

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

FÁBIO JOSÉ FERREIRA FIGUEIROA

**Suplementação nutricional e avaliação de desempenho e sanidade de
bezerros com desafio imunológico**

Pirassununga

2023

FÁBIO JOSÉ FERREIRA FIGUEIROA

**Suplementação nutricional e avaliação de desempenho e sanidade de
bezerros com desafio imunológico**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia do programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Produtividade e Qualidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto
Co-orientador: Dra. Márcia Saladini Vieira Salles

Pirassununga

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP, com
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F475s Figueiroa, Fábio José Ferreira Suplementação
nutricional e avaliação de desempenho e sanidade de
bezerros com desafio imunológico / Fábio José
Ferreira Figueiroa ; orientador Arlindo
Saran Netto ; coorientador Márcia Saladini Vieira
Salles. -- Pirassununga, 2023.
111p.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia
de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. bezerros. 2. selênio. 3. imunidade. 4.
metabolismo. 5. sanidade. I. Netto, Arlindo Saran,
orient. II. Salles, Márcia Saladini Vieira,
coorient. III. Título.



Protocolo nº 286-18

Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto de Zootecnia

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo intitulado “ **SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL PARA BEZERROS EM ALEITAMENTO AVALIANDO DESEMPENHO, SAÚDE E DETECÇÃO TERMOGRÁFICA EM DESAFIO IMUNOLÓGICO**”, protocolo nº **286-18**, sob a responsabilidade de Márcia Saladini Vieira Salles, e colaboradores Carla Maris Bittar, Arlindo Saran Neto, Lenira El Faro, Viviane Gomes. Que envolve a utilização de bovinos para fins de projeto de pesquisa – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do INSTITUTO DE ZOOTECNIA, **aprovado** em reunião de **07/11/2018** e **atualizado** em **03/06/2019**, devido alteração no protocolo inicial.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do Projeto	02/02/2019 à 02/12/2019
Espécie/Linhagem	Bovinos/ raça holandês
No. de Animais	45
Peso/Idade	50 kg/ 2 à 60 dias
Sexo	Machos
Origem	Fazenda Agrindus, município de Descalvado/SP

José Evandro de Moraes
Presidente CEUA-IZ

FÁBIO JOSÉ FERREIRA FIGUEIROA

Suplementação nutricional e avaliação de desempenho e sanidade de bezerros com desafio imunológico

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia do programa de Pós- Graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Produtividade e Qualidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Co-orientador: Dra. Márcia Saladini Vieira Salles

Data da aprovação: 02/03/2023

BANCA EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/USP

Membro: Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante

Instituição: Universidade Estadual Paulista - UNESP

Membro: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra

Instituição: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Membro: Prof. Dr. Laudi Cunha Leite

Instituição: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Membro: Dr. Luiz Carlos Roma Júnior

Instituição: Instituto de Zootecnia - IZ

Membro: Prof. Dra. Viviani Gomes

Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/USP

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização de meu doutorado.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Arlindo Saran Netto, pela orientação e oportunidade de aprendizado que me proporcionou.

Agradeço à Agência Paulista de Tecnologia para o Agronegócio – APTA, especialmente a pesquisadora Dra. Márcia Saladini Vieira Salles, pela oportunidade de realização de meu experimento e coorientação.

Agradeço também a todos que se envolveram direta ou indiretamente na realização do meu trabalho, como funcionários das instituições envolvidas, bolsistas e colegas da pós graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, financiamento do projeto de pesquisa que possibilitou a realização deste trabalho (processo n° 2017/04165-5).

RESUMO

FIGUEIROA, F. J. F. **Suplementação nutricional e avaliação de desempenho e sanidade de bezerros com desafio imunológico.** 2023. 111f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

A fase de aleitamento é um período crítico na criação de bezerras e a suplementação vitamínico mineral mostra-se essencial para que os animais se desenvolvam de maneira saudável e resistente a doenças. Diante dessa importância, um estudo foi conduzido com 45 bezerros machos da raça Holandês, distribuídos em três tratamentos, sendo: controle = sem suplementação, SSE = 0,3 mg de selênio + 50 UI de vitamina E e SSFE 0,3 mg de selênio + 50 UI de vitamina E + 100 mg de ferro/kg MS, ambos fornecidos via sucedâneo. Foi realizado um desafio imunológico, com *Anaplasma marginale*, em todos os animais aos 40 dias de idade. Foram coletadas amostras de sangue individuais no início do experimento, bem como, aos 40 e 60 dias de experimento, para a realização de hemograma, parâmetros bioquímicos e metabolismo oxidativo. Quinzenalmente, os animais foram pesados e tiveram suas medidas corporais aferidas. Antes de completar 60 dias de idade, os bezerros foram transferidos e alojados em gaiolas metabólicas individuais, permanecendo durante 5 dias, onde foram coletadas amostras diárias de fezes e urina para a determinação do balanço de selênio e ferro. Ao final do período experimental, os animais foram abatidos e tiveram amostras do fígado e músculo coletados. Foi observado uma menor concentração da enzima LDH nos animais que receberam o SSFE e o Lactato foi menor em ambos os tratamentos experimentais, comparados ao controle. A ureia plasmática diminuiu do início até 40 dias de experimento e foi observado uma interação entre os tratamentos e o tempo sobre os valores de ureia ($P=0,05$). A concentração da enzima GPx foi maior nos animais suplementados e os valores de GsH não apresentaram diferenças entre os tratamentos. Os animais que receberam o tratamento SSFE apresentaram tendência de maior ganho de peso ($P<0,10$) e menor ganho de garupa ($P=0,10$), comparado aos demais. As concentrações de eritrócitos e hematócrito tenderam a diminuir nos bezerros que receberam o tratamento SSFE ($P<0,10$). Nos primeiros 14 dias decorridos do desafio imunológico, o grupo controle apresentou maior

taxa de infecção, com menor infestação observada em SSFE. Foi observado uma maior ingestão de selênio nos animais suplementados, com maior excreção via em SSE. A concentração de selênio no fígado e os níveis circulantes no soro sanguíneo foram maiores nos animais suplementados, sendo que SSFE apresentou os maiores níveis circulantes de ferro. A deposição muscular de selênio foi maior nos animais que receberam o tratamento SSE. A ingestão de ferro foi maior nos animais que receberam SSFE e a excreção urinária foi maior em SSFE. O fígado apresentou maiores concentrações de selênio e ferro nos animais suplementados com SSE e SSFE. A suplementação de selênio promoveu uma maior retenção do mineral no músculo. Diante da importância dos referidos minerais para sanidade animal e, tendo em vista que a absorção destes foi melhorada nos animais suplementados, o fornecimento destes para bezerras em fase de aleitamento mostra-se como uma importante ferramenta para garantir o desenvolvimento saudável dos animais dentro do sistema produtivo.

Palavras chave: bezerras, nutrição, anaplasma, selênio, ferro, imunidade

ABSTRACT

FIGUEIROA, F. J. F. **Suplementação nutricional e avaliação de desempenho e sanidade de bezerros com desafio imunológico.** 2023. 111f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

The lactation phase is a critical period in the creation of calves and mineral and vitamin supplementation is essential for the animals to develop in a healthy and disease-resistant way. Given this importance, a study was conducted with 45 male Holstein calves, divided into three treatments, as follows: control = without supplementation, SSE = 0.3 mg of selenium + 50 IU of vitamin E and SSFE 0.3 mg of selenium + 50 IU of vitamin E + 100 mg of iron/kg DM, both supplied via substitute. An immunological challenge was performed, with *Anaplasma marginale*, in all animals at 40 days of age. Individual blood samples were collected at the beginning of the experiment, as well as at 40 and 60 days of the experiment, to perform blood count, biochemical parameters and oxidative metabolism. Every two weeks, the animals were weighed and their body measurements were taken. Before completing 60 days of age, the calves were transferred and housed in individual metabolic cages, remaining there for 5 days, where daily samples of feces and urine were collected to determine the balance of selenium and iron. At the end of the experimental period, the animals were slaughtered and had liver and muscle samples collected. A lower concentration of the enzyme LDH was observed in the animals that received the SSFE and the Lactate was lower in both experimental treatments, compared to the control. Plasma urea decreased from the beginning to the 40th day of the experiment and an interaction between treatments and time on urea values was observed ($P=0.05$). The concentration of the GPx enzyme was higher in the supplemented animals and the GsH values did not differ between treatments. The animals that received the SSFE treatment tended towards greater weight gain ($P<0.10$) and lower rump gain ($P=0.10$), compared to the others. Erythrocyte and hematocrit concentrations tended to decrease in calves receiving the SSFE treatment ($P<0.10$). In the first 14 days after the immunological challenge, the control group had a higher rate of infection, with less infestation observed in SSFE. A higher selenium intake was observed in supplemented animals, with greater excretion via SSE. Selenium

concentration in the liver and circulating levels in blood serum were higher in supplemented animals, with SSFE having the highest circulating levels of iron. Muscular selenium deposition was higher in animals that received SSE treatment. Iron intake was higher in animals receiving SSFE and urinary excretion was higher in SSFE. The liver showed higher concentrations of selenium and iron in animals supplemented with SSE and SSFE. Selenium supplementation promoted greater mineral retention in the muscle. In view of the importance of these minerals for animal health and, bearing in mind that their absorption was improved in supplemented animals, the supply of these to suckling calves is an important tool to ensure the healthy development of animals within the system productive.

Keywords: calves, nutrition, anaplasmosis, selenium, iron, immunity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO II

- Figura 1** – Cronograma de coletas58
- Figura 2** - Concentração de ureia no plasma sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos66
- Figura 3** - Concentração de glutathione peroxidase no plasma sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos66
- Figura 4** - Médias da contagem de *Anaplasma marginale* nos respectivos tratamentos e nas semanas subsequentes da inoculação do patógeno66
- Figura 5** - Média geral da contagem de patógenos de *Anaplasma marginale* de 7 a 42 dias após a inoculação66
- Figura 6** – Evolução da temperatura retal dos bezerros, durante 40 dias após inoculação74
- Figura 7** - Evolução do hematócrito, contagem de eritrócitos e nível de hemoglobina das amostras de sangue coletadas a partir do primeiro dia de experimento.....74

CAPÍTULO III

- Figura 1** - Concentração de ureia no plasma sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos103
- Figura 2** - Concentração de glutathione peroxidase no plasma sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos105

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Quantidade de selênio, ferro e vitamina E contidos nas cápsulas, de acordo com as respectivas fontes	52
Tabela 2 - Composição química e bromatológica do concentrado e sucedâneo comercial	53
Tabela 3 - Ingestão de matéria seca dos alimentos e nutrientes consumidos pelos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.....	60
Tabela 4 - Metabólitos sanguíneos dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.....	61
Tabela 5 - Hemograma dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.	63
Tabela 6 - Metabolismo oxidativo sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o desafio imunológico.	63
Tabela 7 - Desempenho dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental	64
Tabela 8 - Escore de fezes e frequência de diarreia dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.	65

CAPÍTULO III

Tabela 1 - Composição química e bromatológica do concentrado e sucedâneo comercial	92
Tabela 2 - Composição química e bromatológica do concentrado e sucedâneo comercial	93
Tabela 3 - Balanço de minerais em bezerros da raça Holandês, suplementados com selênio e/ou ferro via sucedâneo.....	98
Tabela 4 - Distribuição dos minerais nos tecidos de bezerros da raça Holandês, suplementados com selênio e/ou ferro via sucedâneo.....	99
Tabela 5 – Médias da ingestão de matéria seca, de acordo com cada tratamento experimental.	100
Tabela 6 - Efeitos dos tratamentos experimentais sobre a ingestão e digestibilidade de nutrientes durante os cinco dias de ensaio.....	101

LISTA DE ABREVIATURAS

BHB	betahidroxibutirato
C.H.C.M.	concentração de hemoglobina corpuscular média
ER	eritrócitos
GPx	glutathiona peroxidase
GsH	glutathiona reduzida
H.C.M.	hemoglobina corpuscular média
HB	hemoglobina
HT	hematócrito
LDH	lactato desidrogenase
SSE	sucedâneo adicionado de selênio mais vitamina E
SSfe	sucedâneo adicionado de selênio, ferro e vitamina E
TAS	atividade antioxidante total
V.C.M.	volume corpuscular médio

SUMÁRIO

1. Introdução Geral	12
1.1 Hipótese	14
1.2 Objetivos.....	14
1.2.1 Objetivos Gerais	14
1.2.2 Objetivos Específicos	14
1.3 Revisão de literatura	15
1.3.1. Selênio e Vitamina E.....	15
1.3.2. Ferro	20
1.3.3. Sistema Imunológico e anaplasmoses.....	23
1.3.4. Balanço de selênio.....	26
1.3.5. Balanço de ferro	30
1.4 Referências Bibliográficas.....	35
CAPÍTULO II	
2. Suplementação com selênio, vitamina E e ferro em bezerros da raça Holandês com desafio imunológico	46
RESUMO	47
ABSTRACT	49
2.1 Introdução	49
2.2 Material e Métodos	50
2.2.1 Animais, alimentação e tratamentos experimentais.....	50
2.2.2 Desafio imunológico.....	52
2.2.3 Incidência de diarreia.....	54
2.2.4 Amostragem e análise bromatológica dos alimentos.....	54
2.2.5 Amostragem e análises sanguíneas.....	55
2.2.6 Avaliação de desempenho.....	58

2.2.7 Cronograma de coletas.....	58
2.2.8 Análises Estatísticas.....	59
2.3 Resultados.....	59
2.4 Discussão.....	66
2.4.1 Níveis séricos de selênio, ferro e vitamina E.....	66
2.4.2 Efeito dos tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos.....	67
2.4.3 Efeito sobre o metabolismo oxidativo.....	72
2.4.4 Parâmetros de saúde.....	73
2.4.5 Avaliação de desempenho Desempenho.....	76
2.5 Conclusões.....	77
2.6 Referências Bibliográficas.....	78

CAPÍTULO III

3. Balanço de selênio e ferro em bezerros da raça Holandês em fase de aleitamento.	87
RESUMO	87
ABSTRACT	88
3.1 Introdução	89
3.2 Material e Métodos.....	91
3.2.1 Animais, dieta e tratamentos experimentais.....	91
3.2.2 Desafio imunológico.....	94
3.2.3 Gaiolas Metabólicas, Coletas de amostras e Análises Laboratoriais.....	94
3.2.4 Análises Estatísticas.....	97
3.3 Resultados.....	97
3.3.1 Selênio.....	97
3.3.2 Ferro.....	99
3.3.3 Ingestão e digestibilidade.....	100
3.4 Discussão.....	101
3.5 Conclusões.....	106
3.6 Referências Bibliográficas.....	107
4. Considerações Finais.....	111

1. Introdução Geral

O período entre o parto e o desaleitamento, que é a fase de aleitamento, compreendem um período crítico para a vida dos bezerros. É nesta fase onde demanda-se maior cuidado quanto ao estado nutricional e sanidade, e este, quando negligenciado, pode acarretar em altas taxas de mortalidade, comprometendo assim a eficiência do sistema produtivo e, conseqüentemente, gerando impactos econômicos. O potencial produtivo das bezerras leiteiras vai depender diretamente de como esta é manejada e cuidada durante seu desenvolvimento nos primeiros meses de vida.

Dentro do útero o feto está protegido de muitos microrganismos patogênicos e de outras injúrias. O bezerro logo após o nascimento é desafiado pelo ambiente hostil contaminado de vírus e bactérias patogênicas, bem como pelo clima e outros fatores externos (Reis et al., 2007).

A placenta sindesmocorial dos bovinos não permite uma boa passagem de imunoglobulinas e outras proteínas séricas aos bezerros (Reis et al., 2007). Assim, ao nascer, o bezerro ainda não possui o seu sistema imunológico desenvolvido e adquire imunoglobulinas maternas por transferência passiva através do consumo do colostro, podendo responder às infecções nas primeiras semanas de vida.

A nutrição animal nesta fase inicial de vida é importante para o desenvolvimento dos bezerros e determinados nutrientes, como o selênio, ferro e a vitamina E, são imprescindíveis para o desenvolvimento do sistema imunológico dos animais.

O selênio (Se) é classificado como um micronutriente essencial na nutrição de animais ruminantes pois é fundamental para o crescimento, saúde e reprodução. Ele atua principalmente como componente da enzima glutathiona peroxidase, que converte o peróxido de hidrogênio em água e é um importante componente no sistema antioxidante celular (NRC 2001).

O selênio também está envolvido com o metabolismo do ácido araquidônico, e esta relação provavelmente é uma das razões da melhora na habilidade dos neutrófilos em eliminar os microrganismos patógenos quando o Se é suplementado (NRC 2001).

A vitamina E exerce diversas funções no organismo atuando como antioxidante inter e intracelular e na formação de componentes estruturais de membranas biológicas (NRC 2001). Nos últimos anos a vitamina E tem mostrado ser importante contra danos causados pelos radicais livres e na melhora da resposta do sistema imune (McDowell, 2000).

O ferro funciona principalmente como um componente do grupo heme encontrado na hemoglobina e na mioglobina, atuando também como cofatores de enzimas da cadeia de transporte de elétrons, citocromo oxidase, ferredoxina, mieloperoxidase, catalase e das enzimas do citocromo P-450. A deficiência de ferro resulta em anemia microcítica hipocrômica devido à incapacidade de produzir hemoglobina, associada a respostas imunes depressivas e os bezerros ficam apáticos, diminuem a ingestão e o ganho de peso (NRC 2001).

Conforme descrito anteriormente, a saúde do bezerro no início da sua vida é crítica por não possuir o seu sistema imunológico desenvolvido. Ele adquire as imunoglobulinas maternas por transferência passiva através do colostro. Essa imunidade adquirida (passiva) parece ter uma duração média de 11,5 dias (Lucci, 1989) e somente a partir da segunda semana o bezerro começa a desenvolver sua imunidade própria, gradativamente até a quarta semana, quando já possui seu sistema imune praticamente desenvolvido (Tizard, 2000). Sendo assim, é nesta fase que o bezerro fica mais susceptível às doenças, justamente por ter seu sistema imune ainda em desenvolvimento.

Em levantamento realizado pela IDEAGRI (2019), com informações de 900 fazendas produtoras de leite, das 69.000 bezerras nascidas no período de abril de 2018 e março 2019, 11 mil morreram, ou seja, quinze a cada cem bezerras morrem em propriedades leiteiras no Brasil antes de completar um ano de idade.

O prejuízo causado pela mortalidade perinatal dos bovinos constitui-se um dos principais problemas da pecuária de leite e de corte em todo o mundo, conforme Reis et al. (2007). Segundo estes autores, as taxas de mortalidade de bezerros no Brasil são elevadas e podem atingir 25% e são especialmente causadas pelas diarreias, pneumonias e tristeza parasitária bovina.

Causada por protozoários e transmitida por carrapato, a tristeza parasitária bovina é composta por duas doenças, babesiose e anaplasiose. Esta patologia tem impacto direto no sistema produtivo de bovinos de leite e corte, podendo causar prejuízos econômicos devido ao alto índice de mortalidade, diminuição da produtividade e desempenho dos animais (Trindade et al., 2011).

O consumo adequado do colostro pelos bezerros recém-nascidos, nos primeiros dias de vida, e recebendo a suplementação de selênio, ferro e vitamina E em toda a fase de aleitamento, pode proporcionar melhorias o estado de saúde do animal, uma vez que esses nutrientes estão relacionados com o aumento da atividade do sistema imunológico, e a

manutenção hematológica, reduzindo a incidência de doenças e conseqüentemente melhora no desempenho.

1.1 Hipótese

A suplementação com selênio, ferro e vitamina E, nas doses propostas no presente estudo, via sucedâneo fornecido para bezerros durante a fase de aleitamento, pode melhorar a resposta imune dos animais a doenças infecciosas, bem como melhorar o desempenho dos mesmos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Verificar os efeitos da suplementação com selênio, ferro e vitamina E sobre o sistema imune e desempenho dos bezerros desafiados experimentalmente com *Anaplasma marginale*.

1.2.2 Objetivos Específicos

I - Verificar a resposta do sistema imunológico e hematológico da suplementação de selênio, ferro e vitamina E em bezerros da raça Holandesa;

II - Avaliar as alterações no hemograma e demais parâmetros sanguíneos dos animais suplementados;

III - Quantificar a atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx), bem como avaliar a atividade antioxidante;

IV - Avaliar o desempenho dos animais frente à suplementação dos nutrientes;

V – Avaliar a resposta imune dos bezerros diante do desafio com *Anaplasma marginale*;

VI – Avaliar o balanço dos minerais selênio e ferro no metabolismo dos bezerros.

1.3 REVISÃO DE LITERATURA

1.3.1. Selênio e Vitamina E

Segundo Scaletti, et al. 1999, o uso da nutrição com o objetivo de melhorar a resistência animal contra infecções, ou até mesmo diminuir a intensidade destas, é uma importante área de pesquisa. O selênio tem um papel essencial dentro deste contexto. O sistema imune protege a saúde do animal, contribui para o seu bem estar e está diretamente relacionado a nutrição. A nutrição é um importante modulador da função imune e pode muitas vezes ser o limitante do balanço entre a saúde e a doença (Klasing, 2001).

O selênio (Se) é um mineral fundamental para crescimento, saúde e reprodução normais, sendo classificado como um micromineral essencial na nutrição de ruminantes. A principal função do Se é como componente da enzima glutathiona peroxidase. Esta enzima converte peróxido de hidrogênio em água e é uma importante componente no sistema antioxidante celular (NRC 2001). Se o organismo for deficiente em antioxidantes, os radicais livres e radicais oxidantes não livres podem ocasionar danos aos tecidos animais. Oxidantes são produzidos durante o metabolismo e podem aumentar por exercício anaeróbico, estresse, injúrias nos tecidos e infecções (Nockels, 1996). O selênio também está envolvido com o metabolismo do ácido aracdônico, e esta relação provavelmente é uma das razões da melhora na habilidade dos neutrófilos em eliminar os microrganismos patógenos quando o Se é suplementado (NRC 2001).

Cerca de 40% do mineral oferecido oralmente aos bovinos é absorvido no intestino, principalmente no duodeno. Esta absorção vai depender da diretamente da forma em que o elemento é administrado, orgânica ou inorgânica. Estudos indicam que a absorção de selênio orgânico é muito mais eficiente do que a forma inorgânica do mineral (Lucci, 1997) e o selênio orgânico é mais eficiente também em alterar os níveis do mineral no sangue, no leite e nos tecidos (NRC, 2005). Segundo Wilde (2006), a selênio levedura possui maior retenção nos tecidos e pode ter um importante papel em garantir quantidades suficientes do mineral para vacas em lactação e assim reduzir a incidência de doenças.

Animais submetidos à imunização ativa na presença de selênio respondem melhor aos desafios com agentes infecciosos do que os animais mantidos nas dietas de controle. Isto prova que a resistência reforçada ao desafio bacteriano de animais alimentados com uma dieta complementada por selênio e pode ter sido o resultado de um efeito imunoestimulante exercido pelo selênio (Kiremidjian-Schumacher e Stotzky, 1987).

A suplementação de selênio diminui infecções de mastites clínicas e subclínicas em vacas de leite como também reduz a duração dos sintomas de mastite clínica. A relação entre a suplementação de selênio e as mensurações de mastites estão relacionadas com o efeito positivo do selênio na função do sistema imunológico do animal (Gerloff, 1992). Paschoal et al (2003) suplementando vacas no periparto e em lactação com o dobro da dosagem de selênio recomendada para esta categoria animal, observaram uma diminuição na contagem de células somáticas do leite concluindo que este mineral pode ser utilizado como ferramenta para maximizar a resposta imune do animal.

As concentrações médias de selênio no soro de vacas e seus bezerros recém nascidos foram aproximadamente 1,4 vez maior quando selênio levedura foi suplementado para as vacas no periparto comparadas com selenito de sódio (Weiss e Hogan, 2005). Gunter et al. (2003) já havia demonstrado em seu estudo que a concentração sérica de selênio nos bezerros foi mais alta para o selênio levedura em relação ao selenito de sódio quando foram administrados para suas mães no periparto. Um estudo realizado por Guyot et al. (2007) comparando a suplementação de selênio levedura (0,5 ppm) e selenito de sódio (0,5 e 0,1 ppm) para vacas no final da gestação provenientes de uma região deficiente em Se, mostraram que o conteúdo de Se no colostro e no leite das vacas foram maiores para as que receberam selênio levedura. Os níveis séricos de selênio nos bezerros ao nascimento e até 75 dias também foram maiores para os animais que receberam selênio levedura. Durante os primeiros 15 dias de vida a diarreia ocorreu em 6, 21 e 35% dos bezerros experimentais e durante os 75 dias foi 19, 29 e 65%, para os tratamentos com Se levedura, 0,5 ppm de selenito de sódio e 0,1 ppm de selenito de sódio, respectivamente, implicando uma relação positiva com o crescimento dos animais. Rowntree et al. (2004) também estudaram a adição de selênio para vacas no periparto sobre a concentração de selênio em suas crias. Os bezerros nascidos de vacas suplementadas com o mineral tiveram maior concentração de selênio sérico no primeiro dia de vida do que os filhos das vacas controle, mas não ocorreu esta diferença após uma semana.

A avaliação dos níveis séricos de selênio em bovinos tem um papel importante na sanidade do sistema de criação destes animais, uma vez que baixos níveis séricos do mineral podem abaixar a resistência a doenças (Buoso et al. 2001). Encontra-se na literatura relatos de várias patologias relacionadas a deficiência de selênio em ruminantes como falta de vitalidade, crescimento retardado (na forma subclínica) e morte súbita, por causa da necrose do miocárdio. A severidade das patologias nos animais ruminantes depende da idade e a morte por deficiência de selênio ocorre primeiramente em animais recém-nascidos ou nos

estágios de desenvolvimento após o nascimento (Buoso et al. 2001). Kommisrud et al. (2005), em estudo realizado na Noruega com 254 rebanhos leiteiros, constataram que um aumento de 0,02 para 0,23 μg de Se/g no sangue reduziu a incidência de doenças. A deficiência de selênio em vacas leiteiras reduz a habilidade dos neutrófilos do sangue em eliminar bactérias (Hogan et al., 1990).

