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002) e análises histopatológicas, que deverão conter hemossiderose no baço, linfonodos e eventualmente em fígado e rim (TOKARNIA et al., 1971; TOKARNIA et al., 2000; RIET-CORREA, 2007). Na maioria das deficiências minerais e, em especial quando não acentuadas, a determinação do quadro clínico-patológico, apesar de muito importante, não é suficiente (TOKARNIA et al., 1999; TOKARNIA et al., 2000). A análise de material proveniente dos animais permite verificar de forma mais direta, com maior rapidez e facilidade, as deficiências existentes, com menor risco de erros na interpretação dos resultados (PEIXOTO et al., 2005). Segundo TOKARNIA et al. (2000), amostragens de fígado e osso permitem obter conclusões bastante seguras sobre a ocorrência de deficiências minerais em extensas regiões, com um número relativamente pequeno de amostras, pois retrata a contribuição do ambiente total (água, forragem e solo). Para interpretação dos valores analíticos do fígado, são considerados para o micromineral Cu, os seguintes teores que indicam: 0-50 ppm, deficiência; 51-100 ppm, subdeficiência; acima de 101 ppm, índice adequado (TOKARNIA et al., 1968; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Solos com concentrações de Cu menores que 0,6 ppm são considerados deficientes para culturas e pastagens. As forrageiras devem apresentar no mínimo 4 ppm do mineral para serem consideradas adequadas, quando não há interação com outros minerais (NRC, 2001).

Amostras de fígado para o diagnóstico requerem uma forma invasiva de coleta e o Cu plasmático e a atividade da ceruloplasmina plasmática podem, erroneamente, superestimar os níveis de Cu durante o estresse e a inflamação (DISILVESTRO, 1990). Diante disso, o biomarcador plasma diamino oxidase (DAO) pode servir como uma ferramenta efetiva para se definir os níveis de Cu e

diagnosticar sua deficiência nos bovinos, porém mais estudos sobre a técnica ainda são necessários (LEGLEITER, SPEARS 2007).

2.11 PROFILAXIA

Animais que recebem dietas desequilibradas ou com quantidade insuficiente de minerais poderão ter carência de um ou mais desses. Para que os mesmos possam desenvolver seu potencial genético e se manter saudáveis, suas dietas deverão ser corrigidas. Para isso, a adubação pode disponibilizar alguns minerais, além de, eventualmente, melhorar a produção de massa verde da forragem – porém, esse procedimento normalmente é antieconômico em relação à atividade pecuária (PEIXOTO et al., 2005; TOKARNIA et al., 2010; RIET-CORREA et al., 2001).

Segundo Peixoto et al. (2005), atualmente a suplementação mineral no Brasil é realizada principalmente por meio de: 1) Utilização de uma mistura mineral comercial (MMC); 2) Compra de MMC formulada com base em estimativas de deficiência realizadas através de análises de solo e de forrageiras de sua propriedade; 3) Fornecimento apenas de cloreto de sódio (NaCl); 4) Ausência de suplementação mineral ao rebanho; 5) Suplementação irregular e descontínua com MMC ou com o cloreto de sódio; 6) Diluição de MMC com sal comum.

Muitos fatores afetam o requerimento de minerais, como nível de produção, idade, inter-relação com outros nutrientes, nível e fórmula química dos elementos minerais, raça, ingestão e adaptação animal (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). No caso do cobre, a exigência geral é de 10 ppm do mineral na matéria seca da ração final, porém para vacas durante a lactação o valor é de 0,15 mg/Kg de leite produzido (NRC, 2001). Além disso, deve-se lembrar de que a absorção e utilização do cobre pelos tecidos podem ser prejudicadas pela presença de antagonistas como o molibdênio, ferro, zinco, cádmio, cálcio, chumbo, mercúrio, prata e ácido ascórbico (RIET-CORREA et al., 2001). No caso do molibdênio, o indicado é que não ultrapasse 10 mg/kg da matéria seca (NRC, 2001).

No experimento realizado por Malafaia et al. (2004), foi observada economia superior quando se utilizou a mistura mineral seletiva, que é fundamentada no fornecimento exclusivo do(s) mineral(is) deficiente(s) e na(s) quantidade(s)

necessária(s). Essa informação é de extrema importância, visto que os custos com suplementação mineral no Brasil estão na 2ª ou 3ª posições dos custos totais de produção.

2.12 CONCLUSÕES

É indiscutível a importância da deficiência de Cu no Brasil. Níveis deficientes do mineral em fígado de bovinos e/ou em amostras de pastagens e solo foram descritos em vários estados brasileiros, porém nos estados do Paraná, Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Tocantins, Roraima, Acre e Rondônia não foram encontrados dados referentes ao assunto.

Aspectos do metabolismo e da deficiência de Cu em bovinos ainda são pouco conhecidos. Talvez a maior necessidade esteja em definir mais precisamente as consequências da doença no sistema imunológico, na função reprodutiva e de crescimento, que podem passar despercebidas quando há subdeficiência, causando perdas importantes de produção. De qualquer forma, ainda há muitas dúvidas na identificação de parâmetros que indiquem com exatidão o momento em que estes transtornos começam a afetar o rebanho. Enquanto isso, o diagnóstico deve se basear nos valores de referência, nas medidas de Cu no fígado e na atividade de enzimas dependentes do mineral.

REFERÊNCIAS

BONDAM, E. F.; RIET-CORREA, F.; GIESTA, S. M. Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3/4, p. 75-80, 1991.

BUCKLEY, W. T. A kinetic model of copper metabolism in lactating dairy cows. **Can. J. Anim. Sci.**, Ottawa, v. 71, p. 155-166, 1991.

DERMAUW, V.; ALONSO, M. L.; DUCHATEAU, L.; LAING, G. D.; TOLOSA, T.; DIERENFELD, E.; CLAUSS, M.; JANSSENS, G. P. J. Trace element distribution in selected edible tissues of zebu (*Bos indicus*) cattle slaughtered at Jimma, SW Ethiopia. **PLoS ONE**, v. 9, n.1, p.1-8, 2014.

DISILVESTRO R. A. Influence of dietary copper, copper injections and inflammation on rat serum ceruloplasmin activity levels. **Nutr. Res.**, Nova York, v. 10, n. 3, p. 355-358, 1990.

EDMONDSON, P. Lameness in heifers associated with selenium and copper deficiencies. **Vet. Rec.**, London, v. 172, n. 14, p. 372, 2013.

FICHTNER, S. S.; PAULA, de A. N.; JARDIM, E. C.; SILVA, E. C.; LOPES, H. O. da S. Estudo da composição mineral de solos, forragens e tecido animal de bovinos do município de Rio Verde, Goiás. IV – Cobre, Molibdênio e Selênio. **Anais Esc. Agron. e Vet.**, Goiânia, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1990.

