

DANIELA LENTZ

**DEFICIÊNCIA DE COBRE COMO CAUSA DE ENFERMIDADE
SAZONAL EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA.**

LAGES, SC

2012

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL – MCA

DANIELA LENTZ

**DEFICIÊNCIA DE COBRE COMO CAUSA DE ENFERMIDADE
SAZONAL EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA.**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, na área de concentração de Patologia Veterinária, na Universidade do Estado de Santa Catarina.

Orientador: Dr. Aldo Gava

Co-orientadora: Dra. Sandra Davi Traverso

LAGES - SC

2012

Dedico aos meus pais Célio Cordova Lentz e Lucia Maria Lentz e aos meus irmãos Luciane Lentz e Douglas Lentz, pelo amor, carinho e incentivo. Vocês são o melhor presente que Deus me deu, amo vocês demais.

AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que sempre me deu forças e me iluminou em mais uma etapa de minha vida.

Aos meus pais, Célio e Lucia, pelo amor, incentivo e orações. Minha maior alegria, meus exemplos de vida, a quem dedico especialmente mais esta conquista.

Aos meus irmãos Douglas e Luciane, pelo carinho e apoio para eu realizar mais um sonho.

A Vanessa Borelli, minha amiga e companheira que me acolheu com muito carinho no momento mais difícil. Obrigada por tudo minha querida e fiel conselheira. Ao seu noivo Fabrício, obrigada pela ajuda e amizade.

Ao meu noivo Silvano Gomes e toda a sua família, pelo amor e principalmente pela paciência de ter me esperado todo esse tempo.

A todos meus familiares e amigos pelo carinho e orações para que realizasse mais este sonho.

Ao Padre Fernando Gonçalves, meu melhor amigo, que me ensinou a amar Jesus de um modo muito especial.

Aos meus amigos de fé Vando e Mariselma, pelo carinho amizade e orações que foram fundamentais em minha vida.

Ao meu orientador e amigo Professor Aldo Gava, que me aceitou em ser bolsista, sem ter me conhecido antes, agradeço a confiança, compreensão, paciência, ensinamentos, conselhos e pelos momentos maravilhosos que passei no sítio tantas vezes. Fica a imagem do exemplo de humildade e competência.

A professora Sandra, obrigada por ter me indicado para vaga de bolsista no laboratório, tenho o maior orgulho em fazer parte desta família. Agradeço pelos ensinamentos, amizade e os maravilhosos momentos que compartilhamos.

A Franciane e Kialane, que são muito mais que amigas, minhas irmãs que sempre estiveram do meu lado desde a graduação.

A Renata, minha querida e fiel amiga, que amo muito e que sempre me ajudou, me escutou, me acolheu.

A Fernanda, minha companheira de sala, e a Luciane minha companheira de férias, de quarto obrigado por tudo, pela amizade e pelos ótimos momentos que vivemos juntas.

A Thalita, pelo companheirismo e amizade.

A Tiffany, pelo apoio, auxílio no preparo das amostras e os bons momentos compartilhados. A sua filha Luiza, pelo carinho e pelos abraços que foram capazes de transmitir a paz tão desejada.

A Michelle, Diego, Lucila, Fernanda Laskoski pela amizade e agradável convívio.

A Sandra “secreta” e a dona Iane, minhas queridas amigas, obrigada por todo carinho e atenção que sempre me deram e pelas comidas especiais.

A Marcia, Daise e Tati Reiter em especial, e a todos os colegas de mestrado pelo companheirismo, amizade e pelos ótimos momentos que passamos juntos.

A Eduarda e a Amanda, minhas companheiras de república, pelos dois anos de uma convivência harmoniosa, pela amizade e companheirismo.

A Camila Y. Lench, pela amizade e parceria.

A Fátima Bitencourt e a professora Mari Luci Campos, por todos os conhecimentos adquiridos e por disponibilizar o laboratório para a preparação das amostras.

Ao técnico do laboratório da Universidade Federal de Santa Catarina, Jairo Fontana Bez, que realizou as análises dos elementos minerais no fígado dos animais.

A UDESC, obrigada pelo conhecimento e oportunidade concedida.

Ao Laboratório de Patologia Animal, aos professores, funcionários, bolsistas e estagiários, por todo conhecimento adquirido, amizade e alegria compartilhados.

Aos professores do Laboratório de Parasitologia, em especial a professora Amélia Aparecida Sartor e ao professor Antonio de Souza Pereira, obrigada por todos os conhecimentos adquiridos, pela amizade e por despertar a minha paixão pela parasitologia.

A FAPESC, pela concessão da bolsa de mestrado, importante para auxílio à pesquisa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para conclusão deste trabalho...

Muito Obrigada!

“Tudo posso Naquele que me fortalece.”
Filipenses 4, 13.

RESUMO

Descrevem-se os dados epidemiológicos, sinais clínicos e lesões de uma enfermidade de bovinos de ocorrência sazonal caracterizada por surtos de diarreia crônica, afebril, responsiva ao tratamento com sulfato de cobre. A enfermidade ocorre em propriedades com topografia de declive acentuado nas diferentes regiões do estado de Santa Catarina, com maior frequência na região Oeste e Planalto Serrano, nos meses de outubro a janeiro e posterior a períodos de chuva intensa. A morbidade oscilou de 6,16 a 66,6% e mortalidade de 2,1 a 20%. Além da diarreia os animais apresentam emagrecimento progressivo, pelos arrepiados, às vezes com descoloração dos pelos ao redor dos olhos, culminando com a morte. Através da necropsia de animais que morreram pela enfermidade foi observado caquexia, palidez das mucosas, baço de coloração marrom e intestino com conteúdo líquido. Na microscopia o único achado significativo foi hemossiderose esplênica. A dosagem da concentração hepática de cobre e molibdênio através do método espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado ICP-MS, com introdução da amostra por nebulização pneumática dos animais que foram necropsiados revelou baixos valores de cobre (4,70 a 70,35 ppm) e normais de molibdênio (0,07 a 1,35 ppm). No tratamento experimental foi administrado sulfato de cobre via oral a dois bovinos, com os sinais clínicos da doença durante um período de 30 dias, os animais obtiveram melhora do quadro clínico e ganho de peso corporal. O quadro epidemiológico, clínico e patológico, as baixas concentrações de cobre encontradas nas amostras de fígado e a resposta positiva ao tratamento com sulfato de cobre definem a enfermidade como doença carencial por deficiência de cobre.

Palavras-chave: Bovinos. Deficiência de cobre. Fígado. Diarreia.

ABSTRACT

It has been described the epidemiological, clinical signs and lesions of a disease of cattle characterized by seasonal occurrence of outbreaks of diarrhea, chronic fever, responsive to treatment with copper sulfate. The disease occurs on properties with steeply sloping topography of the different regions of the state of Santa Catarina, with greater frequency in the west Highlands and Serra, in the months from October to January and after periods of heavy rain. Morbidity ranged from 6.16 to 66.6% and mortality from 2,1 to 20%. Besides of diarrhea, the animals showed weight loss, the bristling, sometimes with discoloration around the eye, culminating in death. In the necropsy of animals that died from disease was observed cachexia, pale mucous membranes, spleen and intestine with brown liquid content. Microscopically the only significant finding was splenic hemosiderosis. The dosage of the liver concentrations of copper and molybdenum by mass spectrometry method of inductively coupled plasma source ICP-MS, with introduction of the sample by pneumatic spraying of the animals were necropsied showed low levels of copper (4.70 to 70.35 ppm) of molybdenum and normal (from 0.07 to 1.35 ppm). In the experimental treatment was administered orally copper sulphate for two animals with clinical signs of disease during a period of 30 days, the animals had clinical improvement and body weight gain. The epidemiological, clinical and pathological, low concentrations of copper found in liver samples and the positive response to treatment with copper sulphate define the disease as deficiency disease by copper deficiency.

Keywords: Cattle. Copper deficiency. Liver. Diarrhea.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Mapa de Santa Catarina. Em destaque, municípios onde foi realizado levantamento de históricos de deficiência de cobre. Em amarelo: **1.** Irani; **2.** Vargem Bonita; **3.** Ouro. Em azul: **4.** Cerro Negro; **5.** Bom Retiro; **6.** Bom Jardim da Serra..... 35
- Figura 2 – Bovino nº6 do surto 8. Diarréia crônica. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro,SC..... 37
- Figura 3 – Bovino do surto 4. Despigmentação dos pelos ao redor dos olhos. Deficiência de cobre. Município de Irani, SC..... 37
- Figura 4 – Bezerro do surto 4. Baixo desenvolvimento, filho de vaca com deficiência de cobre. Município de Irani, SC..... 38
- Figura 5 – Bovino nº6 do surto 8. Baço reduzido de volume e com coloração marrom. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro, SC..... 38
- Figura 6 – Bovino nº6 do surto 8. Intestino grosso com conteúdo líquido. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro, SC..... 39
- Figura 7 – Bovino nº6 do surto 8. Hemossiderose no baço. Deficiência de cobre. Bovino do município de Cerro Negro, SC..... 39
- Figura 8 – Vaca 1 do surto 8 – Deficiência de cobre. Antes do tratamento com sulfato de cobre..... 40

Figura 9 – Vaca 2 do surto 8 – Deficiência de cobre. Antes do tratamento com sulfato de cobre.....	40
Figura 10 – Vaca 1 do surto 8 – Após 30 dias de tratamento com sulfato de cobre.....	41
Figura 11 – Vaca 2 do surto 8 – Após 30 dias de tratamento com sulfato de cobre.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores de cobre obtidos pela análise de amostras de fígado e níveis de deficiência.....	25
Tabela 2 –	Valores de molibdênio e níveis de intoxicação em fígado de bovino.....	30
Tabela 3 –	Identificação dos surtos, mês e ano da ocorrência, municípios, total de animais na propriedade, total de doentes e total de mortos.....	36
Tabela 4 –	Identificação do animal, idade, peso em kg ao primeiro dia, ganho de peso aos 15 e 30 dias após tratamento com sulfato de cobre.....	41
Tabela 5 –	Identificação do animal e surto, município, espécie, sexo, idade, dosagem de cobre e molibdênio em amostras de fígados formolizadas e congeladas...	42

