

# NOVOS DESAFIOS DA PESQUISA EM NUTRIÇÃO E PRODUÇÃO ANIMAL



Pirassununga – SP  
2009



# **NOVOS DESAFIOS DA PESQUISA EM NUTRIÇÃO E PRODUÇÃO ANIMAL**

Organizadores

Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Prof. Dr. Francisco Palma Rennó

Prof. Dr. Luis Felipe Prada e Silva

Programa de Pós-Graduação em Nutrição  
e Produção Animal



**Editora 5D**

**ISBN: 978-85-60014-05-7**

1ª Edição

Os organizadores autorizam a reprodução total ou parcial deste trabalho, para qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

O conteúdo e revisão ortográfica são de inteira responsabilidade de seus autores.

Edição:  
Editora 5D  
Rua Visconde do Rio Branco, 670  
Pirassununga - SP - CEP: 13630-115  
Tel.: 19 3562-1514  
Email: contato@5d.ppg.br  
www.5d.ppg.br

Capa:  
Studium 5D Comunicação e Marketing

Editoração Eletrônica:  
Studium 5D Comunicação e Marketing

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal  
/ organizado por Marcos Veiga dos Santos ...  
[et al.]. – Pirassununga, SP: Editora 5D; Programa  
de Pós-Graduação em Nutrição e Produção  
Animal, 2009. 250 p.

1. Nutrição animal. 2. Produção animal.  
I. Albuquerque, Ricardo de. II. Rennó, Francisco  
Palma. III. Silva, Luis Felipe Prada e.

## CAPÍTULO V

### FORNECIMENTO DE FONTES ORGÂNICAS DE ZINCO, COBRE E SELÊNIO PARA VACAS LEITEIRAS E EFEITOS SOBRE A SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA

**Cristina Simões Cortinhas, Bruno Garcia Botaro, Marco Aurélio de Felício Porcionato, Carolina Barbosa Malek dos Reis, Juliana Regina Barreiro, Marcos Veiga dos Santos**

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – VNP/USP - Av. Duque de Caxias Norte, 225, 13635-900 – Pirassununga, SP, mveiga@usp.br

#### RESUMO

Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Selênio (Se) são micro-nutrientes que atuam no sistema celular antioxidante, melhorando a resposta imunológica e contribuindo com o aumento da resistência contra a mastite e outras doenças. Estes minerais diminuem a formação de radicais livres (peróxidos e superóxidos) produzidos no processo inflamatório que, em grandes concentrações, causam danos à glândula mamária. Assim, as vacas necessitam consumir quantidades de minerais e vitaminas biologicamente ativas para manter seu “status” antioxidante ótimo.

#### 1. INTRODUÇÃO

O estudo de estratégias que aumentam os mecanismos de defesa da glândula mamária tem cada vez mais destacados os efeitos da nutrição sobre a resposta imune. Dentre os nutrientes mais estudados estão os minerais e vitaminas (Santos & Fonseca, 2006).

Cobre (Cu), zinco (Zn) e selênio (Se) são micro-minerais que atuam no sistema celular antioxidante, melhorando a resposta imunológica e contribuindo para o aumento da resistência às infecções mamárias. Estes nutrientes impedem a ação deletéria de radicais livres, sendo classificados como antioxidantes de prevenção.

O estresse oxidativo ocorre quando metabólitos reativos ao oxigênio são produzidos em excesso, devido ao processo inflamatório em resposta a invasão de patógenos. Esses metabólitos, tais como peróxidos e superóxidos, são produzidos pelas células imunes durante a fagocitose de microorganismos. Quando a capacidade antioxidante é limitada, a meia vida da célula imune é

reduzida e a infecção pode estabilizar ou se tornar mais grave (Weiss & Socha, 2005).

O desbalanço no sistema antioxidante pode ocasionar danos ao tecido mamário. Quando a bactéria penetra no canal do teto, ocorre influxo de glóbulos brancos para destruir a infecção. Os peróxidos são produzidos para auxiliar a destruição de patógenos, no entanto, se em concentração elevada, podem causar perdas na produção de leite e, em casos mais graves, a perda permanente do quarto mamário (Lauzon et al., 2006).

O simples fato de o nutriente estar diretamente envolvido com o sistema imune não garante que a sua suplementação na dieta irá aumentar a imunidade e reduzir o número de casos de mastite. As vacas necessitam consumir quantidades adequadas de minerais e vitaminas para manter seu “status” antioxidante ótimo (Weiss & Wyatt, 2002). Assim, torna-se de fundamental importância o estudo das fontes de micro-minerais complexados, os quais têm sido descritos por sua maior biodisponibilidade em relação às fontes iônicas.

A saúde da glândula mamária está diretamente relacionada com a quantidade e qualidade do leite produzido. Santos & Fonseca (2006) comentam que no Brasil, em função da alta prevalência de mastite nos rebanhos, possam ocorrer perdas na produção de cerca de 15%. Esses prejuízos atingem diretamente o produtor, mas a indústria de laticínios também é afetada pela redução no rendimento da fabricação de queijos, diminuição da qualidade e da vida de prateleira dos derivados lácteos.

## **2. IMUNOLOGIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA**

A glândula mamária é um órgão protegido por mecanismos de defesa que podem ser separados em duas categorias distintas: imunidade inata e imunidade específica. A imunidade inata, mais conhecida como resposta inespecífica, é predominante durante os estágios iniciais da infecção, e é mediada por barreiras físicas na extremidade do teto, macrófagos, neutrófilos, células “natural killer”, e por alguns fatores solúveis (Sordillo, 2005), como proteínas e peptídeos antimicrobianos (lisozimas, lactoferrinas) (Piccinini et al., 2007). Além dessa classificação, os componentes da resposta inata podem ainda ser subdivididos em imunidade celular e humoral (Rainard & Riollet, 2006).

Quando o agente patógeno é capaz de invadir ou não é completamente eliminado pelo sistema imune inato, ocorre ativação do sistema imune específico. São reconhecidos fatores antigênicos do patógeno e, quando em contato mais de uma vez com o mesmo antígeno, ocorre forte reação em função da memória imunológica (Sordillo & Streicher, 2002). O reconhecimento dos fatores patogênicos é mediado por anticorpos, macrófagos e por várias

populações de linfócitos (Sordillo et al., 1997). Assim, com o mecanismo de memória, após a primeira exposição, a resposta vai se tornando mais rápida, longa e mais efetiva na destruição do patógeno (Sordillo & Streicher, 2002).