GENGELBACH, G. P.; WARD, J. D.; SPEARS, J. W. Effect of dietary copper, iron, and molybdenum on growth and copper status of beef cows and calves. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 72, p. 2722-2727, 1994.

GOONERATNE, S. R.; BUCKLEY, W. T.; CHRISTENSEN, D. A. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. **Can. J. Anim. Sci.**, Ottawa, v. 69, p. 819-845, 1989.

HALL, A. C.; YOUNG, B. W.; BREMNER, L. Intestinal metallothionein and the mutual antagonism between copper and zinc in the rat. **J. Inorg. Biochem.**, v. 11, p. 57-62, 1979.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic animals**. 6. ed. New York: Academic Press, 2008.

LEGLEITER, L. R.; SPEARS, J. W. Plasma diamine oxidase: A biomarker of copper deficiency in the bovine. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 85, p. 2198-2204, 2007.

LISBÔA, J. A. N.; KUCHEMUCK, M. R. G.; KOHAYAGAWA, A.; BOMFIM, S. R. M.; SANTIAGO, A. M. H.; DUTRA, I. S. Resultados de patologia clínica e dosagens de elementos minerais em bovinos acometidos pelo botulismo epizootico no estado de São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 4, p. 91-97, 1996.

LUCCI, C. S.; **Nutrição e Manejo de Bovinos Leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997.

MALAFAIA, P.; PEIXOTO, P. V.; GONÇALVES, J. C. S.; MOREIRA, A. L.; COSTA, D. P. B.; CORREA, W. S. Ganho de peso e custos em bovinos de corte submetidos a dois tipos de suplementos minerais. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 46-50, 2004.

MARQUES, A. P.; RIET-CORREA, F.; SOARES, M. P.; ORTOLANI, E. L.; GIULIODORI, M. J. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 21-32, 2003.

MARQUES, A. P. L.; BOTTEON, R. de C. C. M.; AMORIM, E. B. de; BOTTEON, P. de T. L. Deficiência de cobre condicionada a altos teores de zinco, manganês e ferro na região do Médio Paraíba, RJ, Brasil. **Semina: Cien. Agr.**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1293-1300, 2013.

MARQUES, A. V. dos S.; SOARES, P. C.; RIET-CORREA, F.; MOTA, I. O. da; SILVA, T. L. de A.; BORBA NETO, A. V.; SOARES, A. P.; ALENCAR, S. P. de. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibdênio e zinco em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, p. 398-406, 2011.

MORAES, S. S.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Deficiências de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 19-33, 1999.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.511- 513.

PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. J. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.

PICCO, S.; PONZZINIBIO, M. V.; MATTIOLI, G.; ROSA, D.; MINATEL, L.; FAZZIO, L.; SEOANE, A. Physiological and genotoxic effects of molybdenum-induced copper deficiency in cattle. **Agrociencia**, Texcoco, v. 46, p. 107-117, 2012.

PINHEIRO, C. P.; BOMJARDIM, H. A.; ANDRADE, S. J. T.; FAIAL, K. C. F.; OLIVEIRA, C. M. C.; BARBOSA, J. D. Níveis de fósforo, cobre, cobalto e zinco em bubalinos (*Bubalus bubalis*) na Ilha de Marajó, Estado do Pará. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 3, p. 193-198, 2011.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RIET-CORREA, F.; BONDAN, E. F.; MÉNDEZ, M. C.; MORAES, S.S.; CONCEPCIÓN, M. R. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v.13, n.3/4, p. 45-49, 1993.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no semi-árido. **Ciênc. Vet. Trópicos**, v. 7, n. 2/3, p. 112-130, 2004.

RIET-CORREA, F. Deficiência de cobre. In: Riet-Correa, F.; Schild, A. L.; Lemos, R. A. A.; Borges, J. R. J. (Eds). **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. Vol. 2. Santa Maria: Pallotti. p. 239-248, 2007.

ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiência de cobre en los bovinos. **Analect Vet**, La Plata, v. 22, n. 1, p. 7-16, 2002.

SANTOS, N. V. M. dos; SARKIS, J. E. de S.; GUERRA, J. L.; MAIORKA, P. C.; HORTELANI, M. A.; SILVA, F. F. da; ORTOLANI, E. L. Avaliação epidemiológica, clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1207-1213, 2006.

SOUSA, J. C. de; NICODEMO, M. L. F.; DARSIE, G. Deficiências minerais em Bovinos de Roraima, Brasil. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 24, n. 12, p. 1547-1554, 1989.

SOUZA, J. C.; CONRAD, J. H.; MCDOWELL, L. R.; AMMERMAN, C. B.; BLUE, W. G. Inter-relações entre minerais no solo, forrageiras e tecido animal. 2. Cobre e Molibdênio. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 335-341, 1980.

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

Subcommittee On Dairy Cattle Nutrition, Committee On Animal Nutrition, National Research Council. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7 ed. revised , 2001.

TOKARNIA, C. H.; MITIDIERI, E.; AFFONSO, O. R. Dados analíticos sobre valores de cobre e ferro encontrados em fígados de bovinos e ovinos do nordeste e norte do Brasil. **Arq. Inst. Biol. Anim.**, Campo Grande, v. 2, p. 33-37, 1959.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C.; GUIMARÃES, J. A. Ataxia enzoótica em cordeiros na costa do Piauí. **Pesq. Agr. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 375-382, 1966.

TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C.; GUIMARÃES, J. A.; DÖBEREINER, J. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no Nordeste e Norte do Brasil. **Pesq. Agr. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 3, p. 351-360, 1968.

TOKARNIA, C. H., GUIMARÃES, J. A.; CANELLA, C. F. C.; DÖBEREINER, J. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. **Pesq. Agr. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 61-77, 1971.

TOKARNIA, C. H.; GAVA, A.; PEIXOTO, P. V.; STOLF, L.; MORAES, S. S. A “doença do peito inchado” (edema na região esternal) em bovinos no Estado de Santa Catarina. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3/4, p. 73-83, 1989.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J. Sobre o “ronca”, doença de etiologia obscura em bovinos, caracterizada por respiração ruidosa. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3/4, p. 93-98, 1998.

TOKARNIA, C. H., DOBEREINER, J.; MORAES, S. S.; PEIXOTO, P. V. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos. Revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 19, p. 47-62, 1999.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO P.V. Deficiências minerais em animais de fazenda. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 91-138, 2000.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BARBOSA, J. D.; BRITO, M. F.; DÖBEREINER, J. **Deficiências Minerais em Animais de Produção**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 3. ed. London: CABI Publishing, 1999.

VALLE, S. de F.; GONZÁLEZ, F. D.; ROCHA, D.; SCALZILLI, H. B.; CAMPO, R.; LAROSA, V. L. Mineral deficiencies in beef cattle from Southern Brazil. **Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 47-53, 2003.