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
1 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
1.1 MINERAIS.....	16
1.1.1 Aspectos Gerais.....	16
1.1.2 Funções dos minerais.....	17
1.1.3 Diagnóstico de deficiência mineral.....	18
1.1.4 Profilaxia e medidas corretivas das deficiências minerais.....	19
1.2 DEFICIÊNCIA DE COBRE EM BOVINOS.....	19
1.2.1 Histórico.....	19
1.2.2 Epidemiologia.....	21
1.2.3 Incidência sazonal.....	23
1.2.4 Aspectos gerais.....	23
1.2.5 Sinais clínicos da deficiência de cobre em bovinos.....	24
1.2.6 Lesões macro e microscópicas da deficiência de cobre em bovinos.....	24
1.2.7 Diagnóstico da deficiência de cobre em bovinos.....	24
1.2.8 Tratamento e controle da deficiência de cobre em bovinos.....	25
1.3 INTOXICAÇÃO POR MOLIBDÊNIO EM BOVINOS.....	26
1.3.1 Histórico.....	26
1.3.2 Epidemiologia.....	28
1.3.3 Aspectos gerais.....	29
1.3.4 Sinais clínicos da intoxicação por molibdênio em bovinos.....	29
1.3.5 Lesões macro e microscópicas da intoxicação por molibdênio em bovinos.....	30
1.3.6 Diagnóstico da intoxicação por molibdênio em bovinos.....	30
1.3.7 Tratamento e controle da intoxicação por molibdênio em bovinos.....	31
1.4 INTERAÇÃO COBRE, MOLIBDÊNIO E ENXOFRE.....	31
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
2.1 HISTÓRICO E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	32
2.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLETA DE AMOSTRAS.....	32
2.3 TRATAMENTO EXPERIMENTAL.....	33
2.4 DOSAGEM DA CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE COBRE E MOLIBDÊNIO.....	33
3 RESULTADOS.....	35
3.1 DOENÇA ESPONTÂNEA.....	35

3.2 TRATAMENTO EXPERIMENTAL.....	39
3.3 DOSAGEM DA CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE COBRE E MOLIBDÊNIO.....	42
4 DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

INTRODUÇÃO

Surtos de diarreia crônica, afebril, em bovinos ocorrem em diferentes regiões do estado de Santa Catarina, com maior frequência na região Oeste. Em estudos preliminares foi verificado que a enfermidade ocorre sob a forma de grandes surtos nos meses de outubro a janeiro em propriedades com declive acentuado e posteriormente a períodos de chuva intensa. Nessas propriedades a suplementação mineral para os bovinos raramente era efetuada e em geral era oferecido apenas cloreto de sódio.

Enfermidade semelhante é descrita em outros países e ocorre principalmente durante a primavera e verão, período este que coincide com a diminuição dos níveis de cobre nas pastagens (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Esta situação é agravada pela lixiviação do cobre que ocorre devido aos altos índices pluviométricos que antecedem os surtos, promovendo uma redução do cobre na relação cobre: molibdênio (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999; VÁSQUEZ, HERRERA e SANTIAGO, 2001).

A carência de cobre em bovinos caracteriza-se por diarreia persistente e afebril, emaciação, pelagem seca e sem brilho, despigmentação dos pelos, particularmente ao redor dos olhos (ROSENBERGER, 1975; RADOSTITS et al., 2000). Na necropsia não são observadas lesões características, exceto evidência de anemia e ausência de lesões entéricas (RADOSTITS et al., 2000), e na microscopia são observadas rarefação e porose do tecido ósseo (ROSENBERGER, 1975) e hemossiderose no baço e linfonodos (TOKARNIA et al., 2010). O diagnóstico é realizado através das concentrações de cobre no fígado (RADOSTITS et al., 2000; TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000). A resposta ao tratamento com suplementação de cobre é uma maneira eficaz de diagnóstico, comparando as variáveis de produção e saúde dos grupos de animais, que receberam e os que não receberam cobre (RADOSTITS et al., 2000; MARQUES et al., 2003). Desempenho reprodutivo, taxa de

crescimento e índice de mortalidade de bezerros são as variáveis utilizadas para comparação (RADOSTITS et al., 2000; TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000).

O presente trabalho tem por objetivo identificar a etiologia de surtos de diarreia crônica que ocorrem em bovinos ao final da primavera e início de verão no estado de Santa Catarina.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 MINERAIS

1.1.1 Aspectos Gerais

As deficiências minerais ocorrem em muitas partes do mundo, estão relacionadas a determinadas áreas geográficas. Se elevadas, em regiões onde a população depende da criação de gado, podem ser responsáveis pela pobreza geral existente. A deficiência leve a moderada pode ocasionar prejuízos relacionados ao baixo desempenho dos animais e diminuição da produtividade (TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010).

Das deficiências de minerais em bovinos no Brasil, a deficiência de fósforo é a mais importante economicamente (TOKARNIA et al., 1999), e as deficiências de microelementos mais comuns são as de cobre e cobalto (TOKARNIA et al., 1999; MORAES, TOKARNIA e DÖBEREINER, 1999).

No Brasil a suplementação mineral para bovinos em geral segue uma das seis regras comumente observadas: (1) Parte dos pecuaristas utilizam mistura mineral completa, (2) outra parte adquirem uma mistura mineral completa, formulada de acordo com as análises de solo e de forrageiras, com a quantidade de minerais necessária a ser suplementada aos animais; (3) utilizam somente cloreto de sódio (NaCl); (4) uma menor parte dos pecuaristas não administram qualquer suplemento mineral ao rebanho; (5) grupo de pecuaristas fornecem aos animais de maneira irregular e aleatória o cloreto de sódio ou a mistura mineral comercial e (6) devido as misturas minerais apresentarem um alto custo, alguns pecuaristas diluem essas misturas minerais em cloreto de sódio, reduzindo a concentração de outros minerais, pois dependendo da diluição, em algumas situações haverá necessidade de corrigir os elementos minerais deficientes (PEIXOTO et al., 2005).

Muitos fatores afetam o requerimento de minerais, como nível de produção, idade, inter-relação com outros nutrientes, nível e fórmula química dos elementos minerais, ingestão, adaptação animal e raça (MC DOWELL e CONRAD, 1977).

Na América Latina, em diversas regiões, a concentração de minerais nas plantas depende da interação de inúmeros fatores incluindo solo, estágio de maturidade da planta, espécie e produção da planta, clima e manejo da pastagem. A ocorrência de deficiência mineral no gado está associada com regiões específicas e está diretamente relacionada com as características do solo (MC DOWELL e CONRAD, 1977).

Malafaia et al.(2004), através de experimentação observaram que os sinais clínicos de deficiência de minerais aparecem nos animais dentro de semanas a poucos meses.

Em relação à eficiência dos suplementos minerais, já é conhecido que 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. A suplementação seletiva é utilizada em situações específicas e possibilita que os acertos em sua composição, resultam em maior eficácia na profilaxia e na correção dos problemas com deficiências minerais (PEIXOTO et al., 2003).

1.1.2 Função dos minerais

Os minerais realizam três funções indispensáveis para o organismo dos animais e do homem. 1) Atuam como componentes estruturais dos órgãos e tecidos corporais, como por exemplo, cálcio e o fósforo. 2) Atuam como componentes dos fluidos e tecidos corporais em forma de eletrólitos para manutenção da pressão osmótica, equilíbrio ácido-base e permeabilidade das membranas celulares (cálcio, sódio, potássio, cloro e magnésio). 3) Atuam como catalizadores em processos enzimáticos (cobre e manganês); componentes integrantes de metalo-enzimas (zinco e manganês) ou de vitaminas (cobalto) (UNDERWOOD e SUTTLE,1999; TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010).

Os minerais considerados essenciais são classificados como macroelementos porque os animais necessitam em grande quantidade como o cálcio, fósforo, magnésio, sódio, cloro, potássio e enxofre, e os microelementos porque a quantidade necessária aos animais é menor, que são o ferro, cobre, cobalto, iodo, zinco, selênio e manganês (UNDERWOOD e SUTTLE,1999; NRC, 2000; TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2010).

1.1.3 Diagnóstico de deficiência mineral

Para 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. O primeiro ponto necessário para a avaliação do rebanho inclui: histórico, exame clínico, efetuação de necropsias e análises histopatológicas. Quando as deficiências minerais não são tão evidentes e os sinais clínicos, achados de necropsia e lesões histológicas não são suficientes para concluir o diagnóstico, deve-se optar pelas dosagens químicas e pela experimentação, para ter certeza no diagnóstico de deficiências de minerais (TOKARNIA, DÖBEREINER e MORAES, 1988; TOKARNIA et al., 1999; TOKARNIA et al., 2010). A análise de tecidos animais é mais precisa, pois retrata a contribuição do ambiente total (água, forragem e solo) (MC DOWELL e CONRAD, 1977). Outros materiais provenientes dos animais, podem ser analisados como pelos, fezes, urina e saliva (TOKARNIA, DÖBEREINER e MORAES, 1988).

De acordo com Tokarnia et al. (2000), pela análise de amostras de fígado e osso é possível tirar conclusões satisfatórias sobre a ocorrência de deficiências minerais em extensas regiões, com um número relativamente pequeno de amostras.

Em segundo lugar, pode-se realizar exame das pastagens (TOKARNIA, DÖBEREINER e MORAES, 1988; TOKARNIA et al., 2010). A maior desvantagem da análise dos elementos na forragem é a incerteza de amostras representativas de que o gado consome (MC DOWELL e CONRAD, 1977).

Enquanto que na análise do solo, nem todo mineral presente é absorvido pela planta, devido a certos fatores como o pH e a fórmula química do mineral no solo (TOKARNIA, DÖBEREINER e MORAES, 1988; TOKARNIA et al., 2010). A análise do solo pode oferecer indícios para deficiência mineral do gado, mas geralmente não são confiáveis e são de difícil interpretação (MC DOWELL e CONRAD, 1977).

A experimentação é o melhor meio no diagnóstico das deficiências minerais e consiste em administrar o mineral com suspeita de estar deficiente a um lote de animais, mantendo outro lote como testemunha em mesmas condições de pastagens e sem receber o mineral. A variação de peso é o parâmetro principal para avaliar os resultados do experimento (TOKARNIA, DÖBEREINER e MORAES, 1988; TOKARNIA et al., 2010).