O canal do teto é a primeira linha de defesa contra a mastite, por esta ser a rota pela qual os patógenos entram na glândula mamária. O canal encontra-se fechado entre as ordenhas e durante o período seco ocorre oclusão por queratina que é derivada do epitélio estratificado que reveste o canal (Rainard & Riollet, 2006). Na queratina estão presentes ácidos graxos esterificados e não esterificados (como: mirístico, palmitoléico e linoléico) e proteínas catiônicas que tem a capacidade de se ligar eletrostaticamente aos agentes patógenos, alteram a parede celular, e os tornam mais susceptíveis à pressão osmótica (Sordillo & Streicher, 2002). Além da queratina, o teto possui musculoso esfíncter que mantém o canal fechado, entre as ordenhas, e impede a penetração das bactérias (Sordillo, 2005).

A bactéria que ultrapassa a defesa anatômica do canal do teto tem que contornar também as atividades antimicrobianas da glândula mamária para estabelecer a doença. Citocinas pró-inflamatórias induzem a migração de leucócitos (neutrófilos, macrófagos e linfócitos). O rápido influxo de neutrófilos para o sítio de infecção, a capacidade de fagocitar e eliminar a bactéria pode ser a chave para uma rápida recuperação da infecção (Rabot et al., 2007). Os neutrófilos fazem a ingestão de bactérias em fagossomos, os quais se fundem com lisossomos, estimulando a produção de agentes oxidativos em processo denominado explosão respiratória, no qual são gerados radicais de oxigênio que servem como precursores para vários oxidantes antimicrobianos (Lippolis et al., 2006).

Durante a fagocitose por neutrófilos polimorfonucleares, ocorre contínua exposição a fatores inibitórios do leite, como glóbulos de gordura e caseína, o que altera a morfologia dos neutrófilos e reduz a fagocitose. Durante o processo de fagocitose, os neutrófilos polimorfonucleares liberam substâncias que destroem os patógenos, no entanto também causam alterações na delicada estrutura da glândula mamária, o que resulta na redução do número de células secretórias. Para minimizar os danos ao tecido mamário, os neutrófilos polimorfonucleares são submetidos ao processo de morte celular programada chamado apoptose, no qual macrófagos os englobam e fagocitam (Paape et al., 2003).

A função dos macrófagos é fagocitar os microrganismos e destruí-los sob a ação de proteases e espécies reativas de oxigênio (ERO). Entretanto, o número de macrófagos mamários tende a ser menor devido ao baixo número de receptores, que diminui sua capacidade de fagocitar quando comparado aos neutrófilos (Sordillo, 2005). Em adição a essa função, os macrófagos desempenham papel importante no processamento e apresentação de antígenos

resultantes da ingestão de bactérias (Sordillo et al., 1997).

Os mecanismos de defesa da glândula mamária devem interagir de forma coordenada visando obter a máxima eficiência na proteção contra patógenos e mínimos danos do tecido mamário.

### 3. ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo ocorre quando a produção de ERO excede os mecanismos de defesa antioxidantes do organismo animal (Spears & Weiss, 2008). As ERO são átomos ou moléculas altamente reativos com número ímpar de elétrons na sua última camada de elétrons (Ferreira & Matsubara, 1997). Segundo Nockels (1996), durante o metabolismo, potentes oxidantes são produzidos, entre os quais radicais livres, superóxido ( $O_2^-$ ), radical peróxido ( $ROO^\cdot$ ), radical hidroxila ( $HO^\cdot$ ) e outros oxidantes não radicais como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio ( $O_2$ ).

O dano oxidativo é resultado do desbalanço dos sistemas antioxidantes e inclui modificação oxidativa de macromoléculas celulares, morte celular por apoptose e necrose, bem como dano estrutural no tecido (Lykkesfeldt & Svendsen, 2007). Células imunes são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo por terem em suas membranas altas concentrações de ácidos graxos polinsaturados que são muito susceptíveis a peroxidação, além disso, são grandes produtoras de ERO quando estimuladas (Spears & Weiss, 2008).

Alterações do sistema antioxidante pode causar danos a todos os tipos de biomoléculas (DNA, proteínas, lipídios, e carboidratos) e ocasionalmente induzir a injúrias tissulares. Em casos de mastite aguda por coliformes a quantidade de ERO liberada por neutrófilos polimorfonucleares, em adição ao processo inflamatório, pode ocasionar grandes danos no tecido da glândula mamária, perdas na produção de leite, e perda permanente do quarto mamário, em casos mais graves (Lauzon et al., 2006).

Devido ao efeito tóxico das ERO, existe um sofisticado sistema antioxidante (Weiss, 2005a) (Tabela 1), dos quais alguns micronerais e vitaminas são componentes. O sistema possui antioxidantes lipo e hidrossolúveis, uma vez que as ERO estão presentes em diversos compartimentos celulares. Quando a capacidade antioxidante é limitada a vida útil das células imunológicas envolvidas no processo inflamatório é reduzida e a infecção pode se tornar mais grave (Weiss, 2005a).



Tabela 1. Enzimas do sistema antioxidantes encontradas em células de mamíferos, suas funções e os respectivos microminerais que as compõe.

Componente (localização na célula)	Nutriente envolvido	Função
Superóxido Dismutase (citossol)	Cobre e zinco	Enzima que converte superóxido a peróxido de hidrogênio
Superóxido Dismutase (mitocôndria)	Manganês e zinco	Enzima que converte superóxido a peróxido de hidrogênio
Ceruloplasmina (fase aquosa)	Cobre	Proteína anti-oxidante que impede o cobre e o ferro de participar das reações oxidativas
Glutathione Peroxidase (citossol)	Selênio	Enzima que converte peróxido de hidrogênio em água
Catalase (citossol)	Ferro	Enzima (primeiramente no fígado) que converte peróxido de hidrogênio em água
Ácido Ascórbico (citossol)	Vitamina C	Reage com diversos tipos de ERO
$\alpha$ Tocoferol (membranas)	Vitamina E	Quebra as reações de peroxidação em cadeia de ácidos graxos
$\beta$ Caroteno (membranas)	$\beta$ Caroteno	Previne as reações de peroxidação em cadeia de ácidos graxos

Fonte: Adaptado de (WEISS, 2005a)

O metabolismo oxidativo é um complexo sistema necessário para auxiliar células imunes no combate a patógenos, no entanto, quando ocorre desequilíbrio entre os agentes oxidantes e antioxidantes, danos celulares e teciduais podem ocorrer. Portanto, torna-se imprescindível a manutenção de adequada capacidade antioxidante durante os episódios de mastite.