VÁSQUEZ, E. F. A.; HERRERA, A. P. N.; SANTIAGO, G. S. Interação Cobre, Molibdênio e Enxofre em Ruminantes. **Ciênc. Rur.**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1101-1106, 2001.

WARD, J. D.; SPEARS, J. W.; GENGBACH, G. P. Differences in copper status and copper metabolism among Angus, Simmental, and Charolais cattle. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 73, n. 2, p. 571-577, 1995.

WARD, J. D.; SPEARS, J. W. Long-term effects of consumption of low-copper diets with or without supplemental molybdenum on copper status, performance, and carcass characteristics of cattle. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 75, p. 3057-3065, 1997.

XIAO-YUN, S.; GUO-ZHEN, D.; YA-MING, C.; BAO-LI, F. Copper deficiency in yaks on pasture in western China. **Can. Vet. J.**, Ottawa, v. 47, p. 902-906, 2006.

3 CONCENTRAÇÕES DE MICROMINERAIS (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) NO FÍGADO DE VACAS DE LEITE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

RESUMO

Para este estudo foram coletadas amostras de 50 vacas, da raça Holandesa, a maior parte criada intensivamente e oriunda da região dos Campos Gerais/PR, com média individual de produção de leite de 30,21L/dia. Foram coletadas amostras de fígado, baço e linfonodos para determinação dos níveis de cobre, cobalto, ferro, molibdênio e zinco. Baço e linfonodo foram submetidos à análise histológica e avaliação do grau de hemossiderose. A média das concentrações de cobre (495,05 ppm), molibdênio (4,19 ppm) e zinco (274,49 ppm) encontrava-se acima dos níveis estabelecidos para bovinos. Para o cobalto, observou-se que 26% dos animais apresentaram níveis abaixo do estabelecido, o que caracterizou deficiência de cobalto. Apenas o ferro (299,12 ppm) apresentou níveis médios adequados. Na histopatologia, hemossiderose foi observada, principalmente no baço (78%) e com menos frequência nos linfonodos (20%). A observação de hemossiderina no baço e linfonodos não está relacionada à deficiência de cobre, porém pode estar relacionada a elevados níveis de molibdênio, zinco e ferro ou a outras causas não determinadas.

Palavras-chave: Bovinos. Deficiência mineral. Hemossiderose.

3.1 TRACE MINERALS (Cu, Co, Fe, Mo e Zn) LEVELS IN LIVER SAMPLES OF DAIRY CATTLE FROM PARANÁ, BRASIL

ABSTRACT

For this study, samples were collected from 50 cows, Holstein, mostly from intensively breeding and from the region of Campos Gerais/PR, with individual average milk yield of 30.21 L/day. Liver, spleen and lymph nodes were collected to determine levels of copper, cobalt, iron, molybdenum and zinc. Spleen and lymph nodes were subjected to histological analysis and evaluation of hemosiderosis' degree. The average concentrations of copper (495,05 ppm), molybdenum (4,19 ppm) and zinc (274,49 ppm) were above the levels established for cattle. For cobalt, it was observed that 26% of the animals had levels below established, featuring cobalt deficiency. Only iron (299,12 ppm) had adequate average levels. Histopathology showed hemosiderosis, mainly in the spleen (78%) and less frequently in lymph nodes (20%). The observation of hemosiderin in the spleen and lymph nodes is not related to copper deficiency, but may be related to high levels of molybdenum, zinc and iron, or other causes not determined.

Key words: Cattle. Mineral deficiency. Hemosiderosis.

3.2 INTRODUÇÃO

São poucos os estudos dos desequilíbrios minerais em vacas leiteiras no Brasil, apesar de ser fundamental para a suplementação mineral seletiva em um rebanho especializado. Muitos fatores afetam o requerimento de minerais, como nível de produção, idade, inter-relação com outros nutrientes, nível e fórmula química dos elementos minerais, raça, ingestão e adaptação animal (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; PEIXOTO et al., 2005). Em áreas onde o requerimento de um mineral específico é grande, as necessidades dos animais podem não ser cumpridas pelas misturas minerais comerciais, pois são formuladas para situações gerais (PEIXOTO et al., 2005).

Os minerais desempenham funções essenciais para o organismo dos animais, como a participação na forma de componentes estruturais dos tecidos corporais (cálcio, fósforo); atuação nos tecidos e fluidos corporais como eletrólitos para manutenção do equilíbrio ácido-básico, da pressão osmótica e da permeabilidade das membranas celulares (cálcio, fósforo, sódio, cloro); ativadores de processos enzimáticos (cobre, manganês); integrantes da estrutura de metaloenzimas (zinco, manganês); e vitaminas (cobalto) (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010).

Dietas com quantidade insuficiente de minerais ou rações desequilibradas que resultem na carência de um ou mais elementos devem ser corrigidas para que os animais que as ingerirem possam desenvolver seu potencial genético, além de se manterem saudáveis (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; PEIXOTO et al., 2005). Em muitas partes do mundo, ruminantes ingerem quantidades deficientes de minerais devido ao fato dos alimentos frequentemente serem pobres em determinados elementos ou os conterem em proporções desequilibradas entre si (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; VALLE et al., 2003; PEIXOTO et al., 2005; TOKARNIA et al., 2010; MARQUES et al., 2013; DERMAUW et al., 2014).

O Brasil ocupa a sexta posição na produção de leite mundial. O Sudeste do país concentra 35,9% da produção de leite, o Sul 33,2% e o Centro-Oeste 14,9%. O estado do Paraná (PR) ocupa a terceira posição em produção de leite do Brasil, com 3.968.506 mil litros/dia. A região dos Campos Gerais/PR, no que diz respeito à pecuária leiteira, tem como principais municípios Castro, Carambeí e Arapoti.

Castro/PR é o município com a maior produção de leite do país, com 226.800 mil litros e Carambeí/PR fica em quinto lugar com 129.600 mil litros. Em relação à produtividade, os municípios de Castro, Arapoti e Carambeí ocupam o segundo, terceiro e quinto lugares nacionais, respectivamente (IBGE, 2012).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a situação de vacas leiteiras quanto às reservas de microminerais, nos municípios do estado do Paraná.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Animais e local da coleta

Foram coletadas amostras de fígado, baço e linfonodo de 50 vacas, da raça Holandesa, preto e branco, a maior parte oriunda da região dos Campos Gerais/PR, com média individual de produção de leite de 30,21litros/dia. A maior parte dos animais (86%) era mantida em sistema de confinamento e a alimentação consistia em ração, silagem de milho, fubá de milho, caroço de algodão, pré-secado de azevém e sal mineral. A outra parte das vacas (14%) eram criadas semi-confinadas, recebendo a mesma alimentação além de uma pequena quantidade de pasto. A coleta foi realizada em um matadouro no município de Araucária/PR, e os animais eram procedentes de 25 propriedades dos municípios de Carambeí, Castro, Arapoti e Santo Antônio da Platina, todos do estado do Paraná (Figura 1). Foram coletadas amostras de 49 animais em matadouros e de 1 animal de necropsia (Quadro 1). Os animais foram transportados diretamente de seu município de origem para o matadouro e abatidos para consumo. No caso do animal em que foi feita a necropsia, o procedimento foi realizado na fazenda de origem.