1.1.4 Profilaxia e medidas corretivas das deficiências minerais

A adubação do solo com o elemento que está deficiente, apesar de oneroso, além de solucionar a deficiência do animal, aumenta a produção de massa verde da pastagem.

A administração do elemento deficiente pode ser administrada ao animal por via oral misturado ao sal comum, por meio de balas, por via parenteral ou pela água (TOKARNIA et al., 2010).

1.2 DEFICIÊNCIA DE COBRE EM BOVINOS

1.2.1 Histórico

A deficiência de cobre é um problema comum em bovinos sob pastejo extensivo em várias partes do mundo (LUCCI, 1997).

No Brasil a deficiência de cobre foi diagnosticada pela primeira vez no estado do Piauí, em bovinos que apresentavam mau estado nutricional (TOKARNIA, MITIDIARI e AFFONSO, 1959).

Em Santa Catarina, Tokarnia et al. (1971), encontraram valores deficientes de cobre em amostras de fígados de 12 bovinos de 14 examinados. Destes, 10 bovinos eram da região do Alto Vale do Itajaí e os quatro bovinos restantes, eram da região sul do Estado. Neste mesmo trabalho foi encontrado deficiência de cobre no município de Jaciara, no Mato Grosso; Macapá, no Amapá; no litoral de Campos, no estado do Rio de Janeiro e no Piauí.

Lopes et al. (1980), analisaram os teores de cobre em amostras de solo, forrageiras e tecido animal durante a estação chuvosa, em cinco municípios, na microrregião de Mato Grosso de Goiás. Os teores médios de cobre hepático variaram entre 129,3 e 205,9 ppm, sendo considerados normais. Os teores de cobre nas forrageiras variaram entre 5,39 e 9,17 ppm, com todos os municípios estudados apresentando mais de 27% das amostras analisadas com teores de cobre abaixo de 4 ppm na matéria seca. O fato da maioria dos animais apresentarem teores hepáticos de cobre normais apesar das forrageiras se apresentarem deficientes é explicado pela suplementação mineral que os animais utilizados na pesquisa receberam.

Sousa et al. (1980), em trabalho realizado em seis fazendas nos períodos seco e chuvoso no Norte de Mato Grosso, analisaram amostras de solo, forrageiras e tecido animal. O valor médio de cobre hepático variou entre 196 ppm nas chuvas e 250 ppm na seca,

havendo diferença significativa. As concentrações médias de cobre nas forrageiras variaram entre 5,4 ppm nas chuvas e 2,5 ppm na seca, sem diferença significativa entre as épocas. Nas forrageiras, os valores médios de cobre foram baixos em quatro das seis fazendas estudadas. Devido à suplementação mineral, os níveis hepáticos de cobre eram normais, mesmo com níveis deficientes nas forragens.

Mendes, Conrad e Ammerman (1981), no Mato Grosso, analisaram amostras de fígado coletadas por biópsia de 420 bovinos encontraram níveis médios de cobre variando entre 199,4 ppm nas chuvas e 251,1 ppm na seca.

No município de Aquidauana, no Mato Grosso do Sul, em dois animais necropsiados acometidos por uma doença conhecida como “roncadeira”, foram encontrados valores de cobre muito baixos e altos de ferro no fígado (TOKARNIA e DÖBEREINER, 1988).

Pott et al. (1989 a), em estudo sobre a nutrição mineral de bovinos de corte na região da Nhecolândia no Pantanal Mato-grossense analisaram em quatro épocas do ano (novembro, fevereiro, maio e agosto) amostras de solo, forragens e fígado bovino. O cobre variou entre 68 e 700 ppm no tecido hepático. Nas gramíneas, o cobre variou entre 1,0 e 14,9 ppm. Os autores também explicam que os níveis médios de cobre hepático satisfatórios com níveis deficientes de cobre nas forrageiras, através da possibilidade de consumo pelos animais de outras forrageiras que não aquelas estudadas.

Pott et al. (1989 b), na região do Baixo-Piquiri, ainda no Pantanal Mato-grossense, analisaram amostras de solo, forrageiras e fígado de bovinos em quatro épocas do ano. Encontraram teores de cobre no fígado entre 129 ppm em novembro e 278 ppm em fevereiro. Nas forrageiras, os valores médios de cobre variaram entre 6,1 ppm em agosto e 5,7 ppm em novembro.

Bondam, Riet-Correa e Giesta (1991), determinaram em 365 amostras de fígado de bovinos os níveis de cobre, procedentes de animais 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%, realçando uma marcada depleção dos níveis hepáticos do mineral. Em um total de nove bovinos necropsiados com níveis de cobre no fígado inferiores a 5 ppm (matéria seca), oito bovinos (88,88%) apresentaram morte súbita.

Moraes, Silva e Döbereiner (1994), verificaram que os bovinos da Região de Rondonópolis, Mato Grosso; municípios de Rondonópolis e Jaciara; em relação ao cobre,

independentemente de serem afetados pela cara inchada ou não, na sua maioria, são carentes neste elemento.

Prada, Mendonça Junior e Carciofi (1998), realizaram um trabalho sobre concentração de cobre e molibdênio em algumas forrageiras do município de Brasilândia no Mato Grosso do Sul, onde encontraram valores de cobre considerados normais para a nutrição de bovinos em pastejo.

Moraes, Tokarnia e Döbereiner (1999), diagnosticaram a ocorrência de deficiência de cobre no município de Barra dos Bugres (MT) de Aquidauana, em dois bovinos afetados por uma doença conhecida como “ronca”; nos municípios de Parintins (AM); Carolina (MA); no nordeste do Estado de Minas Gerais; na parte sul do Estado do Rio de Janeiro, e nos municípios de Itaquí e Uruguaiana (RS). Neste mesmo trabalho, no estado de Santa Catarina foram encontrados em bovinos que morreram pela “doença do peito inchado”, baixos valores de cobre em fígado de três animais de oito animais examinados, estes animais pertenciam aos municípios de Lages e Urubici, no Planalto Catarinense.

De acordo com trabalho descrito por Tebaldi et al. (2000), as concentrações de cobre e molibdênio nas forrageiras estudadas nas regiões Norte e Noroeste do estado do Rio de Janeiro, variaram com o tipo de solo e a época do ano. Nas forrageiras, nas duas épocas do ano, foram encontrados valores baixos de cobre que não atendem as exigências mínimas dos bovinos de crescimento e engorda.

Marques et al. (2003), investigaram no Rio Grande do Sul, mortes súbitas associadas à deficiência de cobre. Os teores médios de cobre hepático encontrados foram muito baixos (3,6 ppm), indicando deficiência de cobre. Os teores médios de molibdênio foram de 6,5 ppm. Amostras de pasto foram coletadas no local das mortes, encontrando valores normais de cobre (8,4 ppm) e enxofre (0,2 %), porém altos teores de ferro (522 ppm).

1.2.2 Epidemiologia

A deficiência de cobre pode ocorrer de duas formas: primária, quando o fornecimento na dieta é inadequado, ou secundária, quando o fornecimento na alimentação é correto, mas o seu uso pelos tecidos é impedido por antagonistas na dieta. O excesso de molibdênio na dieta é um dos fatores mais comuns de deficiência secundária de cobre (RADOSTITS et al., 2000). Em situações práticas 10 ppm diárias é a quantidade mínima de cobre a ser administradas na alimentação. Níveis superiores podem ser requeridos se o teor de molibdênio estiver alto nas pastagens (LUCCI, 1997).

Os vários elementos antagonistas afetam a absorção, retenção e distribuição do cobre no organismo. Os sulfatos e o molibdênio, sozinhos ou associados, interagem com o cobre reduzindo sua quantidade absorvida pelo intestino, ou a utilização pelos tecidos e/ou liberação no fígado pelos animais (RADOSTITS et al., 2000).

Outros elementos são citados como antagonistas do cobre, entre eles estão o ferro, zinco, chumbo, prata, cádmio, mercúrio, ácido fítico, cálcio, e ácido ascórbico (ROSA e MATTIOLI, 2002).

De acordo com o NRC (National Research Council 2000), a concentração recomendada de cobre para gado de corte é 10 ppm, não podendo exceder 0,25% de enxofre e 2 ppm de molibdênio na dieta, podendo variar de 4-15 ppm de cobre dependendo da concentração de enxofre e molibdênio. Para bovinos confinados deve ser menor que 10 ppm Cu/kg, pois o teor de cobre é maior nos concentrados.

A relação cobre: molibdênio não pode ser menor que 2:1 para evitar a deficiência de cobre secundária (MILTIMORE e MASON, 1971).

Forragem com 3-6 ppm de cobre está na faixa ideal, mas para bovinos em pastagem ou recebendo alimentos contendo altos níveis de molibdênio, esse teor passa acima de 10 ppm de cobre. O teor de cobre para bovinos em gramíneas é considerado deficiente na concentração de até 4 ppm, de 5-15 ppm está adequado e acima de 16 ppm é considerado alto (PEDROZO e LIMA, 2001).

As leguminosas em geral têm mais cobre do que as gramíneas; e grãos de cereais contém geralmente 4 a 8 ppm Cu/kg, e as sementes de oleaginosas e de leguminosas contém 15 a 30 ppm Cu/kg (NRC, 2000).

A concentração de cobre, enxofre e molibdênio nas pastagens e forragens variam de acordo com a espécie da planta, uso de fertilizantes e condições do solo (GOONERATNE, BUCKLEY e CHRISTENSEN, 1989).

Uma mudança pequena na concentração de molibdênio e enxofre na forragem que acontece naturalmente nos alimentos, pode provocar uma mudança na absorção, distribuição e excreção do cobre, levando a sinais clínicos de deficiência ou intoxicação (GOONERATNE, BUCKLEY e CHRISTENSEN, 1989).

Forragem com alto nível de enxofre provoca baixa disponibilidade de cobre a nível plasmático e clinicamente produz descoloração da pelagem e baixo ganho de peso (VIEJO e CASARO, 1993).