#### 4. MASTITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

A mastite é a inflamação da glândula mamária, em resposta a uma invasão da glândula mamária por microorganismos patogênicos, seguida de uma série de reações que reduzem a capacidade de produção, altera a composição do leite, e aumenta a contagem de células somáticas (Harmon, 1994).

As infecções da glândula mamária podem apresentar-se nas formas clínica e subclínica, sendo esta última a mais prevalente e responsável por aproximadamente 70% das perdas, devido a redução da secreção de leite em até 45% (Fonseca & Santos, 2000). A mastite tem etiologia complexa e multivariada o que torna necessária a identificação dos microorganismos infectantes, tanto para o controle e prevenção, quanto para monitoramento de rebanhos (Ribeiro et al., 2003).

Os agentes patógenos envolvidos com a mastite são classificados como contagiosos e ambientais. Essencialmente, como patógenos contagiosos são considerados os microorganismos adaptados a sobreviver no hospedeiro,

em particular na glândula mamária (Bradley, 2002). Cabe ressaltar, que rebanhos que possuem um manejo de ordenha inadequado e alta prevalência de microorganismos contagiosos, apresentam alto índice de mastite subclínica. Os agentes da mastite contagiosa ainda podem ser divididas em dois grandes grupos: patógenos principais e patógenos secundários. No primeiro grupo os mais importantes são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, e entre os secundários, o *Corynebacterium bovis* (Fonseca & Santos, 2000).

Segundo Bradley (2002), os patógenos ambientais são podem ser descritos como invasores oportunistas da glândula mamária, não adaptados a sobreviver no hospedeiro. Esses patógenos vivem preferencialmente no habitat da vaca, em locais que apresentam esterco, urina, barro e camas orgânicas e, quando invadem a glândula mamária, multiplicam-se, produzem a resposta imune no hospedeiro. Esse tipo de mastite caracteriza-se por alta incidência de casos clínicos, geralmente de curta duração, freqüentemente com manifestação aguda e maior concentração nos momentos do pré e pós-parto imediato (Fonseca & Santos, 2000). Os principais microorganismos desse tipo de infecção são as bactérias gram-negativas - principalmente *Enterobacteriaceae* como *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.* e *Proteus sp.*, e *Pseudomonaceae*, *estreptococcus ambientais* (principalmente *Streptococcus uberis* e menos freqüente *Streptococcus dysgalactiae*) e *enterococos* (*Enterococcus faecalis*) (Gruet et al., 2001).

Após invasão de microrganismos na glândula mamária ocorre migração e aumento no número de leucócitos presentes no leite, cuja maioria são neutrófilos polimorfonucleares. Essas células migram da corrente circulatória para a glândula mamária e, no leite, são denominadas células somáticas. Portanto, o aumento das células somáticas no leite ocorre quando se estabelece a resposta imune na glândula mamária. Outros fatores como estágio de lactação, idade do animal e estação do ano podem influenciar na contagem de células somáticas (CCS), porém o principal fator é a ocorrência de infecção intramamária (Brito et al., 1997).

A principal origem das células somáticas em animais sadios é a epitelial e representam 65 a 70% do total, já em animais com mastite crônica as células epiteliais representam menos de 50% das células somáticas, e em casos mais severos esses valores são ainda mais baixos (10 a 45%) (Fonseca & Santos, 2000). Para ser possível distinguir quartos mamários infectados de não infectados pela contagem de células somáticas, estabeleceu-se um limite de 200.000 a 250.000 cels/mL, acima do qual o quarto é considerado infectado. Nesses limites, o diagnóstico de mastite pela CCS apresenta sensibilidade de 75% e especificidade de 90%, aproximadamente (Schukken et al., 2003). Desse modo, o aumento na contagem de células somáticas, acompanhado da alteração da proporção entre os tipos celulares, se torna um importante

indicador da saúde da glândula mamária (Schukken et al., 2003)

A contagem de células somáticas, além de ser indicador de mastite, vem sendo usada por muitos países como indicador da qualidade do leite. No Brasil, a Instrução Normativa N°51/2002 (Tabela 2) estabeleceu-se novas exigências para a produção de leite, sendo incluída pela primeira vez a CCS como um parâmetro de qualidade a ser controlado (Fonseca & Santos, 2006).

Tabela 2. Limites máximos de CCS para o leite cru resfriado no Brasil.

Contagem de células somáticas máxima admitida no leite cru refrigerado		
A partir de 01/07/2005 nas regiões CO, SE e S e a partir de 01/07/2007 nas regiões N e NE.	A partir de 01/07/2008 nas regiões CO, SE e S e a partir de 01/07/2010 nas regiões N e NE.	A partir de 01/01/2011 nas regiões CO, SE e S e a partir de 01/07/2012 nas regiões N e NE.
1.000.000 células/ml	750.000 células/ml	400.000 células/ml

Fonte: MAPA (IN 51/2002)

A CCS, além de indicar o estado sanitário da glândula mamária, é também um importante critério de qualidade do leite cru, uma vez que a alta CCS indica leite e produtos lácteos com qualidade reduzida e composição alterada.

Alterações da vida de prateleira do leite e derivados, alterações de composição e sensoriais, como rancidez, estão associados ao aumento na CCS. Isto ocorre devido a ação de lipases, provenientes dos neutrófilos e macrófagos, sobre os triglicerídios, mesmo após o processo de pasteurização (Santos et al., 2007). Na fabricação de queijos, além de comprometer a qualidade sensorial, a elevada CCS interfere no rendimento, consistência e perdas de gordura e caseína no soro (Barbano et al., 2006).

Cabe ressaltar que a extensão dos danos ao tecido mamário ocasionados pela reação inflamatória, está diretamente relacionada com alterações na composição do leite (gordura, proteína, lactose, cloro, sódio, potássio) e com o aumento na CCS, no entanto, o primeiro impacto negativo do aumento da CCS para a cadeia produtiva do leite é sobre a produção, independente da alteração na composição (Santos & Fonseca, 2006). No Brasil, devido à alta prevalência de mastite, estima-se uma perda de 15% na produção de leite do país, o que representaria uma perda total de 3,3 bilhões de litros ao ano em relação à produção anual de 28,89 bilhões de litros (Santos & Fonseca, 2006).