Dados sobre a causa de descarte dos animais, abatidos no frigorífico, foram obtidos com os proprietários.

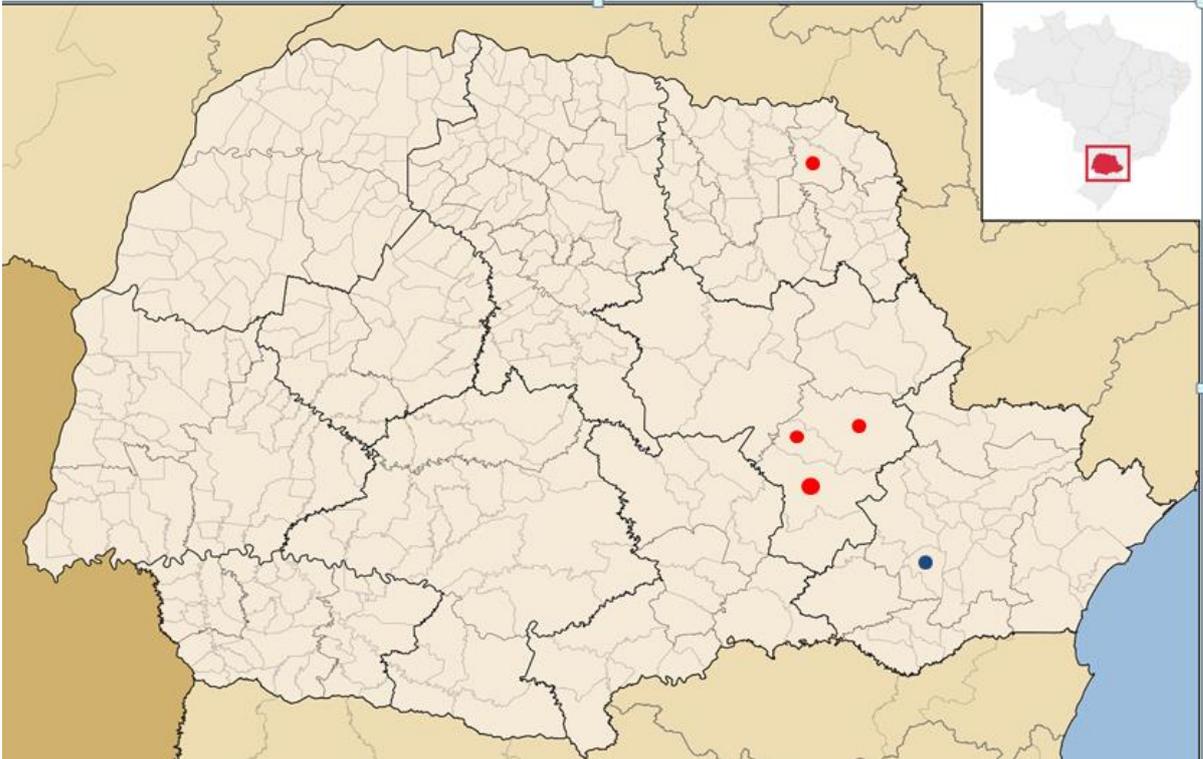


Figura 1 - Mapa do estado do Paraná. Os pontos vermelhos indicam os municípios de procedência dos animais e o azul, a cidade de Araucária, localização do abatedouro.

Fonte: PARANÁ

Municípios	Fígado	Linfonodo	Baço
Arapoti	20	20	20
Carambeí	13	13	13
Castro	13	13	13
Santo Antônio da Platina	04	04	04
Total de Amostras	50	50	50

QUADRO 1 - QUANTIDADE DE AMOSTRAS COLETADAS POR MUNICÍPIO.

FONTE: O AUTOR

3.3.2 Coleta das Amostras

Fígado: As amostras de fígado foram coletadas no matadouro, na linha de abate, e durante a realização da necropsia. Foram coletados fragmentos, de aproximadamente 300 g, com uma faca de aço inoxidável. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos, identificadas individualmente e congeladas a -20°C; **Baço:** As amostras de baço foram coletadas no matadouro, na linha de abate,

e durante a realização da necropsia. Foram coletados fragmentos, de aproximadamente 100 g. As amostras foram armazenadas em recipientes contendo formalina 10% tamponada e identificadas individualmente; Linfonodos: As amostras de linfonodos foram coletadas no matadouro, na linha de abate, e durante a realização da necropsia. Foram coletados, aproximadamente, 2 linfonodos mesentéricos de cada animal. As amostras foram armazenadas em recipientes contendo formalina 10% tamponada e identificadas individualmente.

3.3.3 Determinação dos Parâmetros

3.3.3.1 Dosagens bioquímicas – fígado (Cu, Co, Mo, Fe e Zn)

As dosagens bioquímicas foram realizadas no Instituto Evandro Chagas, Pará. As amostras de fígado foram seccionadas em fatias finas com navalhas limpas e de aço inoxidável, armazenadas em tubos falcon de 50 mL e submetidas ao processo de liofilização.

Para o processo de liofilização, as amostra de fígado, congeladas a -20°C foram colocadas em bandejas e após em aparelho automatizado LIOTOP® (modelo L101), previamente ligado por um período de dez minutos, a uma temperatura de 55°C e lá permaneceram por um período de 12 horas para a secagem completa das amostras. Em seguida, foram trituradas em grau e pistilo.

Para a determinação dos minerais (cobre, cobalto, zinco, molibdênio e ferro), as amostras de fígado trituradas foram pesadas entre 0,25 a 0,26g e colocadas em tubo de digestão de teflon (modelo Xpress). Em seguida foram adicionados 3 mL de ácido nítrico P.A. 65 % (QUIMEX), 1 mL de ácido clorídrico a 30 % (MERCK) e 1 mL de peróxido de hidrogênio P.A. 30 % (BIOTEC). As amostras ficaram em repouso durante 2 horas para serem pré-digeridas e após foram colocadas para digestão final, por um período de 50 minutos, em sistema fechado por radiação de microondas (MARSXpress, CEM Corp. Matthews, NC, USA). Após a digestão dos minerais, as amostras foram analisados pela técnica de Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Induzido (ICP OES), no equipamento ICP-OES (Vista-MPX CCD

simultâneo, axial da VARIAN), em sistema de amostragem automático (SPS – 5). O controle das condições operacionais do ICP-OES foi realizado com o software ICPEXpert Vista. Os brancos analíticos foram preparados pelos mesmos procedimentos, sem a adição das amostras de fígado (Adaptado das técnicas de NOMURA et al., 2005).