Kamada et al. (2007) em seu estudo com suplementação de selênio para bezerros recém-nascidos mostraram que o mineral aumentou a quantidade de imunoglobulina G e selênio no plasma sanguíneo dos animais. Bezerros são sempre deficientes do mineral no nascimento, e segundo o autor, a aplicação deste método nesta fase de criação pode promover um imediato suprimento de Se e contribuir para o desenvolvimento do sistema imune dos bezerros.

O efeito do selênio dietético na resposta imune de bezerros infectados por vírus da rinotraqueíte bovina, estudado por Reffett et al. (1988), indicou que a deficiência de selênio pode deprimir o sistema imune de bezerros na fase de aleitamento.

A quantidade de selênio recomendado pelo NRC (2001) na ração para bezerros jovens, e animais adultos, é de 0,30 mg/kg de matéria seca (MS). O leite da vaca possui em média de 0,02 a 0,15 mg de Se /kg de MS. Neste trabalho, planeja-se estudar o nível de 0,60 mg/kg de MS. O nível máximo de suplementação tolerável para ruminantes, para evitar toxidez, seria de 5 mg de Se/kg de MS da dieta (NRC, 2005).

A vitamina E é reconhecida como nutriente essencial para o crescimento e saúde de todas as espécies animais (Liu et al., 1995). Esta vitamina, está relacionada com diversas funções no organismo, dentre elas, o seu papel como antioxidante inter e intracelular. Ela inibe a peroxidação natural dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) nas camadas lipídicas das membranas celulares, eliminando os radicais livres gerados durante a redução univalente do oxigênio molecular e a atividade normal das enzimas oxidativas (Berchielli et al., 2006).

Em animais de produção a deficiência de vitamina E ainda pode causar vários outros problemas como a degeneração testicular, diástese exsudativa e distrofia muscular, entre outras. A deficiência de vitamina E é condição nutricional associada também ao dano oxidativo tecidual, sendo sua suplementação relacionada a um papel quimioprotetor para o organismo.

De acordo com Berchielle (2006), para vacas em lactação, alimentadas com forragens conservadas, a quantidade exigida de vitamina E é de 0,8 UI/kg de PV, sendo essa concentração necessária para manter a saúde da glândula mamária.

Segundo Spears e Weiss (2008), em um artigo de revisão, alguns estudos documentaram que as concentrações de alfa-tocoferol no plasma podem diminuir drasticamente em vacas leiteiras alimentadas com forragens conservadas no período do periparto e a concentração mais baixa de alfa-tocoferol no plasma é geralmente observada entre a primeira semana periparto e as duas semanas pós-parto.

Reis et al. (2007) avaliando o efeito da idade e da suplementação com acetato DL-alfa-tocoferol sobre os níveis séricos de vitamina E e sobre as frações proteicas (alfa, beta e gamaglobulina) em bezerros da Raça Jersey, desde o nascimento até 45 dias de idade, observou que os bezerros, entre o nascimento e os primeiros vinte dias de vida, apresentaram valores séricos de vitamina E muito baixos, o que sugere a necessidade de suplementação dessa vitamina na dieta do recém-nascido. A suplementação com acetato de DL-alfa-tocoferol, na dose de dois gramas diários, aplicada por via oral, foi eficiente para elevar o valor sérico da vitamina E.

Na literatura existem trabalhos estudando a suplementação de selênio e vitamina E para vacas no periparto e a concentração destes nutrientes no colostro e no sangue dos bezerros nos primeiros dias de vida (Abdelrahman e Kincaidm 1995; Kamada et al., 2007; Rowntree et al., 2004; Weiss e Hogan, 2005). Mas existem poucos trabalhos relatando a suplementação destes do parto até o desmame, principalmente referindo-se à ação no desenvolvimento do sistema imunológico e incidência de doenças em bezerros nesta fase.

A inter-relação entre selênio e a vitamina E na nutrição animal demonstra que estes atuam em defesa da peroxidação dos fosfolipídios. A vitamina E atua evitando a oxidação dos ácidos graxos insaturados da membrana das células, e o selênio atua nas células modulando a atividade da enzima glutathione peroxidase. Em muitos casos a vitamina E reduz a necessidade do selênio e vice-versa. Embora apresentem essa interação ambos têm funções metabólicas específicas além do papel antioxidante (Andriquetto et al., 1999).

Segundo Spears e Weiss (2008), inadequado consumo de vitamina E ou selênio diminui a função dos neutrófilos durante o periparto e a suplementação desses nutrientes reduz a incidência de mastites, a retenção de placenta e a duração dos sintomas clínicos de mastites.

Segundo Spears (2000), está bem documentado na literatura que as funções da vitamina E e selênio são relacionadas e, que a resposta dos animais a suplementação destes nutrientes depende de seu aporte nutricional.

A vitamina E é um componente antioxidativo essencial de membranas celulares que previne o dano peroxidativo à membrana celular e às membranas das organelas intracelulares causado pelos radicais livres. O selênio tem uma função biológica relacionada com a vitamina

E em que este mineral é um componente essencial da glutathiona peroxidase, uma enzima envolvida na “desintoxicação” do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos (Rotruck et al., 1973).

De acordo com Combs e Combs (1986) a vitamina E atuando sobre a manutenção da integridade das membranas, reduz a exigência do selênio e, portanto, a quantidade de glutathiona peroxidase para destruição de peróxidos formados no citosol celular, mantendo, dessa forma, a capacidade celular de destruir os patógenos. O selênio, por sua vez, poupa a vitamina através da enzima glutathiona peroxidase, reduzindo a quantidade requerida da mesma para a manutenção da integridade das membranas lipídicas (Paschoal et al. 2003).

Em trabalho realizado por Zanetti (1998) para avaliar os efeitos do selênio e da vitamina E em bovinos leiteiros, a suplementação oral com 500 UI de vitamina E e 5 mg de selênio em vacas no último mês de gestação aumentou significativamente o nível sérico do mineral e reduziu a incidência de mastites subclínicas.

A diátese exsudativa é um severo edema produzido por aumento da permeabilidade dos capilares. Vários trabalhos demonstram que o selênio, juntamente com a vitamina E, tem efeito na prevenção de diátese exsudativa. Dietas com níveis baixos de selênio necessitavam até 100 vezes mais vitamina E, para prevenir o aparecimento de diátese exsudativa (Berchielli et al., 2006).

Hogan et al. (1993) relacionaram a vitamina E e selênio com a saúde da glândula mamária e, observaram que existe um efeito benéfico na suplementação destes nutrientes no leite e no sangue, aumentando a atividade dos neutrófilos ocasionando um incremento na fagocitose de bactérias.

Lacetera et al. (1996) estudaram a suplementação de vitamina E em vacas da raça Holandesa, das quais foram suplementadas com selenito de sódio (5 mg/100 kg de peso corporal) e acetato de alfa-tocoferol (25 UI/100 kg). Verificaram que nas primeiras 36 horas após o parto as vacas tratadas com selênio e vitamina E, no final da gestação, produziram 22% mais colostro e, conseqüentemente, mais imunoglobulinas. Os valores da glutathiona peroxidase de eritrócitos dos bezerros recém-nascidos de vacas suplementadas foram significativamente maiores, entretanto, a concentração de imunoglobulinas no colostro não diferiu entre os dois grupos, suplementados e não suplementados. Neste estudo sugere-se que vacas suplementadas com selênio e vitamina E no final da gestação produziram grandes quantidades de colostro e leite, proporcionando um colostro adequado para alimentar os bezerros recém-nascidos, e para armazenamento para uso posterior.

Aréchiga et al. (1994) avaliaram o efeito da injeção da vitamina E/selênio na função reprodutiva de vacas leiteiras, relatam que a administração de selênio (50 mg) e vitamina E (500 mg de DL- α -tocoferol) três semanas antes da expectativa do parto reduziu a incidência de retenção de placenta, diminuiu o número de serviços por concepção, aumentou a porcentagem de vacas prenhes ao primeiro serviço e diminuiu o intervalo do parto para a concepção. Entretanto, não influenciou o intervalo do parto ao primeiro cio e nem o intervalo do parto ao primeiro serviço.

Paschoal et al. (2006) avaliaram o efeito da suplementação do selênio e da vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa, durante o período das águas. Foram utilizados 80 animais, distribuídos em quatro tratamentos: controle, suplementação com 2,5 mg Se/dia, suplementação com 1000 UI vit. E/dia e suplementação com 2,5mg Se + 1000 UI vit. E/dia. A suplementação foi iniciada 30 dias antes da provável data de parição até o parto. A suplementação com selênio e vitamina E realizada no periparto não afetou a contagem de células somáticas do leite possivelmente devido aos baixos níveis utilizados, evidenciando a necessidade de realização de outros estudos relacionados aos níveis suplementares e suas formas de administração para melhor avaliar os efeitos da suplementação de minerais e de vitaminas na prevenção e no controle da mastite.

1.3.2. Ferro

Os minerais estão envolvidos em praticamente todos os processos do organismo animal e desempenham papel importante para seu equilíbrio. O ferro começou a ser estudado com nutriente para animais em 1809, pelo pesquisador Ihaer e, em 1893, Von Bunge e Abderhalden mostraram que animais jovens recebendo apenas leite como alimento exclusivo necessitavam de suplementação com ferro para evitar doenças relacionadas à sua deficiência. Isso ocorre devido aos baixos níveis de ferro presente no leite (Georgievskii et al., 1982). Desde então, estudos envolvendo suplementação mineral e a importância do ferro no desempenho animal vêm sendo explorados.

O entendimento dos processos metabólicos que os minerais inorgânicos participam é bem discutido na literatura, porém quando se trata de minerais orgânicos, ainda não são completamente esclarecidos os mecanismos envolvidos no processo de absorção e utilização destes pelos animais. Na maioria dos trabalhos com o uso de minerais orgânicos (quelatados) raramente é especificada a fonte do mineral quelatado. São explorados, principalmente, o desempenho animal em ganho de peso e produção de leite, variação na composição do leite em proteína e gordura, além de respostas reprodutivas e desenvolvimento fetal.

O ferro é um microelemento, componente da hemoglobina, da mioglobina (transporte de oxigênio), do citocromo (transporte de elétrons). Atua no transporte de oxigênio, no metabolismo oxidativo, crescimento celular e está presente em várias metaloenzimas. Este mineral deve estar presente na dieta dos ruminantes em quantidades inferiores a 100 ppm, ou 100 mg / kg de MS consumida. É um metal de transição e possui dois estados de oxidação estáveis (ferroso, +2 e férrico, +3), e é encontrado predominantemente na forma férrica (mais estável e menos absorvido) (McDowell, 2000).

Mamíferos recém-nascidos exibem valores de hemoglobina fisiologicamente baixos e sabe-se que o leite é deficiente em ferro e pode conduzir um animal lactente à uma deficiência de ferro com relativa facilidade (Getty et al., 1968).

Os principais compostos envolvidos no metabolismo do ferro são as proteínas transportadoras (transferrina e lactoferrina), proteínas de armazenamento (ferritina e hemossiderina), compostos heme (hemoglobina, mioglobina, citocromo e catalase), e metaloenzimas (fosfatase). Estes compostos desempenham papel fundamental desde o processo de ingestão do ferro, absorção, transporte, regulação até a sua excreção. A quantidade de ferro absorvida depende da exigência do organismo, ou seja, em taxas deficientes de ferro no organismo, cerca de 80% desse mineral proveniente da dieta é absorvido, enquanto que, em quantidades adequadas no organismo, de 7 a 10% apenas é absorvido (McDowell, 2000). O coeficiente de absorção médio do ferro de forrageiras e concentrados é de 10%, e fontes minerais, 40% (NRC, 2001). O ferro tem sua absorção condicionada à qualidade da dieta, presença de fitatos, fosfatos, oxalatos e outros quelantes que inibem seu aproveitamento. Já a capacidade de absorção do ferro, é afetada pela sua forma química quando ingerida, pela quantidade e proporção na dieta de outros minerais e compostos com os quais interage (McDowell, 2000).

O metabolismo do ferro é regulado por dois mecanismos, o intracelular que depende da quantidade de Fe que a célula dispõe, e o sistêmico que coordena a utilização e o estoque do mineral. Quando o nível de ferro está alto, há aumento na síntese da ferritina que irá armazenar o ferro e diminuição na produção de transferrina que é responsável pelo transporte deste mineral (Alencar, 2002; Grotto, 2010).

A absorção do ferro ocorre no intestino delgado, principalmente, no duodeno e em quantidades que variam de acordo com o estado de ferro do animal. A sua regulação na absorção ocorre pela sensibilidade da mucosa intestinal, e foi demonstrado por Fairweather-Tait e Wright (1984) em ratos, em que usaram um ferro marcado (^{59}Fe) como medidor de absorção em uma dieta controle (farinha de trigo), encontraram redução na absorção de 60%

para 9% quando a concentração de ferro na dieta aumentou de 8 para 1270 mg/kg de MS. A alimentação com baixos níveis de ferro por 24 h foi suficiente para aumentar a sua absorção.

As células duodenais responsáveis pela absorção do ferro são os enterócitos. O ferro proveniente da dieta de animais ruminantes está disponível, principalmente na forma férrica (Fe^{3+}), que tem origem vegetal. Este Fe^{3+} deve ser reduzido a Fe^{2+} (íon ferroso), pois apenas neste estado o ferro é capaz de entrar no citoplasma do enterócito devido a um receptor específico. O ferro (Fe^{2+}) absorvido pelos enterócitos poderá seguir duas vias. Caso a demanda de ferro pelo organismo seja baixa, este permanece no citoplasma do enterócito ligado à ferritina (proteína armazenadora do ferro) para posterior eliminação junto com os processos de descamação do epitélio intestinal, via fezes. Com o Fe^{2+} armazenado no citoplasma dos enterócitos, ocorre uma regulação negativa para a diminuição da absorção de ferro pelo intestino devido ao excesso de ferro intracelular. Na situação de alta demanda de ferro pelo organismo, este é transportado para fora do enterócito para o plasma sanguíneo, sofre oxidação a Fe^{3+} para poder ser incorporado à transferrina e transportado aos tecidos do corpo que necessitam do aporte deste mineral (Alencar, 2002; Grotto, 2010).

Do ferro absorvido pelos enterócitos, parte é transportada para a medula óssea para ser incorporado à hemoglobina, outra parte é estocada na forma de ferritina ou hemossiderina e uma parte do ferro ligado à transferrina é absorvida pelas células do fígado e do baço, onde permanecem estocadas. Cerca de apenas 0,1% do Fe total ligado à transferrina fica presente no plasma sanguíneo. Os principais motivos do armazenamento do ferro é a de proporcionar reserva ao organismo, além de protegê-lo dos efeitos tóxicos do ferro livre. O ferro (Fe^{3+}) armazenado na forma de ferritina é mobilizado quando requisitado pelo organismo. O Fe^{3+} para que seja liberado, deve ser reduzido à forma ferrosa (Fe^{2+}), e esta redução geralmente ocorre com auxílio do ácido ascórbico (Alencar, 2002; Grotto, 2010).

A perda de ferro pelo organismo geralmente é pequena, sendo que a maior via de excreção deste mineral é pelas fezes, por descamação de células do tecido epitelial das mucosas e pelo ferro biliar que não foi absorvido. Uma menor quantidade do ferro é perdida por descamação cutânea e via urina. Além destas perdas, há também as perdas por infecções parasitárias (Anderson et al., 1990; Worwood, 1997).

É comum a deficiência deste mineral em animais lactentes devido ao baixo teor de ferro presente no leite (1 mg de Fe/kg) e à maior exigência (100 a 150 mg de Fe/kg de MS) em relação aos animais adultos (McDowell, 2000; NRC, 2001). O leite como alimento único aos bezerros inevitavelmente causa a anemia, portanto há necessidade de suplementação.

As manifestações clínicas da privação de ferro são precedidas pelo esgotamento dos estoques de ferro, ou seja, diminuição de ferritina e hemosiderina no fígado e baço, além de queda de ferro e ferritina no soro. Normalmente, as concentrações de hemoglobina e mioglobina começam a cair abaixo do normal (hemoglobina no sangue, 110-120 g /L) sem que haja retardamento no crescimento dos bezerros (ARC, 1980).

Forragens da dieta de animais geralmente tem um excesso ferro e este é ocasionado pela contaminação na com solo e através da água. Esta contaminação leva ao maior consumo do ferro, que pode interferir na absorção de outros minerais, como o Cu e o Zn. Quantidades de 250 a 500 mg de Fe/kg de MS da dieta causa redução na absorção do Cu (Bremmer et al., 1987; Philippo et al., 1987). Quando a absorção de ferro da dieta excede a capacidade de ligação da ferritina e da lactoferrina no sangue e nos tecidos, pode haver aumento na quantidade de ferro livre. Este ferro livre pode conduzir a reações de peroxidação lipídica, e a produção de radicais livres, o que leva a um "estresse oxidativo", e consequente aumento da necessidade de antioxidantes para os animais. O excesso de ferro está associado com a diarreia, diminuição no consumo e ganho de peso. De acordo com o NRC, não é recomendado que o teor de Fe exceda 1.000 mg de Fe/kg de MS.

As fontes minerais mais utilizadas na nutrição animal são de origem inorgânica, (geológica ou industrial), tais como fosfatos, cloretos, sulfatos, óxidos e carbonatos, devido ao menor custo que os minerais de origem orgânica (Araújo et al., 2008). Na década de 70, os minerais orgânicos começaram a ser utilizados no Brasil, mas ainda são poucas as empresas que os produzem e, apenas nestes últimos anos os minerais quelatados voltaram a ser de interesse das pesquisas e das indústrias (Mottin et al., 2013). Ainda são poucos os trabalhos publicados que relatam a influência dos minerais quelatados na produção e composição do leite. Os minerais quelatados (orgânicos) apresentam elevado custo no mercado, quando comparados aos minerais inorgânicos, e ainda são poucos os trabalhos que comparam a qualidade entre os produtos oferecidos pela indústria.

O ferro quelatado é um mineral orgânico e tem como principal função, aumentar a sua disponibilidade para maior absorção pelo organismo animal. Este fato ocorre, pois o mineral quelatado não sofre qualquer tipo de degradação ou digestão no rúmen. O agente quelante atua como um transportador de mineral e o quelato formado pode ser usado também como imunostimulante, mas ainda não são claros os seus efeitos e mais estudos devem ser realizados. O uso destes minerais quelatados (forma orgânica) deve ser considerado para os pontos críticos dos ciclos de produção, do pré-parto até o final da estação de reprodução, e do aleitamento até um mês após o desmame (Branco, 2011).

1.3.3 Sistema imunológico e anaplasmose

O sistema imunológico do bezerro é composto pela imunidade inata (do organismo do animal) e da adquirida (oriunda do colostro). O mecanismo inato do sistema imune protege o animal pela fagocitose e posteriormente a eliminação dos antígenos por meio de um mecanismo oxidativo bactericida denominada explosão respiratória (Chew et al., 2004). A fagocitose de uma partícula estranha realizada pelos macrófagos ou neutrófilos produzem grande quantidade de ânions superóxido (O_2^-) do oxigênio molecular, que é posteriormente convertido para peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima superóxido dismutase (Chew et al., 2004). Os hidroperóxidos podem ser degradados pela enzima glutathiona peroxidase (selênio dependente) que protege o citosol contra os peróxidos produzidos no processo metabólico (Surai, 2006).

A imunidade adquirida é composta de células altamente ativas que geram constantemente espécies reativas de oxigênio (ERO) como parte de sua atividade celular normal. Espécies reativas de oxigênio desencadeiam a peroxidação lipídica e causa danos celulares nos tecidos. Células de defesa são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo porque suas membranas contêm altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados (susceptíveis a peroxidação) e elas produzem grandes quantidades de ERO quando estimuladas. Um grande número de vitaminas e microminerais estão envolvidos no sistema de defesa antioxidante e para o funcionamento de enzimas. A deficiência de qualquer um desses nutrientes pode deprimir o sistema imune dos animais (Spears e Weiss, 2008).

Bezerros colostrados desenvolvem suas próprias imunoglobulinas até a quarta semana de vida (Tizard, 2000). Mesmo depois de estarem com seu sistema imune próprio, os animais ruminantes na fase de aleitamento possuem maior susceptibilidade a doenças devido a rápidas mudanças existentes no quadro hematológico. Peixoto et al. (2002) estudaram a influência da idade de bezerros holandeses sobre o hemograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos. Segundo os autores, animais acima de 30 dias possuem maiores valores de eritrócitos, leucócitos e maior função oxidativa dos neutrófilos em comparação aos bezerros mais novos. A função fagocitária que o neutrófilo exerce contra os microrganismos patológicos é um importante mecanismo de defesa do animal hospedeiro (Tizard, 2000). Como nessa fase de criação os prejuízos econômicos e de comprometimento do desenvolvimento do animal podem ser resultantes das doenças, a suplementação do selênio e da vitamina E podem ter um efeito positivo no sistema imune, melhorando a saúde geral dos animais e, conseqüentemente, melhorar o desenvolvimento dos bezerros.

Vorachek et al. (2013a), relataram que a suplementação com selênio levedura altera o perfil de expressão gênica dos neutrófilos, sendo estes os componentes celulares mais numerosos e importantes da imunidade. Durante o parto é possível verificar o aumento do número de leucócitos, principalmente dos neutrófilos que só diminuem depois de 24 horas após o parto (JAIN, 1993).

Embora, a quantidade de selênio necessária para maximizar a competência imunológica nos animais domésticos seja maior do que a quantidade necessária para a prevenir uma deficiência deste mineral, pouco se sabe sobre a suplementação de selênio em doses acima do recomendado e sua função imunitária (ROOKE et al., 2004), principalmente quando estes estudos se referem a bezerros em fase de aleitamento.

As deficiências de ferro, zinco e vitamina A podem levar a diversos prejuízos na função imunológica normal, incluindo falhas nas respostas inata e adaptativa. Quanto a resposta adaptativa, caso haja deficiência de ferro, pode ocorrer uma redução da proliferação, diferenciação e do número células T, bem como uma redução da produção de citocinas por essas células. Na resposta inata, a deficiência desse mineral pode acarretar em redução da capacidade fagocitária dos neutrófilos, provavelmente devido à baixa atividade da mielo peroxidase e falhas na atividade das células natural killer (Sarni et al., 2010).

Segundo Nockels (1996), a quantidade de nutrientes necessária para melhorar o sistema imunológico animal é maior do que o sugerido pelo NRC (1996).

Salles, et al. (2014) estudando desempenho e resposta imunológica em bezerros em aleitamento e suplementados com selênio orgânico via leite ou via ração, observaram uma resposta do parâmetro imune superior em bezerros suplementados com selênio via leite. Além disso, a suplementação de selênio manteve o desempenho de animais com diagnóstico de diarreia. A suplementação com selênio não atuou como um promotor de crescimento, mas melhorou a função do sistema imunológico durante esta fase de saúde comprometida.

A anaplasiose bovina é uma infecção causada por *Anaplasma marginale* pertencente a família Anaplasmataceae e da ordem Rickettsiales (Ristic & Kreier, 1974), tendo como principal via de transmissão o carrapato *Boophilus microplus*, mas também podem ser transmitidos por diversos insetos hematófagos e e por agulhas reutilizadas do uso em animais contaminados. A tristeza parasitária bovina é composta por duas doenças, a babesiose e a anaplasiose e o desafio imunológico com este patógeno pode ser uma importante ferramenta para se observar os impactos causados por micro-organismos ao sistema imunológico. O estudo da doença é de grande importância, pois esta, tem impacto direto no sistema produtivo de bovinos de leite e corte, podendo causar prejuízos econômicos devido ao alto índice de

mortalidade, diminuição da produtividade e desempenho dos animais (Bastos et al., 2010; Trindade et al., 2011), sendo amplamente difundida em regiões tropicais e subtropicais, também sendo observados na América do Norte, bem como África e Austrália (Palmer, 1989).

Segundo, Coelho et al., (2004) o tempo de incubação desta é de 35 dias, podendo variar, segundo a literatura, entre 20 e 45 dias, dependendo de alguns fatores tais como, grau de virulência, estado nutricional e idade dos animais, bem como, a concentração de inóculos, quando estes são utilizados em experimentos com desafios imunológicos e da cepa utilizada (Bastos et al., 2010; Lasmar et al., 2012, Oliveira et al., 2017). O aumento da TR é observado em até 2 dias antecedentes ao pico de parasitemia e tem uma correlação positiva com este índice. A partir desse momento, se observa uma redução gradativa nos valores do HT, que apresenta correlação negativa com a parasitemia. O aumento na TR é acompanhado pelo aumento dos batimentos cardíacos e da frequência respiratória em resposta ao quadro anêmico que se observa com o avanço da parasitemia (Radostittis et al., 2002).

Segundo, Carson & Buening (1979), o baço desempenha papel fundamental na resposta imune a infecção por anaplasma, onde os eritrócitos infectados são removidos, não ocorrendo hemólise. Segundo os autores, isto é comprovado em animais esplenectomizados, onde a formação de imunoglobulinas M, principalmente na resposta primária envolvendo a síntese de anticorpos. Logo ao primeiro dia de vida dos bezerros, estes têm contato com os micro-organismos do ambiente, sendo infectados. No entanto, devido a imunidade inata, estes apresentam boa resistência ao anaplasma (Madruga et al., 1997).

1.3.4. Balanço de Selênio

A absorção de selênio ocorre no intestino delgado e está diretamente relacionado com a forma na qual este é administrado, a quantidade ingerida e outros fatores relacionados a dieta, como por exemplo a presença de Cálcio (Ca) e enxofre (S), que podem reduzir a absorção de selênio em até 50% (Surai, 2006).