## 5. MINERAIS

Os minerais são considerados nutrientes fundamentais pois participam de diversas funções do metabolismo animal, compõem estruturas de biomoléculas, interferem no crescimento e na manutenção de tecidos, participam como cofatores enzimáticos, ativando ações hormonais, regulam a pressão osmótica e equilíbrio ácido-básico. Estes nutrientes representam apenas cerca de 5% do peso total do corpo, mesmo assim, tem grande influência na produção do animal, acarretando acréscimos ou decréscimos na produtividade do sistema (Filappi et al., 2005).

A concentração e as formas de armazenamento dos minerais nos tecidos e fluidos do organismo podem sofrer alterações com a ingestão de dietas deficientes, desbalanceadas ou com excesso de minerais. Em alguns casos as funções fisiológicas são alteradas acarretando lesões e desordens estruturais, as quais variam de acordo com o elemento mineral, grau de duração da deficiência, toxicidade da dieta e fatores intrínsecos dos animais, como idade, sexo e espécie (Underwood & Suttle, 1999).

Os minerais podem ser classificados de várias formas que levam em consideração seus requerimentos e funções. Os que são necessários em grandes quantidades são denominados macrominerais, enquanto os que são exigidos em menores quantidades são os microminerais ou minerais traços. Os macrominerais são requeridos em quantidades maiores que 100 ppm (partes por milhão) e freqüentemente são mencionados como percentagem da dieta (ou g por kg), enquanto os microminerais são requeridos em quantidades menores que 100 ppm e expressos em ppm ou, muitas vezes, em ppb (partes por bilhão) (Mcdowell, 2003).

Os microminerais tradicionalmente tem sido suplementados nas dietas como sais inorgânicos. Mais recentemente, a partir do final da década de 1980, tem havido crescente interesse no uso de microminerais orgânicos nas dietas de ruminantes (Spears, 1996; Peixoto et al., 2005).

## 6. MINERAIS ORGÂNICOS

Minerais ligados a moléculas orgânicas como aminoácidos, carboidratos ou proteínas são denominados orgânicos (Peixoto et al., 2005). Os minerais orgânicos são também denominados quelatados (do grego *chele*, garra) ou complexados, no entanto, nem todo elemento mineral complexado pode ser definido como quelatado, pois para ser classificado como tal, o agente quelante deve conter, no mínimo, dois grupos funcionais (oxigênio, nitrogênio, amino, hidroxil), capazes de doar um par de elétrons e combinar-se, através de ligações covalentes combinadas, com um metal, e formar um anel heterocíclico com o metal (Peixoto et al., 2005).

Por definição, um quelato forma-se quando duas ou mais partes separadas e únicas de uma mesma molécula ligante formam ligações coordenadas covalentes e iônicas com o mesmo átomo de um metal (Baruselli, 2005). No quelato, dois e às vezes três aminoácidos ligam-se a um mesmo átomo de metal, formando moléculas anelares bicíclicas (dipeptídeo) e tricíclicas (tripeptídeo), assim, o quelato compartilha as propriedades dos metais e aminoácidos. Um mineral corretamente quelado apresenta altos coeficientes de absorção e tende a ser absorvido no intestino de forma semelhante a um dipeptídeo ou tripeptídeo (Baruselli, 2005).

A “Association of American Feed Control Officials” (AAFCO, 2000) define minerais orgânicos como:

a) “Quelato metal-aminoácido é um produto resultante da reação de um sal metálico solúvel com aminoácidos na proporção molar, isto é, um mol do metal para um a três moles (preferencialmente dois) de aminoácidos na forma de ligação covalente coordenada. O peso molecular médio dos aminoácidos hidrolisados pode ser, aproximadamente, de 150 dáltons e o peso molecular resultante do quelato não deve exceder a 800 dáltons.”

b) “Complexo aminoácido-metal é um produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com aminoácido(s).”

c) “Metal proteinado é o produto resultante da quelação de um sal solúvel com uma proteína parcialmente hidrolisada.”

d) “Complexo metal-polissacarídeo é o produto resultante da complexação de um sal solúvel com polissacarídeo.”

Dentro do último grupo está situado o carbo-amino-fosfo-quelato ou carboquelato. O carboquelato nada mais é que o fermentado resultante da lise enzimática de leveduras específicas, sendo as cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, as mais utilizadas neste processo (Baruselli, 2008).

Segundo Peixoto et al. (2005), os quelatos teriam grandes vantagens sobre a forma convencional de “mineralização” por serem de elevada absorção, mais biodisponíveis e menos tóxicos; adicionalmente, não haveria interação (antagonismos) entre elas e outros minerais ou nutrientes (gorduras e fibras da dieta).

A proposta de fornecer mineral ligado a moléculas orgânicas tem a premissa de reduzir a interação com outros minerais no rúmen, o que poderia resultar em complexos insolúveis com reduzida absorção intestinal (Spears, 1996).

Segundo Spears (1996), no organismo animal a maioria dos microminerais têm funções inteiramente relacionadas com complexos orgânicos ou quelatos, e não como íons inorgânicos livres, assim, a utilização de minerais inorgânicos torna-se dependente da habilidade do animal em convertê-los em formas orgânicas biologicamente ativas. A biodisponibilidade

dos elementos minerais (orgânicos e inorgânicos) é influenciada por uma série de fatores: tamanho de partícula, reatividade ou solubilidade, origem do precursor grau de calcinação e ligantes orgânicos (House, 1999).

Neste contexto, os efeitos da suplementação de minerais orgânicos na produção de ruminantes dependerá do tipo de fonte fornecida (complexos, proteínatos e amino ácidos quelados: AACs) e do processamento industrial utilizado.

## **7. ZINCO**

O zinco é um metal leve, de cor azulada, sendo um cátion bivalente, com o número atômico 30 (Mcdowell, 2003). É o micro-mineral mais abundante no meio intracelular, está envolvido em funções catalíticas, estruturais, regulatórias (Pechova et al., 2006), e participa do metabolismo de carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos (NRC, 2001). No sistema antioxidante, o Zn está presente na superóxido dismutase (Cu-ZnSOD), enzima que atua na redução de ERO. Além disso, o Zn desempenha importante papel no sistema imune por ser componente essencial de mais de 300 enzimas, incluindo as envolvidas na síntese de DNA e RNA, e conseqüentemente na replicação e proliferação de celular das células imunes (Spears & Weiss, 2008).

A absorção do zinco pode variar de 15 a 60% (Mcdowell, 2003), e os mecanismos envolvidos na absorção intestinal, estão presentes pelo menos 4 proteínas que transportam o zinco nos enterócitos. No rúmen, a absorção do Zn ainda não está bem esclarecida, uma vez que não se sabe quanto dessas proteínas transportadoras está presente no epitélio ruminal e omasal, além disso, os microorganismos ruminais podem reduzir o potencial de ionização ou dissociação do zinco ligado a compostos orgânicos (Wright et al., 2008).