3.3.3.2 Análise histopatológica de baço e linfonodo

A preparação das lâminas para histopatologia foi realizada no laboratório de Patologia animal, da Universidade Federal do Paraná. Depois de serem fixadas em formalina 10%, as amostras de baço e linfonodo foram cortadas em fragmentos de 1 a 2 cm por 2 a 3 mm, desidratadas em álcool, clarificadas em xilol e incluídas em parafina. Posteriormente, foram cortadas em micrótomo em secções de três micras de espessuras, colocadas em banho-maria, apanhadas sobre lâminas e deixadas para secar, coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE) (PROPHET et al., 1992) e observadas em microscopia ótica.

A quantidade de hemossiderina no baço e linfonodo foi avaliada e quantificada na forma de cruces, onde “+++” indica lesão acentuada, “++” moderada, “+” leve, “(+)” discreta e “-” ausente (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1998).

Para interpretação dos valores analíticos do tecido hepático, foram considerados os seguintes teores como em excesso, adequados, subdeficientes ou deficientes, baseando-se nos dados obtidos por Underwood (1977) e utilizados por Tokarnia et al. (2010). Esses teores são, para Cu: 0-50 ppm indicam deficiência, 51-100 ppm subdeficiência, de 101-300 ppm índice adequado e a partir de 300 ppm em excesso; Co: até 0,05 ppm indicam deficiência, 0,06-0,12 ppm, subdeficiência e a partir de 0,13 ppm índice adequado; Fe: valores normais de 180-380 ppm; Mo: valores normais de 2-4 ppm; Zn: valores normais de 100-200 ppm.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As causas de descarte e número de animais estão dispostos na tabela 1.

TABELA 1 – QUANTIDADE DE ANIMAIS E CAUSAS DE DESCARTE NO ABATEDOURO

Causa de Descarte	Quantidade	%
Problemas Reprodutivos	24	48
Mastite	14	28
Problemas de Casco	04	8
Fratura	03	6
Cardiopatía	02	4
Torção de Abomaso	02	4
Senilidade	01	2
Total de Animais	50	100

FONTE: O AUTOR

Os valores médios de Co, Cu, Fe, Mo e Zn no tecido hepático estão apresentados na tabela 2.

TABELA 2 - VALORES MÉDIOS DE Cu, Co, Fe, Mo E Zn NO TECIDO HEPÁTICO

Mineral	Média	Desvio Padrão
Cobre	495,05	135,80
Cobalto	0,47	0,09
Ferro	299,12	290,82
Molibdênio	4,19	1,01
Zinco	274,49	80,80

FONTE: O AUTOR

A quantidade e porcentagem dos animais deficientes, sub-deficientes, valores adequados e em excesso dos minerais no tecido hepático estão presentes na tabela 3.

Os graus de hemossiderose obtidos nas amostras de baço e linfonodo estão descritos na tabela 4.

TABELA 3 – QUANTIDADE E PORCENTAGEM DOS ANIMAIS DEFICIENTES, SUB-DEFICIENTES, VALORES ADEQUADOS E EM EXCESSO DE COBRE, COBALTO, ZINCO, FERRO E MOLIBDÊNIO NO TECIDO HEPÁTICO

Mineral	Deficiente		Sub-deficiente		Adequado		Excesso	
	Quantidade	%	Quantidade	%	Quantidade	%	Quantidade	%
Cobre	-	-	-	-	7	14	43	86
Cobalto	12	24	1	2	37	74	-	-
Ferro	8	16	-	-	35	70	7	14
Molibdênio	-	-	-	-	20	40	30	60
Zinco	1	2	-	-	27	54	22	44

FONTE: O AUTOR

TABELA 4 – GRAU DE HEMOSSIDEROSE EM BAÇO E LINFONODOS DE VACAS LEITEIRAS DO PARANÁ.

Grau de lesão	Número de amostras/órgãos		%
	BAÇO	LINFONODO	
-	11	40	80
(+)	09	03	6
+	07	03	6
++	18	03	6
+++	05	01	2

FONTE: O AUTOR

A partir das análises do tecido hepático das vacas de leite, verificou-se a ocorrência de deficiência de cobalto em 24% dos animais. Níveis elevados de cobre, molibdênio e zinco foram observados em 86%, 60% e 44% dos animais, respectivamente.

Das 50 amostras de fígado estudadas, 11 (22%) na detecção do cobalto apresentaram valores abaixo do limite de detecção da metodologia empregada. Considerando que o limite de detecção é de 0,003 ppm e que segundo Underwood (1977) o nível crítico de cobalto é 0,05 ppm, foi certificado que as amostras que não foram detectadas pela metodologia são deficientes nesse elemento.

O nível médio de cobalto detectado pela metodologia foi de $0,47 \pm 0,09$ ppm, valor esse considerado adequado. Porém considerando-se juntamente os níveis que não foram detectados pela metodologia, que sabidamente são inferiores a 0,05 ppm, observa-se que 12 amostras (24%) apresentaram valores menores que 0,05 ppm, uma (2%) apresentou valor de 0,06 ppm e 37 (74%) valores acima de 0,13

ppm, o que segundo Underwood (1977) e Tokarnia et al. (2010) representam deficiência, subdeficiência e valores adequados, respectivamente. Então, se forem somados os níveis deficientes e subdeficientes, observamos que 13 animais (26%) possuem baixas reservas de cobalto no organismo. Quadro semelhante foi descrito por Moraes, Tokarnia e Dobereiner (1999) em levantamento ao desequilíbrio de microelementos em bovinos e ovinos, em várias regiões do Brasil. Nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul obtiveram, em amostras de tecido hepático de 21 bovinos, média de Co de $0,3 \pm 0,1$ ppm, com 1 (4,8%) animal apresentando deficiência, 7 (33,3%) subdeficiência e 13 (61,9%) níveis normais. Em Santa Catarina, Tokarnia et al. (1989) descreveram subdeficiência de Co em 4 de 6 amostras de fígado, de bovinos de corte, com média de 0,12 ppm. Já Dermauw et al (2014) obtiveram níveis normais do mineral no fígado (0,47 ppm) de bovinos de corte na Etiópia.