As raças bovinas Simental e Charolês não podem manter o mesmo status de cobre baseado na concentração plasmática de cobre e a atividade da ceruloplasmina como a raça

Angus, alimentados com a mesma dieta. Isto pode ser explicado pelo fato que bovinos da raça Simental absorvem e retêm menor quantidade de cobre da dieta (WARD, SPEARS e GENGELBACH, 1995).

1.2.3 Incidência sazonal

As deficiências de cobre, tanto a primária quanto a secundária, são mais comuns, na primavera e verão, devido a menor quantidade de cobre nas pastagens nessa época. Os níveis séricos de cobre podem variar tanto nos bovinos de corte quanto de leite devido a pluviosidade, quanto maior a quantidade de chuvas, menor o nível sérico de cobre (RADOSTITS et al., 2000).

No caso da deficiência secundária de cobre, pode ser maior em outras estações, devido a fatores predisponentes na forrageira, como o aumento do teor de molibdênio, quando a chuva aumenta o crescimento das leguminosas (RADOSTITS et al., 2000).

1.2.4 Aspectos gerais

O fígado é o órgão onde o cobre é estocado (GOONERATNE, BUCKLEY e CHRISTENSEN, 1989; UNDERWOOD e SUTTLE, 1999; ORTOLANI, 2006), sendo 20% armazenado nos lisossomos, 20% no núcleo, 50% no citosol e o restante nas demais organelas. A distribuição de parte do cobre nos tecidos e sangue está unida no interior de metaloproteínas, metaloenzimas ou proteínas carreadoras (ORTOLANI, 2006).

A absorção do cobre solúvel é realizada principalmente no intestino, onde se liga a L-aminoácidos no lúmen intestinal, secretado pelos enterócitos, que atuam como carreadores do cobre para dentro da célula. A absorção do cobre é regulada pela metalotioneína, pois quanto maior sua concentração há menor absorção do cobre. O cobre se liga principalmente a albumina e é levado para o fígado, onde fica estocado. De acordo com as necessidades, o cobre é ligado a outra metaloproteína, a ceruloplasmina, sendo distribuído pelo organismo do animal (ORTOLANI, 2006).

O cobre possui inúmeras funções como agente catalítico oxidativo sob forma de cuproenzimas dentre elas estão: citocromo-oxidase, ceruloplasmina, lisil-oxidase, dopamina-oxidase, superóxido-dismutase, urato-oxidase, tirosinase, butiril-CoA-desidrogenase e ceramide galactosil transferase e na formação da hemoglobina (ORTOLANI, 2006).

1.2.5 Sinais clínicos da deficiência de cobre em bovinos

Nos bovinos os sinais clínicos são anemia, alterações na cor dos pelos, osteoporose, hipomielinogênese congênita e morte súbita, e perdas subclínicas devido ao baixo desempenho reprodutivo, menor desenvolvimento corporal e despigmentação dos pelos ao redor dos olhos (LUCCI, 1997; UNDERWOOD e SUTTLE, 1999; NRC, 2000; MORAES, 2001; ROSA e MATTIOLI, 2002). Na deficiência secundária de cobre o animal pode apresentar diarreia crônica, quando esta é causada pelo excesso de molibdênio na alimentação (MORAES, 2001; TOKARNIA, 2010), ou falhas cardíacas e ossos frágeis que são facilmente fraturados (NRC, 2000).

Na Austrália foi descrita, em bovinos, uma condição conhecida como “falling disease” (doença da queda), caracterizada por mortes súbitas. Essa doença tem sido interpretada como manifestação final de severa e prolongada deficiência de cobre (BENNETTS, BECK e HARLEY, 1948; ROSENBERGER, 1975). Quadro semelhante foi descrito no Rio Grande do Sul (BONDAN, RIET-CORREA e GIESTA, 1991; RIET-CORREA et al., 1993).

1.2.6 Lesões macro e microscópicas da deficiência de cobre em bovinos

As lesões encontradas na necropsia, se presentes estão relacionadas com os sinais clínicos. Observa-se palidez das vísceras e carcaça, pode haver pigmento marrom amarelado nos linfonodos (RADOSTITS et al., 2000; TOKARNIA et al., 2010), coloração escura do baço, fígado e rins devido ao depósito de hemossiderina (RADOSTITS et al., 2000). A lesão microscópica significativa é hemossiderose no fígado, baço e linfonodos (TOKARNIA e DÖBEREINER, 1973; TOKARNIA et al., 1971; MORAES, TOKARNIA e DÖBEREINER, 1999; MAZZOCCO et al., 2009; TOKARNIA et al., 2010). Em bovinos de uma mesma região, marcada hemossiderose, indica geralmente deficiência de cobre (TOKARNIA et al., 2010).

1.2.7 Diagnóstico da deficiência de cobre em bovinos

O diagnóstico é realizado através das concentrações de cobre no fígado (WARD, 1978; RADOSTITS et al., 2000; TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000; RIET-CORREA et al., 2007).

Para avaliação do estado nutricional de cobre no organismo os valores hepáticos são mais confiáveis que os valores séricos (BORGES et al., 2005), e para se obter um diagnóstico preciso é melhor realizar biópsia hepática para a dosagem de cobre (FICHTNER et al., 1988). O teor de cobre hepático é mais elevado nos bezerros do que nas vacas (FICHTNER et al., 1988).

Os valores adequados e deficientes de cobre, no fígado de bovinos, constam na tabela 1.

Tabela 1 – Valores de cobre obtidos pela análise de amostras de fígado e níveis de deficiência.

Valores de cobre na matéria seca do fígado	Níveis de deficiência
0 – 50 ppm	Deficiência
50 – 100 ppm	Subdeficiência
Acima de 100 ppm	Adequado

Fonte: TOKARNIA et al. (2010)

A resposta ao tratamento com suplementação de cobre é uma maneira eficaz de diagnóstico, comparando as variáveis de produção e saúde dos grupos de animais que receberam e os que não receberam cobre (RADOSTITS et al., 2000; MARQUES et al., 2003). Desempenho reprodutivo, taxa de crescimento e índice de mortalidade de bezerros são as variáveis utilizadas para comparação (RADOSTITS et al., 2000; TOKARNIA, DÖBEREINER e PEIXOTO, 2000).

A atividade sérica de ceruloplasmina é um indicador indireto da concentração sérica de cobre, permitindo que seja utilizada como método de triagem para auxiliar no diagnóstico de deficiência marginal de cobre em bovinos (BORGES et al., 2005).

1.2.8 Tratamento e controle da deficiência de cobre em bovinos

O tratamento mais adequado para prevenir e tratar animais deficientes de cobre é através da suplementação oral. Para bovino o suplemento mineral deve conter 0,1% da fórmula em cobre, na forma de carbonato ou sulfato. Recomenda-se o aumento para 0,2%, nas regiões onde a concentração de molibdênio é alta nas pastagens (ORTOLANI, 2006).

A suplementação de cobre inorgânico pode ser na forma de sulfatos (tem maior disponibilidade biológica), do que carbonatos e óxidos do elemento (LUCCI, 1997). Nas

deficiências primária e secundária de cobre, o tratamento é feito através da administração de cobre por via oral. Para terneiros de dois a seis meses de idade pode-se utilizar sulfato de cobre na dose de 4g e bovinos adultos 8 a 10g, semanalmente, por três a cinco semanas ou aplicação parenteral de glicinato de cobre indicado para rebanho de corte na dose de 60 mg de cobre para terneiros e 120 mg de cobre para adultos. Uma dose de glicinato de cobre é eficaz quando os bovinos pastejam em forragem que contenham até 3 mg/kg MS de molibdênio e 3g/kg MS de enxofre (RADOSTITS et al., 2000).

Mattioli et al. (2007) verificaram que a suplementação estratégica com cobre no terço final de gestação e dos terneiros nos três primeiros meses de vida é útil para evitar a perda de peso diário, mesmo que no desmame tenha alguma perda do desempenho.

A aplicação de cobre injetável por via subcutânea na forma de etilenodinitrilo tetracetato de cálcio e cobre resultou positivamente no ganho de peso de bovinos mestiços com idade de 24 meses, confinados por 112 dias e não foi eficaz em bovinos com 12 meses nas mesmas condições de manejo. A administração de cobre parenteral em bovinos de 12 a 24 meses, proporcionou um maior ganho de peso nos primeiros dois meses de experimento do que nos dois meses subsequentes. Uma única aplicação de etilenodinitrilo tetracetato de cálcio e cobre via parenteral ao final do quarto mês de experimento mostrou depleção nos níveis de cobre no fígado e rim, mas não o suficiente para aparecimento dos sinais clínicos compatíveis com a deficiência (SILVA et al., 2004).

No trabalho realizado por Viejo e Casaro (1993), observaram que a suplementação com 100mg de cobre via subcutânea, sendo duas aplicações com intervalos de 65 dias em terneiros de mães suplementadas e não suplementadas com cobre no final da gestação, aumentaram a cupremia, ganho de peso diário e peso final no desmame. Terneiros nascidos de mães não suplementadas e estes não suplementados com cobre via parenteral durante o crescimento, tiveram baixo nível de cobre hepático e plasmático e menor ganho de peso no desmame.

1.3 INTOXICAÇÃO POR MOLIBDÊNIO EM BOVINOS

1.3.1 Histórico

O primeiro diagnóstico de diarreia crônica em bovinos, com suspeita de deficiência secundária de cobre em Santa Catarina, ocorreu entre os anos de 1990 e 1993, nos municípios

de Irani, Bom Retiro e Bom Jardim da Serra, nos meses de novembro a janeiro, sempre com períodos de muita chuva (informação verbal)¹.

Sousa et al. (1980) em trabalho realizado em seis fazendas do Norte de Mato Grosso, analisaram amostras de solo, forrageiras e tecido animal nos períodos seco e chuvoso. O molibdênio no fígado foi 2,7 ppm nas chuvas e 2,5 ppm na seca. Nas forrageiras, o molibdênio variou entre 2,3 ppm nas chuvas e 1,6 ppm na seca. Foi considerado normal o molibdênio nas forragens em cinco das seis fazendas. Na fazenda com níveis tóxicos, se encontravam os níveis normais hepáticos de molibdênio.

Mendes, Conrad e Ammerman (1981), no Mato Grosso, analisaram amostras de fígado coletadas por biópsia de 420 animais e encontraram níveis médios de molibdênio variando entre 2,65 ppm nas chuvas e 2,48 ppm na seca.