A enzima metalotioneína representa a maior reserva de zinco no organismo animal, e está presente em altas concentrações no fígado, rins, pâncreas e intestino. Apesar do Zn estar distribuído e estocado em diversos de tecidos, há considerável dificuldade em mobilizar rapidamente essas reservas em casos de deficiência. Outra enzima envolvida com Zn é Cu-Zn superóxido dismutase, que também é uma forma de estocagem desse mineral e está presente no fígado (Mcdowell, 2003).

A excreção do zinco é realizada pelas fezes, secreções pancreáticas, biliares e muito pouco pela urina (Underwood & Suttle, 1999; Mcdowell, 2003). A utilização da via de excreção urinária aumenta quando são fornecidas fontes quelatadas com EDTA. O total excretado é influenciado pelos requerimentos do animal e pela absorção (Mcdowell, 2003).

A biodisponibilidade é definida como a parte do nutriente ingerido que possui potencial de suprir as demandas fisiológicas nos tecidos alvo (Mourão et al., 2005). Existe uma grande variedade de agentes quelantes utilizados

nos processos de complexação ou quelação do zinco, os quais podem afetar a biodisponibilidade do zinco (Spears et al., 2004). Outra característica que afeta a biodisponibilidade do mineral orgânico e que deve ser levada em consideração, é o grau de ligação ou intensidade na qual o ligante permanece vinculado ao metal em condições de pH fisiológico (Cao et al., 2000).

O zinco é tradicionalmente suplementado com fontes inorgânicas, sendo mais comuns o óxido de zinco (ZnO) e o sulfato de zinco (ZnSO<sub>4</sub>), podendo ser utilizados também o carbonato de zinco (ZnCO<sub>3</sub>) e cloreto de zinco (ZnCl<sub>2</sub>) (Underwood & Suttle, 1999; McDowell, 2003). Como fontes de zinco orgânico podem ser mencionados:

-Complexados: zinco metionina, zinco polissacarídeos, zinco lisina (Cao et al., 2000);

-Quelatos: zinco aminoácido quelado, zinco proteinato (Cao et al., 2000);

-Leveduras: *Saccharomyces cerevisiae* enriquecida com Zn (Cunha Filho et al., 2007).

As leveduras podem participar no processo industrial de complexação dos carboquelatos ou serem fornecidas vivas desidratadas para que retomem a atividade de crescimento e reprodução assim que entram em contato com um substrato adequado para o seu desenvolvimento (Baruselli, 2008). As cepas de *Saccharomyces cerevisiae* podem crescer em meio com elevada concentração de zinco incorporando-o em suas células, transformando o zinco inorgânico (íon metálico) em orgânico (Cunha Filho et al., 2007).

Na defesa da glândula mamária contra infecções por patógenos, o zinco está ligado ao mecanismo de reconstrução da queratina presente no canal do teto entre as ordenhas (Kinal et al., 2007), além de seu envolvimento com o metabolismo oxidativo. Este micro-nutriente também é essencial para manter a integridade da pele, primeira linha de defesa da glândula mamária (Sordillo et al., 1997).

Os benefícios da suplementação de zinco orgânico na redução da contagem de células somáticas foram descritos por Pechova et al. (2006). Outros autores (Whitaker et al., 1997), não observaram diferença ( $P > 0,05$ ) no número de casos clínicos e sub-clínicos de mastite, novas infecções, tipo de microorganismo isolado e CCS, ao suplementar vacas holandesas com diferentes fontes de zinco (proteinato X inorgânico).

O zinco é um nutriente essencial em diversos processos vitais. Seu mecanismo de absorção em ruminantes ainda não está bem esclarecido, depende da fonte fornecida e mecanismos antagonistas.

## 8. COBRE

O cobre possui número atômico 29, peso atômico 63,5 e está presente em diversas enzimas e proteínas. Suas funções fisiológicas estão ligadas a respiração celular, formação óssea, funções cardíacas, desenvolvimento do tecido conectivo, mielinização da medula espinhal, processos de queratinização e pigmentação. É um nutriente considerado tanto essencial quanto tóxico, e está presente como co-fator catalítico essencial em importantes metaloenzimas como a Cu-Zn superóxido dismutase, citocromo oxidase, lisil oxidase, dopamina- $\beta$ -hidroxilase e tirosinase (Mcdowell, 2003).

As intoxicações por cobre em ruminantes são mais freqüentes em ovinos (Du et al., 1996). Quando ruminantes consomem Cu em excesso há acúmulo no fígado e, em situação de estresse, grandes quantidades são liberadas no sangue tornando evidentes os sinais de intoxicação (crises hemolíticas) (NRC, 2001). Já a deficiência, está associada ao tipo de manejo adotado, pois animais em pastejo são mais susceptíveis pela baixa concentração de cobre e pela presença de antagonistas como o molibidênio (Mo) e o enxofre (S) e ferro (Fe) nas forrageiras (Chase et al., 2000; Minatel & Carfagnini, 2000; Vásquez et al., 2001).

Em ruminantes apenas 1 a 3% do Cu consumido é absorvido, sendo que essa absorção depende de alguns fatores como idade do animal, fonte fornecida e pela notável interação com outros nutrientes da dieta e agentes de transporte intestinal como a bile. A absorção pode ocorrer pelos mecanismos de transporte ativo e difusão, e após entrar na circulação, o Cu é depositado principalmente no fígado (Mcdowell, 2003).

Aproximadamente 90% do Cu presente no plasma ocorre na forma de ceruloplasmina, uma metaloproteína sintetizada no fígado, com incorporação de seis átomos de cobre. Os mecanismos de ação da ceruloplasmina ainda não são bem esclarecidos, mas esta proteína carrega o Cu até os tecidos alvos e está envolvida com o metabolismo do ferro (Mcdowell, 2003). Este micromineral é considerado um antioxidante, uma vez que participa no metabolismo do ferro que é grande produtor de radicais livres e da Cu-ZnSOD, enzima que converte superóxido ( $O_2^-$ ) a peróxido ( $H_2O_2$ ) (Underwood & Suttle, 1999).