Animais com deficiência de cobalto podem não apresentar sinais clínicos por semanas ou até meses, até que se esgotem as reservas de cobalto no organismo (TOKARNIA et al., 2010). O principal sinal clínico é a perda de apetite, que pode ser seguida de morte por inanição e tem como causa a incapacidade de metabolização do ácido propiônico. (RIET-CORREA et al., 2007). Além disso, os animais apresentam crescimento deficiente, redução da imunidade, rápida perda de massa muscular, fezes ressecadas e passam a consumir casca de árvores ou pedaços de madeira, ato denominado como alotriofagia (TOKARNIA et al., 2010; MORAES; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1999; SUTTLE; JONES, 1989). Em casos mais severos, desenvolvem anemia e fígado gordo. Já em casos amenos, apenas sinais de subdesenvolvimento, baixa produção e infertilidade podem ser observados (UNDERWOOD, SUTTLE; 1999).

Os níveis de cobre no fígado apresentaram média de $495,05 \pm 135,802$ ppm, o que segundo Underwood (1977) é considerado valor em excesso. Esses valores foram diferentes dos descritos por Enjalbert, Lebreton, e Salat (2006), estudando 332 vacas de leite da França e Bélgica. Marques et al. (2003), no Rio grande do Sul, obteve valores médios abaixo dos parâmetros ($3,6 \pm 1,6$ ppm) de Cu hepático para bovinos de corte criados à pasto. Já Tokarnia et al. (1999), em revisão aos trabalhos sobre deficiência mineral realizados no Brasil, de 1987 a 1998, obtiveram valores deficientes para o mineral em 27 (17,31%) e subdeficientes em 30 amostras (19,23%) de fígado, de um total de 156 coletadas.

O nível médio de zinco verificado foi de $274,49 \pm 80,80$ ppm, valor considerado em excesso. Esse resultado está de acordo com Moraes (1998), que determinou média de $279,61 \pm 167,02$ ppm para o mineral no estado de Santa Catarina. Já Valle et al. (2003), estudando bovinos de corte no Rio Grande do Sul, obtiveram valores adequados para o mineral e Enjalbert, Lebreton e Salat (2006), em estudo retrospectivo de vacas de leite da França, determinaram deficiência do mesmo.

Semelhante aos resultados obtidos nesse estudo, bovinos com excesso de Cu e Zn no tecido hepático foram descritos por López-Alonso et al. (2005) na Espanha. Segundo os autores, o Cu e o Zn competem pela ligação com a proteína metalotioneína (MT), necessária para a excreção do Cu pela bile. Como o Zn possui maior afinidade com a MT, no caso de excesso dos dois minerais, o Zn se ligaria à proteína, iniciando o acúmulo de cobre no organismo. Animais que recebem suplementos na dieta que levam ao excesso de Cu no fígado, mesmo que pouco acima do normal, apresentam efeitos negativos no desempenho, com redução na ingestão de alimentos e no ganho de peso diário (ENGLE; SPEARS, 2000).

Para o mineral molibdênio, o valor médio observado foi de $4,19 \pm 1,01$ ppm, estando levemente aumentado em relação ao nível preconizado por Underwood (1977) e Tokarnia et al. (2010). Níveis em excesso foram obtidos por Marques et al. (2003), no Rio Grande do Sul, com média de $6,5 \pm 1,3$ ppm. Já Dermauw et al. (2014), verificaram valores adequados (média de 3,8 ppm) para bovinos de corte da Etiópia.

O molibdênio e enxofre têm sido identificados como os antagonistas do Cu de maior importância (GOONERATNE; BUCKLEY; CHRISTENSEN, 1989; UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; ROSA; MATTIOLI, 2002; PICCO et al., 2012). Uma pequena mudança na concentração de Mo e S na forragem, que acontece naturalmente nos alimentos, pode provocar mudança na absorção, distribuição e excreção do Cu, levando a sinais clínicos de deficiência ou intoxicação (GOONERATNE; BUCKLEY; CHRISTENSEN, 1989; HENRY; MILES, 2000; PICCO et al., 2012; MARQUES et al., 2013).

Na determinação de Ferro no fígado, observou-se média de $299,12 \pm 290,82$ ppm, nível considerado adequado para o mineral. Média próxima ($273,66 \pm 68,94$ ppm) foi obtida por Moraes (1998) em avaliação às concentrações de Fe no fígado de bovinos, no estado de Santa Catarina. Já Moraes, Tokarnia e Döbereiner (1999),

em estudos no mesmo estado, verificaram níveis do mineral em excesso ($1111,13 \pm 715,80$ ppm).

A hemossiderina é um pigmento granular castanho que contém ferro e está usualmente contido nos macrófagos. É comum ser encontrada no fígado, baço, linfonodos, medula óssea e em qualquer local de hemorragia. Se estiver em quantidade suficiente a ponto de constituir uma lesão, o termo hemossiderose é utilizado (THOMSON, 1983; CHEVILLE, 2004).

Na histopatologia, hemossiderose marcada foi observada, principalmente no baço e com menos frequência nos linfonodos (Figura 2). Das 50 amostras estudadas, em 39 (78%) no baço e em 10 (20%) nos linfonodos, a lesão estava presente. Apenas 8 animais não apresentaram hemossiderose simultaneamente em baço e linfonodos. Tokarnia et al. (1998) também avaliaram o grau de hemossiderose em bovinos acometidos pelo “ronca”, uma doença de etiologia obscura em bovinos com respiração ruidosa. Nesse trabalho foi observada hemossiderina no baço em 100% dos animais estudados e no linfonodo em 81,8%, sendo essa atribuída à deficiência de Cu, também verificada.

3.5 CONCLUSÕES

Em vacas leiteiras dos municípios do Paraná, foi observado que 26% dos animais tinham baixos níveis de cobalto, 86% altos níveis de cobre, 60% de molibdênio, 44% de zinco e 14% de ferro.

A observação de hemossiderina no baço e linfonodos não está relacionada à deficiência de cobre, porém pode estar relacionada a elevados níveis de molibdênio, zinco e ferro ou a outras causas não determinadas.