Após absorvido o selênio é distribuído entre vários órgãos, sendo encontrado em maiores concentrações nos rins e no fígado. Os níveis de selênio no sangue são importantes indicativos da absorção deste mineral pela dieta, sendo a concentração de selênio nos eritrócitos um importante indicativo de absorção a longo prazo. Já a concentração no plasma sanguíneo, é indicativo de absorção a curto prazo, ou seja, indicando o que foi ingerido recentemente.

Após ingerido, parte do selênio será absorvida no intestino e o restante excretado via fezes. Da porção que foi absorvida, uma parte pode ser estocada no organismo do animal e o excedente eliminado via urina ou por exalação.

A absorção de selênio é menor em animais ruminantes comparada a monogástricos (Gerloff, 1992) devido a redução das formas biologicamente ativas (conversão de selênio em formas inativas) ao passar pelo rumem.

Em animais monogástricos o selênio proveniente de fontes inorgânicas, como por exemplo o selenito, é absorvido na ordem de 0,85 do total ingerido deste mineral.

Segundo Groce et al., 1973, a absorção aparente do selênio em suínos alimentados com selenito ou milho selenizado, a uma quantidade de 0,2 mg de Se/kg MS, foi de 0,75 e 0,64, respectivamente. Em humanos a taxa de retenção de selênio foi de 0,95 e 0,5 de selenato e selenito, respectivamente (Van Dael et al., 2001).

Em bezerros, a absorção de selênio mostra-se tão eficiente quanto a absorção em animais não ruminantes. Em trabalho realizado com bezerros alimentados com sucedâneo, Jensen & Hidiroglou (1986), observaram diminuição exponencial, a partir de 0,9 ppm, à medida que o selênio era aumentado na dieta, mesmo assim a absorção deste ainda era alta (0,6) e representando mais do que 100 vezes o seu requerimento. Estes dados sugeriram um baixo controle homeostático da absorção deste mineral. Quando ovinos que apresentam um alto status de selênio corporal e são alimentados com dietas pobres deste mineral, a taxa de absorção aparente pode ser mais baixa ainda (Langlands et al., 1986).

Em ovinos, recebendo dieta padrão peletizada, observa-se a mesma taxa de absorção do selênio, seja na forma de selênio marcado (^{75}Se) ou selenometionina (SeMet), mas quando se administra via infusão intravenosa a taxa de retenção de selenometionina pode ser reduzida.

Podem haver diferenças nas taxas de absorção de selênio, quando estes são administrados junto ao concentrado ou ao volumoso (Koenig et al., 1997). Em cordeiros alimentados com concentrado, com quantidades relativamente baixas de selênio e enxofre 0,07 e 1,6 mg/kg, respectivamente, a absorção aparente de selênio, como seleniometionina, foi alta, 80%. (White et al., 1998). Adições de SO_4 diminuíram absorção aparente de selênio em vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho e suplementadas com selenito de 39% para 29% (Ivanvic & Weiss, 2001) e reduziram a absorção de selênio orgânico pelos microorganismos do rumem em cordeiros (Van Ryssen et al., 1998)

A selenocisteína (SeCis) é rapidamente incorporada em selenoproteínas P no fígado e exportada, via plasma sanguíneos, até os tecidos. O selenito e selenato são reduzidos a selenido antes de serem incorporados a selenoproteínas P. Depois de passar pelo fígado a

liberação na corrente sanguínea é muito baixa. Muito é retido nos músculos e aqueles retidos no fígado e rins estão associados a proteínas. A liberação da selenocisteína ou selênio inorgânico é mais rápida. A incorporação de selenocisteína (SeCis) nos eritrócitos ocorre durante a eritropoiese e há uma pausa antes de ser novamente liberado na corrente sanguínea. A selenometionina (SeMet) por outro lado pode ser incorporada nos eritrócitos com metionina na molécula de hemoglobina (Beilstein & Whanger, 1986). Pode ocorrer também a conversão de SeMet em SeCis por transsulfuração ou transaminação. Se a dieta é deficiente em metionina, a suplementação de SeMet pode aumentar a concentração de selênio nos tecidos enquanto que, a atividade de GPX é diminuída (Waschulewisk & Sunde, 1988).

Quando administrado na forma de selenito, este é absorvido nos enterócitos por difusão passiva e o selenato apresenta uma rota de absorção associada ao molibdato e enxofre. Assim pode ocorrer efeito antagônico quando estes minerais são administrados.

A selenometionina (SeMet) é absorvida por transporte ativo através de um sistema dependente de sódio (Na), em rota de absorção similar a metionina. A selenocisteína (SeCis) é absorvida através de carreadores de amino ácidos (Schrauzer, 2003).

Após absorvido o selênio é transportado para o fígado na forma livre ou ligado a proteínas transportadoras, como a α - e γ -globulinas. No fígado, após alterações metabólicas, ocorre a síntese de selenoproteínas (SePP), como por exemplo a GPX. Quando este mineral é administrado via parenteral, como selenato de bário, o Se é rapidamente incorporado em proteínas ricas em selenocisteína (SeCis) no plasma sanguíneo e fica disponível para a síntese de outras selenoproteínas através de enzimas como a selenocisteína β -liase (Wolffram, 1999). O selenato é capturado pelos eritrócitos, reduzido a selenido pela enzima glutathione e transferido para o fígado.

O selênio se acumula nos tecidos e este vai depender da quantidade de selênio na dieta, fonte ou localização nos tecidos. O fígado processa todas as formas de selênio no sangue. Em cordeiros desmamados recebendo 2,9 mg de Se proveniente de trigo selenífero, em adição a 0,2 mg Se/kg MS de outras fontes, as concentrações de selênio no músculo, coração e lã aumentaram linearmente chegando a triplicar depois de 56 dias. Os níveis no fígado e rins aumentaram rapidamente até alcançar um platô depois de 14 a 28 dias (Taylor, 2005).

Segundo Burk et al., 2001, o selênio proveniente da selenometionina pode ser incorporado a molécula de albumina, enquanto o selenato ou selenocisteína não.

O selênio proveniente de fontes inorgânicas é quase que na sua totalidade utilizado para a síntese de selenoenzimas, enquanto que, quando proveniente de fontes orgânicas, este pode

ser utilizado para síntese de selenoenzimas como para a síntese de proteínas contendo selenometionina. (Schrauzer, 2003; Weiss & Hogan, 2005).

No fígado, quando a selenometionina é metabolizada, parte é reduzida a selenido, que foi utilizado para a síntese de selenocisteínas que posteriormente pode ser incorporada na selenoproteínas funcionais. Outra parte pode ser transformada em selenocisteína para ser utilizada, no lugar de cisteína, na síntese de algumas proteínas. (Weiss, 2003).

Quando a selenometionina não é imediatamente metabolizada, esta é incorporada em órgãos com alta síntese proteica, como músculo esquelético, pâncreas, fígado, rins e estômago, na mucosa intestinal e também nos eritrócitos. Para o selênio proveniente de fontes inorgânica, a incorporação só é possível nas selenoproteínas. Quando há uma falta de metionina no organismo, a selenometionina pode ser incorporada às proteínas corporais. Isto se deve ao fato do RNA transportador (tRNA), não fazer distinção de metionina de selenometionina (Schrauzer, 2003)

A principal forma na qual o selênio é encontrado no plasma sanguíneo é selenocisteína. No plasma, este mineral é transportado principalmente pela molécula de selenoproteína P, que está envolvida no transporte de selênio do fígado para tecidos periféricos (Underwood & Suttle, 1999; Buckley, 2000). Este corresponde a 30 a 80% do total de selênio plasmático em humanos e roedores. (Surai, 2006).

Existe uma correlação entre o aumento na concentração de selênio na urina e a quantidade deste na dieta (Alhidary et al., 2015). O aumento relativo na excreção deste mineral na urina ocorre com o aumento na concentração de selênio na dieta para diminuir a retenção de selênio e manter a homeostase. Koenig et al., 1997; Weiss & Hogan, 2005)

Alhidary et al, trabalhando com suplementação de vacas leiteiras alimentadas com 0.8 mg Se/kg MS em combinação com Vitamina E, observaram aumento na excreção urinária de selênio. A porcentagem do que foi excretado em relação ao que foi ingerido foi de 27,4%, valores próximos aos encontrado por outros autores, 30% em vacas leiteiras (Ivanvic & Weiss, 2001) e em ovinos, 23–33% (Koenig et al., 1997). A concentração de selênio foi maior nos rins do que no fígado, resultados estes também observados em cordeiros (Smith & Isopenko, 1997; Qin et al., 2007) e em vacas leiteiras (Combs & Combs, 1986; Pavlata et al., 2001). Em bezerros, altas concentrações foram observadas no fígado (Lawler et al., 2004; Skrivanova, et al. 2007).

Conforme foi dito anteriormente, a absorção de selênio vai depender da forma como este é ofertado na dieta e esta, também varia conforme a espécie animal. A absorção na forma inorgânica é de 80 % em animais monogástricos e 29% em animais ruminantes. Galbarith et

al., 2015, trabalhando com selênio na forma orgânica, observou que a selenometionina foi incorporada em maior quantidade pelos microorganismos ruminais, quando comparado a fontes inorgânicas. De acordo com os autores a biodisponibilidade do selênio de fontes orgânicas mostrou-se maior quando comparado a outras fontes devido a uma maior incorporação ruminal.

A forma na qual o selênio é incorporado é diferente em músculos e órgãos. Parte do que é absorvido na forma orgânica é incorporado diretamente a proteínas musculares, enquanto que a forma inorgânica é utilizada para a síntese de selenoproteínas.

Altas quantidades de selênio são observadas nos rins e fígado. Os rins são órgãos que apresentam maiores concentrações de selênio, seguidos pelo fígado. No entanto, muito do selênio absorvido é armazenado no fígado (Stock, et al. 2010). Após a absorção, uma grande quantidade de selênio é diretamente direcionada ao fígado, que é um órgão de armazenagem e, no caso de um excesso, este pode ser excretado via bile, entretanto a mais importante via são os rins. Parte do selênio é excretada pela exalação na forma de metilselenol (cerca de 1%), urinária (1,9 – 2,7%) ou fecal. Uma parte de selênio pode ser excretada através da bile, cerca de 28% em ovinos, sendo este um importante caminho para a reciclagem deste mineral apesar de contribuir significativamente para a concentração de selênio nas fezes de animais alimentados com fontes de selênio orgânico (Langland et al., 1986).

Em animais monogástricos o selênio proveniente de fontes inorgânicas, como por exemplo o selenito, é absorvido na ordem de 0,85 do total ingerido deste mineral.

Quando há falta de selênio, seu estoque corporal pode ser mobilizado para suprir os requerimentos, porém, a taxa com que isto ocorre vai depender da forma como este é estocado nos tecidos, principalmente pelas proporções de selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCis), e atividade metabólica do órgão (Juniper et al., 2008). O selênio acumulado em proteínas, na forma de selenometionina (SeMet) não pode ser mobilizado. Sendo assim o selênio muscular não é considerado com um local de estocagem.

A injeção de selênio inorgânico acumula principalmente no fígado e é secretado via bile em ovinos (Archer & Judson, 1994), porém estima-se que o total excretado seja duas vezes maior quando o estoque de selênio corporal é composto por selenometionina (SeMet) do que com selenito (Se_2O_3). (Langlands et al., 1986)

Perdas de selênio via urina pode variar de acordo com a fonte, de 10 a 45% (Langlands et al., 1986; Ivanvic & Weiss, 2001). A suplementação com selenometionina ou selenito produzem aumentos similares na excreção via urina em vacas de lactação (Juniper et al., 2006).

1.3.5 Balanço de Ferro

O ferro é um nutriente essencial necessário para uma série de processos metabólicos, sendo encontrado em todas as células do organismo e em maior abundância, aproximadamente 60%, ligado a molécula de hemoglobina na corrente sanguínea (Suttle, 2010). Considerado essencial para o funcionamento de todas as células do organismo, o ferro é observado no plasma sanguíneo ligado a molécula de transferrina, e no fígado, ligado a ferritina e hemosiderina (Herdt & Hoff, 2011). A rápida taxa de crescimento observada em alguns animais domésticos, como por exemplo leitões nas primeiras semanas de vida, pode acarretar em anemia ferropriva devido a um aumento na demanda deste importante mineral (Seamer, 1956).

A hemoglobina é um complexo molecular composto por protoporfirina heme e globulina, sendo que cada grupo heme possui um átomo de ferro localizado ao centro. Esta molécula, formada por quadro anéis de porfirina, é agrupada nos eritrócitos e é responsável por levar oxigênio dos pulmões como oxihemoglobina, via corrente arterial, para os tecidos, e retorna como carboxihemoglobina por via venosa.

Uma das particularidades do ferro é a habilidade em mudar entre seu estado divalente e trivalente permitindo que outras hemoproteínas, citocromos a, b e c, participem da cadeia transportadora de elétrons, como a enzima COX.

O ferro também está envolvido em outras vias metabólicas, participando de todos os estágios do ciclo do ácido tricarbóxico, através da assistência e ativação de enzimas como a succinato desidrogenase. Catalases e peroxidases, que atuam na remoção produtos potencialmente perigosos do metabolismo, também possuem o ferro como constituinte (Suttle, 2010).

A captação do ferro, do lúmen intestinal e sua internalização é mediada por uma proteína transportadora de metal divalente (DMT-1), localizada na membrana apical dos enterócitos, que transporta também Manganês (Mn^{2+}), Cobre (Cu^{2+}), Cobalto (Co^{2+}) e Zinco (Zn^{2+}). Para que o ferro possa ser transportado pela DMT-1, este é primeiramente convertido de sua forma férrica (Fe^{3+}) para ferrosa (Fe^{2+}) no duodeno, através da ação da enzima redutase citocromo b (Garrick et al., 2003). O ferro, proveniente de grupo heme, é absorvido ligado a proteína transportadora específica, a HCP1 e então liberado pela heme oxigenase dentro da célula (West & Oates, 2008). Uma vez no citoplasma dos enterócitos, o ferro (Fe^{2+}) tem dois destinos possíveis dependendo da demanda do organismo. Quando o requerimento é baixo, este permanece ligado a molécula de ferritina e foi eliminado pela descamação do epitélio intestinal. Quando a demanda por ferro for alta, este foi exportado até

o plasma sanguíneo por um transportador transmembrana, a ferroportina. O transporte ferro via plasma sanguíneo se dá pela molécula transferrina sérica, mas antes de se ligar a molécula, os átomos de ferro que se encontram no formato ferroso (Fe^{2+}) precisam ser novamente oxidados a sua forma férrica (Fe^{3+}) pela hefaestina (Grotto, 2010). Os níveis de transferrina circulante fornecem a capacidade total de ligação de ferro do plasma e o grau de instauração mostra a proporção de apotransferrina livre de ferro atual. Receptores de transferrina nas células da membrana conduzem o ferro para o interior da célula por endocitose, onde este é reduzido e incorporado a formas funcionais.

Uma importante fonte ferro de no organismo, é a reciclagem realizada pelos macrófagos durante a fagocitose e degradação de hemácias senescentes. Segundo Fairbanks & Beutler (2001), esta reciclagem representa de 25 a 30 mg de Fe/dia em humanos, sendo suficiente para atender as necessidades diárias de ferro para a síntese sanguínea.

Proteínas reguladoras de ligação, sensíveis a concentrações de ferro livre, recebem o ferro da transferrina e distribuem em vias funcionais e de armazenagem. A hepcidina, uma proteína é sintetizada no fígado e liberada no plasma tem atuação sobre a absorção e reciclagem sistemática do ferro (Ganz, 2004; Loreal et al., 2005).

A absorção de ferro é definida de acordo com a necessidade do organismo e esta, pode ser afetada por fatores como a idade, balanço do mineral no organismo e a fonte dietética.

A expressão da DMT1 nos enterócitos é aumentada quando animais recebem dietas com baixas quantidades de ferro (Moos et al., 2002), e a absorção é facilitada pela migração das criptas das células da mucosa, aumentando as ligações com o ferro. O controle da sensibilidade da mucosa foi demonstrado por Roughead & Hunt (2000) com o uso de radioisótopos de ferro, onde observaram uma retenção de 60 para 9% quando as concentrações de ferro da dieta aumentaram de 8 para 1.270 mg/kg MS. A diminuição dos níveis de ferro durante 24 horas foi suficiente para melhorar a absorção.

A influência dos estoques corporais foi comprovada em humanos voluntários apresentando correlação negativa entre a retenção de ferro e as concentrações de ferritina, no entanto, com o aumento dos níveis dietéticos de ferro há uma diminuição na eficiência de absorção de ferro não heme. O ferro não heme é retido na mucosa como ferritina, fazendo pouco ou nenhum progresso com altas ingestões de ferro, e a perda proveniente de células da mucosa carregada de ferro causa aumento na excreção fecal de ferritina (Suttle, 2010).

O estoque de ferro se dá principalmente no fígado, baço e medula óssea, nas formas de ferritina e hemossiderina. A apoferritina, proteína livre de ferro, possui um núcleo capaz receber até 4.500 átomos de ferro na forma de hidroxifosfato férrico e a hemossiderina é

considerada a forma degradada da ferritina (Fairbanks & Beutler, 2001). A hemosiderina é a forma de estocagem predominante quando o status de ferro está alto. Ela contém 35% de ferro, primeiramente em uma forma coloidal como hidróxido de ferro, e provavelmente resulta da agregação de moléculas de ferritina e subsequente desnaturação de suas proteínas (Kent & Bahu, 1979). Em humanos há uma correlação positiva entre as concentrações de ferritina sérica e os estoques corporais de ferro, com 1 µg/L, que equivalem a 8 a 10 mg de ferro estocado, assim a ferritina mostra-se um importante indicador de ferro estocado (Baynes, 1997).

O efeito da administração do ferro varia de acordo com espécies animais. A presença de antagonistas na dieta, como cálcio, fitato e polifenóis, contribuem para a diminuição do valor biológico de dieta de aves alimentadas com farelo de oleaginosas e derivados. Valores entre 0,39 e 0,56 têm sido observados em dietas a base de proteína de soja (Biehl et al., 1997) e farelo de algodão (Boling et al., 1998).

O fitato tetraférrico é pouco disponível através do leite para bezerros (Bremner et al., 1976). Entretanto, após o desmame, a ação das fitases microbianas no rumem atuam de maneira positiva sobre o fitato.

Os requerimentos de ferro variam de acordo com o peso vivo e composição da dieta. Matrone et al., 1957, observaram que bezerros alimentados com leite e suplementados com 30 mg de ferro por dia, até 40 semanas de nascimento, apresentaram valores adequados de crescimento e hemoglobina.

Quando os animais estão sob privação de ferro, observa-se primeiramente a diminuição nos estoques de ferritina e hemosiderina no fígado, baço, rins e mucosa, também acompanhado pela diminuição de ferritina sérica. A duração desta fase depende da reserva corporal de ferro, que pode variar de 20 a 540 mg Fe em bezerros recém nascidos (ARC, 1980). Em um experimento sobre a depleção de ferro em bezerros recebendo leite contendo 5 mg Fe/kg MS, o pool sanguíneo aumentou 750 mg e muscular 250 mg em três meses com a contribuição do fígado e a dieta.

Após a mobilização e diminuição das reservas de ferro, verifica-se uma queda nos níveis séricos de ferro e aumento na capacidade total de ligação da transferrina sérica. Em leitões com sinais de anemia que receberam apenas 25 mg de Fe/kg MS, foi observado um declínio ainda maior nos níveis de hemoglobina e no volume médio das células, enquanto que, com a suplementação de 75 mg de Fe /kg MS, esses efeitos não foram observados (Ullrey et al., 1960).

Segundo Baynes (1997), o aumento na quantidade de receptores de transferrina sérica indica um direcionamento coordenado para manter o status de ferro no organismo. A privação de ferro para bezerros e suínos, causa uma redução da atividade da catalase, que precede a queda nos níveis de hemoglobina (Grassman & Kirchgessner, 1973). O excedente da catalase e de outras enzimas como a COX, pode explicar porque a atividade da enzima diminui antes do retardamento do crescimento (ARC, 1980). A síntese de hemoglobina e mioglobina não consegue manter suas concentrações na corrente sanguínea e no músculo, mas o crescimento em bezerros pode não ser afetado (ARC, 1980).

Embora menos frequente e severa do que o observado em leitões, a anemia considerada média pode ser observada em bezerros (Hibbs et al., 1963; Atyabi et al., 2006), entretanto, um estado de anemia considerado médio não diminuiu o transporte e consumo de oxigênio em bezerros em atividade (Bremner et al., 1976). Devido a competição pelo suprimento maternal de ferro, bezerros gêmeos podem ser mais susceptíveis a desenvolver um estado anêmico do que bezerros únicos (Kume & Tanabe, 1994). A utilização de concentrados a base de proteína em sucedâneos e uréia para repor a proteína vegetal em rações de ruminantes desmamados pode diminuir o estado de ferro no organismo.

Baixos níveis séricos de ferro e aumento na capacidade total de ferro ligante e capacidade de insaturação de ferro ligante podem fornecer informações sobre a deficiência deste, mas uma variabilidade individual também pode ser observada de acordo com a espécie. Segundo Puls (1994), os níveis séricos normais para bovinos, suínos e frangos de cortes são 17,4, 21,7 e 25,0 $\mu\text{mol/L}$ respectivamente.

Não são observadas diferenças significativas nos valores da capacidade ferro ligante total entre a vaca e o bezerro. Estes podem permanecer altos por dois meses no caso dos bezerros. Contrariamente, os níveis séricos de ferro da vaca se matem até o parto, mas diminuem posteriormente (Atyabi et al., 2006).

Os níveis de ferro no fígado podem indicar o grau de privação deste mineral, tendo como limiares de 75 a 100 mg/kg MS para leitões (Ullrey et al., 1960). A ferritina sérica é também um dos limitantes no diagnóstico de anemia.

Níveis marginais podem ser utilizados como indicativos do estado anêmico no animal. Para bovinos, os níveis de ferro na dieta, fígado, soro sanguíneo e ferritina sérica, são respectivamente, 40 a 60 mg /kg MS, 1,89 a 2,68 mmol/kg MS, 8,9 a 17,9 $\mu\text{mol/L}$ e 10 a 30 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

1.4 Referências Bibliográficas

- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. The nutrient requirements of ruminant livestock. London, Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1980. 351p.
- AL HIDARY, L. A., SHINI, S., AL JASSIM, R. M., ABUDABOS, A. M., GAUGHAN, J. B. Effects of selenium and vitamin E on performance, physiological response, and selenium balance in heat-stressed sheep. *Journal of Animal Science*. V.93, p.576–588, 2015.
- ALENCAR, N.X.; KOHAYAGAWA, A.; CAMPOS K.C.H. Metabolismo do ferro nos animais domésticos: revisão. *Continuous Education Journal*, São Paulo, v. 5, n. 2, p.196-205, 2002.
- ANDERSON, R.A.; POLANSKY, M.M.; BRYDEN, N.A.; KANARY, J.J.; MERTZ, W. In: *Seventh International Symposium on Trace Elements in Man and Animals*. Dubroobnik, Yugoslavia, 4 p. 1990.
- ANDRIGUETTO, J. M. et al. *Nutrição animal*. São Paulo. Vol. 1. Editora Nobel. 1999. 395p.
- ARAUJO, J. A. et al. Fontes de Minerais para Poedeiras. *Acta Veterinaria Brasilica*. Mossoró, v.2, n.3, p.53-60, 2008.
- ARC (1980). *The Nutrient Requirements of Ruminants*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, p. 184–185, 1980.
- ARCHER, J.A. & JUDSON, G.J. Selenium concentrations in tissues of sheep given a subcutaneous injection of barium selenate or sodium selenate. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. V. 34, p. 581–588, 1994.
- ARÉCHIGA, C.F.; ORTÍZ, O.; HANSEN, P.J. Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology*, v.41, p.1251-1258, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Arlington, 1990. v.1, 1117p.
- ATYABI, N., GHARAGOZLOO, F., NASSIRI, S. The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves. *Comparative Clinical Pathology* v. 15, p. 165–168, 2006.
- Bastos, C. V., Passos, L. M. F., Facury-filho, E. J., 2010. Protection in the absence of exclusion between two Brazilian isolates of *Anaplasma marginale* in experimentally infected calves. *Vet. J.* 186, 374–378. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.09.013>.
- BAYNES, R.D. The soluble form of the transferrin receptor and iron status. In: Fisher, P.W.F., L'Abbe, M.R., Cockell, K.A., Gibson, R.S. (eds) *Trace Elements in Man and Animals – 9 – Proceedings of the Ninth International Symposium*. NRC Research Press, Ottawa, p. 471–475, 1997.