Pott et al. (1989 a), em estudo na região da Nhecolândia no Pantanal Mato-grossense sobre a nutrição mineral de bovinos de corte analisaram em quatro épocas do ano (novembro, fevereiro, maio e agosto) amostras de solo, forragens e fígado bovino. O molibdênio foi dosado apenas em uma época do ano e variou entre 1,2 e 3,1 ppm, com média de 2,2 ppm, os autores consideraram o teor de molibdênio dentro da faixa normal.

Moraes, Silva e Döbereiner (1994), revelaram que o molibdênio hepático apresentou-se dentro dos limites normais ou elevados, mas os autores não consideraram aumento significativo, uma vez que os teores do elemento nas forrageiras se apresentaram dentro dos limites adequados, tanto nos pastos onde ocorria a “cara inchada” (0,796 ppm) como também nos pastos onde não ocorria (2,062 ppm).

Prada, Mendonça Junior e Carciofi (1998), realizaram um trabalho sobre concentração de cobre e molibdênio em algumas forrageiras do município de Brasilândia no Mato Grosso do Sul, onde encontraram valores altos de molibdênio considerados tóxicos.

De acordo com trabalho descrito por Tebaldi et al. (2000), as concentrações de cobre e molibdênio nas forrageiras estudadas nas regiões Norte e Noroeste do estado do Rio de Janeiro, variaram com o tipo de solo e a época do ano, nas forrageiras, nas duas épocas do ano, foram encontrados valores de molibdênio acima de 1,6 ppm considerado alto, na época das chuvas em cinco locais analisados, e em dois locais, este mineral ultrapassou esse nível, em ambas as épocas.

¹ Informação fornecida pelo professor Aldo Gava do Centro de Ciências Agroveterinárias CAV- UDESC, em 1995

.Radostits et al.(2000), afirmam que o excesso de molibdênio na dieta é um fator que predispõe as doenças diarreicas, diarreia turfosa na Nova Zelândia, Califórnia e Canadá e “teart” na Grã-Bretanha.

No Brasil não há trabalhos publicados sobre intoxicação por molibdênio (molibdenose), com deficiência secundária de cobre.

1.3.2 Epidemiologia

A intoxicação por molibdênio ocorre em bovinos em condições de pastagens em todo o mundo. No organismo o molibdênio é antagônico ao cobre, quando está elevado na dieta, as exigências de cobre aumentam, sendo possível a ingestão máxima sem causar efeitos de toxicidade (LUCCI, 1997). A deficiência deste é rara devido às baixas quantidades requeridas pelos animais, porém o excesso pode influenciar na absorção e metabolismo de outros minerais (ROSENBERGER, 1975).

Bovinos que pastoreiam em solos com níveis de molibdênio entre 10-100 mg/kg ou, pastos que contenham níveis maiores de 3mg/kg, estão sujeitos ao desenvolvimento da molibdenose (ROSENBERGER, 1975). A concentração de molibdênio aumenta nas pastagens, a medida que o pH do solo aumenta (GALBRAITH et al., 1997).

A doença também ocorre quando a relação cobre: molibdênio for menor que 2:1 (VASQUEZ et al., 2001). Esta manifestação ocorre principalmente nos meses da primavera e do verão, período que coincide com a diminuição dos níveis de cobre nas pastagens (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Os altos índices pluviométricos que antecedem os surtos promovem a lixiviação do cobre e conseqüentemente uma redução na relação cobre: molibdênio (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

Os bovinos são mais sensíveis que outras categorias animais ao excesso de molibdênio (WARD, 1978; LUCCI, 1997; UNDERWOOD e SUTTLE, 1999), seguido das ovelhas, sendo os suínos os mais tolerantes dos animais domésticos (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). A diferença entre ruminantes e não ruminantes é explicada possivelmente pela facilidade com que os antagonistas potentes do metabolismo do cobre, os tiomolibdatos, são gerados no rúmen e, em seguida, exercer efeitos nocivos sobre a mucosa intestinal (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

1.3.3 Aspectos gerais

O molibdênio é um mineral essencial para os animais, sendo componente de enzimas, xantino oxidase, sulfito oxidase e aldeído oxidase, necessárias ao organismo (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999; NRC, 2000).

O molibdênio especialmente na presença de enxofre diminui a síntese de ceruloplasmina e a deposição de cobre nos tecidos, causando a redução da eliminação de cobre pela bile, e aumentando sua excreção pelos rins (VÁSQUEZ, HERRERA e SANTIAGO, 2001).

1.3.4 Sinais clínicos da intoxicação por molibdênio em bovinos

Os sinais clínicos manifestados pela toxicidade do molibdênio variam entre as espécies. Perda de peso, retardo no crescimento e anorexia são consequências do consumo elevado, mas a diarreia é apenas observada em bovinos (CLAWSON et al., 1972; WARD, 1978; UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

Clinicamente, caracterizam-se por diarreia persistente e afebril, emaciação e pelagem seca sem brilho, despigmentação dos pelos, particularmente ao redor dos olhos (ROSENBERGER, 1975; RADOSTITS et al., 2000).

No experimento realizado por Humphries et al. (1983), os bezerros que receberam na dieta molibdênio, após 20 semanas desenvolveram alterações na textura e despigmentação dos pelos. Alterações esqueléticas nesses bezerros foram evidentes, andar saltitante característico de deficiência de cobre e problemas de locomoção. A taxa de concepção foi amplamente reduzida nos grupos que receberam molibdênio, e/ou ferro associado a molibdênio após 32 semanas quando foram inseminadas.

Diarreia e perda de peso são manifestações dominantes da molibdenose em bovinos, onde outras desordens tendem a ficar obscuras. As vacas têm baixa fertilidade e os touros jovens podem exibir uma completa falta de libido, com dano testicular e pouca espermatogênese (THOMAS e MOSS, 1952). Ruminantes submetidos à exposição menos severa de molibdênio apresentam sinais que geralmente são indistinguíveis daqueles causados pela privação de cobre e são, portanto atribuídos a deficiência de cobre induzida (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

Na intoxicação experimental realizada por Hubers, Pricer e Engel (1971), os sinais clínicos observados foram diarreia grave, inanição, parada de produção de leite e emagrecimento geral. Após a retirada do molibdênio e sulfato da dieta o animal se recuperou e após 3 semanas foram adicionados novamente e sinais reapareceram.

De acordo com Brem e Roux (1991), no trabalho experimental de molibdenose em bovinos, os sinais clínicos observados foram a perda de peso, despigmentação dos pelos que apareceu aproximadamente aos 60 dias, começando a partir da cabeça, pescoço e o restante do corpo, conforme o avanço do tempo. Os pelos do dorso do animal eram pardo-claros, o que diferenciava bem dos outros lotes. Anemia foi observada claramente a partir da segunda metade do experimento e foi caracterizada como anemia microcítica normocromica. O efeito do excesso de molibdênio afetou a quantidade de cobre no fígado que foi reduzido no terço final do ensaio.

Na intoxicação experimental realizada por Raisbeck, Siemion e Smith (2006), os sinais clínicos apresentados pelos bovinos foram diarreia aquosa e espumosa e claudicação.

1.3.5 Lesões macro e microscópicas da intoxicação por molibdênio em bovinos

Na carcaça observa-se desidratação e emaciação, podendo estar anêmica se houver deficiência de cobre associada (RADOSTITS et al., 2000). Na microscopia são observadas rarefação e porose do tecido ósseo (ROSENBERGER, 1975).

1.3.6 Diagnóstico da intoxicação por molibdênio em bovinos

A confirmação do diagnóstico se dá pela dosagem de molibdênio e cobre sanguíneo e/ou hepático (RADOSTITS et al., 2000). Os valores adequados e de intoxicação, no fígado de bovinos, constam na tabela 2.

Tabela 2 – Valores de molibdênio e níveis de intoxicação em fígado de bovino.

Níveis de Molibdênio no fígado	Níveis de intoxicação
< 2,0 ppm	Improvável
2,0 -5,0 ppm	Possível
>5,0 ppm	Certeza da ocorrência

Fonte: ROSENBERGER, (1975)

1.3.7 Tratamento e controle da intoxicação por molibdênio em bovinos

Tratamento com sulfato de cobre com taxas elevadas de dois gramas/dia para vacas e um grama/dia para animais jovens (ROSENBERGER, 1975; UNDERWOOD e SUTTLE, 1999) ou, injeções intravenosas de 200-300mg cobre dia para a diarreia (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

1.4 INTERAÇÃO COBRE, MOLIBDÊNIO E ENXOFRE

Para os ruminantes, o molibdênio, o enxofre e o ferro, este em menor escala, são os elementos que mais interferem na disponibilidade do cobre. A disponibilidade do cobre será menor, quanto maiores os níveis de molibdênio e enxofre (MILTIMORE e MASON, 1971; ORTOLANI, 2006).

A absorção do cobre é prejudicada quando níveis altos de molibdênio e enxofre estão presentes, pois quanto maior o nível de molibdênio, maior a interferência na absorção de cobre (LUCCI, 1997).

Em ruminantes a ingestão de molibdênio associada ao enxofre no rúmen forma tiomolibdatos. Esses compostos reduzem a absorção de cobre e em altos níveis entram na corrente sanguínea impedindo a passagem deste para os tecidos, levando ao quadro de deficiência de cobre (VÁSQUEZ, HERRERA E SANTIAGO, 2001).

Se a relação cobre molibdênio for menor que 3:1, ocorre redução no ganho de peso dos animais. Isto acontece, porque o enxofre em forma de sulfeto e molibdênio, no rúmen em condições anaeróbicas e em pH próximo ao neutro se unem ao cobre, reduzindo a sua disponibilidade. A quelação do cobre é maior quando a molécula de tiomolibdato for mais saturada com o enxofre. A maior estabilidade dos tiomolibdatos, principalmente nas formas tri e tetratiomolibdatos, ocorre quanto maior o pH do rúmen, a fibra da dieta, número de protozoários, concentração de sulfetos e matéria orgânica não digestível no rúmen. A maior parte dos tetratiomolibdatos e menor dos tritiomolibdatos passam intactas pelo abomaso e intestinos, sendo excretadas pelas fezes (ORTOLANI, 2006).