A excreção do Cu é feita pelas fezes, bile, urina, leite e transpiração (Mcdowell, 2003), e a disponibilidade em ruminantes é baixa, por sofrer interações com antagonistas formando agentes insolúveis pouco utilizados (Ward & Spears, 1993). No rúmen, por exemplo, o enxofre (S) e o molibidênio (Mo) podem formar tetratiomolibidatos que reagem com o Cu tornando-se compostos indigestíveis e sem absorção (Ward & Spears, 1993). As vantagens fisiológicas da utilização do Cu orgânico podem estar ligadas a sua composição química que permite a rápida formação de compostos solúveis, quimicamente estáveis e que resistem a interação com antagonistas (Yost et al., 2002).



O Cu inorgânico se apresenta nas formas de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), carbonato de cobre ( $\text{CuCO}_3$ ), cloreto de cobre ( $\text{CuCl}_2$ ), óxido de cobre ( $\text{CuO}$ ), nitrato de cobre ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ) (Mcdowell, 2003). As fontes orgânicas de Cu podem ser:

-cobre lisina (Ward & Spears, 1993; Kegley & Spears, 1994; Chase et al., 2000);

- proteínato de cobre (Du et al., 1996; Ward et al., 1996);

Scaletti et al. (2003) observaram redução da CCS em estudo com suplementação de 20 ppm de sulfato de cobre, 60 dias pré-parto aos 42 dias de lactação, em estudo sobre a indução de mastite experimental por *Escherichia coli*.

O envolvimento do Cu com o sistema antioxidante, pelas enzimas ceruloplasmina e CuZnSOD, o torna importante na defesa da glândula mamária contra infecções, além disso, a utilização de fontes orgânicas desse mineral torna-se interessante principalmente devido à redução na interação com antagonistas.

## 9. SELÊNIO

O selênio é o micromineral essencial ligado à fertilidade e à prevenção de várias doenças (Underwood & Suttle, 1999). Este mineral é componente da enzima glutatona peroxidase que atua como antioxidante convertendo peróxido de hidrogênio em água, além de fazer parte da iodotironina 5 deiodinase, enzima que converte T4 em T3 (NRC, 2001). Assim, o Se está envolvido com três funções básicas no organismo que são a defesa antioxidante, metabolismo do hormônio da tireóide e controle das reações celulares (Mcdowell, 2003).

Grande parte do Se no organismo está presente como selenocisteína (SeCis), cujas funções são ativar as selenoproteínas, ou como selenometionina (SeMet), incorporada em proteínas que formam uma reserva biológica de Se. Antes de ser transformado SeCis, o Se (orgânico ou inorgânico) deve ser submetido a transformações metabólicas convertendo-se a seleneto ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) para posteriormente ser inserido nas selenoproteínas. Para ser incorporado em SeMet e em proteínas, o Se não precisa sofrer essas transformações intermediárias (Juniper et al., 2006; Silvestre et al., 2007).

No rúmen, o selênio consumido poderá ser incorporado à proteína microbiana pelos microorganismos ruminais, sendo desse modo absorvido no intestino como SeMet, ou deixar o rúmen e passar para o intestino na sua forma original (Weiss, 2005b). Neste contexto, a composição da dieta (relação volumoso/ concentrado) é um dos fatores que podem interferir na composição do Se que chega no intestino (Gierus, 2007).

Existem diferenças nas formas de absorção com fontes orgânicas e inorgânicas de Se. O transporte do selenito ( $\text{SeO}_3$ ) pelas bordas em escova

intestinais ocorre por simples difusão, enquanto que o selenato ( $\text{SeO}_4$ ) precisa de cotransportadores ( $\text{Na}^+$  e  $\text{OH}^-$ ). Cabe ressaltar que uma parte do selenato se transforma em selenito no rúmen, sendo assim grande parte do selenato consumido será absorvido por transporte passivo (Weiss, 2005b). As fontes orgânicas, selenocisteína e selenometionina, são absorvidas por mecanismo de transporte ativo de aminoácidos de forma análoga ao transporte de sulfatos (Mcdowell, 2003).

A excreção ocorre por via urinária ou fecal (Underwood & Suttle, 1999; Mcdowell, 2003). A excreção de Se biliar corresponde a 28% do Se consumido, no entanto, uma parte desse Se é reabsorvido, sendo o Se remanescente responsável por grande perda fecal (Underwood & Suttle, 1999). A excreção do Se depende da quantidade consumida ou administrada, da forma de administração (injetável ou dietética) e da fonte administrada (Mcdowell, 2003).

A fonte mais comum utilizada na suplementação de Se inorgânico é o selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) (Gierus, 2007) e o selenato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) (Weiss, 2005b). Para a suplementação de fontes orgânicas podemos mencionar:

- Selênio Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) (Ortman & Pehrson, 1999; Weiss & Hogan, 2005; Juniper et al., 2006; Malbe et al., 2006);
- Selenometionina (Awadeh et al., 1998);
- Selenocistina (Weiss, 2005b).

A fonte Se levedura é proveniente da fermentação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* as quais foram fornecidos melão de cana e sais de Se. Durante a fermentação o Se é incorporado às células da levedura formando alguns compostos dos quais a SeMet é o mais prevalente, por este motivo existem diferenças na composição das fontes de Se levedura comerciais. A SeCis é produzida em menor escala pela levedura, e apesar das diferenças na composição das fontes comerciais, todas devem apresentar mais do que 2% de Se residual inorgânico (Weiss, 2005b).

Weiss & Hogan (2005) não observaram diferença ( $P>0,05$ ) em relação à CCS ao suplementar vacas com Se levedura dos 60 dias pré parto aos 30 dias de lactação. Ortman & Pehrson (1999) encontraram aumento de Se no leite com suplementação de leveduras enriquecidas com Se em vacas leiteiras.

O Se tem grande importância no sistema antioxidante por ser componente estrutural da GSH-Px. A utilização de fontes orgânicas deste mineral pode ser de grande interesse na proteção da glândula mamária devido aos diferentes mecanismos de absorção e provável maior biodisponibilidade.

## 10. CARBO-AMINO-FOSFO-QUELATOS DE ZINCO, COBRE E SELÊNIO E A SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A adequada nutrição de minerais e vitaminas pode ser utilizados como estratégia para otimizar os mecanismos de defesa da glândula mamária contra a invasão de patógenos causadores de mastite (Weiss & Wyatt, 2002). A suplementação mineral está envolvida com a redução no estresse oxidativo causado pelo aumento nas exigências metabólicas durante o periparto (Spears & Weiss, 2008). O fornecimento de Zn, Cu e Se tem sido associado à redução na CCS e ao aumento na capacidade antioxidante da CuZnSOD, CP e GSH-Px, (Weiss & Wyatt, 2002; Weiss, 2005). Fontes orgânicas de minerais (complexados, aminoácidos quelatados e proteínatos) têm sido descritas como mais biodisponíveis quando comparados com fontes minerais inorgânicas (Ashmead & Samford, 2004).