- BECKER, B.J.; LOBATO, J.F.P. Effect of gentle handling on the reactivity of zebu crossed calves to humans. *Applied Animal Behaviour Science* 53 (1997) 219-224.
- BEILSTEIN, M.A. & WHANGER, P.D. Chemical forms of selenium in rat tissues after administration of selenite or selenomethionine. *Journal of Nutrition* 116, 1711–1719, 1986.
- BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V., OLIVEIRA, S. G., *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.
- BIEHL, R.R., EMMERT, J.L. & BAKER, D.H. Iron bioavailability in soybean meal as affected by supplemental phytase and 1 alpha-hydroxycholecalciferol. *Poultry Science*. v. 76, p. 1424–1427, 1997.
- BOIVIN, X., Le NEINDRE, P., CHUPIN, J.M. Establishment of cattle-human relationships. *Applied Animal Behaviour Science*. Volume 32, Issue 4, January 1992, Pages 325–335.
- BOLING, S.D., EDWARDS, H.M., EMMERT, J.L., BIEHL, R.R., BAFER, D.H. Bioavailability of iron in cottonseed meal, ferric sulfate and two ferrous sulfate by-products of the galvanising industry. *Poultry Science*. v. 77, p. 1388–1392, 1998.
- BRANCO, A.F. Avanços em nutrição mineral de ruminantes, suplementando com precisão. In: BRANCO, A.F. *Tópicos especiais em nutrição mineral de ruminantes*. Instituto de Estudos Pecuários - IEPEC, Florianópolis, SC, 2011. p. 132-146.
- BREMMER, I.; HUMPHRIES, W.R.; PHILLIPM, M.; WALKER, J.M.; MORRICE, P.C. Iron-induced copper deficiency in calves: dose-response relationships and interactions with molybdenum and sulphur. *Anim. Prod.* 45:403-414, 1987.
- BREMNER, I., BROCKWAY, J.M., DONNELLY, H.T. AND WEBSTER, A.J.F. Anaemia and veal calf production. *Veterinary Record* v. 99, p. 203–205, 1976.
- BUCKLEY, W. T. *Farm animal metabolism and nutrition*. London: CABI, 2000, p. 161-182
- BUOSO, M.C.; CECCATO, D.; MOSCHINI, G. et al. Assessment of serum selenium levels in 2-month-old sucking calves using total reflection X-ray fluorescence technique. *Spectrochimica Acta*, v. 56, p. 2181-2186, 2001.
- BURK, R.F., HILL, K.E.; MOTLEY, A.K. Plasma selenium in specific and non-specific forms. *Biofactors* 14, 107–114, 2001.
- CARROLL, J.A.; SANCHEZ, N.C.B. *Relationship Between Stress and Health in Cattle - Part 1. Healthy herd management report*. 2013.
- CARROLL, J.A.; FORSBERG, N.E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 23:105-149, 2007.
- CARSON, C.A., BUENING, G.M. The immune response of cattle to live and inactivated *Anaplasma vacines* and response challenge. *S Afr Vet Assoc*, v.38, n.4, p.330-331, 1979.

- CHEW, B.P.; PARK, J.S. Carotenoid action on the immune response. *The Journal of Nutrition*, v. 134, p.257–261, 2004.
- COMBS, G. F. J. & COMBS, E. S. *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, Orlando, Florida, 1986.
- Coelho, L. C. T. Anaplasmosse bovina: parâmetros clínicos e de patologia clínica em bezerros infectados experimentalmente. (2007) Dissertações de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - UFMG. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/VETC-7AXPPH>>
- COMBS, JR. G.F., COMBS, S.B. 1986. *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, Boca Raton, Florida.
- FAIRBANKS, V.G., BEUTLER, E. IRON METABOLISM. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, editors. *Williams-Hematology*. 6 ed. New York: Mcgraw-Hill; 2001.p. 295-304.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; WRIGHT, A.J.A. The influence of previous iron intake on the estimation of bioavailability of Fe from a test meal given to rats. *British Journal of Nutrition* 51, 185-191, 1984.
- GALBRAITH, M.L.; VORACHEK, W.R.; ESTILL, C.T.; WHANGER, P.D.; BOBE, G.; DAVIS, T.Z.; HALL, J.A. Rumen microorganisms decrease bioavailability of inorganic selenium supplements. *Biology of Trace Elements Res.* 2015.
- GANZ, T. Heparin in iron metabolism. *Current Opinions in Haematology* v. 11, p.251–254, 2004.
- GARRICK, M.D., DOLAN, K.G., HORBINSKI, C., GHOIO, A.J., HIGGINS, D., PORCUBIN, M., MOORE, E.G., HAINSWORTH, L.N., UMBREIT, J.N., CONRAD, M.E., FENG, L., LIS, A., ROTH, J.A., SINGLETON, S., GARRICK, L.M. DMT 1: a mammalian transporter for multiple metals. *Biometals* v. 16, p. 41–54, 2003.
- GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V.T. *Mineral Nutrition of Animals Studies in the Agricultural and Food Sciences*. Ed. Butterworths. London. 459p. 1989.
- GERLOFF, B. J. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 70, p. 3934-3940, 1992.
- GERLOFF, B.J. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v. 70, p. 3934–3940, 1992.
- GETTY, S.M.; BECK, C.C.; BROWN, L.D. et al. Effect of iron on hematology and growth of calves. *J. Anim. Sci.*, v.27, p.712-717, 1968.
- GITAU, G.K.; PERRY, B.D.; McDERMOTT, J.J. The incidence of calf morbidity and mortality due to *Theileria parva* infections in smallholder dairy farms in Murang'a District, Kenya. *Preventive Veterinary Medicine*, v.39, p. 65-79, 1999.

- GOWEN, A.A.; TIWARIA, B.K.; CULLENB, P.J.; McDONNELLA, K.; O'DONNELLA, C.P. Applications of thermal imaging in food quality and safety assessment. *Trends in Food Science & Technology*. v. 21, 190-200, 2010.
- GRASSMANN, E. & KIRCHGESSNER, M. KATALASE AKTIVITAT DES BLUTES VON SAUGFERKELN UND MASTKALBERN bei mangelnder Eisenversorgung. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*. v. 20, p. 481–486, 1973.
- GROCE, A.W., MILLER, E.R., HITCHCOCK, J.P., ULLREY, D.E., MAGEE, W.T. (1973) Selenium balance in the pig as affected by selenium source and vitamin E. *Journal of Animal Science* v. 37, p. 942–947, 1973.
- GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. v. 32, p.8-17, 2010.
- GROTTO, H.Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, p. 8-17, 2010.
- GUNTER, S.A., P.A. BECK AND J.K. PHILLIPS. Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. *Journal Animal Science*, v.81, p. 856-864, 2003.
- GUYOT, H.; SPRING, P.; ANDRIEU, S. et al. Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livestock Science*, v. 111, p. 259-263, 2007.
- HEMSWORTH, P.H. et al. The effects of cognitive behavioral intervention on the attitude and behavior of stockpersons and the behavior and productivity of commercial dairy cows. *Journal of Animal Science*, 80, p.68–78, 2002.
- HERDT, T. H. & HOFF, B. The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant Livestock. *Veterinary Clinic Food Animal*, v. 27, p. 255–283, 2011.
- HIBBS, J.R., CONRAD, H.R., VANDERSALL, J.H., GALE, C. Occurrence of iron deficiency anaemia in dairy calves at birth and its alleviation by iron dextran injection. *Journal of Dairy Science*. v.46, p.1118–1124, 1963.
- HOGAN, J. S., SMITH, K. L., WEISS, W. P., TODHUNTER, D. A. SHOCKEY, W. L. Relationships among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophilis. *Journal Dairy Science*, v.73, p. 2372-2378, 1990.
- HONORATO, L.A et al. Particularidades relevantes da interação humano-animal para o bem-estar e produtividade de vacas leiteiras. *Ciência rural*, 42, p.332-339, 2012.
- IILB (Índice Ideagri do Leite Brasileiro). Acessado em 09 de Janeiro de 2023. <https://ideagri.com.br/posts/fazendas-de-leite-perdem-15-das-bezerras-com-menos-de-um-ano-de-vida-por-problemas-sanitarios-e-de-manejo>
- IVANVIC, J. & WEISS, W.P. Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. v. 84, p. 225–232, 2001.

- JAGO, J. G.; KROHN, C. C.; MATTHEWS, L. R. The influence of feeding and handling on the development of the human-animal interactions in young cattle. *Applied Animal Behaviour Science*. V.62, p. 137-151, 1999.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.
- JENSEN, K. J, & HIDIRIGLOU, M. Tolerance of pre-ruminant calf for selenium in milk replacer. *Journal of Dairy Science*, v. 69, p. 1865- 1870, 1986.
- JUNIPER, D. T., R. H. PHIPPS, D. I. GIVENS, A. K. JONES, C. GREEN, G. BERTIN. Tolerance of ruminant animals to high dose in-feed administration of a selenium-enriched yeast. *Journal of Animal Science*. v.86, p.197–204, 2008.
- 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.
- JUNIPER, D.T., PHIPPS, R.H., RAMOS-MORALES, E., BERTIN, G. Selenium persistency and speciation in the tissues of lambs following the withdrawal of a high-dose selenium-enriched yeast. *Animal*. v.2, p. 375–380, 2008.
- KAMADA, H., NONAKA, I., UEDA, Y., MURAI, M. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *Journal Dairy Science*, v. 90, p. 5665-5670, 2007.
- KENT, G. & BAHU, R.M. Iron overload. In: MacSween, R.N.M., Anthony, P.P. and Schewr, P.J. (eds) *Pathology of the Liver*. Churchill Livingstone, Edinburgh, p.148–163, 1979.
- KIREMIDJIAN-SCHUMACHER, L.; STOTZKY, G. Review - Selenium and Immune Responses. *Environmental Research*, v.42, p.277-303, 1987.
- KLASING, K.C. Protecting animal health and well-being: nutrition and immune function. In: *Scientific advances in animal nutrition*. National Academy Press, Washington, DC, USA. 2001.
- KOENIG, K.M., RODE, L.M., COHEN, R.D.H., BUCKLEY, W.T. Effects of diet and chemical form of selenium on metabolism in sheep. *Journal of Animal Science*. v. 75, p.817–127, 1997.
- KOMMISRUD, E., ØSTERÅS, O., VATN, T. Blood Selenium Associated with Health and Fertility in Norwegian Dairy Herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 46, p. 229-240, 2005.
- KROHN, C C; JAGO, J G; BOIVIN, X. The effect of early handling on the socialisation of young calves to humans. *Applied Animal Behaviour Science*. V.74, p. 121-133, 2001.
- KUME, S.-E. & TANABE, S. Effect of twinning and supplemental iron-saturated lactoferrin on iron status of newborn calves. *Journal of Dairy Science* v. 77, p. 3118–3123, 1994.
- LACETERA, N. et al. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and

- growth of their offspring. *American Journal of Veterinary Research*, v.57, p.1776-1780, 1996.
- LANGLANDS, J.P., DONALD, G.E., BOWLES, J.E., Smith, A.J. Selenium excretion in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. v.37, p. 201–209, 1986.
- LASMAR, P. V. F., Carvalho, A. Ú., Filho, E. J. F., Bastos, C. V., Ribeiro, M. F. B. 2012. Evaluating the effectiveness of an inactivated vaccine from *Anaplasma marginale* derived from tick cell culture. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.*, 21, 112-117.
- Lawler, T.L., Taylor, P., Filey, J.W., Canton, J.S. Effects of supranutritional and organically bound selenium on performance, carcass characteristics and selenium distribution in finishing beef steers. *Journal of Animal Science* v. 82, p. 1488–1493, 2004.
- LENSINK, B. J.; FERNANDEZ, X.; COZZI, G.; FLORAND, L.; VEISSIER, I. The influence of farmers' behavior on calves' reactions to transport and quality of veal meat. *Journal of Animal Science*. V.79, p. 642-652, 2001.
- LENSINK, J.B. interação humano-animal na produção animal. In: Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte, 2002, via internet. Anais... Concórdia: EMBRAPA, 2002. 7p.
- LENSINK, J.B.; BOIVIN, X.; PRADEL, P.; Le NEINDRE, P.; VEISSIER, I. Reducing veal calves' reactivity to people by providing additional human contact. *J. Anim. Sci.* 78:1213–1218, 2000.
- LENSINK, J.B.; RAUSSI, S.; BOIVIN, X.; PYYKKÈNEN, M.; VEISSIER, I. Reactions of calves to handling depend on housing condition and previous experience with humans. *Applied Animal Behaviour Science*. V.70, p.187-199, 2001.
- LIU, Q.; LANARI, C.; SCHAEFER, D.M. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal Animal Science*, v. 73, p. 3131-3140, 1995.
- LOREAL, O., HAZIZA-PIGEON, C., TROADEC, M-B., DETVAUD, L., TURLIN, B., COURSELAUD, B., ILYIN, G. AND BRISSOT, P. Hcpidin in iron metabolism. *Current Protein and Peptide Science*. v. 6, p. 279–291, 2005.
- LUCCI C.S. 1997. *Nutrição e Manejo de Bovinos Leiteiros*. Manole, São Paulo. 169p.
- LUCCI, C. 1989. *Bovinos leiteiros jovens*. São Paulo: Nobel/Edusp, 1989, 371p.
- MADRUGA, C.R., KESSLER, R.H., MIGUITA, C.T., et al Avaliação preliminar do teste de aglutinação rápida para diagnóstico de anticorpos contra *Babesia bigemina*. Campo Grande, MS. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (EMBRAPA-CNPGC), 1997b. p.1-8.
- Matrone, G., Conley, C., Wise, G.H., Waugh, R.K. A study of iron and copper requirements of dairy calves. *Journal of Dairy Science* 40, 1437–1447, 1957.
- McDOWELL, L R. *Vitamins in animal and human nutrition*. 2nd ed., Iowa State University Press, 2000.

- Moos, T., Trinder, D., Morgan, E.H. The effect of iron status on DMT 1 expression in duodenal enterocytes from $\beta 2$ -microglobulin knock-out mice. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* v. 46, p. 687–694, 2002.
- MOTTIN, C.; PRADO, I.N.; CHEFER, D.M. et al. Suplementação com minerais quelatados em bovinos: Uma revisão. *Campo Digital: Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias*, v.8, n.2, p.59-70, 2013.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7. ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Mineral tolerance of animals*. 2 ed, Washington: National Academy Press, 2005.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 6. ed. Washington: Academy Press, 2001.
- NOCKELS, C.F. Antioxidants improve cattle immunity following stress. Ed. Blair, R. *Animal Feed Science and Technology*. V. 62, p. 1, 1996.
- NRC (2005) *Mineral Tolerance of Animals*, 2nd edn. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- OLSON, O. E.; PALMER, I.S.; CARY, E.E. Modification of the official fluorometric method for selenium in plants. *Journal of the Association of Official Analytical Chemist*, Washington. v.58, n.1, p. 117–121, 1975.
- Oliveira, C.S., Braunig, P., Krawczak, F., Labruna, M.B., Botton, S.A., Vogel, F.S.F., Sangioni, L.A., 2017. Detecção de proteínas imunorreativas de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica. *Pesq. Vet. Bras.* 37, 52-57. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000100009>.
- PALMER, G.H., BARBET, A.F., DAVIS, W.C., et al. Immunization with an isolate-common surface protein protects cattle against anaplasmosis. *Science*, v.231, p.1299-1302, 1986.
- PASCHOAL, J.J.; ZANETTI, M.A.; CUNHA, J.A. Efeito da suplementação de selênio e vitamina E sobre a incidência de mastite clínica em vacas da raça holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, V.55, p.249-255, 2003.
- PASSILÉ, A.M.; RUSHEN, J.; LADEWIG, J.; PETHERICK, C. Dairy Calves' Discrimination of People Based on Previous Handling. *J. Anim. Sci.* V.74, p.969–974, 1996.
- PAVLATA, L., ILLEK, J. & A. PECHOVÁ. Blood and tissue selenium concentrations in calves treated with inorganic or organic selenium compounds – A comparison. *Acta Veterinaria*. v. 70, p. 9 –26, 2001.
- PEIXOTO A.P.C., COSTA J.N., KOHAYAGAWA A., TAKAHIRA R.K. & SAITO M.E. Hemograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa preta e branca: influência dos fatores etários. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, V. 3, p.16-20, 2002.

- PHILLIPPO, M.W.R. Humphries, and iron on copper status and growth in cattle. *Journal of the Agricultural Science, Cambridge*, 1987, 109-315-320.
- POULSEN, K. P.; MCGUIRK, S. M. Respiratory disease of the bovine neonate. *Veterinary Clinics of North America: food animal practice*, V. 25, p. 121–137, 2009.
- PROBST, J.K.; NEFFA, A.P.; LEIBERB, F.; KREUZERB, M.; HILLMANNB, E. Gentle touching in early life reduces avoidance distance and slaughter stress in beef cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, V.139, p.42– 49, 2012.
- PULS, R. (1994) *Mineral Levels in Animal Health*, 2nd edn. Sherpa International, Clearbrook, British Columbia.
- QIN, S., GAO, J., HUANG, K. Effects of different selenium sources on tissue selenium concentrations, blood GSH-Px activities and plasma interleukin levels in finishing lambs. *Biology of Trace Elements Research*. v.116, p.91–102, 2007.
- REBER, A. J.; LOCKWOOD, A.; HIPPEN, A. R.; HURLEY, D. J. Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, V. 109, n. 1-2, p. 139-50, 2006.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2006. *Veterinary Medicine, Textbook of the Disease of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, 10 ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- REFFETT, J.K., J.W. SPEARS, AND T.T. BROWN, JR. Effect of dietary selenium and vitamin E on the primary and secondary immune response in lambs challenged with parainfluenza virus. *Journal Animal Science*, V. 66, p. 1520, 1988.
- REIS, M. C.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C. Efeito da idade suplementação oral com o acetato de DL- α -tocoferol sobre os níveis séricos de vitamina E e sobre o proteinograma do acetato. *Revista Brasileira Saúde Produtos Naturais*, V. 8, p. 151, 2007.
- RISTIC, M., KREIER, J.P. Family Anaplasmatidae. In: BUCHANAN, R.E., GIBBONS, N.E. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* 8. ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1974. p.906-914.
- ROOKE, J.A; ROBINSON, J.J; ARTHUR, J. R. Effects of vitamin E and selenium on the performance and immune status of ewes and lambs. *Journal of Agricultural Science*, V. 142, p. 253–262, 2004.
- ROTRUCK, J. T., A. L. POPE, H. E. GANTHER, A. B. SWANSON, D. G. HAFEMAN AND W. G. HOEKSTRA. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, V. 179, p. 588-590, 1973.
- ROUGHEAD, Z.K. & HUNT, J. R. Adaptation in iron absorption: iron supplementation reduces non haem Fe but not haem Fe absorption. *American Journal of Clinical Nutrition* v.72, p. 982–989, 2000.
- ROWNTREE J.E., HILL G.M., HAWKINS D.R., LINKE J.E., RINCKER M.J., BEDNAR G.W., KREFT R.A. Effect of Se on selenoprotein activity and thyroid hormone

- metabolism in beef and dairy cows and calves. *Journal of Animal Science*, V. 82, p. 2995–3005, 2004.
- RUSHEN, J., et al. Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. *Journal of Dairy Science*, V.82, p.720-727, 1999.
- SALLES, M.S.V.; ZANETTI, M.A.; ROMA JUNIOR, L.C.; SALLES, F.A.; Azolinic, A.E.C.S.; Soaresc, E.M.; Faccioli, L.H.; Valim, Y.M.L. Performance and immune response of suckling calves fed organic selenium. *Animal Feed Science and Technology*. V.188, p.28-35. 2014. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2013.11.008.
- SANTOS, R. Gir: a raça mais utilizada do Brasil. Uberaba: Agropecuária Tropical, 1994. 600p.
- SARNI, R.O.S.; SOUZA, F.I.S.; COCCO, R.R.; MALLOZIL, M.C.; Dirceu SOLÉ, D. Micronutrients, immunologic system and allergic diseases. *Rev. bras. alerg. imunopatol.* 33(1):08-13, 2010.
- SCALETTI, R.W.; AMARAL-PHILLIPS, D.M.; HARMON, R.J. Using nutrition to improve immunity against disease in dairy cattle: copper, zinc, selenium, and vitamin E. Cooperative extension service, University of Kentucky, 1999.
- SCHRAUZER, G. N. the nutritional significance, metabolism, prevalence and toxicology of selenomethionine. *Advances in Food and Nutrition Research*, New York, v. 47, p. 73-112, 2003
- SEAMER, J. (1956) Piglet anaemia. A review of the literature. *Veterinary Reviews and Annotations*. v. 2, p. 79–93, 1956.
- SKRIVANOVA, E., MAROUNEK, M., DE SMET, D., RAES, K. Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal. *Meat Science*. v. 76, p.495–500, 2007.
- SMITH, G. M., & A. ISOPENKO. Effect of doses of protected polyunsaturated fatty acids on indicators of selenium status of sheep. *Residence Veterinary Science*. v. 62, p. 81–82, 1997.
- SPEARS, J. W. Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the Nutrition Society*, V. 59, p. 587–594, 2000.
- SPEARS, J. W., AND W. P. WEISS. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, V. 176, p. 70-76, 2008.
- STEWART, M.; SHEPHERD, H.M.; WEBSTER, J.R.; WAAS, J.R; McLEAY, L.M.; SCHÜTZ, K.E. Effect of previous handling experiences on responses of dairy calves to routine husbandry procedures. *Animal*. V.7, p. 828–833, 2013.
- STEWART, M.; WEBSTER, J.R.; VERKERK, G.A.; SCHAEFER, A.L.; COLYN, J.J.; STAFFORD, K.J. Non-invasive measurement of stress in dairy cows using infrared thermography. *Physiology & Behavior*. V.92, p. 520–525, 2007.
- STOCK, T.; SELZER, M.; ROTHER, M. In vivo requirement of selenophosphate for selenoprotein synthesis in archaea. *Molecular Microbiology*. v. 75, p. 149 - 160, 2010.

- SURAI, P. F., Selenium en nutrition and health, 1.ed. United Kingdom: Nottingham University. Press, 2006. 974p.
- SURAI, P.F. (2006) Selenium in Animal and Human Health. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- SUTTLE, N. F. (2010). Mineral Nutrition of Livestock. 4nd. British Library, London, UK.
- TALLET, C. et al. Human contact and feeding as rewards for the lamb's affinity to their stockperson. *Applied Animal Behaviour Science*, V. 94, p. 59–73, 2005.
- TAYLOR, J.B. (2005) Time-dependent influence of supranutritional organically bound selenium on selenium accumulation in growing wether lambs. *Journal of Animal Science*. v. 83, p. 1186–1193, 2005.
- TIZARD, I. R. *Veterinary Immunology: an introduction*. 6 ed. London: Saunders Company, 2000. 482p.
- TRINDADE, H. I.; ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. C. Tristeza parasitária bovina - Revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Ano IX, n.16, 2011.
- Trindade, H. I., Almeida, K. S., Souza, M. G., 2011. Frequência de *Anaplasma marginale* em bovinos da região de Araguaína, Estado do Tocantins, Brasil. *Ciência Animal*, 21, 119–125.
- ULLREY, D.E., MILLER, E.R., THOMPSON, O.A., ACKERMANN, I.M., SCHMIDT, D.A., HOEFER, J.A., LUECKE, R.W. The requirement of the baby pig for orally administered iron. *Journal of Nutrition* v. 70, p.187–192, 1960.
- UNDERWOOD, E.J. & SUTTLE, N.F. (1999) *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd edn. CAB International, Wallingford, UK.
- VAN DAEL, P., DAVIDSSON, L., MONOZ-BOX, R., FAY, L.B., BARCLAY, D. (2001) Selenium absorption and retention from a selenite- or selenate-fortified milk-based formula in men measured by a stable-isotope technique. *British Journal of Nutrition*. v. 85, p. 157–163, 2001.
- VAN RYSSSEN, J.B.J., VAN MALSEN, P.M., HARTMAN, F. Contribution of dietary sulphur to the interaction between selenium and copper in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* v. 130, p.107–114, 1998.
- VORACHEK, W.R; BOBE, G; HALL, J. A Reference gene selection for quantitative PCR studies in bovine neutrophils. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, V. 4, p. 6-14, 2013b.
- VORACHEK, W.R; HUGEJILETU, T; BOBE, G; HALL, J. A. Reference gene selection for quantitative PCR studies in sheep neutrophils. *International Journal of Molecular Sciences*, V. 14, p. 11484-11495, 2013a.

- WASCHULEWSKI, I.H. & SUNDE, R.A. Effect of dietary methionine on utilisation of dietary selenium from dietary selenomethionine for glutathione peroxidase in the rat. *Journal of Nutrition*. V. 118, p.367–374, 1998.
- 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. & HOGAN, J.S. Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function and response to inflammatory endotoxin challenge of dairy cows. *Journal of Dairy Science* v.88, p. 4366–4374, 2005.
- WEISS, W.P. Selenium nutrition of dairy cows: comparing responses to organic and inorganic selenium forms. In: ANNUAL SYPOSIUM, 19. Nottingham: UNIVERSITY, 2003. p. 333-343.
- WEST, A.R. & OATES, P.S. Mechanisms of heme iron absorption: current questions and controversies. *World Journal of Gastroenterology*. v. 14, p. 4101–4110, 2008.
- WHITE, C.L., CADWALADER, T.K., HOEKSTRA, W., POPE, A.L. The metabolism of ⁷⁵Se-selenomethionine in sheep given supplementary copper and molybdenum. *Journal of Animal Science* v.67, p. 2400–2408, 1998.
- WILDE D.: Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, V. 96, p. 240-249, 2006.
- WOLFFRAM, S. Absorption and metabolism of selenium: differences between inorganic and organic sources. In: ALLTECH ANNUAL SYMPOSIUM BIOTECHNOLOGY FEED INDUSTRY.15. Nottingham: Nottingham University, 1999, p.547-566.
- WORWOOD, M. Influence of disease on iron status. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56, 409-419, 1997.
- ZANETTI, M. A. et al. Efeitos da Suplementação de Selênio e Vitamina E em Bovinos Leiteiros. *Revista Brasileira Zootecnia*, V.27, n.2, p.405-408, 1998.