O sulfeto pode sozinho diminuir a disponibilidade do cobre, o qual no interior do abomaso ligado ao ferro e em meio ácido, combina-se ao cobre solúvel (ORTOLANI, 2006). Quando o nível de enxofre aumenta, a excreção urinária de molibdênio eleva-se substancialmente, enquanto o depósito nos tecidos diminui proporcionalmente (VÁSQUEZ, HERRERA E SANTIAGO, 2001).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido através da coleta de históricos, dados epidemiológicos, necropsia de animais que morreram da doença espontânea e coleta de vísceras para avaliação histológica e tratamento experimental com sulfato de cobre em bovinos doentes. Amostras de fígado dos animais necropsiados foram coletadas para análise da concentração de cobre e molibdênio.

2.1 HISTÓRICO E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Os históricos e as alterações clinico-patológicas dos três surtos diagnosticados no período de 1990-1993 foram obtidos junto ao Setor de Patologia Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias – Lages, SC. Nos outros quatro surtos diagnosticados em 2008 e um surto em 2009, os históricos foram obtidos diretamente com os produtores nos municípios de Irani, Vargem Bonita, Ouro e Cerro Negro no estado de Santa Catarina.

2.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLETA DE AMOSTRAS

Bovinos doentes de todas as propriedades visitadas foram submetidos a exames clínicos. Foi avaliada a temperatura corporal, a motilidade gastrintestinal, frequências cardíaca e respiratória, coloração das mucosas, aspecto das fezes e apetite.

Seis bovinos que morreram da doença foram necropsiados e coletado fragmentos de coração, pulmão, fígado, rim, baço, linfonodos, rúmen, retículo, omaso, abomaso, intestinos, sistema nervoso central e fixados em formalina a 10%. As amostras foram desidratadas em álcool, clarificadas em xilol e incluídas em parafina. Posteriormente, foram cortadas em secções de três micras de espessuras e coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE) (PROPHET et al., 1992) e observadas em microscopia ótica.

Amostras de fígado dos seis bovinos necropsiados foram coletadas com faca de aço inoxidável, sendo quatro amostras de fígado conservadas em frascos de formalina a 10%, e duas amostras de fígado alocadas em sacos plásticos devidamente identificados e congeladas

a -20° C, até seu processamento para realização das determinações dos teores de cobre e molibdênio.

2.3 TRATAMENTO EXPERIMENTAL

Foram fornecidos dois gramas de sulfato de cobre por via oral, diariamente para duas vacas clinicamente doentes durante 30 dias. Os animais foram pesados antes do experimento, aos 15 dias e aos 30 dias de tratamento para verificar ganho de peso e melhora dos sinais clínicos. As vacas foram mantidas em piquete constituído por quicuío (*Pennisetum clandestinum*) e trevo branco (*Trifolium repens*) e fornecimento de sal mineral e água *ad libitum*.

2.4 DOSAGEM DA CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE COBRE E MOLIBDÊNIO

A primeira etapa foi realizada no Laboratório de Física do Solo do Departamento de Agronomia da Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC-CAV.

As amostras de fígado foram descongeladas, trituradas e colocadas em placas de Petri identificadas e colocadas em estufa a 105° C para desidratação. Decorrido o tempo necessário para secagem das amostras, os tecidos foram macerados em almofariz de porcelana com o uso de pistilho e armazenadas em potes plásticos identificados, previamente lavados com ácido clorídrico a 10% e feito tríplice enxágue com água destilada e após água deionizada. Para as amostras de fígado conservadas em formol a 10% foi utilizada a mesma metodologia.

A segunda etapa das análises das amostras de fígado foi realizada no Departamento de Química no Laboratório de Espectrometria Atômica no Centro de Física e Matemática – CFM da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

Foram pesados 300 mg de cada amostra de fígado em balança digital de alta precisão, preparadas em triplicata e alocadas em vaso de teflon para digestão, devidamente identificados. Os vasos de teflon foram levados para capela com exaustor para adição de 5 ml de ácido nítrico bidestilado e 2 ml de peróxido de hidrogênio P A. Após, os vasos de teflon foram fechados e colocados em forno microondas para digestão. As amostras em branco foram preparadas com o mesmo procedimento sem a adição da amostra de fígado. Para forno microondas foi estabelecido o seguinte programa de temperatura das amostras:

- 2 minutos 23 - 85 ° C
- 5 minutos 85 - 145 ° C
- 3 minutos 145 - 210 ° C
- 10 minutos 210 - 210 ° C

Depois de aplicado o programa de temperatura para digestão, os vasos foram resfriados e abertos e a solução foi transferida para tubos de polipropileno de 50 ml, avolumados para este volume com água deionizada.

As leituras das concentrações de cobre e molibdênio foram feitas por espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado ICP-MS, com introdução da amostra por nebulização pneumática. Os resultados foram expressos com base na quantidade de matéria seca do tecido, realizada diluição apropriada das amostras para determinação dos minerais.

Para análise da concentração de cobre e molibdênio nas amostras de fígado foi utilizado espectrômetro de Massa com Fonte de Plasma Indutivamente acoplado ICP-MS, da marca Perkin Elmer, modelo Elan 6000, Toronto, Canadá. Todos os resultados foram expressos em ppm, baseados na matéria seca de fígado.

3 RESULTADOS

3.1 DOENÇA ESPONTÂNEA

Entre os anos 1990-2009 ocorreram oito surtos de diarreia crônica em bovinos, observados em propriedades de diferentes municípios no Estado de Santa Catarina, os quais poderiam estar relacionados à deficiência secundária de cobre por excesso de molibdênio. A localização dos municípios onde ocorreram os surtos encontra-se na figura 1.



Figura 1 - Mapa de Santa Catarina. Em destaque, municípios onde foi realizado levantamento de históricos de deficiência de cobre. Em amarelo: 1. Irani; 2. Vargem Bonita; 3. Ouro. Em azul: 4. Cerro Negro; 5. Bom Retiro; 6. Bom Jardim da Serra.

A identificação dos surtos, data e municípios de ocorrência, total de animais na propriedade, total de bovinos doentes e mortos, constam na tabela 3.

Tabela 3 – Identificação dos surtos, mês e ano da ocorrência, municípios, total de animais na propriedade, total de doentes, total de mortos.

Surto	Mês/ Ano	Município	Total de Animais	Total de doentes	Total de mortos
1	Janeiro/Fevereiro/90	Irani	500	45	13
2	Outubro/90-Janeiro/91	Bom Jardim da Serra	200	29	17
3	Outubro/93	Bom Retiro	190	70	4
4	Novembro/2008	Irani	600	37	35
5	Novembro/2008	Vargem Bonita	20	10	4
6	Novembro/2008	Vargem Bonita	30	20	2
7	Novembro/2008	Ouro	70	20	7
8	Novembro/2009	Cerro Negro	60	6	4

Todas as propriedades estavam localizadas em terreno com declive moderado a acentuado e as pastagens eram constituídas exclusivamente por gramíneas nativas. Todos os proprietários informaram que nos meses antecedentes à enfermidade ocorreram períodos de chuva prolongados. A suplementação mineral era feita apenas com cloreto de sódio, ou, então o sal mineral era misturado ao cloreto de sódio na proporção de 2 até 3:1 de mineral. Em geral o fornecimento era feito em cochos abertos e a competitividade dos animais pelo sal era alta, devido ao baixo número de cochos.

Os sinais clínicos observados em todos os surtos foram emagrecimento e diarreia esverdeada (figura 2), com restos de alimentos não digeridos, não responsiva a antibioticoterapia e vermífugos. Esses sinais clínicos persistiam por um período de 20 a 30 dias e eram seguidos de morte em estado de caquexia extrema. Os animais de pelagem branca tinham pelos sem brilho e em alguns havia despigmentação dos pelos ao redor dos olhos (figura 3). Os bezerros filhos de vacas doentes tinham baixo desenvolvimento e pelos longos (figura 4).



Figura 2 – Bovino nº 6 do surto 8. Diarréia crônica. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro, SC.



Figura 3 – Bovino do surto 4. Depigmentação dos pelos ao redor dos olhos. Deficiência de cobre. Município de Irani, SC.



Figura 4 – Bezerro do surto 4. Baixo desenvolvimento, filho de vaca com deficiência de cobre. Município de Irani, SC.

Na necropsia não foram encontradas lesões significativas, apenas caquexia, mucosas pálidas, baço de coloração marrom (figuras 5) e intestino com conteúdo líquido (figura 6).



Figura 5 – Bovino nº 6 do surto 8. Baço reduzido de volume e com coloração marrom. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro, SC.



Figura 6 – Bovino nº 6 do surto 8. Intestino grosso com conteúdo líquido. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro, SC.

Ao exame histológico, a única lesão observada foi hemossiderose esplênica (figura 7) em todos os animais necropsiados.

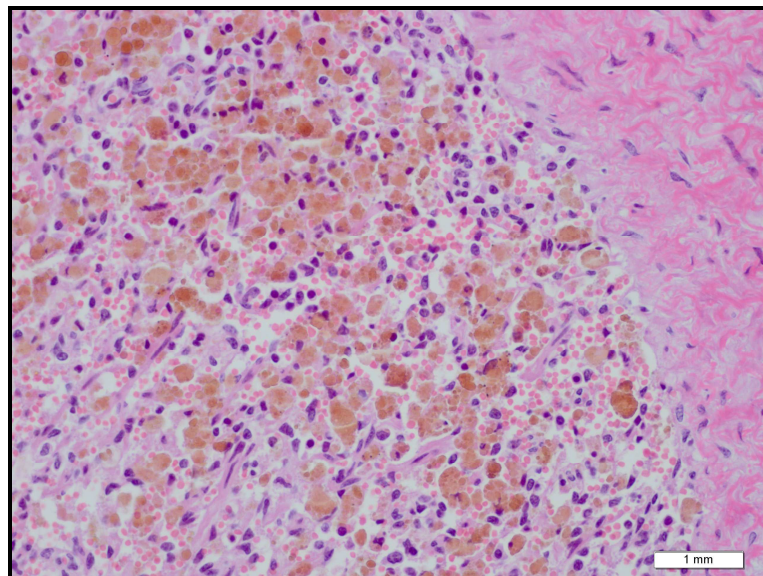


Figura 7 – Bovino nº 6 do surto 8. Hemossiderose no baço. Deficiência de cobre. Município de Cerro Negro, SC.