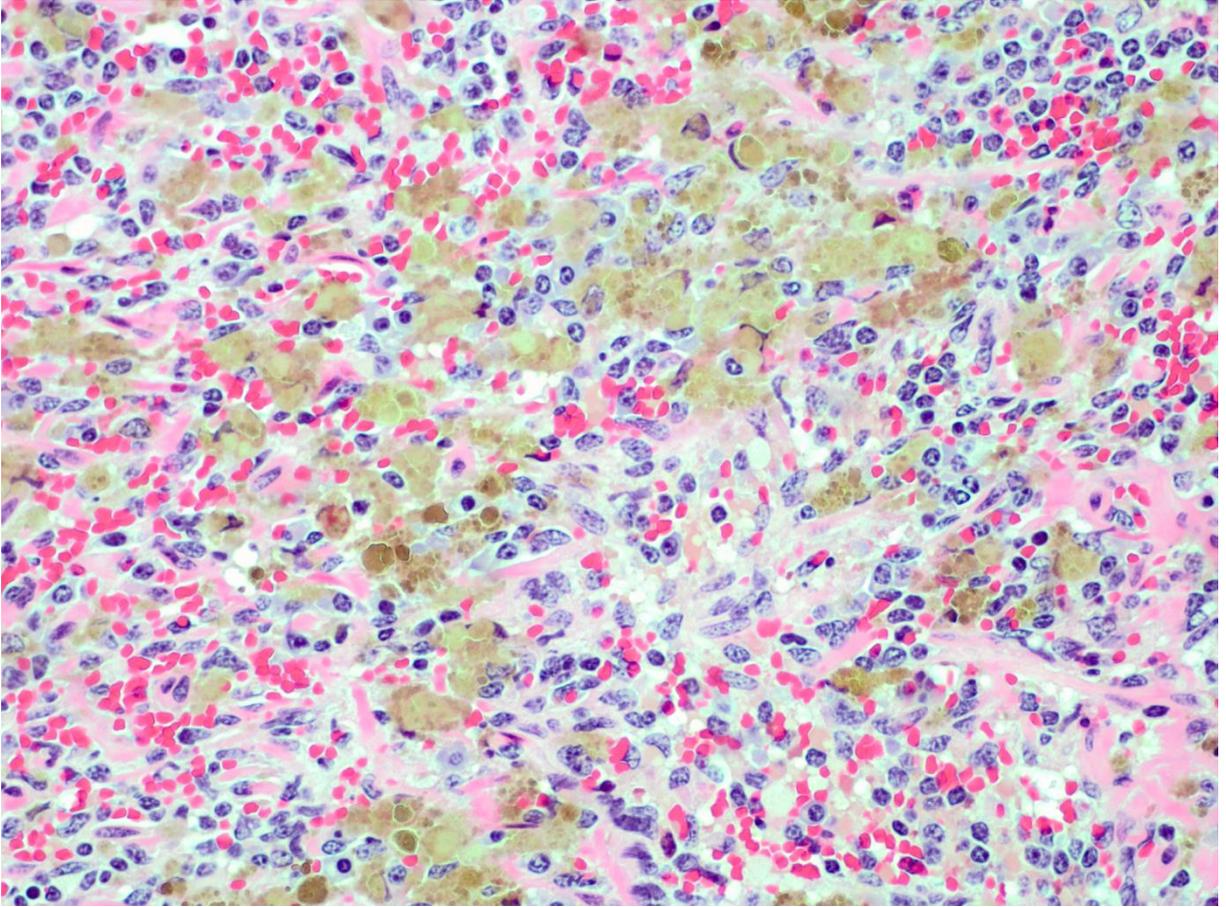


Figura 2 – Hemossiderose em Baço. Baço: Macrófagos com hemossiderina acentuada, em distribuição multifocal. HE, obj. 40.

Fonte: O autor

REFERÊNCIAS

- CHEVILLE, N. F. **Introdução à Patologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2004.
- DERMAUW, V.; ALONSO, M. L.; DUCHATEAU, L.; LAING, G. D.; TOLOSA, T.; DIERENFELD, E.; CLAUSS, M.; JANSSENS, G. P. J. Trace element distribution in selected edible tissues of zebu (*Bos indicus*) cattle slaughtered at Jimma, SW Ethiopia. **PLoS ONE**, v. 9, n.1, p.1-8, 2014.
- ENGLE, T. E.; SPEARS J. W. Effects of dietary copper concentration and source on performance and copper status of growing and finishing steers. **J. Anim. Sci.**, v. 78, p. 2446-2451, 2000.
- ENJALBERT, F.; LEBRETON, P.; SALAT O. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.**, v. 90, p. 459-466, 2006.
- GOONERATNE, S. R.; BUCKLEY, W. T.; CHRISTENSEN, D. A. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. **Can. J. Anim. Sci.**, Ottawa, v. 69, p. 819-845, 1989.
- HENRY P. R.; MILES, R. D. Interactions among trace minerals. **Ciênc. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 1, n. 2, p. 95-106, 2000.
- LÓPEZ-ALONSO, M.; PRIETO, F.; MIRANDA, M.; CASTILLO, C.; HERNÁNDEZ, J.; BENEDITO, J. L. The role of metallothionein and zinc in hepatic copper accumulation in cattle. **The Vet. J.**, v. 169, p. 262-267, 2005.
- MACHADO, A. A.; IZUMI, C.; FREITAS, O. Bases moleculares da absorção do ferro. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 3, p. 293-298, 2005.
- MARQUES, A. P.; RIET-CORREA, F.; SOARES, M. P.; ORTOLANI, E. L.; GIULIODORI, M. J. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 21-32, 2003.
- MARQUES, A. P. L.; BOTTEON, R. de C. C. M.; AMORIM, E. B. de; BOTTEON, P. de T. L. Deficiência de cobre condicionada a altos teores de zinco, manganês e ferro na região do Médio Paraíba, RJ, Brasil. **Semina: Cien. Agr**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1293-1300, 2013.

MORAES, S. S. Avaliação das concentrações de zinco, manganês e ferro no fígado de bovinos e ovinos de várias regiões do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3/4, p. 107-110, 1998.

MORAES, S. S.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Deficiências de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 19-33, 1999.

NOMURA, C.S.; SILVA, C.S; NOGUEIRA, A.R.A.; OLIVEIRA, P.V. Bovine Liver Sample Preparation and Micro-homogeneity study for Cu and Zn Determination by Solid Sampling Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 673-680. 2005.

PARANÁ. **Mapa do Paraná** – divisão por municípios. Disponível em: < <http://asnovidades.com.br/wp-content/uploads/2010/09/Parana-mapa-municipios.png> >. Acesso em: 08/01/2014.

PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. J. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.

PESQUISA DA PECUÁRIA MUNICIPAL. Rio de Janeiro: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, v. 40, 2012.

PICCO, S.; PONZZINIBIO, M. V.; MATTIOLI, G.; ROSA, D.; MINATEL, L.; FAZZIO, L.; SEOANE, A. Physiological and genotoxic effects of molybdenum-induced copper deficiency in cattle. **Agrociencia**, Texcoco, v. 46, p. 107-117, 2012.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: American registry of pathology, 1992. 274 p.

RIET-CORREA, F. Deficiência de cobre. In: Riet-Correa, F.; Schild, A. L.; Lemos, R. A. A.; Borges, J. R. J. (Eds). **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. Vol. 2. Santa Maria: Pallotti. p. 239-248, 2007.

ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. **Analect Vet**, La Plata, v. 22, n. 1, p. 7-16, 2002.

SUTTLE, N. F.; JONES, D. G. Recent Developments in Trace Element Metabolism and Function: Trace Elements, Disease Resistance and Immune Responsiveness in Ruminants. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, p. 1055-1060, 1989.

THOMSON, R. G. **Patologia Geral Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983.