CAPÍTULO II

2. Suplementação com selênio, vitamina E e ferro em bezerros da raça Holandês com desafio imunológico

RESUMO

A fase de aleitamento é um período crítico na criação de bezerras e a suplementação vitamínico mineral é essencial para que os animais se desenvolvam de maneira saudável e resistente a doenças. Diante dessa importância, o estudo foi conduzido com 45 bezerros machos da raça Holandês. Os animais foram distribuídos em três tratamentos, sendo: controle = sem suplementação, SSE = 0,3 mg de selênio orgânico + 50 UI de vitamina E e SSFE = 0,3 mg de selênio orgânico + 50 UI de vitamina E + 100 mg de ferro/kg MS, ambos fornecidos via sucedâneo. Foi realizado um desafio imunológico em todos os animais aos 40 dias de idade. Foram coletadas amostras de sangue individuais no início do experimento, bem como, aos 40 e 60 dias de experimento, para a realização de hemograma, parâmetros bioquímicos e metabolismo oxidativo. Quinzenalmente, os animais foram pesados e tiveram suas medidas corporais aferidas. Os níveis séricos de selênio nos animais suplementados foram maiores em comparação ao controle ($P < .0001$). Não foram observadas diferenças significativas para os níveis sanguíneos de ferro e de vitamina E. A concentração de LDH foi menor nos animais que receberam SSFE e de Lactato foi menor em ambos suplementos quando comparados ao controle ($P < 0.05$). As concentrações no sangue de selênio, ferro, glicose, beta-hidroxibutirato aumentaram no sangue ao longo do tempo ($P < 0.05$). O V.C.M. diminuiu do início até 40 dias de experimento e depois aumentou aos 60 dias, mas a valores menores do que do início do experimento. O H. C. M. e C.H.C.M diminuíram do início aos 40 dias de suplementação, e aumentaram aos 60 dias a valores maiores do que os iniciais. A porcentagem de eosinófilos ($P < 0.01$) aumentou do início até 40 dias de suplementação e diminuiu aos 60 dias, mas a valores maiores do que o inicial. A contagem plaquetária diminuiu durante o experimento e houve tendência de diminuição na concentração de hemoglobina ($P < 0.10$) ao longo do período experimental. A concentração da enzima GPx foi maior nos animais suplementados ($P < 0.05$) e os valores de GSH não apresentaram diferenças entre os tratamentos experimentais. Os animais que receberam o tratamento SSFE apresentaram tendência de maior ganho de peso ($P < 0.10$) e menor ganho de garupa ($P = 0.10$), comparado aos demais tratamentos, dos 30 aos 60 dias de experimento. A proteína total e a ureia plasmática

diminuíram do início do experimento até 40 dias, depois aumentaram, mas a valores menores do que o inicial ($P < 0.01$). Foi observado uma interação entre os tratamentos e o tempo experimental sobre os valores de ureia ($P = 0,05$). As concentrações de eritrócitos e hematócrito tenderam a ser menores para os bezerros que receberam o tratamento SSFE ($P < 0.10$). Nos primeiro 14 dias decorridos do desafio imunológico, os animais do grupo controle apresentaram maior taxa de infecção, com menor infestação o tratamento SSFE. Os níveis de selênio e vitamina E, nas doses utilizadas no presente estudo proporcionam um aumento na atividade da GPx. O uso de ferro suplementar via sucedâneo em conjunto com selênio e vitamina E pode potencializar os efeitos destes sobre sistema imunológico e resistência a doenças.

Palavras chave: bezerros, desempenho, glutaciona, imunologia, selênio

ABSTRACT

The lactation phase is a critical period in calf rearing and mineral and vitamin supplementation is essential for the animals to develop in a healthy and disease-resistant manner. Given this importance, the study was conducted with 45 male Holstein calves. The animals were distributed into three treatments, as follows: control = without supplementation, SSE = 0.3 mg of organic selenium + 50 IU of vitamin E and SSFE = 0.3 mg of organic selenium + 50 IU of vitamin E + 100 mg of iron/ kg DM, both supplied via substitute. An immunological challenge was performed in all animals at 40 days of age. Individual blood samples were collected at the beginning of the experiment, as well as at 40 and 60 days of the experiment, to perform blood count, biochemical parameters and oxidative metabolism. Every two weeks, the animals were weighed and their body measurements were taken. Serum selenium levels in the supplemented animals were higher compared to the control ($P < .0001$). No significant differences were observed for blood levels of iron and vitamin E. LDH concentration was lower in animals receiving SSFE and lactate was lower in both supplements when compared to control ($P < 0.05$). Blood concentrations of selenium, iron, glucose, beta-hydroxybutyrate increased in blood over time ($P < 0.05$). The V.C.M. decreased from the beginning until the 40th day of the experiment and then increased at the 60th day, but to values lower than those at the beginning of the experiment. The H.C.M. and C.H.C.M decreased from the beginning to the 40th day of supplementation, and increased to values greater than the initial values at the 60th day. The percentage of eosinophils ($P < 0.01$) increased from the beginning up to 40 days of supplementation and decreased at 60 days, but

to values greater than the initial one. Platelet counts decreased during the experiment and there was a tendency towards a decrease in hemoglobin concentration ($P<0.10$) over the experimental period. The concentration of the GPx enzyme was higher in the supplemented animals ($P<0.05$) and the GsH values did not show differences between the experimental treatments. The animals that received the SSFE treatment tended towards greater weight gain ($P<0.10$) and lower rump gain ($P=0.10$), compared to the other treatments, from the 30th to the 60th day of the experiment. Total protein and plasma urea decreased from the beginning of the experiment up to 40 days, then increased, but at values lower than the initial ($P<0.01$). An interaction was observed between treatments and experimental time on urea values ($P=0.05$). Erythrocyte and hematocrit concentrations tended to be lower for calves receiving the SSFE treatment ($P<0.10$). In the first 14 days after the immunological challenge, the animals in the control group had a higher rate of infection, with less infestation in the SSFE treatment. The levels of selenium and vitamin E, at the doses used in the present study, provide an increase in GPx activity. The use of supplemental iron as a substitute in conjunction with selenium and vitamin E may enhance their effects on the immune system and disease resistance.

Keywords: calves, glutathione, immunology, performance, selenium

2.1 Introdução

A fase de aleitamento configura-se como um período crítico na criação de bezerras. É nesta fase onde se demanda maior atenção ao estado nutricional e sanidade dos animais, e este, se negligenciado, pode acarretar num aumento da taxa de mortalidade, comprometendo assim a eficiência do sistema produtivo e, gerando impactos econômicos negativos.

Logo após o nascimento, o bezerro tem seu sistema imunológico desafiado por microorganismos do ambiente, pelo clima e outros fatores externos. Como seu sistema imunológico ainda não está completamente desenvolvido, o bezerro depende da ingestão do colostro para receber as imunoglobulinas necessárias a proteção contra infecções nas primeiras semanas de vida (Reis et al., 2007). A nutrição animal nesta fase inicial de vida é importante para o desenvolvimento dos bezerros e a suplementação com o selênio, ferro e a vitamina E, faz-se necessária para se alcançar um desenvolvimento saudável e eficiente do animal.

O selênio é um elemento traço essencial para diversas funções do organismo, onde se encontra principalmente como componente de selenoenzimas, tais como a GSH e GPx, iodotironina deiodinase e tiroxina redutase. Por ser componente da GPx, sua suplementação faz-se necessária, a fim de se minimizar os efeitos provocados pelos radicais livres gerados pelo metabolismo, evitando assim os danos causados aos tecidos. Por estar envolvido no metabolismo de hormônios tireoideanos, sua deficiência pode alterar a relação T3/T4 no sangue impactando diretamente no crescimento e desenvolvimento animal. O selênio também desempenha um importante papel no sistema imune, sendo relacionado a maior habilidade dos neutrófilos em destruir microorganismos fagocitados, ao aumento na produção de anticorpos e a diferenciação de linfócitos (Awadeh et al., 1997; Spears et al., 2000; Weiss & Hogan, 2005; Teixeira et al., 2014; Salles et al., 2014). A suplementação de selênio juntamente com a vitamina E tem-se mostrado benéfica ao animal e ambos atuam em funções similares, como antioxidantes. Enquanto o selênio atua como cofator da enzima GPx, que age sobre o peróxido de hidrogênio, a vitamina E é o principal antioxidante de membranas celulares, atuando principalmente na proteção dos fosfolípidos. Do mesmo modo que o selênio, a suplementação com esta vitamina pode proporcionar uma melhor estabilidade oxidativa, aumento no ganho de peso e melhora do sistema imune (Weiss et al., 1982; Reddy et al., 1986; Mohri et al., 2005; Higuchi et al., 2012; Medhi, 2016).

O ferro é encontrado no organismo principalmente como componente da hemoglobina, mioglobina, enzimas e citocromo (Harvey, 2000; Schalm, 2010), além de estar relacionado a saúde, imunidade e performance. O aporte inadequado deste mineral pode levar a um quadro

de anemia, acarretando numa redução no crescimento e aumento na susceptibilidade a doenças. A quantidade de neutrófilos, atividade fagocítica e de enzimas, bem como a concentração sérica de IgG são reduzidas quando os níveis de ferro não são suficientes para atender suas necessidades (Bostedt et al., 2000; Gyax et al., 1993, Mohri et al., 2009).

O NRC, 2001 estabelece valores de 0,3 mg de selênio/kg MS, 50 UI de vitamina E e 100 mg de ferro/kg de MS, como recomendação para bezerros, entretanto, estes foram estabelecidos baseados em trabalhos relacionados a animais adultos sendo que, estudos mais recentes têm sugerido que suplementações a níveis acima dos referidos podem gerar melhores resultados. Ademais, o nível ideal para o fornecimento destes ingredientes ainda não está claro.

Causada por protozoários e transmitida por carrapato, a tristeza parasitária bovina é composta por duas doenças, a babesiose e a anaplasnose e o desafio imunológico com *Anaplasma marginale* pode ser uma importante ferramenta para se observar os impactos causados por microrganismos ao sistema imunológico. Por outro lado, o estudo com anaplasnose é de grande importância, pois esta, tem impacto direto no sistema produtivo de bovinos de leite e corte, podendo causar prejuízos econômicos devido ao alto índice de mortalidade, diminuição da produtividade e desempenho dos animais (Bastos et al., 2010; Trindade et al., 2011).

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da suplementação do selênio, ferro e vitamina E, em níveis acima do recomendado, sobre o desempenho da imunidade sistêmica e seus impactos sobre parâmetros de saúde e desenvolvimento do animal.

2.2 Material e Métodos

2.2.1. Animais, alimentação e tratamentos experimentais

O experimento foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia para o Agronegócio - APTA, localizada no município de Ribeirão Preto/SP - Brasil, nos meses de maio a outubro de 2019, com 45 bezerros machos da raça Holandês, oriundos de uma fazenda comercial e adquiridos com idades entre 1 e 6 dias de vida. A utilização dos animais no presente estudo foi submetida a avaliação da comissão de ética no uso de animais (CEUA) do Instituto de Zootecnia e aprovada no dia 07/11/2018, protocolo nº 286 -18. Todos os animais foram devidamente colostrados logo após o nascimento com o fornecimento de 4 litros de colostro de qualidade (Brix > 21%) por animal e, a partir do segundo dia vida, passaram a receber a mesma quantidade de colostro de segunda ordenha.

No dia da chegada a APTA, os bezerros foram alojados em uma baia coletiva, previamente preparada com cama de maravalha e desinfetada com cal virgem. Afim de se minimizar o estresse do transporte, cada animal recebeu 2 litros de soro eletrolítico (Calf Care®, DeLaval), via mamadeira e diluído em água morna conforme recomendações do fabricante. No dia seguinte, os bezerros foram distribuídos em casinhas individuais de madeira com cobertura de telhas de zinco do tipo sanduíche e piso de areia grossa. Os animais foram distribuídos, de acordo com cada tratamento experimental, sendo: Controle = sucedâneo controle (n=15); SSE = sucedâneo controle adicionado com selênio orgânico + vitamina E (n=15); SSFE = sucedâneo controle adicionado com selênio orgânico + vitamina E + ferro quelato (n=15).

A suplementação foi administrada por meio de cápsulas previamente manipuladas e adicionadas ao sucedâneo no momento de seu preparo diário. Foi utilizado como matéria prima na confecção das cápsulas, o selênio orgânico (Yes minerals®), ferro glicinato (BASF®), Lutavit 50 (BASF®). A quantidade de matéria prima contida nas cápsulas foi calculada visando complementar a quantidade de selênio, ferro e de vitamina E fornecidos pela ração farelada e sucedâneo e assim, garantir que os animais suplementados ingerissem as quantidades acima das exigências diárias, mas respeitando os limites máximos. Os valores referentes as fontes utilizadas, bem como, a quantidade de selênio, ferro e vitamina E fornecida por estas está apresentado na **Tabela 1**.

A partir do primeiro dia de experimento (D1), foi disponibilizado 0,150 kg de concentrado farelado, individualmente em baldes de alumínio, sendo pesadas as sobras no dia seguinte ao fornecimento. As quantidades fornecidas foram reajustadas de acordo com o consumo diário de cada animal e completadas ou aumentadas gradativamente caso a pesagem das sobras fosse igual a zero durante dois dias consecutivos.

A água era fornecida aos animais em baldes individuais, mantidos sempre cheios, A água era proveniente de poço artesiano, contendo 0,08 e 0,001 mg/L de selênio e ferro, respectivamente.

O aleitamento foi realizado duas vezes ao dia sendo que, de 1 a 30 dias de experimento os animais receberam 6 litros de sucedâneo/dia e, de 31 a 60 dias, o fornecimento foi de 4 litros por animal/dia. Foi utilizado sucedâneo comercial (Sprayfo®, Trouw Nutrition) diluído em água pré aquecida a 39°C e a concentração de 1:6.

Tabela 1. Quantidade de selênio, ferro e vitamina E contidos nas cápsulas, de acordo com as respectivas fontes.

<i>período</i> (dias) ²	<i>fontes (mg)</i> ¹		
	selênio orgânico	ferro glicinato	vitamina E
1 a 30	34,08	416,00	204,48
30 a 60	22,72	284,96	136,32
	<i>conteúdo (mg/animal/dia)</i>		
	selênio	ferro	vitamina E
1 a 30	0,29	91,52	105,67
30 a 60	0,21	62,48	70,45

¹ (YES-minerals®) = 8434 mg de se/kg; ferro glicinato (BASF®) = 220 g de ferro/kg; Lutavit 50 (BASF®) = 517 g de vitamina E/kg.

² Dias corridos contados á partir da data da chegada dos animais ao bezerreiro.

A composição bromatológica do concentrado farelado e do sucedâneo, é apresentada na Tabela 1.

2.2.2 Desafio imunológico

O desafio imunológico foi realizado em todos os animais 40 dias após o início do experimento (D40), através da aplicação via jugular de 1 mL de solução contendo 1×10^7 hemácias infectadas com *Anaplasma marginale* por mL de sangue. A cepa utilizada (UFMG1) está registrada no GenBank (número EU676176). Oriundo do estado de Minas Gerais, o isolado foi obtido do sangue de um bezerro naturalmente infectado no município de Pará de Minas (Ribeiro et al., 1997) e apresenta baixa virulência (Bastos et al., 2010). A solução concentrada de sangue contendo a cepa, foi armazenada em criotubos de 5 mL imersos em nitrogênio líquido, juntamente com crioprotetor DMSO. No dia previsto para a inoculação, os criotubos contendo o material foram então descongelados e preparados em um laboratório localizado a aproximadamente 50 metros do bezerreiro e de acordo com o número de animais a ser inoculado no dia. Para a preparação do material, foi realizada a transferência de 15 microlitros de solução concentrada, com auxílio de uma micropipetadora, para eppendorfs previamente preparados e contendo 1 mL de solução de conservação. O material foi homogeneizado cuidadosamente e acondicionado em caixas de isopor com gelo para o transporte até as baias de cada bezerro. No local, os eppendorfs foram abertos e seu conteúdo foi retirado e aplicado com o uso de uma seringa e agulha.

Tabela 2. Composição química e bromatológica do concentrado e sucedâneo comercial.

ingrediente (%)	concentrado	sucedâneo ²
fubá de milho	36,00	-
farelo de trigo	20,00	-
farelo de soja	40,00	-
Sal	1,00	-
premix ¹	3,00	-
<i>Composição química³</i>		
Matéria seca (%)	90,30	89,93
Proteína Bruta	25,67	20,53
Extrato etéreo	3,88	8,81
FDN	17,81	2,56
FDA	7,20	2,23
Carboidratos totais	63,75	62,98
Carboidratos não fibroso	36,25	37,02
Nutrientes digestíveis totais	86,11	91,23
Matéria mineral	6,70	7,68
Energia digestível (<i>kcal/kg MS</i>)	3,80	4,02
Energia metabolizável	3,11	3,3
selênio (<i>mg/kg MS</i>) ⁴	0,481	0,174
Ferro	115,03	191,96
Vitamina E	37,54	82,38

¹ Núcleo bezerras: Cálcio, 270 g/kg; Cobalto, 25 mg/kg; Cobre, 840 mg/kg, Enxofre, 40 g/kg; Flúor, 500 mg/kg; Fósforo, 50 g/kg; Iodo, 50 mg/kg; Magnésio, 15g/kg; Manganês, 2500 mg/kg; Selênio, 25 mg/kg; Sódio, 55 g/kg; Virginamicina, 800 mg/kg; Vitamina A, 333.330 UI/kg, Vitamina D3, 33.330 UI/kg; Vitamina E, 1.210 UI/kg; Zinco, 3.360 mg/kg;

² PB = 200,00 g/kg; EE = 160,00 g/kg; Lactose = 460 g/kg; MM = 800 mg/kg; P = 5.000 mg/kg; Ca = 7.000 mg/kg; EM = 4178,00 kcal/kg; Vit. A = 2.500 UI; Vit. D3 = 5.000 UI; Vit. E = 80,00 mg/kg; Vit. K = 4,50 mg/kg; Vit. C = 158,00 mg/kg; Vit. B1 = 6,00 mg/kg; Vit. B2 = 6,00 mg/kg; Vit. B6 = 4,00 mg/kg; Vit. B12 = 80,00 mcg/kg; Ácido fólico = 1,00 mg/kg; Niacina = 50,00 mg/kg; Biotina = 0,10 mg/kg; Ácido pantotênico = 15,50 mg/kg; I = 2,00 mg/kg; Fe = 90,00 mg/kg; Mg = 300,00 mg/kg; Mn = 45,00 mg/kg; Se = 0,30 mg/kg; Zn = 84,00 mg/kg; Enterococcus faecum = 0,3 x 1010 UFC/g; Lactobacillus rhamnosus = 0,7 x 1010 UFC/g;

³ FDN = fibra solúvel em detergente neutro; FDA = fibra solúvel em detergente ácido;

Foi adotado um protocolo de monitoramento de todos animais já inoculados, afim de se identificar os sintomas de manifestação da doença e comprovar que a inoculação foi realizada com sucesso. Diariamente, á partir do dia da inoculação do patógeno, até 20 dias após o último dia do período experimental, os animais tiveram suas temperaturas retais aferidas em dois horários, às 7:30 e às 16:30, além da observação dos escores de olho e realização de hematócrito. Alguns animais foram mantidos no experimento por mais 10 dias para a coleta de sangue e realização de hemograma. Nos animais que apresentaram febre, temperatura retal acima de 39,5°C, efetuou-se a coleta de uma alíquota de sangue periférico destes, por meio

das veias das orelhas, para a realização do esfregaço. Os animais positivos para a doença foram tratados com antibiótico a base de enrofloxacino (Kinetomax ®, Bayer) conforme recomendação para bezerros constantes na bula.

2.2.3. Incidência de diarreia

A incidência de diarreias foi avaliada diariamente de acordo com o grau de consistência das fezes, sendo: 0 = normal (fezes bem formadas); 1 = anormal, mas ainda não apresentando diarreia (fezes pouco pastosas); 2 = diarreia moderada (fezes pastosas); 3 = diarreia severa (fezes muito pastosas ou líquidas). Os animais que apresentaram sinais de diarreia, severo ou moderada, foram tratados com soro eletrolítico, via mamadeira, até que a consistência das fezes se normalizasse.

2.2.4. Amostragem e análise bromatológica dos alimentos

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da FMVZ/USP. As amostras de sucedâneo e concentrado foram coletadas semanalmente e mantidas congeladas a - 4 °C. Após o final do experimento foi feito um “pool” destas amostras que foram mantidas em congelador novamente. Estas foram pesadas e secas em estufa com ventilação de ar forçado a 65°C, durante 72 horas. Em seguida, foram moídas em moinho com peneira de orifício 2 mm, retirando-se uma sub amostra para análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), de acordo com AOAC (1996). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), foram determinados conforme Silva e Queiroz (2005).

Os níveis de carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) foram determinados pelas seguintes equações:

$$CT (\%) = 100 - (PB - EE - MM);$$

$$CNF (\%) = 100 - CT;$$

$$NDT (\%) = 93,53 - (1,03 \times FDA);$$

$$ED (kcal/kg MS) = NDT \times 0,04409;$$

$$EM (kcal/ kg MS) = ED \times 0.82.$$

A determinação dos níveis de selênio e ferro nas amostras de ração e sucedâneo, bem como no soro sanguíneo, realizadas no Laboratório de Minerais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP/ Pirassununga. Os níveis de selênio foram determinados por meio da digestão úmida com mistura nítrico-perclórica e posterior leitura fluorimétrica, segundo metodologia proposta por Olson et al. (1975) e os níveis de ferro foram determinados pela leitura em espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente.

2.2.5 Amostragem e análises sanguíneas

As amostras de sangue foram coletadas nos dias 1, 40 e 60, após a chegada dos animais, para a realização das seguintes análises: níveis de selênio e ferro, hemograma completo, contagem de hematozoários, níveis de ferritina e parâmetros bioquímicos.

Para a realização do hemograma, amostras de sangue foram coletadas via punção da jugular, utilizando-se tubos de vácuo de 9 mL contendo EDTA de potássio como anticoagulante. Imediatamente após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo e transportadas ao laboratório veterinário para análise no aparelho de leitura direta auto analisador hematológico (YSI 2700). Foram realizadas análises de hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem global de eritrócitos, hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), volume corpuscular médio (VCM), contagem global de leucócitos, contagem de plaquetas, contagem diferencial leucocitária (mielócitos, metamielócitos, bastonetes, segmentados, eosinófilos, basófilos e linfócitos), e a concentração plasmática de proteína total. Adicionalmente a essas amostras foram feita a contagem de hematozoários.

Para a análise dos parâmetros bioquímicos, foram coletadas amostras de sangue com tubo de vácuo, contendo fluoreto de sódio para a obtenção do plasma e tubos sem anticoagulante para soro sanguíneo. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm durante 15 minutos e o soro e plasma foram retirados, acondicionados em 3 tubetes de 1,5 mL cada e armazenados a -20 °C para posterior análise. A glicose, proteína total, ureia, creatinina, creatinina quinase, lactato desidrogenase, lactato e albumina foram analisados através do analisador bioquímico automático (SBA 200, Celm). O β -hidroxibutirato foi determinado com coleta de sangue seguido de determinação em aparelho portátil Optium Xceed®. As amostras de soro sanguíneo, obtidos pela centrifugação dos tubos de vácuo sem anticoagulantes, utilizadas para as análises de selênio, ferro, ferritina e IgG foram acondicionadas em eppendorfs de 2,5 mL, e armazenados a -20°C. Os níveis sanguíneos de ferritina foram determinados em laboratório de análises por eletro quimiluminescência. A concentração de

IgG foi determinada no laboratório da FMVZ USP, por meio de testes imunoenzimático, de acordo com os procedimentos descritos por Reber et al. (2006). Anticorpo anti-IgG bovina (Sigma, St Louis, MO) diluído 1:400 em solução tampão será adicionado em placas de 96 poços (Immunol 4HBX, Thermo Corporation, Milford, MA), incubadas à 4°C por 18 horas. As placas serão lavadas 3x e as amostras serão adicionadas aos poços em quadruplicatas, e incubadas por 1 hora em temperatura ambiente. As placas serão novamente lavadas 3x. O anticorpo de detecção conjugado com peroxidase (Sigma, St Louis, MO) diluído 1:1000 foi adicionado aos poços e incubado por 30 minutos. As placas foram lavadas 3x e em seguida, foi adicionado o substrato à reação (ABTS). As placas foram incubadas por 30 minutos para permitir o desenvolvimento da cor. A absorbância das reações foi analisada em leitor de placas à 405 nm. A quantidade de IgG foi determinada a partir da curva padrão (Sigma, St Louis, MO).

Para a determinação nos níveis de vitamina E, atividade da GPx, GSH e TAS foram coletadas amostras de sangue nos dias 40 e 60.

A determinação da concentração de Vitamina E no suplemento vitamínico foi realizado em laboratório particular segundo método analítico MA-129 (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2013), onde 0,2 gramas de amostra são homogenizadas em tubos de ensaio juntamente com 50 mL de metanol. Em seguida o material é agitado com auxílio de agitador magnético durante 15 minutos. Após 30 minutos de banho de ultrassom e estabilizado a temperatura ambiente, a amostra é filtrada em papel qualitativo e homogeneizado para filtração em membrana de 0,45 µm. Em seguida é efetuada a leitura em cromatógrafo HPLC marca Shimadzu, modelo LC-10 AT. A concentração de Vitamina E é então calculada através da curva de calibração.

Para a determinação de vitamina E nas amostras de ração e sucedâneo, foi utilizada a metodologia MA-119 (AOAC, 2005). Por este método, é adicionado BHT e ácido pirogálico a 3 gramas de amostra, juntamente com 30 mL de água destilada a 40 °C e 10 mL de glicerina e 0,2 gramas de Taka-Diastase. Após 15 minutos em agitador magnético, o material é levado em banho maria a 40 °C durante 30 minutos. Em seguida é adicionado hidróxido de potássio 14 % e o material volta ao agitador magnético por mais 16 horas. É adicionado, após esse período, 40 mL de solução extratora e o material é agitado novamente. O material é então transferido para balão volumétrico de 250 mL e deixado em repouso até a separação das fases. A fase etérea (superior) é transferida para um funil de separação. Este processo é repetido por mais 3 vezes com a adição de solução extratora. Por fim é adicionado 100 mL de água deionizada ao funil, que contem os extratos, agitado e deixado até separação das fases. A fase

etérea é filtrada através de sulfato de sódio em funil com algodão, recolhendo o filtrado num balão de 100 mL. A leitura é feita em HPLC isocrático com detector de fluorescência. A concentração de Vitamina E é então calculada através da curva de calibração.