3.2 TRATAMENTO EXPERIMENTAL

Duas vacas (1 e 2) mestiças, com idade de três e oito anos, com sinais clínicos de diarreia esverdeada intensa, emagrecimento e com pelos sem brilho (figura 8 e 9), oriundas do município de Cerro Negro-SC, foram enviadas ao Laboratório de Patologia Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias de Lages, SC.



Figura 8 – Vaca 1 do surto 8. Deficiência de cobre. Antes do tratamento com sulfato de cobre.



Figura 9 – Vaca 2 do surto 8. Deficiência de cobre. Antes do tratamento com sulfato de cobre.

Estas foram mantidas por um período de 30 dias, em um piquete com pastagem de trevo branco (*Trifolium repens*) e quicuio (*Pennisetum clandestinum*) e receberam sal mineral e água *ad libitum*, acrescida de dois gramas de sulfato de cobre, via oral, diariamente, durante os 30 dias. Os animais foram pesados no primeiro dia, aos 15 dias e ao final do tratamento. Os dados sobre o peso dos animais estão descrito na tabela 4.

Tabela 4 – Identificação do animal, idade, peso em Kg ao primeiro dia, ganho de peso aos 15 e 30 dias após tratamento com sulfato de cobre.

Vaca	Idade	Peso ao chegar (kg)	Peso aos 15 dias de tratamento	Peso aos 30 dias de tratamento
1	3 anos	225	249	260
2	8 anos	307	323	340

Após os 30 dias de tratamento com sulfato de cobre, as fezes e os pelos voltaram ao normal (Figura 10 e 11) e os animais foram devolvidos ao proprietário.



Figura 10 – Vaca 1 do surto 8. Após 30 dias de tratamento com sulfato de cobre.



Figura 11 – Vaca 2 do surto 8. Após 30 dias de tratamento com sulfato de cobre.

3.3 DOSAGEM DA CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE COBRE E MOLIBDÊNIO

A concentração de cobre e molibdênio das amostras de fígados coletadas de animais com a doença clínica estão descritas individualmente, na tabela 5.

Tabela 5 – Identificação do animal e surto, município, espécie, sexo, idade, dosagem de cobre e molibdênio em amostras de fígados formolizadas e congeladas.

Animal/surto	Município	Espécie	Sexo	Idade (anos)	Cu ppm	Mo ppm
1/4*	Irani	Bovina	F	5	36,20	0,14
2/7*	Ouro	Bovina	M	2	29,03	1,11
3/7*	Ouro	Bovina	M	1,6	53,10	0,81
4/4*	Irani	Bovina	F	5	9,00	0,15
5/5**	Vargem Bonita	Bovina	F	6	4,70	0,07
6/8**	Cerro Negro	Bovina	F	3	70,35	1,32

*Fígados formolizados ** Fígados congelados. Em laranja: bovinos com deficiência; em azul: bovinos com subdeficiência. M: macho; F: fêmea.

4 DISCUSSÃO

No Estado de Santa Catarina, a deficiência de cobre foi diagnosticada pela primeira vez, por Tokarnia et al. (1971), que encontraram valores deficientes do elemento em amostras de fígados de 12 bovinos de 14 examinados. Destes, 10 bovinos eram da região do Alto Vale do Itajaí e os quatro bovinos restantes, eram do sul de Santa Catarina da região de Araranguá.

No presente trabalho, em todos os surtos estudados foram verificados valores deficientes de cobre nas amostras de fígados dos seis bovinos avaliados. Destes, cinco eram da região Oeste Catarinense, onde quatro apresentaram deficiência e um, subdeficiência. Um bovino oriundo do Planalto Serrano apresentou subdeficiência.

Os valores encontrados em relação ao cobre nas seis amostras de fígado estudadas, foram abaixo de 50 ppm nos bovinos 1, 2, 4 e 5, caracterizando deficiência severa de cobre nestes animais. Os bovinos 3 e 6 apresentaram valores de cobre indicando subdeficiência. Esses valores são semelhantes ao encontrado por Tokarnia et al. (1971); Tokarnia, Döbereiner e Moraes, (1988); Bondam, Riet-Correa e Giesta (1991); Moraes, Silva e Döbereiner (1994) e Moraes, Tokarnia e Döbereiner (1999).

Rosenberger (1975) cita que valores abaixo de 2 ppm de molibdênio no fígado não apresentam risco de intoxicação; de 2 a 5 ppm é possível ocorrer intoxicação; e acima de 5 ppm ocorre intoxicação. Os valores de molibdênio encontrados nos fígados examinados foram menores que 1,32 ppm. Dessa forma, a concentração de molibdênio encontrada em todos os surtos avaliados, indica não ter relação com os baixos níveis de cobre encontrados.

A deficiência de cobre pode ser primária causada pelos níveis inadequados de cobre na dieta, e a deficiência secundária, quando o teor de cobre é adequado, mas seu uso é impedido por antagonistas (ROSENBERGER, 1975; RADOSTITS et al., 2000). Supõe-se que no presente estudo os baixos níveis de cobre encontrados podem estar relacionados à baixa ingestão desse mineral ou, em parte, causados por outros antagonistas importantes como o ferro e o enxofre.

Nas propriedades onde ocorreram os surtos, o sistema de criação era extensivo, com pastagem constituída basicamente de campo nativo, onde a atividade principal era a criação

de bovinos. O período de maior ocorrência foi entre os meses de outubro a janeiro coincidente com períodos chuvosos. Segundo Radostits et al. (2000), Underwood e Suttle (1999) e Vásquez, Herrera e Santiago (2001) na primavera e verão diminui a quantidade de cobre nas pastagens, onde há maior crescimento das gramíneas e estas possuem menor teor de cobre do que as leguminosas. No presente estudo houve correlação entre o menor teor de cobre nos fígados dos bovinos e maior desenvolvimento de gramíneas, possivelmente influenciado pela maior precipitação pluviométrica. Além das altas precipitações de chuva, deve ser considerado que os bovinos eram criados de forma extensiva onde a principal fonte de alimentação é o campo nativo e a suplementação mineral era feita de forma inadequada. Convém salientar que nos surtos ocorridos em 2008, houve um aumento no preço nos suplementos minerais, quando muitos produtores deixaram de fornecer o suplemento mineral aos animais.

Os sinais clínicos observados nos animais dos surtos foram diarreia crônica não responsiva ao tratamento, emagrecimento, pelos sem brilho e em alguns animais foi observada despigmentação dos pelos ao redor dos olhos. Este quadro clínico e lesional é compatível com a deficiência de cobre, (ROSENBERGER, 1975; LUCCI, 1997; RADOSTITS et al., 2000 ; ROSA e MATTIOLI, 2002; TOKARNIA et al., 2010).

Na necropsia dos animais que morreram pela doença, não foram observadas lesões significativas, exceto mucosas pálidas, emagrecimento, baço de coloração marrom e intestino com conteúdo líquido. A anemia e coloração escura do baço encontradas na necropsia dos animais dos surtos são citados por Radostits et al. (2000) e Tokarnia et al.(2010), em casos de deficiência de cobre.

Na microscopia o único achado significativo foi hemossiderose esplênica encontrada nos animais do surto. Essa mesma lesão foi encontrada por Tokarnia et al. 1971; Tokarnia e Döbereiner, 1973; Moraes, Tokarnia e Döbereiner, 1999; Tokarnia et al., 2010. Segundo, Tokarnia et al. (2010) a hemossiderose esplênica em vários animais de uma mesma região é indicativo de deficiência de cobre.

O tratamento experimental com dois bovinos através da administração de sulfato de cobre via oral durante 30 dias, demonstrou a melhora dos sinais clínicos e a obtenção no ganho de peso nos animais. Riet-Correa et al., 1993, em estudos efetuados sobre efeitos da suplementação com cobre e doenças associadas à carência deste mineral verificou que os bovinos obtiveram significativo ganho de peso. Segundo Tokarnia et al. (1999); Radostits et al. (2000); Marques, et al.(2003) a melhor maneira de diagnóstico para deficiência de minerais é através da experimentação com o elemento suspeito de deficiência. De acordo com

Tokarnia et al. (2010) a variação de peso é o parâmetro principal para avaliar os resultados do experimento.

Para diagnóstico diferencial devem-se incluir todas as enfermidades que causam diarreia e emagrecimento. O diagnóstico diferencial entre as deficiências de cobre primária e secundária é realizado através da epidemiologia e dosagem da concentração de cobre no fígado e resposta positiva à suplementação deste mineral. A paratuberculose ou doença de Johne é detectada através dos dados epidemiológicos, ocorre em animais mais velhos, são casos individuais e possui lesões macro e microscópicas significativas. No caso das verminoses, há histórico de resistência aos anti-helmínticos, não desverminação periódica dos animais e na necropsia observa-se grande quantidade de parasitas no trato gastrointestinal e o diagnóstico pode ser feito através do exame de fezes e resposta a terapia. As enfermidades como coccidiose, salmonelose e doença das mucosas são caracterizadas por diarreia, sendo acompanhadas por achados clínicos e patológicos de fácil interpretação. Diarreia causada pelo coronavírus tem aparecimento rápido e a duração do quadro clínico é curta. Agentes tóxicos, como arsênico, chumbo e sal, são acompanhados por evidências de acesso ao tóxico e outros sinais para o diagnóstico. Na intoxicação por *Senecio* spp, os bovinos manifestam diarreia, mas apresentam outros sinais característicos como ascite, histórico de consumo da planta e cirrose hepática.

O diagnóstico de deficiência de cobre foi efetuado através da epidemiologia, dos sinais clínicos, na ausência de lesões macroscópicas e microscópicas significativas, na resposta positiva ao tratamento com sulfato de cobre via oral e através da avaliação da concentração de cobre no fígado.

CONCLUSÃO

A enfermidade entérica crônica que acomete bovinos criados em solos íngremes, durante períodos chuvosos, nos meses de primavera e verão no estado de Santa Catarina esta relacionada à carência de cobre.

A dosagem da concentração de molibdênio no fígado não foi considerada tóxica o que leva a conclusão de que os animais deste estudo apresentam deficiência de cobre primária ou a deficiência secundária causada por outro elemento.