Cortinhas et al. (2010) forneceram Zn, Cu e Se orgânico (carbo-amino-fosfo-quelados) para um grupo de 9 vacas leiteiras e Zn, Cu e Se inorgânico para outro grupo composto por 10 vacas. Neste estudo, a incidência (novos casos de mastite subclínica) e o total de casos de mastite subclínica ( $P=0,038$ ) foi menor para o grupo de vacas alimentadas com fontes orgânicas de Zn, Cu e Se em comparação animais recebendo dieta com fontes inorgânicas (Tabela 3), a CCS média durante os 80 primeiros dias de lactação tendeu a ser menor ( $P=0,056$ ) para o grupo de vacas que recebeu Zn, Cu e Se como fonte orgânica (Tabela 4) e não foram observados efeitos do fornecimento de fonte orgânica de Zn, Cu e Se sobre as concentrações de CuZnSOD, GSH-Px e CP (Tabela 4). Tais resultados indicam que houve aumento da capacidade de resposta imune e melhora da saúde da glândula mamária, quando as vacas foram alimentadas com fonte orgânica de Zn, Cu e Se.

Tabela 3. Número de total de casos de mastite subclínica, ocorrência de novos casos de infecção de mastite subclínica, e número total de casos de mastite clínica durante o período experimental.

Parâmetros de saúde da glândula mamária	Fontes de Zn, Cu e Se		P <sup>1</sup>
	Orgânica	Inorgânica	
Novos casos de infecção de mastite subclínica	1	8	0,014
Número de vacas com CCS > 200,000 cells/ml	1	13	0,001
Casos clínicos	2	4	-
Total de vacas testadas	9	10	-

<sup>1</sup>Probabilidade.

Fonte: Cortinhas et al. (2010)

Tabela 4. Efeitos das fontes orgânicas e inorgânicas de Se, Zn and Cu sobre as concentrações da superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx), CCS e ceruloplasmina em vacas leiteiras.

Variável	Fontes de Zn, Cu e Se		P <sup>1</sup>		
	Orgânico	Inorgânico	Trat <sup>2</sup>	Tempo	Trat X Tempo <sup>3</sup>
Log GSH-Px (U/g Hb)	2,60	2,66	0,276	0,065	0,964
Log CuZnSOD (U/g Hb)	3,47	3,50	0,475	0,050	0,968
CP (U/ml)	0,014	0,012	0,194	0,678	0,212
Log CCS (1000/ml)	4,57	4,70	0,056	0,682	0,647

<sup>1</sup>Probabilidade; <sup>2</sup>tratamento; <sup>3</sup>interação entre tratamento e tempo.

Fonte: Cortinhas et al. (2010)

## 11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nutrição mineral de vacas leiteiras tem efeito benéfico sobre a saúde da glândula mamária, no entanto, mais estudos são necessários para elucidar de que forma mecanismos como a absorção, distribuição e utilização dos diferentes elementos e fontes minerais interferem neste processo.

## REFERÊNCIAS

- AAFCO. Official publication. ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL. Atlanta, GA.; AAFCO, 2000.
- ASHMEAD, H. D.; SAMFORD, R. A. Effects of metal amino acid chelates or inorganic minerals on three successive lactations in dairy cows. **International Journal Applied Research Veterinary Medicine**, v. 2, n. 3, p. 181-188, 2004.
- AWADEH, F. T., KINCAID, R. L.; JOHNSON, K. A. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1204-1215, 1998.
- BARBANO, D. M.; MA, Y.; SANTOS, M. V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. E15-E19, 2006.
- BARUSELLI, M. S. Benefícios do uso de minerais sob a forma orgânica no balanceamento de rações para ruminantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1., 2008, Fortaleza. [Anais...] 2008. 21 p.
- BARUSELLI, M. S. Suplementos e co-produtos na nutrição de gado de corte. In: SIMBOI-SIMPÓSIO SOBRE DESAFIOS E NOVAS TECNOLOGIAS NA BOVINOCULTURA DE CORTE., 1., 2005, Brasília. [Anais...] 2005. p. 7-21.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The Veterinary Journal**, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

- BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do califórnia mastitis teste como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 5, 1997.
- CAO, J.; HENRY, P. R.; GUO, R.; HOLWERDA, R. A.; TOTH, J. P.; LITTELL, R. C.; MILES, R. D.; AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 8, p. 2039-2054, 2000.
- CHASE, C. R.; BEEDE, D. K.; VAN HORN, H. H.; SHEARER, J. K.; WILCOX, C. J.; DONOVAN, G. A. Responses of Lactating Dairy Cows to Copper Source, Supplementation Rate, and Dietary Antagonist (Iron). **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1845-1852, 2000.
- CORTINHAS, C.S.; BOTARO, B.G.; SUCUPIRA, M.C.A.; RENNO, F.P.; SANTOS, M.V. Antioxidant enzymes and somatic cell count in dairy cows fed with organic source of zinc, copper and selenium. *Livestock Science*, v.127, p.84-87, 2010. **In Press**.
- CUNHA FILHO, L. F. C.; CHIACCHIO, S. B.; GONSALVES, R. C.; PARDO, P. E.; GASTE, L.; OKANO, W.; CROCCI, A. J. Avaliação da produção de leite e contagem de células somáticas em bovinos leiteiros suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* como fonte de zinco orgânico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 4, p. 685-694, 2007.
- DU, Z.; HEMKEN, R. W.; HARMON, R. J. Copper Metabolism of Holstein and Jersey Cows and Heifers Fed Diets High in Cupric Sulfate or Copper Proteinate. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 10, p. 1873-1880, 1996.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 8, 1997.
- FILAPPI, A.; PRESTES, D.; CECIM, M. Suplementação mineral para bovinos de corte sob pastejo - revisão. **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 2, p. 91-98, 2005.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos, 2000. 175 p.
- GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1212-1220, 2007.
- GRUET, P.; MAINCENT, P.; BERTHELOT, X.; KALTSATOS, V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 3, p. 245-259, 2001.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2103-2112, 1994.
- HOUSE, W. A. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. **Field Crops Research**, v. 60, p. 115-141, 1999.
- JUNIPER, D. T.; PHIPPS, R. H.; JONES, A. K.; BERTIN, G. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 3544-3551, 2006.
- KEGLEY, E. B.; SPEARS, J. W. Bioavailability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2728-2734, 1994.
- KINAL, S.; KORNIEWICZ, D.; JAMROZ, D.; KORNIEWICZ, A.; SLUPCZYNSKA, M.;