Amostras de sangue total à vácuo foram colhidas em dois tubos de 8,5 mL contendo heparina lítica como anticoagulante, para a análise da GPx e TAS. As amostras foram centrifugadas com 3000 rpm por 10 minutos em centrífuga refrigerada a 4°C com desaceleração lenta, sendo retirado o plasma e a camada leuco plaquetária (buffycoat). Após a primeira centrifugação, uma alíquota de plasma foi retirada, armazenado em 2 tubos eppendorfs de 2,5 mL de cor âmbar e mantidas congeladas a -80°C. A realização da determinação da atividade antioxidante total (AST) foi realizada por meio de kit comercial (RANSEL® Laboratories, Randox, Crumlin, UK) de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante. A centrifugação se repetiu mais duas vezes, com solução tampão fosfato (PBS 10%), até que o sobrenadante ficasse totalmente límpido. A papa de hemácias obtida foi acondicionada em microtubos âmbar e congelada em freezer a -80°C para posterior análise da GPx. A atividade sérica da GPx foi determinada em analisador bioquímico automático marca Randox, (modelo RX Daytona) utilizando-se kits comerciais Randox® (RANSOD e RANSEL).

Para a determinação da GSH foi utilizado sangue total coletado em tubos à vácuo contendo conservante EDTA. Em um tubo de ensaio, 200µl de sangue total foi hemolisado com 1800µl de água destilada, em seguida, 3mL de solução precipitante (3,34 g de ácido metafosfórico, 0,44 g de EDTA Na₂H₂₀, 60 g de NaCl e água destilada q.s.p 200 ml) foi adicionado ao hemolisado. A solução em repouso por 5 minutos, sendo posteriormente centrifugada por 5 minutos a 3000 rpm. O conteúdo intermediário foi coletado, armazenamento em tubos eppendorfs âmbar e mantidos em freezer a -80°C até a análise. Para determinar a concentração do GSH, uma alíquota de 200µl do sobrenadante foi adicionada à 800µl de uma solução de Na₂HPO₄.12H₂₀ (300 mmoles/l). Após a homogeneização, foram adicionados 100µl de solução de DTNB (ácido 2-dinitrobenzóico) 0,05% ao sistema, realizando-se leitura a 412 nm em até 30 segundos após a adição DTNB. A partir dos valores da curva padrão, foi calculada a equação da reta e os valores da absorbância das amostras analisadas foram convertidos para mg/dL.

O hematócrito foi realizado com amostras de sangue periférico, coletado das veias da orelha em tubos capilares que foram imediatamente centrifugados durante 5 minutos a 3000 RPM. Os tubos capilares foram então sobrepostos em gabarito específico para a verificação do resultado.

Para confirmar que os animais foram devidamente colostrados e houve correta transferência de imunidade passiva, no início do experimento, uma alíquota de soro sanguíneo de cada animal foi utilizada para avaliar a concentração de proteínas séricas com o uso de um refratômetro. As amostras de todos os animais apresentaram adequada transferência de imunidade passiva (leitura > 8,4%).

2.2.6 Avaliação de desempenho

As avaliações de desempenho foram realizadas no primeiro dia de experimento (D1) e a cada 15 dias até o final deste (D60). Todos os animais foram pesados em balança digital, devidamente instalada em local anexo ao bezerreiro, e tiveram suas medidas corporais aferidas com auxílio de uma fita métrica, registrando-se a altura na cernelha, perímetro torácico, largura da garupa e comprimento.

2.2.7 Cronograma de coletas

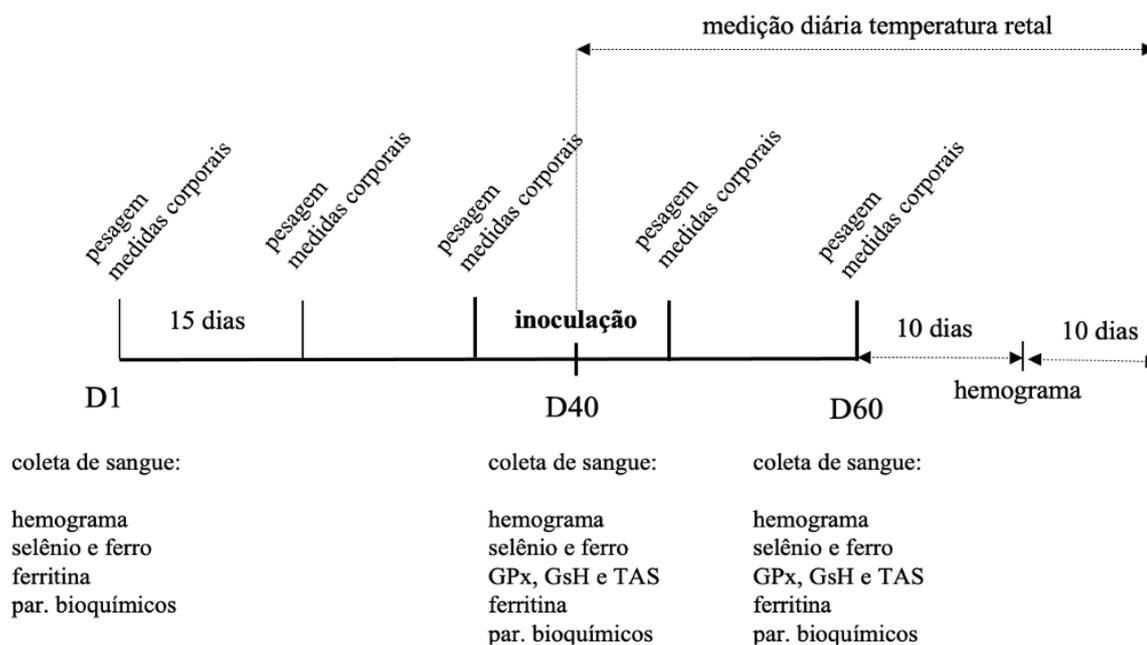


Figura 1. Cronograma de coletas de amostras de sangue, medições, pesagem e temperatura retal á partir do primeiro dia de experimento até o final (D1 - primeiro dia de experimento, D40 - inoculação de todos os animais e D60 - penúltima coleta de sangue).

2.2.8 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise estatística segundo delineamento inteiramente casualizado utilizando-se o PROC MIXED do SAS 9.4 de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A(D_i)_j + \varepsilon_{ij},$$

Onde Y_{ijklm} = variável dependente; μ = média geral; D_i = efeito de dieta ($i = 1$ a 3); $A(D_i)_j$ = efeito aleatório de animal dentro de tratamento ($j = 1$ a 3); ε_{ijklm} = erro aleatório pressuposto $NID \sim (0, \sigma^2)$.

As variáveis de sangue coletadas ao longo do tempo de acordo com o delineamento anterior considerando o efeito de tempo como medida repetida, usando o PROC MIXED do SAS, segundo o seguinte modelo:

$$Y_{ijklmn} = \mu + D_i + A(D_i)_j + \varepsilon_{ij} + T_n + D \times T_{ln} + \omega_{ijln}$$

Onde: Y_{ijklm} é o valor variável dependente, μ é a média geral, A_i , $A(D_i)_j$, T_l , A_m , $T \times D_{lm}$ + ε_{ijklm} foram descritos anteriormente e ω_{ijlmn} é o erro aleatório associado ao efeito de tempo pressuposto $NID \sim (0, \sigma^2)$; T_n é o efeito fixo do tempo de amostragem ($l = 1$ a 3); $D \times T_{ln}$ efeito fixo da interação entre dieta e tempo; O tempo inicial (zero) foi utilizado como covariável para as análises de efeito de tempo. Todas as médias foram obtidas por meio do procedimento LSMEANS.

As respostas dos tratamentos foram testadas e foi utilizado um nível de significância de 0,05 e tendências foram consideradas de $P < 0.05$ a $P < 0.10$.

2.3 Resultados

As ingestões de selênio, vitamina E e ferro foram maiores nos animais suplementados em comparação ao tratamento controle ($P < 0,01$, **Tabela 3**). A ingestão de matéria seca foi semelhante em ambos os tratamentos.

Houve um aumento da concentração de selênio no soro dos bezerros suplementados ($P < 0.01$). As concentrações de vitamina E ($P = 0.57$) e ferro ($P = 0.59$) no soro não diferiram entre os tratamentos experimentais.

A concentração plasmática da enzima lactato desidrogenase (LDH) foi menor nos bezerros que receberam o tratamento SSFE ($P = 0.01$) e o lactato foi menor nos animais

suplementados ($P=0.03$). As demais concentrações de metabólitos no plasma não foram diferentes entre os tratamentos.

Tabela 3. Ingestão de matéria seca dos alimentos e nutrientes consumidos pelos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental

Variáveis ²	Tratamentos ¹				<i>p</i> -valor ⁵
	Controle	SSE	SSFEE	EPM ⁴	
	<i>1 a 30 dias</i> ³				
IMS Sucedâneo (kg)	0,55	0,56	0,56	0,02	0.96
IMS Concentrado (kg)	0,06	0,06	0,05	0,01	0.86
IMS Total (kg)	0,61	0,62	0,61	0,02	0.92
Ingestão Selênio (mg/kg)	0,12 ^a	0,22 ^b	0,21 ^b	0,009	<0.01
Ingestão Vitamina E (mg/kg)	47,74 ^a	86,25 ^b	85,28 ^b	2,84	<0.01
Ingestão de Ferro (mg/kg)	112,92 ^a	115,12 ^a	144,70 ^b	4,82	<0.01
	<i>30 a 60 dias</i>				
IMS Sucedâneo (kg)	0,50	0,50	0,49	0,0007	0.71
IMS Concentrado (kg)	0,66	0,57	0,53	0,06	0.40
IMS Total (kg)	1,16	1,07	1,02	0,06	0.38
Ingestão Selênio (mg/kg)	0,40 ^a	0,52 ^b	0,49 ^b	0,03	0.03
Ingestão Vitamina E (mg/kg)	66,09 ^a	130,22 ^b	127,57 ^b	2,71	<0.01
Ingestão de Ferro (mg/kg)	172,04 ^a	162,44 ^a	212,43 ^b	7,98	<0.01
	<i>1 a 60 dias</i>				
IMS Sucedâneo (kg)	0,53	0,53	0,52	0,01	0.96
IMS Concentrado (kg)	0,37	0,32	0,30	0,03	0.46
IMS Total (kg)	0,89	0,86	0,83	0,04	0.57
Ingestão Selênio (mg/kg)	0,27 ^a	0,36 ^b	0,35 ^b	0,02	<0.01
Ingestão Vitamina E (mg/kg)	57,26 ^a	108,37 ^b	106,44 ^b	2,56	<0.01
Ingestão de Ferro (mg/kg)	143,52 ^a	139,77 ^a	179,23 ^b	6,08	<0.01

¹ Tratamentos: Controle = Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato; ²IMS = ingestão de matéria seca; ³Período experimental em dias; ⁴ EPM = erro padrão da média; ⁵P-valor = probabilidade;

As concentrações no sangue de selênio, ferro, glicose, beta-hidroxibutirato aumentaram no sangue durante o experimento ($P<0,05$, **Tabela 4**).

As concentrações de creatinina, lactato, albumina e IgG plasmáticos diminuíram durante o período experimental ($P<0.01$).

O nível de ferritina diminuiu do início até 40 dias de experimento, mas aumentou aos 60 dias a valor maior do que o inicial ($P=0.04$).

A proteína total e a ureia plasmática diminuíram do início do experimento até 40 dias, depois aumentaram, mas a valores menores do que o inicial ($P<0.01$). Houve interação entre os tratamentos e o tempo experimental sobre os valores de ureia no plasma ($P=0,05$). Observa-se que os valores entre tratamentos foram bem próximos no início do experimento e aos 40 dias de suplementação, mas apresentou diferença aos 60 dias, onde os animais

Tabela 4. Metabólitos sanguíneos dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental

Variáveis ⁴	Tratamentos ¹				Tempo (dias)				Trat	<i>p</i> -valor ³	
	Controle	SSE	SSFE	EPM ²	0	40	60	EPM		Tempo	Trat*Tempo
Selênio (µg/mL)	0,066 ^a	0,075 ^b	0,090 ^c	0,002	0,074 ^a	0,080 ^b	0,078 ^b	0,002	<0.01	0.04	0.12
Vitamina E (µg/mL)	5,22	5,73	4,50	0,82	4,76	.	5,55	0,53	0.57	0.13	0.21
Ferro (µg/dL)	176,26	158,54	157,76	14,43	127,95 ^a	182,02 ^b	182,60 ^b	12,17	0.59	0.01	0.49
Ferritina (ng/ml)	0,25	0,27	0,21	0,05	0,21 ^a	0,18 ^a	0,35 ^b	0,05	0.77	0.04	0.80
Proteína Total (g/dL)	6,08	6,21	6,43	0,11	7,16 ^a	5,59 ^b	5,96 ^c	0,10	0.11	<0.01	0.44
Glicose (mg/dL)	124,08	122,89	122,00	5,72	115,67 ^a	127,95 ^b	125,35 ^b	4,38	0.96	0.04	0.15
BHB (mm/L)	0,090	0,095	0,094	0,006	0,073 ^a	0,084 ^b	0,122 ^c	0,006	0.89	<0.01	0.69
Ureia (mg/dL)	19,01	19,62	16,98	0,88	19,70 ^a	17,31 ^b	18,60 ^a	0,74	0.09	0.03	0.05
Creatinina (mg/dL)	1,25	1,20	1,12	0,04	1,27 ^a	1,19 ^b	1,12 ^c	0,03	0.16	0.01	0.25
LDH (U/L)	1.352,78 ^a	1.327,11 ^a	1.098,53 ^b	62,22	1.266,35	1.174,68	1.337,39	59,85	0.01	0.15	0.22
Lactato (mg/dL)	18,22 ^a	13,48 ^b	12,05 ^b	1,74	19,50 ^a	12,98 ^b	11,26 ^b	1,72	0.03	<0.01	0.13
Albumina (g/dL)	3,01	3,01	2,93	0,04	3,04 ^a	2,91 ^b	3,00 ^a	0,03	0.43	0.01	0.39
IgG (mg/mL)	21,41	23,36	20,07	2,05	28,94 ^a	17,60 ^b	18,30 ^b	1,50	0.53	<0.01	0.43

¹Tratamentos: Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato;² EPM = erro padrão da média; ³p- valor = probabilidade; ⁴ BHB=beta-hidroxibutirato, LDH= lactato desidrogenase

suplementados com SSFE exibem os menores valores de ureia em comparação aos animais controle (**Figura 1**).

A porcentagem de eosinófilos aumentou a partir do início do experimento até os 40 dias e diminuiu a partir destes, apresentando valores acima do inicial aos 60 dias de experimento ($P < 0.0001$).

Nenhuma das demais variáveis de metabólitos sanguíneos apresentaram interação significativa entre tratamento e tempo.

As concentrações de eritrócitos ($P=0.06$) e hematócrito ($P=0.08$) tenderam a ser menores para os bezerros que receberam o tratamento SSFE comparados com os demais (**Tabela 5**). Os animais que receberam o tratamento SSE apresentaram maior contagem de plaquetas em comparação aos demais ($P=0.05$) e apresentaram tendência a menor porcentagem de linfócitos típicos ($P=0.06$). Os demais parâmetros do hemograma não apresentaram diferenças entre os tratamentos.

O volume corpuscular médio ($P=0.02$) diminuiu do início até 40 dias de experimento e depois aumentou aos 60 dias, mas a valores menores do que do início do experimento. A hemoglobina corpuscular média ($P=0.05$) e concentração de hemoglobina corpuscular média ($P=0.04$) diminuíram do início aos 40 dias de suplementação, e aumentaram aos 60 dias a valores maiores do que os iniciais. A porcentagem de eosinófilos ($P < 0.01$) aumentou do início até 40 dias de suplementação e diminuiu aos 60 dias, mas a valores maiores do que o inicial. A contagem plaquetária diminuiu durante o experimento ($P < 0.01$). Houve tendência de diminuição na concentração de hemoglobina ($P=0.07$) ao longo do período experimental (**Tabela 5**).

A concentração da enzima glutathiona peroxidase foi maior nos animais suplementados ($P=0,03$, **Tabela 6**) em comparação aos bezerros controle. Houve uma interação entre tratamento e tempo ($P < 0,01$, **Figura 2**). Observam se maiores concentrações de glutathiona no plasma dos bezerros suplementados aos 40 dias de experimento em comparação ao controle. A glutathiona reduzida não diferiu entre os tratamentos e a atividade antioxidante total plasmática tendeu a aumentar aos 60 dias de experimento quando comparado aos 40 dias ($P=0.08$).

Os animais que receberam o tratamento SSFE apresentaram tendência de maior ganho de peso ($P = 0.09$) e menor ganho de garupa ($P=0.10$), comparado aos demais tratamentos, dos 30 aos 60 dias de experimento. As demais variáveis de desempenho e eficiência alimentar não foram diferentes entre os tratamentos (**Tabela 7**).

Tabela 5. Hemograma dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.

Variáveis ²	Tratamentos ¹				Tempo (dias)				<i>p</i> -valor ⁴		
	Controle	SSE	SSFE	EPM ³	0	40	60	EPM	Trat.	Tempo	int ⁵
<i>Eritrograma</i>											
Eritrócito (milhões/mm ³)	8,42 ^a	8,12 ^a	7,29 ^b	0,33	8,14	7,75	7,94	0,29	0,06	0,62	0,40
Hemoglobina (g/dl)	9,85	9,57	8,68	0,39	9,83 ^a	8,86 ^b	9,41 ^a	0,33	0,11	0,07	0,23
Hematócrito (%)	30,79 ^a	30,21 ^a	27,17 ^b	1,16	30,96	28,24	28,97	1,09	0,08	0,17	0,59
V.C.M (u ³)	36,62	35,81	36,84	0,69	37,39 ^a	35,51 ^b	36,39 ^a	0,55	0,55	0,02	0,95
H. C. M. (pg)	11,70	11,44	11,65	0,22	11,79 ^a	11,19 ^b	11,81 ^a	0,20	0,68	0,05	0,26
C. H. C M. (g/dl)	31,96	31,75	32,06	0,31	31,81 ^a	31,43 ^a	32,52 ^b	0,31	0,77	0,04	0,15
<i>Leucograma⁵</i>											
Leucócitos (mil/mm ³)	8.907,71	7.418,88	8.857,62	1.127,44	7.425,84	9.863,01	7.895,36	1.102,40	0,57	0,24	0,95
Segmentados (%)	45,66	48,67	45,38	1,56	45,79	51,57	42,34	4,10	0,85	0,24	0,34
Eosinófilos (%)	0,80	0,94	0,81	0,17	0,39 ^a	1,56 ^b	0,60 ^a	0,18	0,82	<0,01	0,25
Linfócitos típicos (%)	51,07 ^a	43,30 ^b	50,78 ^a	2,58	48,09	45,93	51,14	2,44	0,06	0,30	0,90
Monócitos (%)	4,81	4,22	4,59	0,89	4,24	4,33	5,06	0,89	0,89	0,77	0,94
Contagem plaquetária (mil/mm ³)	589522 ^a	696643 ^b	564688 ^a	392652	696539 ^a	636617 ^b	517697 ^c	38052	0,05	<0,01	0,14

¹ Tratamentos: Controle =Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato; ² V. C. M. =volume corpuscular médio; H. C. M. = hemoglobina corpuscular média; C. H. C. M. = concentração de hemoglobina corpuscular média.³ EPM = erro padrão da média; ⁴ p-valor = probabilidade; ⁵int = interação entre tratamento e tempo de experimento; ⁵ Mielócitos, metamielócitos, bastonetes, basófilos, eosinófilos e linfócitos atípicos não foram observados nas amostras de ambos os tratamentos.

Tabela 6. Metabolismo oxidativo sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o desafio imunológico.

Variáveis ⁴	Tratamentos ¹				Tempo (dias)			p-valor ⁵		
	Controle	SSE	SSFE	EPM ²	40	60	EPM ³	Trat.	Tempo	int. ⁴
GPx (U/g Hb)	1.082,15 ^a	1.256,96 ^b	1.408,62 ^b	83,47	1.235,88	1.262,60	60,86	0,03	0,72	<0,01
GSH (mg/dL)	18,73	18,38	22,51	1,56	19,62	20,12	1,06	0,13	0,65	0,19
AST (mmol/L)	0,82	0,83	0,79	0,01	0,79 ^a	0,88 ^b	0,01	0,62	0,08	0,41

¹ Tratamentos: Controle =Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato; ² GPx = glutaciona peroxidase; GSH = glutaciona reduzida; AST = atividade antioxidante total; ³ EPM = erro padrão da média; ⁴ int = interação entre tratamento e tempo de experimento; ⁵ p-valor = probabilidade.

Tabela 7. Desempenho dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.

Variáveis	Tratamentos ¹				<i>p</i> -valor ³
	Controle	SSE	SSFE	EPM ²	
Peso inicial (kg)	38,77	38,43	37,78	0,63	0,81
Peso final (kg)	67,18	65,43	61,79	2,38	0,27
Altura inicial (cm)	76,71	77,25	76,28	1,06	0,81
Altura final	86,53	87,71	86,11	0,83	0,37
Comprimento inicial	62,64	61,00	61,00	1,13	0,50
Comprimento final	73,89	74,11	72,00	0,88	0,19
Perímetro torácico inicial	80,14	79,50	79,60	0,79	0,82
Perímetro torácico final	95,39	93,92	92,61	1,39	0,37
Largura de garupa inicial	29,07	29,57	29,07	0,43	0,65
Largura de garupa final	36,00	35,71	34,93	0,60	0,44
<i>Ganho de 1 a 30 dias</i>					
Peso (kg)	0,27	0,29	0,29	0,03	0,91
Altura (m)	0,11	0,11	0,12	0,02	0,98
Comprimento	0,17	0,19	0,14	0,02	0,36
Perímetro torácico	0,17	0,17	0,16	0,02	0,96
Largura de garupa	0,09	0,08	0,11	0,01	0,31
Eficiência alimentar	0,43	0,44	0,47	0,04	0,82
<i>Ganho de 30 a 60 dias</i>					
Peso (kg)	0,69 ^a	0,63 ^a	0,54 ^b	0,04	0,09
Altura (m)	0,21	0,19	0,21	0,01	0,67
Comprimento (m)	0,27	0,22	0,23	0,02	0,33
Perímetro torácico (m)	0,36	0,34	0,28	0,03	0,21
Largura de garupa (m)	0,14 ^a	0,12 ^b	0,08 ^c	0,01	0,10
Eficiência alimentar	0,58	0,56	0,51	0,02	0,22
<i>Ganho de 0 a 60 dias</i>					
Peso (kg)	0,48	0,45	0,41	0,03	0,32
Altura (m)	0,16	0,16	0,17	0,01	0,99
Comprimento (m)	0,21	0,22	0,19	0,01	0,37
Perímetro torácico (m)	0,26	0,24	0,22	0,02	0,47
Largura de garupa (m)	0,12	0,10	0,09	0,01	0,41
Eficiência alimentar	0,54	0,53	0,48	0,02	0,36

¹ Tratamentos: Controle = Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato; ² EPM = erro padrão da média; ³ *p*-valor = probabilidade.

Observa-se um número crescente de patógenos nas semanas subsequentes à inoculação, indicando que o desafio imunológico dos animais foi efetivo. Os números indicaram que dentre os 14 primeiros dias de desafio imunológico com o hemoparasito *Anaplasma marginale*, o grupo controle apresentou maior taxa de infecção, seguido do SSE e com menor infestação o tratamento SSFE. De 21 à 28 dias após a inoculação, os animais do tratamento controle, se mantiveram com a maior taxa de infecção, apresentando uma diferença de mais de 190 patógenos, e os animais suplementados valores de infestação próximas (139 e 142 patógenos para os tratamentos SSE e SSFE, respectivamente). De 35 a 42 dias o perfil dos resultados se mantiveram próximos aos das semanas anteriores, mas com elevação no número

de patógenos dos tratamentos com suplementação de nutrientes devido ao perfil de resposta concernente da doença. Os animais suplementados com SSFE apresentaram tendência a terem menores escores de diarreia ($P = 0.10$) em comparação ao controle e menor frequência de diarreia ($P = 0.03$) comparado aos demais tratamentos (**Tabela 8**). Dos 20 animais que tiveram as lâminas analisadas, todos apresentaram o hemoparasito nas semanas estabelecidas após a inoculação (de 7 a 14 dias, de 21 a 28 dias, de 35 a 42 dias, **Figura 3**).

Nos resultados gerais, os animais do grupo controle obtiveram a maior média geral de taxa de infecção por *Anaplasma marginale*, com 200 hemoparasitos, seguido do tratamento com SSE e com menores valores os animais suplementados com SSFE (**Figura 4**).

Tabela 8. Escore de fezes e frequência de diarreia dos bezerros nos diferentes tratamentos e durante o período experimental.

Variáveis	Tratamentos ¹				<i>p</i> -valor
	Controle	SSE	SSFE	EPM ²	
<i>Período experimental de 1 a 30 dias</i>					
Escore de fezes	1,97 ^a	1,77 ^{ab}	1,62 ^b	0,11	0.10
Frequência de diarreia (%)	66,89 ^a	60,24 ^a	51,12 ^b	4,06	0.03
<i>Período experimental de 30 a 60 dias</i>					
Escore de fezes	0,18	0,11	0,12	0,02	0.23
Frequência de diarreia (%)	4,91	2,18	2,72	1,01	0.14
<i>Período experimental de 1 a 60 dias</i>					
Escore de fezes	1,06	0,94	0,90	0,06	0.25
Frequência de diarreia (%)	35,66	31,14	28,07	2,51	0.11
Hidratação oral (L)	33,62	31,00	37,80	-	-

¹ Tratamentos: Controle = Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato; ² EPM = erro padrão da média; ³ *p*-valor = probabilidade.

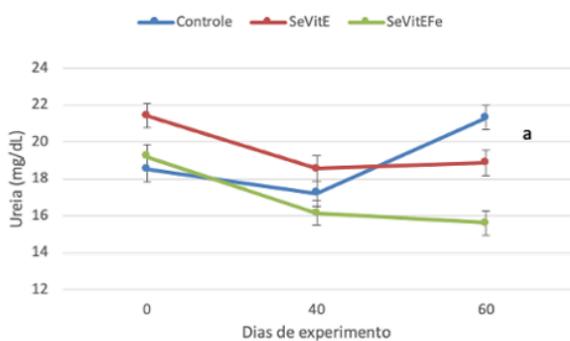


Figura 2. Concentração de ureia no plasma sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos (Controle = Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato) nos dias do experimento (efeito de interação tratamento e tempo, $P=0,05$, EPM = 0,67).