Em bovinos, com diarreia crônica, a suplementação com cobre pode ser uma alternativa para confirmação do diagnóstico de carência deste mineral, bem como, para tratamento profilático em surtos de diarreia crônica não responsiva a outros tratamentos convencionais.

A única lesão histológica observada foi a hemossiderose esplênica acentuada que serve como um bom indicativo de deficiência de cobre.

REFERÊNCIAS

BENNETTS, H. W.; BECK, A. B.; HARLEY, R. The pathogenesis of “falling disease”. **Australian Veterinary Journal**, v. 24, p. 237-244, 1948.

BONDAM, E. F.; RIET-CORREA, F.; GIESTA, S. M. Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 11, n. 3/4, p. 75-80, jul./dez. 1991.

BORGES, A. S.; AMORIM, R. M.; KUCHEMUCK, M. R. G.; ARAÚJO, R. S.; SILVA, S. B.; SILVA, H. F.; BENESI, F. J.; MIRANDOLA, R.; MORGANO, M. Correlação entre a atividade sérica da ceruloplasmina e os teores sérico e hepático de cobre em novilhas Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 57, n. 2, p. 150-155, 2005.

BREM, J. J.; ROUX, J. P. Aspectos clinico-hematológicos de la molibdenosis experimental en bovinos, con y sin tratamiento parenteral de cobre. **Veterinaria Argentina**, v. 8, n. 71, p. 38-48, enero/marzo.1991

CLAWSON, W. J.; LESPERANCE, A. L.; BOHMAN, V. R.; LAYHEE, D. C. Interrelationship of dietary molybdenum and copper on growth and tissue composition of cattle. **Journal Animal Science**, v. 34, n. 3, p. 516-520, 1972.

FICHTNER, S. S.; JARDIM, E. C.; LOPES, H. O. S.; VIANA FILHO, A. Interrelação do cobre hepático e sérico em bovinos. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 117-120, jan./dez. 1988.

GALBRAITH H., CHIGWADA, W, SCAIFE, J. R., HUMPHRIES, W. R. The effect of dietary molybdenum supplementation on tissue copper concentrations, mohair fibre and carcass characteristics of growing Angora goats. **Animal Feed Science Technology**, v. 67, p. 83- 90, 1997.

GOONERATNE, S. R.; BUCKLEY, W. T.; CHRISTENSEN, D. A. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 69, n. 4, p. 819-845, dec.1989.

HUBERS, J. T.; PRICE, N. O.; ENGEL, R. W. Response of lactating dairy cows to high levels of dietary molybdenum. **Journal Animal Science**, v. 32, n. 2, p. 364-367, 1971.

HUMPHRIES, W. R.; PHILLIPPO, M.; YOUNG, B. W.; BREMNER, I. The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. **British Journal of Nutrition**, v. 49. p. 77-86, 1983.

LOPES, H. O. S.; FICHTNER, S. S.; JARDIM, E. C.; COSTA, C. P; MARTINS JUNIOR, W. Teores de cobre e zinco em amostras de solo, forrageiras e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**. v.3, p. 151-159, ago. 1980.

LUCCI, C. S. **Nutrição e Manejo de Bovinos Leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. 169 p.

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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 160-164, jul/set. 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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 21-32, jan./mar. 2003.

MATTIOLI, G. A.; FRAZZIO, L. E.; PICCO, S. J.; ROSA, D. E.; MELANI, G.; PALACIOS, A. Efecto terapéutico de la suplementación estratégica con cobre en terneros de cría. **Revista Veterinaria**, v. 18, n. 1, p. 9-13, 2007.

MAZZOCCO, M. B.; FURLAN, F. H.; SOUZA, S. F.; FROEHLICH, D. L.; TRAVERSO, S. D.; GAVA, A. Molibdenose em bovinos no Estado de Santa Catarina. In: Encontro Nacional de Patologia Veterinária, 14, 2009, Águas de Lindóia. **Caderno de Resumos**. Águas de Lindóia: Hotel Majestic, 2009. 1 CD-ROM.

MC DOWELL, L. R.; CONRAD, J. H. Trace mineral nutrition in Latin America. **World Animal Review**, v. 24, p. 24-33, 1977.

MENDES, M. O.; CONRAD, J. H.; AMMERMAN, C. B. Teores de minerais em bovinos de corte do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 4, n. 3, p. 25-30, jul./set. 1981.

MILTIMORE, J. E.; MASON, J. L. Copper to molybdenum ratio and molybdenum and copper concentrations in ruminants feeds. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 51, p.193-200, april.1971.

MORAES, S. S. Principais deficiências minerais em bovinos de corte. Documentos, n. 112, dezembro, 2001, Embrapa, 27 p.

MORAES, S. S.; SILVA, G. N.; DÖBEREINER, J. Microelementos minerais e a “cara inchada” dos bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 25-33, jan./mar. 1994.

MORAES, S. S.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 19-33, jan./mar. 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, Nutrient Requirements of Beef Cattle: Seventh Revised Edition: Update 2000, National Academy press, 2000. 232 p.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GORNIÁK, S. L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2006. p. 750-761.

PEDROZO, M. F. M.; LIMA, I. V. **Ecotoxicologia do Cobre e Seus Compostos**. v. 2. Salvador: Bureau, 2001. 127 p.

PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; MIRANDA, L. V.; CANELLA, C. C. F.; CANELLA FILHO, C. C. F.; VILAS BOAS, F. V. Eficiência reprodutiva de matrizes bovinas de corte submetidas a três tipos de suplementação mineral. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 125-130, jul/set. 2003.

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, jul/set. 2005.

POTT, E. B.; ALMEIDA, I. L.; BRUM, P. A. R.; COMASTRI FILHO, J. A.; POTT, A.; DYNIA, J. F. Nutrição mineral de Bovinos de corte do Pantanal Mato-Grossense: 2. Micronutrientes na Nhecolândia (parte central). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 109-126, jan. 1989a.

POTT, E. B.; BRUM, P. A. R.; POTT, A.; ALMEIDA, I. L.; COMASTRI FILHO, J. A.; TULLIO, R. R.. Nutrição mineral de Bovinos de corte no Pantanal Mato-Grossense: IV. Levantamento de micronutrientes no Baixo Piquiri. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 11, p. 1369-1380, nov. 1989b.

PRADA, F.; MENDONÇA JUNIOR, C. X.; CARCIOFI, A. C. Concentração de cobre e molibdênio em algumas plantas forrageira do estado do Mato Grosso do Sul. **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 35, p. 275-278, 1998.

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

RADOSTITS, 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, 2000. 1737 p.

RAISBECK, M. F.; SIEMION, R. S.; SMITH, M. A. Modest copper supplementation blocks molybdenosis in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, p. 566-572, 2006.

ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. **Analecta Veterinaria Journal**, v. 22, n. 1, p. 7-16, 2002. Disponível em: http://old.fcv.unlp.edu.ar/analecta/vol22n1/051_VE22n1_rosa_metabolismo_cobre.pdf. Acesso em: 15 dez. 2010.

ROSENBERGER, G. **Mallatie Del Bovino**. Piacenza: Essegivi, 1975. 1385 p.

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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 13, n. 3/4, p. 45-49, jul./dez. 1993.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. vol. 2. Santa Maria: Pallotti, 2007. 692 p.

SILVA, L. A. F.; CUNHA, P. H. J.; JARDIM, E. A. G. V.; FIORAVANTI, M. C. S.; TRINDADE, B. R.; SILVA, M. A. M.; GONÇALVES, J. R.; GONÇALVES, P. P. C.; PRAZERES, A. Efeito da administração parenteral de cobre sobre o ganho de peso, eritrograma e parênquimas, hepático e renal, em bovinos mestiços (Zebu x Europeu) confinados. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 3, p. 225-234, jul./set. 2004.

SOUSA, J. C.; CONRAD, J. H.; MC DOWELL, L. R.; AMMERMAN, C. B.; BLUE, W. G. Inter-relações entre minerais no solo, forrageiras e tecido animal. 2. Cobre e Molibdênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 335-341, jul. 1980.

TEBALDI, F. L. H. ; SILVA, J. F. C. ; VASQUEZ, H. M. ; THIEBAUT, J. T. L. Composição mineral das pastagens das regiões Norte e Noroeste do estado do Rio de Janeiro. 2. Manganês, Ferro, Zinco, Cobre, Cobalto, Molibdênio e Chumbo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 616-629, 2000.

THOMAS, J. W.; MOSS, S. The effect of orally administered molybdenum on growth, spermatogenesis and testes histology of young dairy bulls. **Journal of Dairy Science**, v. 34, n. 9, p. 929-934, 1952.

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. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**. v. 2, p. 33-37, 1959.

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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 6, p. 61-77, 1971.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil, a review. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, p. 1-6, 1973.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S. S. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 8, n.1/2, p. 1-16, jan./jun. 1988.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, 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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 47-62, abr./jun. 1999.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 127-138, jul./set. 2000.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BARBOSA, J. D.; BRITO, M. F.; DÖBEREINER, J. et al. Deficiência de cobre. In:_____. **Deficiências Minerais em Animais de Produção**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010. cap.7.1, p. 88-102

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of Livestock**. 3. ed. New York: CABI Publishing, 1999. 614 p.

VÁSQUEZ, E. F. A.; HERRERA, A. P; SANTIAGO, G. S. Interação cobre, molibdênio e enxofre em ruminantes. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1101-1106, dez. 2001.

VIEJO, R. E., CASARO, A. P. Efectos de la suplementacion con cobre sobre la ganancia de peso, cobre hepatico y plasmatico en terneros. **Revista Argentina de Producción Animal**, v. 13. n. 2, p. 97-105, 1993.

WARD, G. M. Molybdenum toxicity and hypocuprosis in ruminants: A review. **Journal Animal Science**, v. 46, n. 4, p. 1078-1085, 1978.

WARD, J. D.; SPEARS, J. W.; GENGBACH, G. P. Differences in copper status and copper metabolism among Angus, Simmental, and Charolais cattle. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 571-577, 1995. Disponível em: < <http://jas.fass.org/cgi/reprint/73/2/571>>. Acesso em: 07 fev. 2011.