- BODARSKI, M.; ZIEMINSKI, R.; OSIEGLOWSKI, S.; DYMARSKI, I. The effectiveness of zinc, copper and manganese applied in organic forms in diets of high milk yielding cows. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 5, n. 2, p. 189-193, 2007.
- LAUZON, K.; ZHAO, X.; LACASSE, P. Deferoxamine reduces tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 3846-3857, 2006.
- LIPPOLIS, J. D.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 113, n. 1-2, p. 248-255, 2006.
- LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. **Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 502-511, 2007.
- MALBE, M.; ATTLA, M.; ATROSHI, F. Possible involvement of selenium in Staphylococcus aureus inhibition in cow's whey. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n. 3-4, p. 159-164, 2006.
- MAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução normativa nº51** de 18 de setembro de 2002. Disponível em: <<http://www.extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em: 07 mar. 2009.
- MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003. 644 p.
- MINI, L.; CARFAGNINI, J. C. Copper deficiency and immune response in ruminants. **Nutrition Research**, v. 20, n. 10, p. 1519-1529, 2000.
- MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 4, p.529-539, 2005.
- NOCKELS, C. F. Antioxidants improve cattle stress immunity following. **Animal Feed Science and Technology**, v. 62, p. 10, 1996.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001, 381 p.
- ORTMAN, K.; PEHRSON, B. Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 3365-3370, 1999.
- PAAPE, M. J.; BANNERMAN, D. D.; ZHAO, X.; LEE, J. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. **Veterinary Research**, v. 34, p. 31, 2003.
- 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.
- PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.
- PICCININI, R.; BINDA, E.; BELOTTI, M.; DAPRA, V.; ZECCONI, A. Evaluation of milk components during whole lactation in healthy quarters. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 2, p. 226-232, 2007.
- RABOT, A.; WELLNITZ, O.; MEYER, H. H. D.; BRUCKMAIER, R. M. Use and relevance of a bovine mammary gland explant model to study infection responses in bovine mammary tissue. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 1, p. 93-99, 2007.
- RAINARD, P.; RIOLLET, C. Innate immunity of the bovine mammary gland. **Veterinary Research**, v. 37, p. 369-400, 2006.

- RIBEIRO, M. E. R.; PETRINI, L. A.; AITA, M. F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J. F.; SCHRAMM, R. C.; MARTINS, P. R.; BARBOSA, R. S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 287-294, 2003.
- RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELÚZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Journal of Bioscience**, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2006. 314 p.
- SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, Y. V. R.; BOTARO, B. G. Efeito da remoção de células somáticas pela microfiltração sobre a lipólise do leite. **Brazilian Journal veterinary Research animal Scienci**, v. 44, n. 5, p. 315-321, 2007.
- SCALETTI, R. W.; TRAMMELL, D. S.; SMITH, B. A.; HARMON, R. J. Role of dietary copper in enhancing resistance to escherichia coli mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1240-1249, 2003.
- SCHUKKEN, Y. H.; WILSON, D. J.; WELCOME, F.; GARRISON-TIKOFSKY, L.; GONZALEZ, R. N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 579-596, 2003.
- SILVESTRE, S. T.; RUTIGLIANO, H. M.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P.; STAPLES, C. R. Effect of selenium source on production, reproduction, and immunity of lactating dairy cows. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 18., 2007, Gainesville, FL. **Annual...** 2007. 13 p.
- SORDILLO, L. M. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Livestock Production Science**, v. 98, n. 1-2, p. 89-99, 2005.
- SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1851-1865, 1997.
- SORDILO, L. M.; STREICHER, K. L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 7, n. 2, p. 12, 2002.
- SPEARS, J. W. Organic trace minerals in ruminant nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 58, n. 1-2, p. 151-163, 1996.
- SPEARS, J. W.; SCHLEGEL, P.; SEAL, M. C.; LLOYD, K. E. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. **Livestock Production Science**, v. 90, n. 2-3, p. 211-217, 2004.
- SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 70-76, 2008.
- UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. (Ed.). **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford Oxon: CABI Publishing, 1999. 624 p.
- VÁSQUEZ, E. F. A.; HERRERA, A. P. N. H.; SANTIAGO, G. S. Interação cobre, molibidênio e enxofre em ruminantes. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1101-1106, 2001.
- WARD, J. D.; SPEARS, J. W. Comparison of Copper Lysine and Copper Sulfate as Copper Sources for Ruminants Using In Vitro Methods. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n.10, p. 2994-2998, 1993.

- WARD, J. D.; SPEARS, J. W.; KEGLEY, E. B. Bioavailability of Copper Proteinate and Copper Carbonate Relative to Copper Sulfate in Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 127-132, 1996.
- WEISS, W. P. Antioxidant nutrients, cow health, and milk quality. In: PENN STATE DAIRY CATTLE NUTRITION WORKSHOP, 2005, Grantville, PA, 2005a. p. 11-18
- WEISS, W. P. Selenium sources for dairy cattle. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2005, Fort Wayne, Indiana. 2005b, p. 61-71.
- WEISS, W. P.; HOGAN, J. S. Effect of Selenium Source on Selenium Status, Neutrophil Function, and Response to Intramammary Endotoxin Challenge of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4366-4374, 2005.
- WEISS, W. P.; SOCHA, M. T. Dietary Manganese for Dry and Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 7, p. 2517-2523, 2005.
- WEISS, W. P.; WYATT, D. J. Effects of feeding diets based on silage from corn hybrids that differed in concentration and in vitro digestibility of neutral detergent fiber to dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 12, p. 3462-3469, 2002.
- WHITAKER, D. A.; EAYRES, H. F.; AITCHISON, K.; KELLY, J. M. No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate, recovery rate and somatic cell count in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 153, n. 2, p.197-203, 1997.
- WRIGHT, C. L.; SPEARS, J. W.; WEBB JR., K. E. Uptake of zinc from zinc sulfate and zinc proteinate by ovine ruminal and omasal epithelia. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 6, p. 1357-1363, 2008.
- YOST, G. P.; ARTHINGTON, J. D.; MCDOWELL, L. R.; MARTIN, F. G.; WILKINSON, N. S.; SWENSON, C. K. Effect of Copper Source and Level on the Rate and Extent of Copper Repletion in Holstein Heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3297-3303, 2002.