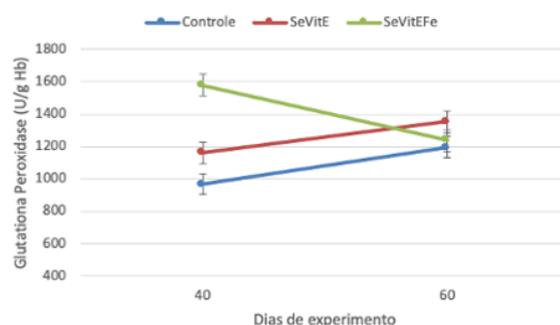


Figura 3. Concentração de glutatona peroxidase no plasma sanguíneo dos bezerros nos diferentes tratamentos (Controle = Sucedâneo controle; SSE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico e vitamina E; SSFE = Sucedâneo suplementado com selênio orgânico, vitamina E, e Ferro quelato) nos dias do experimento (efeito de interação tratamento e tempo, $P<0,01$, EPM = 66,24).

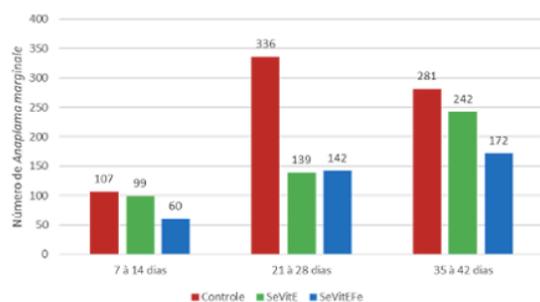


Figura 4. Médias da contagem de *Anaplasma marginale* nos respectivos tratamentos e nas semanas subsequentes da inoculação do patógeno (N=5 para Controle, N=6 para SSE e N=9 para SSFE).

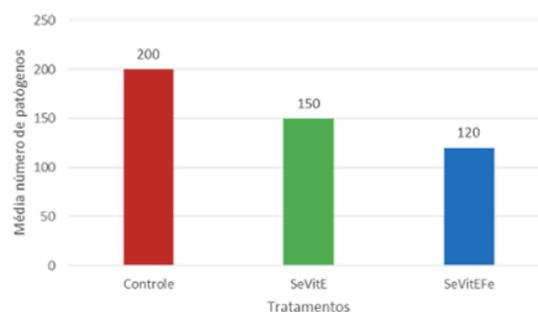


Figura 5. Média geral da contagem de patógenos de *Anaplasma marginale* de 7 a 42 dias após a inoculação (N=5 para C, N=6 para SSE e N=9 para o tratamento SSFE).

2.4 Discussão

2.4.1 Níveis séricos de selênio, ferro e vitamina E

A suplementação proporcionou um aumento de 13,64% nos níveis séricos de selênio dos animais que receberam o tratamento SSE e 36,36% nos animais que receberam SSFE, em comparação ao controle, não havendo diferença entre os tempos de coleta, o que corrobora com outras pesquisas constantes da literatura (Neuenhaus et al., 1999, Kamada et al., 2007, Juniper et al., 2008, Salles et al., 2014, Zarczynska et al., 2017). Trabalhando com bezerros suplementados com 0,80 mg selênio/animal/dia, Salles et al., (2014), observaram um aumento de 41% e 25% nos níveis séricos de selênio, para suplementação via leite e concentrado, respectivamente. Zarczynska et al., (2017), forneceram 0,5 e 1 mg de selênio / kg de peso vivo, no segundo dia de vida de bezerros, e observaram um aumento 3 vezes maior nos níveis sanguíneos do mineral em comparação ao controle, o que refletiu, segundo os autores, num aumento significativo na atividade da GPx. Em animais adultos este resultado também é observado. Neuenhaus et al., (1999), testando os efeitos da suplementação de selênio e vitamina E para vacas leiteiras no último mês de gestação, observaram um aumento de

96,55% nos níveis séricos de selênio quando os animais receberam 5 mg /cabeça/dia e 134,48 % para os animais que receberam tratamento composto de selênio e vitamina E.

No presente estudo, os níveis sanguíneos de vitamina E não diferiram entre os tratamentos experimentais, o que discorda de outros relatos constantes da literatura. Quigley et al., 1994, observaram aumento linear nos níveis circulantes de vitamina E em relação ao controle, quando bezerros foram suplementados com a vitamina via colostro. Os animais que receberam 100 UI de vitamina E apresentaram um aumento 3 vezes maior nos níveis sanguíneos comparados ao controle. Aumento nos níveis séricos de vitamina E também foram observados por Higuchi et al., (2012) e Reddy et al., (1986), observaram um aumento quadrático nos níveis séricos de vitamina E quando bezerros foram suplementados com 0, 125, 250 ou 500 UI de vitamina / cabeça / dia. Uma explicação para esta discordância está na matéria prima utilizada com fonte de vitamina E. A *D,L-vitamina E*, forma sintética da vitamina utilizada no presente estudo, apresenta menor eficiência de utilização pelo metabolismo animal comparado a sua forma orgânica (Hidiroglou et al., 1988). Embora as doses utilizadas tenham sido superiores ao recomendado, conforme a proposta do presente estudo, este não foi suficiente para elevar os níveis séricos de vitamina E nos animais que receberam o tratamento contido da referida vitamina.

2.4.2. Efeito dos tratamentos sobre os parâmetros sanguíneos

Os resultados observados nos valores do eritrograma no presente estudo, estão de acordo com relatado na literatura (Knowles et. al., 2000; Mohri et a., 2007; Benesi et al., 2012). Após o nascimento do bezerro, observa-se uma diminuição nos componentes do eritrograma, com a substituição gradual das moléculas de HB fetal pela HB do animal adulto e redução no tamanho dos eritrócitos à medida que a idade avança. Este processo persiste até que o animal alcance a idade de 3 a 4 meses, momento no qual a HB de origem fetal não é mais observada (Brun-Hansen et al., 2006; Cole et al., 1997; Jain, 1986). A diminuição observada nos valores após o nascimento está relacionada ao efeito hemodiluidor dos níveis circulantes de proteína de origem colostrar nos primeiros dias de vida e ao maior aporte de oxigênio sanguíneo observado após o nascimento em comparação ao período fetal (Benesi et al., 2012; Jain, 1986). No presente estudo, também foram observadas reduções significativas nos valores do eritrograma ao longo do tempo, o que está relacionado ao estado fisiológico normal do bezerro, não demonstrando efeito dos tratamentos.

Estudos relacionados a suplementação de ferro em neonatos têm mostrado uma alteração nos valores dos componentes do eritrograma (Bunger et al. 1986; Lindt & Blum 1993; Bostedt et

al. 2000; Mohri et al. 2004, Heidarpour-Bami et al., 2008), corroborando com os resultados obtidos no presente estudo, sendo observado uma diminuição nos valores de ER e HT, nos animais suplementados com ferro, o que está de acordo com Welchman et al. (1988). Segundo os autores, uma ingestão de ferro acima de 100 mg/dia pode atender as necessidades normais do animal, porém valores adicionais a este não tem efeito sobre a produção de HB. Entretanto, Mohri et al. (2004), observaram um aumento nos valores de HT e HB dos bezerros que receberam 150 mg de Fe, via oral, em comparação ao grupo controle, porém, não foi observado diferença significativa entre os tratamentos sobre os valores de ER. Os autores observaram um aumento significativo nos níveis séricos de ferro e de ER com o avançar da idade dos animais suplementados, o que corrobora com os resultados observados no presente estudo. Gyax et al. (1993), administraram duas doses diferentes de ferro, fornecida via sucedâneo, 10 e 50 mg/kg e observaram que, a suplementação com menores quantidades de ferro apresentou os menores níveis séricos deste, levando a um quadro de anemia e maior incidência de infecções. Heidarpour-Bami et al., (2008), estudando os efeitos da aplicação parenteral de ferro em bezerros, observaram um aumento, não significativo estatisticamente, porém numericamente maior, na contagem de eritrócitos dos animais que receberam o tratamento com a aplicação de 1000 mg de ferro dextrano/animal/dia em comparação ao controle. No referido estudo os animais também apresentaram um aumento nos valores de HCM em relação ao controle. Resultado semelhante também foi observado por Bostedt et al. (2000), quais relataram o aumento na concentração de ferro sanguíneo e de HB dos animais suplementados com doses acima de 1000 mg de Fe dextrano por animal ao dia. Entretanto, Franciosi et al., (2018), fazendo o uso da suplementação de ferro dextrano, via parenteral em bezerros da raça Holandês, não observaram diferenças nos níveis séricos de ferro, ER, HB, VCM e HCM. A dose utilizada promovia um aporte de aproximadamente 15 mg de ferro para cada 10 kg de peso vivo.

Ao contrário do que foi observado no presente estudo, Mohri et al., (2005) relataram um aumento significativo nos valores de WBC (sangue total), HT e HB de bezerros suplementados com 6 mg de selênio e 300 UI de vitamina E para cada 45 kg peso corporal, em comparação ao grupo controle (sem suplementação). Segundo os autores, o aumento observado foi devido ao efeito protetivo da vitamina E e da GPx sobre as membranas celulares e suas organelas, aumentando a meia vida de eritrócitos. Roquet et al., (1992), relataram um aumento nas concentrações de vitamina E nos eritrócitos de bezerros que receberam suplementação de vitamina E junto ao leite. Por outro lado, trabalho realizado com ratos por Cay & Naziroglu, (1999), não mostrou diferença significativa para estes parâmetros

e, Reddy et al., (1986), trabalhando com bezerras suplementadas com Vitamina E, não observaram aumento significativo nos níveis de ER, HB, HT e VCM, no entanto, os níveis séricos de HCM e MHCM foram menores nos animais que receberam o tratamento com 500 UI de vitamina E, o que está de acordo com os resultados observados no presente estudo.

Os valores do leucograma obtidos no presente estudo estão de acordo com outros estudos realizados com bezerros e o comportamento de seus componentes observado nos diferentes tempos de coleta apresentam se compatíveis com a literatura (Schalm, 2000, Benesi, et al. 2012; Mohri et al., 2004; Knowles, et al., 2000). Segundo Benesi, et al. (2012), nas primeiras horas após o nascimento, observa se uma discreta redução na contagem de leucócitos, com predominância de neutrófilos e contagem de linfócitos dentro de seus valores mínimos. Este perfil tende a mudar após algumas horas, na medida que os níveis de glicocorticoides liberados na circulação sanguínea diminuem, com o aumento significativo no total de neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos (Biergel et al., 1972, Benesi et al., 1992).

Os resultados observados sobre o leucograma podem ser explicados pela diferença entre os níveis sanguíneos de agentes antioxidantes, observada entre os tratamentos experimentais. Linfócitos são bastante sensíveis aos efeitos dos radicais livres (Nemec et al., 1990) e estes, são sintetizados pelo sistema monócito/fagocitário em resposta a infecção por hematozoários (De et al., 2011). A suplementação com selênio e vitamina E, por estarem relacionados ao metabolismo oxidativo, podem promover uma proteção contra estes agentes, entretanto, diante da diminuição na porcentagem de linfócitos típicos, pode ter ocorrido um desbalanço entre a disponibilidade de agentes antioxidantes e a produção de radicais livres, levando a diminuição na concentração de linfócitos típicos, em SSE, comparado aos demais (Court, et al., 2001; Santra, et al., 2000). Por outro lado, o tratamento que continha ferro apresentou os maiores níveis de GSH, um importante agente de proteção celular contra os efeitos dos radicais livres e que pode ter gerado uma maior proteção aos referidos linfócitos (De et al., 2011). Os valores de GPx e GSH observados no tratamento SSFE foram numericamente superiores em relação a SSE, porém não estatisticamente. Outro ponto a se salientar é que, embora o referido tratamento contivesse ferro em sua composição, os menores níveis séricos deste metal também foram numericamente menores, porém não estatisticamente, em comparação ao controle. Os níveis de ferro em sua forma livre podem exercer efeitos negativos no metabolismo oxidativo por servir como catalisador na reação de Haber-Weiss, promovendo o acúmulo de espécies reativas ao oxigênio (ROS), entretanto, quando ligados a

proteínas de transporte ou de armazenamento, o ferro é inativo em relação a este processo (Vannuchi et al., 1998, Ferreira & Matsubara, 1998).

Os resultados observados sobre a contagem de eosinófilos corroboram com outros trabalhos na literatura. Segundo Benesi et al., 2012, os teores de eosinófilos são observados em pequenas quantidades em mostras sanguíneas de bezerros, podendo variar em quantidade conforme a idade. É comum que eosinófilos não sejam observados em amostras coletadas no momento do nascimento, como efeito provável da concentração de cortisol na circulação (Rocha et al., 2013; Jain, 1993).

Os valores observados sobre a contagem de plaquetas no presente estudo, estavam dentro dos intervalos de referência para bovinos no tratamento controle, porém um pouco acima em SSE (Schalm, 2010). Na média geral os valores observados ao longo do tempo apresentaram-se acima dos valores de referência na primeira coleta e no dia da inoculação, decaindo nas amostras coletadas em D60. Os tratamentos que continham selênio e vitamina E somente, apresentaram os maiores valores em comparação ao controle e SSFE, o que está de acordo com a literatura.

As plaquetas são a primeira linha de defesa do organismo contra uma série de injúrias, sendo que em animais sadios seu nível tende a ser constante, permanecendo na circulação durante 5 a 9 dias, até serem fagocitados por macrófagos principalmente no baço e fígado. Entretanto, quando em infecções por bactérias pode ocorrer o aumento na destruição de plaquetas, diminuindo os valores de contagem. A presença de endotoxinas liberadas na circulação, estimulam produção de trombina pelos monócitos e causam a ativação e agregação de plaquetas. Estas, se aderem a esses monócitos e são fagocitadas (Schalm, 2010). Estas observações podem explicar a diminuição na contagem de plaquetas observada após a inoculação e os menores valores observados no tratamento controle.

A vitamina E é um importante antioxidante localizado na membrana celular de mamíferos e sua presença pode evitar a ativação e agregação de plaquetas pela via proteína quinase (Gutierrez et al. 2014; Kim et al., 2011), além de suprimir a adesão destes fragmentos celulares aos monócitos (Murohara et al., 2004). Por outro lado a suplementação com selênio também pode atuar nesse processo devido a sua função de cofator da enzima GPx. Wang & Kiem, (1987), observaram uma maior tendência a agregação de plaquetas em seres humanos com menores concentrações plasmáticas de selênio e, Levander et al., (1983), em estudo realizados também com seres humanos, observaram um aumento significativo na atividade da GPx de plaquetas quando o selênio foi suplementado. Dalir-Haghadeh et al., (2015), observaram uma correlação positiva entre a concentração de selênio e a atividade da GPx em

plaquetas de ovelhas suplementadas com selênio. Saad et al. (2020), trabalhando com animais suplementados via injeção subcutânea com selênio, observaram que a concentração plasmática deste mineral e a atividade da GPx nas plaquetas foram maiores nos tratamentos que continham selênio em comparação ao tratamento controle.

Os resultados observados no presente estudo sobre os parâmetros bioquímicos, estão de acordo com outros relatados na literatura. Reddy et al. (1987), testando os efeitos da suplementação de vitamina E sobre os metabólitos sanguíneos de bezerros da raça Holandês, observaram uma diminuição na atividade da LDH em comparação ao controle (sem adição de vitamina E). Entretanto, não foi constatado diferença significativa sobre os demais parâmetros analisados, exceto para os níveis de glicose sanguínea que foram maiores nos animais suplementados, diferentemente ao observado no presente estudo. Os mesmos resultados também foram observados em outros trabalhos, sendo a deficiência desta vitamina e selênio relacionados com altas atividades das enzimas LDH e creatinina quinase (Cipriano et al., 1982; Reddy et al., 1985; Van Vleet, et al., 1975).

Calamari et al., (2006), investigaram o efeito da suplementação com duas fontes diferentes de selênio, orgânico e inorgânico, em vacas leiteiras e observaram que os animais suplementados com selenoleveduras apresentaram os menores níveis de atividade da LDH em comparação ao tratamento controle. Entretanto, Shinde et al., (2008), trabalhando com bezerros bubalinos machos suplementados com três níveis de selênio e vitamina E não observaram diferença significativa para a enzima LDH entre os tratamentos, bem como para os demais parâmetros analisados no presente estudo. Os autores atribuíram este resultado ao fato de a dieta basal atender aos requerimentos de micronutrientes dos animais. Zarczynska et al., 2021, trabalhando com bezerros da raça Holandês, suplementados oralmente com selenitotriglicerídeo em duas doses diferentes, 0,5 e 1,0 mg de Se / kg PV, não observaram diferenças significativa entre os tratamentos sobre a LDH, embora a concentração sanguínea de selênio tenha sido superior em ambos os tratamentos em relação ao controle.

De maneira geral, o comportamento observado ao longo do tempo no presente estudo está de acordo com o relatado na literatura. Benesi et al., (2005), observaram comportamento parecido sobre os níveis de ureia e creatinina. Segundo os autores, a diminuição observada após o nascimento faz parte da fisiologia natural dos neonatos e isto, é resultado da capacidade funcional renal dos animais que aumenta gradativamente, podendo reduzir os níveis de creatinina em até 20% nas primeiras 24 horas, até atingir valores mínimos com 25 e 30 dias de vida até se estabilizar.

Os resultados observados sobre os demais parâmetros apresentaram comportamento ao longo do tempo semelhante ao descrito na literatura (Egli & Blum 1998; Knowles et al 2000; Mohri et al., 2004; Fagliari et al., 1998).

2.4.3 Efeito sobre o metabolismo oxidativo

Segundo, Weiss et al., (1983), a atividade da GPx está altamente correlacionada com os níveis sanguíneos de selênio, o que corrobora com os resultados no presente estudo. Na média, a atividade da GPx foi 16,15 % maior nas amostras coletadas dos animais que receberam o tratamento SSE e 30,17 % para os que receberam SSFE, em relação ao controle (**Figura 2**). Aumento na atividade da GPx em animais suplementados com selênio também foram relatados por Guyot et al., 2007; Netto et al., 2014; Salles et al., 2014; Kegley, 2016).

A enzima GPx atua no organismo como parte do sistema de defesa contra os radicais livres, alternando entre sua forma oxidada e reduzida, na presença das enzimas GPx e GSH redutase. Para que os efeitos dos referidos radicais sejam minimizados, faz-se necessário que haja um equilíbrio entre as duas formas acima mencionadas. A GPx catalisa a transferência de oxigênio, do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), para a molécula de GSH, que se torna oxidada. Na presença da enzima GSH redutase, a molécula oxidada passa para a forma reduzida, em reação dependente de NAPH, e o ciclo é regenerado (Barreiros et al., 2006; Huber, 2008). A disponibilidade da referida enzima em sua forma reduzida é de extrema importância para a sanidade do animal, sendo esta impactante na patogenia de várias doenças (Rossi et al., 2002).

Necasova et al., (2019), avaliaram as concentrações de GSH em bezerros e observaram um aumento significativo nos níveis séricos da enzima com decorrer da idade. Os valores de GSH observados nos animais no período de 1 a 15 dias foram em média 687,75 micromol/L (21,26 mg/dL) e 675,00 micromol/L (20,86 mg/dL) para o período de 15 a 75 dias, aproximadamente, sendo próximos aos achados no presente estudo para as amostras coletadas em D40 e D60. Ainda, segundo os autores, o mesmo comportamento não é observado para os níveis de GSH na sua forma oxidada (GPx), corroborando com o presente estudo.

O que se observa, quando animais são acometidos de alguma doença, é a diminuição nos níveis sanguíneos de GSH, em consequência do estresse oxidativo gerado (El-Mandrawy & Alam, 2018; Kirbas et al., 2014). Entretanto, para as amostras coletadas após a inoculação (D60) no presente estudo, os níveis de GSH não foram alterados.

Embora, não tenha sido observada diferença significativa entre os tratamentos experimentais para TAS, estes aumentaram ao longo do tempo. Os valores de TAS refletem a capacidade antioxidante do animal onde, a diminuição nos níveis deste é observada quando o

animal é acometido de alguma doença (Kusano et al., 2008; Ozbeck et al., 2012; Durgut et al., 2016). Entretanto, foi observado uma tendência de aumento nos valores desse parâmetro, indicando uma melhora na condição dos animais quando se comparam as amostras coletadas antes e após a inoculação.

2.4.4 Parâmetros de saúde

O desenvolvimento da anaplasmosose ocorreu de acordo com outros resultados, inerentes a cepa utilizada no presente estudo. Coelho et al., (2004) observaram que o tempo de incubação desta é de 35 dias, podendo variar, segundo a literatura, entre 20 e 45 dias, dependendo de alguns fatores tais como, grau de virulência, estado nutricional e idade dos animais, bem como, a concentração dos inóculos (Bastos et al., 2010; Lasmar et al., 2012, Oliveira et al., 2018). O aumento da TR é observado em até 2 dias antecedentes ao pico de parasitemia e tem uma correlação positiva com este índice. A partir desse momento, se observa uma redução gradativa nos valores do HT, que apresenta correlação negativa com a parasitemia. O aumento na TR é acompanhado pelo aumento dos batimentos cardíacos e da frequência respiratória em resposta ao quadro anêmico que se observa com o avanço da parasitemia (Radostittis et al., 2002). Os resultados observados no presente estudo sobre a temperatura retal dos bezerros corroboram com estas afirmações (**Figura 5**).

A redução nos valores de HT é reflexo do aumento na destruição, pelo sistema macrófago/fagocitário, de células infectadas, podendo estender se a células sadias. Esse processo pode ocorrer até aproximadamente 43 dias após a inoculação, onde os valores observados para o HT podem chegar até 10 a 18%, valores próximos ao observado no presente estudo, indicando que os animais estavam se aproximando ao final da fase de latência e início da fase de coalescência, ao final do experimento (**Figura 6**).

O efeito significativo do observado sobre o escore de fezes e frequência de diarreia, estão de acordo com resultados constantes na literatura. Leslie et al., (2019), trabalhando novilhas da raça Holandês, suplementadas com 3 mg de selenito de sódio e 136 UI de vitamina E, via injeção jugular, observaram menor quantidade de animais testando positivo para rotavírus em comparação ao controle, o que refletiu numa diminuição do número de animais com escore de diarreia nível 3. Os autores atribuíram estes resultados a um aumento na atividade fagocítica dos neutrófilos sobre o rotavírus, observada nos animais suplementados com selênio e vitamina E. Resultado semelhante também foi observado por Teixeira et al., (2014), que observaram uma diminuição na incidência de diarreias, otites e pneumonia, quando a suplementação com uma mistura multimineral foi injetada em bezerras

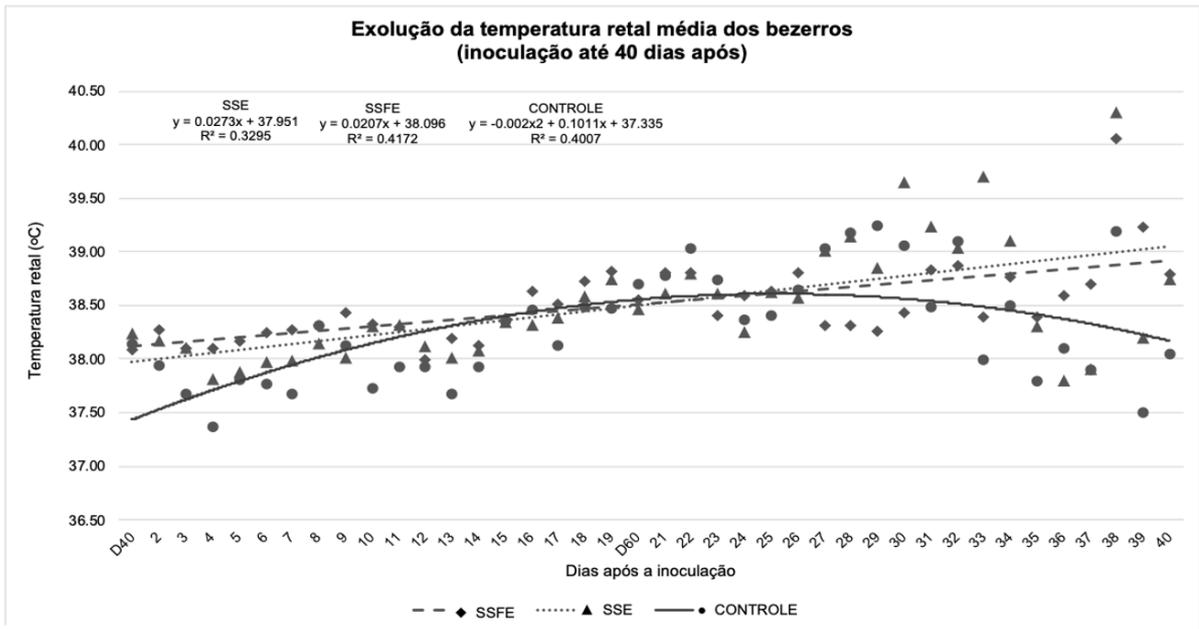


Figura 6. Evolução da temperatura retal dos bezerros, durante 40 dias após a inoculação.