TOKARNIA, C. H.; GAVA, A.; PEIXOTO, P. V.; STOLF, L.; MORAES, S. S. A “doença do peito inchado” (edema na região esternal) em bovinos no Estado de Santa Catarina. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3/4, p. 73-83, 1989.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J. Sobre o “ronca”, doença de etiologia obscura em bovinos, caracterizada por respiração ruidosa. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3/4, p. 93-98, 1998.

TOKARNIA, C. H., DOBEREINER, J.; MORAES, S. S.; PEIXOTO, P. V. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos. Revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 19, p. 47-62, 1999.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO P.V. Deficiências minerais em animais de fazenda. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 91-138, 2000.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BARBOSA, J. D.; BRITO, M. F.; DÖBEREINER, J. **Deficiências Minerais em Animais de Produção**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

UNDERWOOD, E. J. **Trace Elements in Human and Animals Nutrition**. 4. ed. New York: Academic Press, 1977.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 3. ed. London: CABI Publishing, 1999.

VALLE, S. de F.; GONZÁLEZ, F. D.; ROCHA, D.; SCALZILLI, H. B.; CAMPO, R.; LAROSA, V. L. Mineral deficiencies in beef cattle from Southern Brazil. **Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 47-53, 2003.

ANEXO

CAUSA DE DESCARTE, PRODUÇÃO, GRADUAÇÃO DA HEMOSSIDEROSE EM BAÇO E LINFONODO E CONCENTRAÇÕES INDIVIDUAIS DE Cu, Co, Mo, Fe E Zn NO FÍGADO DE VACAS LEITEIRAS DOS MUNICÍPIOS DO PARANÁ, BRASIL

Causa do Descarte	Produção (L)	Histologia Linfonodo	Histologia Baço	Co (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mo (ppm)	Zn (ppm)
Mastite	39,07	-	-	0,34	540,15	264,75	3,41	500,03
Problemas Reprodutivos	39,84	++	-	-0,12	444,88	226,15	4,40	127,93
Problemas Reprodutivos	39,84	-	(+)	0,45	480,68	188,70	4,28	124,48
Problemas Reprodutivos	39,84	-	++	0,66	580,22	199,26	3,18	142,61
Problemas Reprodutivos	39,84	-	+	0,41	521,78	320,39	4,04	107,45
Problemas Reprodutivos	39,84	++	++	0,83	456,41	252,83	3,30	101,900
Problemas Reprodutivos	29,55	-	-	-0,76	359,99	104,15	4,46	306,04
Problemas Reprodutivos	20	-	-	-0,01	256,23	174,44	5,99	126,79
Fratura	39,07	-	++	-0,05	321,24	258,99	4,51	123,05
Problemas Reprodutivos	42,8	-	(+)	0,43	474,17	212,68	3,97	137,26
Problemas Reprodutivos	39,97	-	+++	-0,02	296,22	858,36	4,13	104,23
Problemas Reprodutivos	39,97	-	++	0,66	339,68	422,09	4,14	928,41
Mastite	39,97	-	++	-0,01	423,68	178,31	4,22	106,51
Problemas Reprodutivos	39,97	-	++	0,79	370,48	159,21	6,24	104,78
Mastite	36,23	-	+++	0,060	145,55	467,67	4,40	176,85
Mastite	36,23	-	++	-0,30	416,53	295,41	4,44	423,77
Problemas Reprodutivos	36,23	-	+	0,21	374,29	255,22	5,19	127,29
Mastite	31	+++	++	0,45	815,89	379,24	3,08	106,74
Mastite	31	-	++	0,35	628,33	255,53	4,03	115,48

Causa do Descarte	Produção (L)	Histologia Linfonodo	Histologia Baço	Co (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mo (ppm)	Zn (ppm)
Problemas Reprodutivos	29,89	-	++	0,25	418,06	241,30	3,59	141,94
Fratura	35,38	+	++	0,05	573,47	117,55	4,71	361,94
Problemas Reprodutivos	38,07	-	+++	0,54	302,91	283,07	4,89	107,60
Problemas Reprodutivos	38,07	-	+	0,19	399,77	179,56	4,35	949,23
Problemas Reprodutivos	29,7	-	++	0,39	726,30	395,68	3,39	334,42
Mastite	31	-	+	0,69	284,95	259,75	4,63	132,43
Problemas Reprodutivos	31	-	++	-0,27	323,16	256,46	4,34	138,76
Mastite	20	+	+	0,64	394,14	345,75	2,86	833,04
Mastite	19	+	(+)	0,51	404,40	215,1	3,60	109,10
Mastite	28	-	(+)	0,72	380,03	222,69	3,26	220,83
Fratura	35,8	-	-	0,40	224,29	367,67	3,13	355,44
Cardiopatia	29,86	-	++	0,43	323,20	930,75	2,07	156,29
Problemas Reprodutivos	24,77	(+)	-	-0,08	194,59	199,59	4,78	88,36
Problemas Reprodutivos	24,77	-	(+)	0,75	285,51	316,22	4,16	129,71
Problemas Reprodutivos	24,77	(+)	-	0,56	1.202,77	286,52	4,91	200,48
Problemas Reprodutivos	24,77	-	(+)	0,36	320,19	207,28	3,91	131,08
Problemas de Casco	41,8	-	++	0,46	278,68	286,26	4,93	359,15
Problemas de Casco	39,07	++	+++	0,36	1.243,45	270,82	10,86	234,97
Problemas de Casco	35	-	++	0,44	627,00	228,34	5,70	686,92
Cardiopatia	35	-	+	0,69	345,34	178,86	2,19	274,67
Mastite	35	-	-	0,18	1.029,96	344,68	3,10	417,87
Mastite	35	-	-	0,32	428,64	400,90	4,09	210,38
Torção de Abomaso	25	-	+	0,90	1.033,67	358,79	2,88	580,43
Senilidade	35,78	-	-	-0,24	954,50	274,71	3,88	193,38
Problemas de Casco	38,05	(+)	+++	0,56	447,39	510,82	4,98	133,36

Causa do Descarte	Produção (L)	Histologia Linfonodo	Histologia Baço	Co (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mo (ppm)	Zn (ppm)
Mastite	31,5	-	(+)	0,63	904,95	243,99	3,61	155,77
Mastite	31,5	-	(+)	0,64	839,70	155,8	4,54	128,99
Torção de Abomaso	38,05	-	++	0,24	314,05	310,71	2,32	303,54
Problemas Reprodutivos	32	-	(+)	-0,30	478,04	146,48	4,22	970,2
Problemas Reprodutivos	31,5	-	-	0,29	474,68	270,73	3,52	306,75
Problemas Reprodutivos	35	-	++	0,62	348,10	676,03	4,84	385,76
Média	33,69			0,47	495,05	299,12	4,19	274,49
Desvio Padrão				0,092370475	135,8019786	290,818877	1,011162697	80,80109189