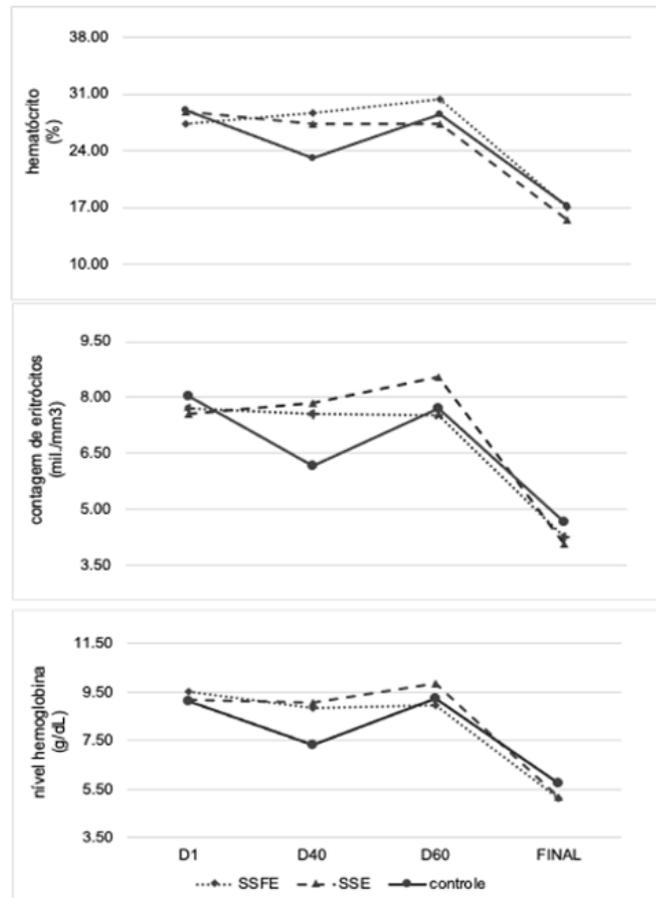


Figura 7. Evolução do hematócrito, contagem de eritrócitos e nível de hemoglobina das amostras de sangue coletadas a partir do primeiro dia de experimento.

da raça Holandês. A presença do selênio presente no composto, foi apontado pelos autores como um dos principais responsáveis por este resultado. Este também foram observados por Guyot et al., (2007) trabalhando com a suplementação de selênio a vacas da raça Belgian Blue e observando seus efeitos sobre a sanidade dos bezerros. Por outro lado, alguns autores não relataram efeito positivo da suplementação de selênio sobre este parâmetro. Salles et al. (2014) com o objetivo de verificar os efeitos da suplementação de 0,8 mg de selênio/dia em bezerros cruzados (Holandês x Jersey), via rúmen ou abomaso, observaram que a quantidade de animais com escore de diarreia nível 3 apresentou tendência a aumentar quando comparado ao controle.

Os animais que receberam o tratamento que continha ferro em sua composição (SSFE) apresentaram menores escores de diarreia, além de menor frequência desta em comparação aos demais nos primeiros 30 dias de experimento. Prodanovic et al., (2019), compararam os resultados do hemograma de bezerros saudáveis com os acometidos de diarreia e observaram que os animais diarreicos apresentaram redução nos níveis dos componentes do eritrograma que foi relacionado com a diminuição nas concentrações séricas de ferro, configurando um quadro de anemia. Segundo os autores, este quadro associado a agentes infecciosos pode promover um agravamento da diarreia (Pare et al., 1993; Bostedt et al., 1990). Estas afirmações corroboram com o presente estudo, uma vez que resultados semelhantes também foram observados sobre componentes do eritrograma, como a contagem de eritrócitos e hematócrito, e diarreia dos bezerros.

Adicionalmente, a deficiência de selênio é conhecida como um fator relacionado a diarreia de bezerros, além de outras injúrias, como a pneumonia e miopatias (Crawley et al., 1987; Züst et al., 1996; Hall et al., 1987). Animais que apresentam quadro de diarreia podem ter os valores sanguíneos de LDH e de Lactato aumentados, sendo estes parâmetros importantes de medida da intensidade desse quadro (Naylor, 1989).

Conforme observado no presente estudo, os animais suplementados apresentaram os menores valores plasmáticos de LDH e de Lactato e estes, foram ainda menores no tratamento que continha ferro em sua composição (SSFE), o que reflete a menor severidade da diarreia (LORENZ et al., 2004). De fato, os escores de diarreia e sua frequência também foram menores no tratamento SSE, porém, estes foram ainda menores em SSFE, o que mostra que a suplementação com selênio e vitamina E tem efeito positivo sobre este parâmetro e seus efeitos podem ser potencializados quando o ferro é adicionado ao suplemento. Outro ponto a se salientar, diz respeito a concentração de nitrogênio ureico plasmático, observado nos animais suplementados.

Segundo Jezek (2011), a concentração sanguínea deste tende a aumentar em bezerros com diarreia, variando de 10 até 28 mg/dL, aproximadamente, em quadros com maior intensidade (Seifi et al., 2006). Quando se observam os resultados no presente estudo, nota-se que o fornecimento de suplementação proporcionou menores valores de ureia plasmática quando da suplementação com SSE, ou SSFE, em comparação ao controle após a inoculação enfatizando o efeito benéfico do fornecimento dos referidos nutrientes via sucedâneo (**Figura 1**). Os valores observados estão de acordo com o observado por Freitas (2009) que relataram níveis plasmáticos de ureia entre 15 e 23 mg/dL aproximadamente, em bezerros apresentando quadros de diarreia. Franciosi et al, (2018), trabalhando com bezerros da raça Holandês suplementados com ferro dextrano, via injeção intramuscular, encontraram valores de ureia plasmática próximas ao presente estudo.

2.4.5. Avaliação de desempenho

De maneira geral os resultados obtidos no presente estudo, sobre a performance dos animais, corroboram com o que há descrito na literatura. Salles et al., (2014), testando os efeitos da suplementação 0,8 mg de selênio por dia em bezerros cruzados (Holandês x Jersey), não observaram diferenças significativas sobre o ganho de peso e demais parâmetros de desempenho analisados até 30 dias de idade, porém, após este período, foi relatado uma tendência de aumento no perímetro torácico dos animais que receberam a suplementação com selênio.

Mohri et al., (2005), em estudo realizado com 40 bezerros de raça leiteira, suplementados com 300 UI de vitamina E mais 6 mg de selênio cada 45 kg de peso vivo, via aplicação subcutânea, não observaram diferenças significativas sobre este parâmetro durante o período de 1 e 3 meses de experimento, bem como não relataram aumento sobre do ganho médio diário para períodos acima citados. Resultado semelhante também foi relatado por Weiss et al., (1983) e Skrivanova et al., (2007).

Embora os tratamentos utilizados no presente estudo não tenham influenciado os demais parâmetros de desempenho, Reddy et al., (1987), observaram que a suplementação de vitamina E, em doses acima de 125 UI/dia em bezerros leiteiros, proporcionou um aumento significativo de aproximadamente 13% no ganho de peso e uma melhora na eficiência alimentar dos animais.

Melhor performance de bezerros também foi relatada por Shams et al., (2020). No estudo realizado com bezerros da raça Holandês, suplementados com 2 fontes diferentes de selênio, os autores observaram aumento significativo de 27,13 % no ganho de peso total, 21,3 % GMD, e diferença de 0,7 kg na conversão alimentar dos animais suplementados em relação ao controle. Saran Netto et al., (2014), trabalhando com novilhos de raça Brangus, suplementados com selênio, observaram um aumento de aproximadamente 27,4 % no ganho de peso dos animais que receberam a suplementação de 2 mg de selênio/kg de MS em comparação ao controle. A eficiência alimentar também foi melhorada no referido estudo.

A adição de ferro utilizada no tratamento SSFE do presente estudo, não proporcionou efeitos significativos sobre as variáveis de performance estudadas, entretanto, tenderam a um menor ganho de peso e largura da garupa, a partir de 30 dias de idade, o que está de acordo com os resultados obtidos por Laboussiere et al., (2008) e Cui et al., (2017). Entretanto, outros autores tem relatado um efeito benéfico da suplementação deste mineral. Mohri et al., (2006), trabalhando com bezerros suplementados, via oral, com 150 mg de fonte de ferro/animal/dia, observaram aumento significativo no ganho de peso total e diário dos animais durante o primeiro mês de vida em comparação ao controle. O mesmo foi observado por Eisa & Elgebaly, (2010), com a suplementação de 250 mg /animal/ dia, no mesmo período. Heidarpour-Bami et al., (2008), Mohri et al., (2010) e Allan et al., (2020), observaram que os bezerros suplementados com 1 g ferro dextrano, via injeção subcutânea, no segundo dia de vida, apresentaram aumento significativo no ganho de peso diário, em comparação ao tratamento controle.

2.5 Conclusões

De maneira geral, a suplementação com selênio e vitamina E, pode ser extrapolada ao que é recomendado atualmente, alcançando bons resultados com respeito a saúde e nutrição de bezerros da raça Holandês. Há um impacto direto sobre a estabilidade oxidativa do metabolismo animal, haja vista que os níveis suplementados de selênio e vitamina E proporcionaram aumento considerável na atividade da GPx. A suplementação utilizada no presente estudo gera poucos efeitos sobre os parâmetros de desempenho dos animais, sendo necessários mais trabalhos, visando esclarecer seus impactos sobre este parâmetro.

2.6 Referências Bibliográficas

- Allan, J., Plate, P., van Widen, S., 2020. The Effect of iron dextran injection on daily weight gain and haemoglobin values in whole milk fed calves. *Animals*. 10, 853. <https://doi.org/10.3390/ani10050853>.
- Awadeh, F.T., Kincaid, R.L., Johnson, K.A., 1998. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *J. Anim. Sci.* 76, 1204–1215. <https://doi.org/10.2527/1998.7641204x>.
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., David, J. P., 2006. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*. 29, 113-123. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>.
- Bastos, C. V., Passos, L. M. F., Facury-filho, E. J., 2010. Protection in the absence of exclusion between two Brazilian isolates of *Anaplasma marginale* in experimentally infected calves. *Vet. J.* 186, 374–378. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.09.013>.
- Benesi, F. J., Leal, M.L.R., Lisboa, J. A. N., 2005. Parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática em bezerras sadias, da raça holandesa, no primeiro mês de vida. *Ciência Rural*. 33, 311-317. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000200020>.
- Benesi, F.J., Teixeira, C.M.C., Leal, M.L.R., 2012. Leukograms of healthy Holstein calves within the first month of life. *Pesq. Vet. Bras.*, 32, 352-356. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000400013>.
- Birgel, E.H., 1982. Hematologia clínica veterinária, In: Birgel E.H. & Benesi F.J. (Eds), *Patologia Clínica Veterinária*. Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, pp 2-34.
- Bostedt H., Hospes, R., Wehrend, A., Schramel, P., 2000. Effects of parenteral administration of iron preparations in the early development of calves. *Tierärztl. Umschau*. 55: 305 – 315.
- Brun-Hansen, H.C., Kampen, A.H., Lund, A., 2006. Hematologic values in calves during the first 6 months of live. *Vet Clin Pathol*. 35, 182–7. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2006.tb00111>.
- Bunger, U., Kaphangst, P., Fiebig, U., Schonfelder, E., Jentsch, D., Ponge, J., Furcht, G., 1980. Anaemia in male calves during rearing 4. Relations between birth weight, duration of trial and body weight gain while the calves were fed on colostrums, and the blood picture during weaning. *Arch. Tierernahr*. 30, 611–631.
- Cay, M., Naziroglu, M., 1999. Effects of intraperitoneally- administered vitamin E and selenium on the blood biochemical and haematological parameters in rats. *Cell. Biochem. Funct*. 17, 143-148. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0844\(199906\)17:2<3C143::AID-CBF802>3E3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0844(199906)17:2<3C143::AID-CBF802>3E3.0.CO;2-H).
- Cipriano, J. E., Morrill, J.L., Anderson, N.V., 1982. Effect of dietary vitamin E on immune responses of calves. *J. Dairy Sci.* 65, 2357. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82509-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82509-5).

- Coelho, L. C. T. Anaplasmosse bovina: parâmetros clínicos e de patologia clínica em bezerros infectados experimentalmente. (2007) Dissertações de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - UFMG. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/VETC-7AXPPH>>
- Cole, D.J., Roussel, A.J., Whitney, M.S., 1997. Interpreting a bovine CBC. *J. Vet. Med.* 92, 460–468.
- Cole, D.J.A. 1990. Nutritional strategies to optimize reproduction in pigs. *J. Rep. Fert.*, 40, 67-82.
- Court, R.A., Jackson, L.A., Lee, R.P., 2001. Elevated anti-parasitic activity in peripheral blood monocytes and neutrophils of cattle infected with *Babesia bovis*. *Int. J. Parasit.* 19, 29–37. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(00\)00144-2](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(00)00144-2).
- Cui, K., Tu, Y., Wang, Y.C., Zhang, N.F., Ma, T., Diao, Q.Y., 2017. Effects of a limited period of iron supplementation on the growth performance and meat colour of dairy bull calves for veal production. *Ani. Prod. Science.* 57, 778–784. <https://doi.org/10.1071/AN16183>.
- Dalir-Naghadeh, B., Bahrami, Y., Rezaei, S.A., Anassori, E., Janalipour, A., Khosravi, V. 2015. Platelet Indices of Selenium Status in Healthy and Selenium-Deficient Sheep: a Comparison with Selenium Indices in Plasma, Whole Blood, and Red Blood Cells. *Biol. Trace Elem. Res.* 168, 74-81. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0332-5>.
- De, U.k., Dey, S., Banerjee, P.S., Sahoo, M. 2012. Correlations among *Anaplasma marginale* parasitemia and markers of oxidative stress in crossbred calves *Trop. Anim. Health. Prod.* 44, 385–388. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9938-6>.
- Durgut, R., Ozturk, A.S., Ozturk, O.H., Guze, M., 2016. Evaluation of oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in cattle with displacement of the abomasum. *Vet. Fak. Derg.* 63, 137-141.
- Egli, C. P., Blum, J. W., 1998. Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling Simmental calves held in a cow-calf operation. *J. Vet. Med.* 45, 99–118. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1998.tb00806.x>.
- Eisa, A.M.A, Elgebaly, L.S., 2010. Effect of ferrous sulphate on haematological, biochemical and immunological parameter in neonatal calves. *Vet. Ital.* 46, 329-335.
- El-Mandrawy, S.A.M., Alam, R.T.M., 2018. Hematological, biochemical and oxidative stress studies of lumpy skin disease virus infection in cattle. *J. Appl. Anim. Res.* 46, 1073-1077. <https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1461629>.
- Facury, P.V., Lasmar, A.U.C., Filho, E.J.F, Bastos, C.V., Barbosa, M.F., 2012. Avaluating the effectiveness of an inactivated vaccine from *Anaplasma marginale* derived from tick cell culture *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 21, 112-117. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000200008>.

- Fagliari, J.J., Santana, A.E., Lucas, F.A., Filho, E.C., Curi, P.R., 1998. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*bos indicus*) e holandesa (*bos taurus*) e de bubalinos (*bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arq. Med. Vet. Zoot.* 50, 253-262. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/36109>>.
- Ferreira, A. L. A., Matsubara, L. S., 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Ver. Assoc. Med. Bras.* 43,61-68. <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>.
- Franciosi, C., Rocha, T.G., Fagliari, J.J., 2018. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de bezerras neonatos da raça holandesa tratados com ferro suplementar. *Pesq. Vet. Bras.* 38, 234-243. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4729>.
- Freitas, M. D. Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquiridas. Dissertação (Mestrado Ciência Animal) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, 2009.
- Gerllof, B.J., 1992. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *J. Ani. Sci.* 70, 3934–3940. <https://doi.org/10.2527/1992.70123934x>.
- Grotto, H.Z.W. 2008. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev. Bras. Hemat. e Hemot.*, 30, 390-397. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000500012>.
- Grotto, H.Z.W. 2010. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Ver. Bras. Hemat. Hem.* 32, 08-17. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000050>.
- Guyot, H., Spring, P., Andrieu, S., Rollin, F., 2007. Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livest. Sci.* 111, 259–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2007.04.018>.
- Gygax, M., Hirni, H., Zwahlen, R., Lazary, S., Blum, J.W., 1993. Immune functions of veal calves fed low amounts of iron. *Zent. Vet. Reihe. A.* 40, 345-358. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0442.1993.tb00638.x>.
- Hall, T.J., 1987. Effect of selenium on calf pneumonia. *Vet. Rec.* 121, 25-26.
- Harvey, J.W., 2000. Microcytic anemia. In: Feldman, B.F., Zink, J.G., Jain, N.C. (eds) *Schalm's veterinary hematology*, 5th ed. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 201–204.
- Heidarpour Bami, M., Mohri, M., Seifi, H.A., Alavi Tabatabaee, A.A., 2008. Effects of parenteral supply of iron and copper on haematology, weight gain and health in neonatal dairy calves. *Vet. Res. Commun.* 32: 553 – 561. <http://dx.doi.org/10.1007/s11259-008-9058-6>.
- Hidioglou, N., Laflamme, L.F., McDowell, L.R., 1988. Blood plasma and tissue concentrations of vitamin E in beef cattle as influenced by supplementation of various tocopherol compounds. *J. Anim. Sci.* 66, 3227-3234. <https://doi.org/10.2527/jas1988.66123227x>.

- Higuchi, H., Ito, E., Iwano, H., Oikawa, S., Nagahata, H., 2013. Effects of vitamin E supplementation on cellular α -tocopherol concentrations of neutrophils in Holstein calves. *The Canadian J. Vet. Res.* 77, 120–125.
- Higuchi, H., Katoh, N., Miyamoto, T., Uchida, E., Yuasa, A., Takahashi, K., 1994. Dexamethasone induced haptoglobin release by calf liver parenchymal cells. *Am. J. Vet. Res.*, Chicago, 55, 1080-1085.
- Huber, P.C., Almeiada, W., P., Fátima, A. 2008. Glutathione and related enzymes: biological roles and importance in pathological processes. *Quim. Nova.* 31, 1170-1179. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500046>.
- Hulbert, L.E., Cobb, C.J., Carroll, J.A., Ballou, M.A. 2011. Effects of changing milk replacer feedings from twice to once daily on Holstein calf innate immune responses before and after weaning. *J Dairy Sci.* 94, 2557–65. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3980>.
- Ivanvic, J., Weiss, W.P. 2001. Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 84, 225–232. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74472-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74472-4).
- Jain, N.C., 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jain, N.C., 1993, *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jezek, J., NEMEC, M., STARIC, J., KLINKON, M., 2011. Age related changes and reference intervals of haematological variables in dairy calves. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 55, 471-478.
- Juniper, D.T., Phipps, R.H., Givens, D.L., Jones, A.K., Green, C., Bertin, G., 2008. Tolerance of ruminant animals to high dose in-feed administration of a selenium-enriched yeast. *J. Anim. Sci.* 86, 197–204. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-773>.
- Kamada, H., Nokada, I., Ueda, Y., Murai, M., 2007. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *J. Dairy Sci.* 90, 5665–5670. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0348>.
- Kaneko, J.J., Harey, J.W., Bruss, M.L., 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6 ed. Academic Press, San Diego.
- Kegley, E.B., Ball, J.J., Beck, P.A., 2016. Impact of mineral and vitamin status on beef cattle immune function and health. *J. Anim. Sci.* 94, 5401–5413. <https://doi.org/10.2527/jas2016-0720>.
- Kim, J. H., Mamuad, L.L., Lee, H.J., Ki1, K.S., Lee, W.S., Ha, J.K., Lee, S.S., 2011. Effect of Dietary Supplementation of Glutathione on Blood Biochemical Asian-Aust. *J. Anim. Sci.* 24, 1711 - 1717. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2011.11177>.
- Kirbas, A., Apaydin, B., Baydar, E., Kandemir, F.M., 2014. Status of lipid peroxidation and some antioxidants in sheep with acute ruminal lactic acidosis. *Medycyna weterynaryjna.* 70, 357-361.

- Knowles, S.O., Grace, N.D., Wurms, K., Lee, J., 1999. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82, 429–437. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75249-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75249-5).
- Knowles, T.G., Edwards, J.E., Bazeley, K.J., Brown, S.N., Butterworth, A., Warriss, P.D., 2000. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Rec.* 147, 593 – 598. <https://doi.org/10.1136/vr.147.21.593>.
- Kusano, C., Ferrari, B., 2008. Total Antioxidant Capacity: A biomarker in biomedical and nutritional studies. *J. Cell. Mol. Biol.* 7, 1–15.
- Labussiere, E., Dubois, S., van Milgen, J., Bertrand, G., Noblet, J., 2008. Effects of dietary crude protein on protein and fat deposition in milk-fed veal calves. *J. of Dairy Sci.* 91, 4741–4754. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1203>.
- Lasmar, P. V. F., Carvalho, A. Ú., Filho, E. J. F., Bastos, C. V., Ribeiro, M. F. B. 2012. Evaluating the effectiveness of an inactivated vaccine from *Anaplasma marginale* derived from tick cell culture. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.*, 21, 112-117.
- Leslie, K.E., Nelson, B., Godden, S.M., Duffield, T.F., DeVries, J., Renaud, D.L., 2019. Assessment of selenium supplementation by systemic injection at birth on pre-weaning calf health. *The Bov. Prat.* 53, 44-53.
- Levander, O.A., Deloach, D.P., Morris, V.C., 1983. Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. *J. Nutr.* 113, 55–63. <https://doi.org/10.1093/jn/113.1.55>.
- Lorenz, I., 2004. Investigations on the influence of serum D-Lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis. *The Veterinary Journal*, 168, 323-327.
- Mehdi, Y., Dufranse, I., 2016. Selenium in cattle: a review. *Molecules.* 21, 545. <https://doi.org/10.3390/molecules21040545>.
- Mohri, M., Poorsina, S., Sedaghat, R., 2009. Effects of Parenteral Supply of Iron on RBC Parameters, Performance, and Health in Neonatal Dairy Calves. *Biol. Trace Elem. Res.* 136, 33–39, <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8514-7>.
- Mohri, M., Sarrafzadeh, F., Seifi, H., 2006. Effect of oral supplementation on hematocrit, live weight gain and health of neonatal dairy. *Iran. J. Vet. Med.* 14, 34-37. <https://dx.doi.org/10.22099/ijvr.2006.2678>.
- Mohri, M., Sarrafzadeh, F., Seifi, H., Farzaneh, N., 2004. Effects of oral iron supplementation on some haematological parameters and iron biochemistry in neonatal dairy calves. *Comp. Clin. Path.* 13, 39–42. <https://dx.doi.org/10.1007/s00580-004-0523-5>.
- Mohri, M., Shahrokh, P., Sedaghat, R., 2010. Effects of Parenteral Supply of Iron on RBC Parameters, Performance, and Health in Neonatal Dairy Calves. *Trace Elem. Res.* 136, 33–39. <https://dx.doi.org/10.1007/s12011-009-8514-7>.

- Mohri, M., Sharif, K., Eidi, S., 2007. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. *Res. Vet. Sci.* 83, 30- 39. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.10.017>.
- Mohri, M., Seifi, H.A., Khodadadi, J., 2005. Effects of preweaning parenteral supplementation of vitamin E and selenium on hematology, serum proteins, and weight gain in dairy calves. *Com. Clin. Pathol.* 14, 149–154. <http://dx.doi.org/10.1007/s00580-005-0581-3>.
- Murohara T., Ikeda H., Otsuka Y., Aoki M., Haramaki N., Katoh A., Takajo Y., Imaizumi T., 2004. Inhibition of platelet adherence to mononuclear cells by a-tocopherol: Role of P-selectin. *Circulation.* 110, 141-148. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000134485.30393.63>.
- Naylor, J. M. 1989. A retrospective study of relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *Canadian Veterinary Journal*, 30, 577-580.
- Necasova, A., Pechova, A., Bodor, R., Masar, M., Holasova, M., 2019. The evaluation of glutathione concentration in whole blood of Holstein dairy calves. *Acta Vet. Brno.* 88, 129-141. <https://doi.org/10.2754/avb201988020129>.
- Nemec, M., Hidroglou, M., Nielsen, K., Proulx, J., 1990. Effect of vitamin E and selenium supplementation on some immune parameter following vaccination against brucellosis in cattle. *J. Anim. Sci.* 68, 4303-4309. <https://doi.org/10.2527/1990.68124303x>.
- Netto, A.S., Zanetti, M.A., Claro, G.R., Melo, M.P., Vilela, F.G., Correa, L.B., 2014. Effects of copper and selenium supplementation on performance and lipid metabolism in confined brangus bulls. *Asian Austr. J. Anim. Sci.* 27, 488–494. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13400>.
- Neuenhaus, L.E.D., Zanetti, M.A., Madureira, E.H., Valvasori, E., 1999. Efeitos da suplementação oral de selênio e/ou vitamina E. *B. Ind. Animal.* 56, 213-218.
- Oliveira, C.S., Braunig, P., Krawczak, F., Labruna, M.B., Botton, S.A., Vogel, F.S.F., Sangioni, L.A., 2017. Detecção de proteínas imunorreativas de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica. *Pesq. Vet. Bras.* 37, 52-57. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000100009>.
- NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition National Academy of Sciences, Washington, D.C. USA.
- Olson, O. E., Palmer, L.S., Cary, EL., 1975. Modification of the official fluorometric method for selenium in plants. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58, 117-121.
- Ozbek, E., 2012. Induction of oxidative stress in kidney. *Int. J. of Nephrology.* 2012, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2012/465897>.
- Pare, J., Thurmond, M.C., Gardner, I.A., Picanso, J.P, 1993. Effect of birthweight, total protein, serum IgG and packed cell volume on risk of neonatal diarrhea in calves on two California dairies. *Can. J. Vet. Res.* 57, 241–6.

- Prodanovi, R., Kirovski, D., Vujanac, I., Dodovski, P., Jovanovic, L., Šamanc, H. 2014. Relationship between serum iron and insulin-like growth factor-I concentrations in 10-day-old calves. *Acta Vet. BRNO.* 83, 133–137. <http://dx.doi.org/10.2754/avb201483020133>.
- Prodanovic, R., Nedic, S., Radanovic, O., Milicevic, V., Vujanac, I., Bojkovski, J., Kureljusic, B., Arsic, S., Jovanovic, L., Kirovski, D., 2019. Occurrence of neonatal diarrhea in calves with iron-deficiency anemia. *Vet. Glasnik.* 73, 1-9. <https://doi.org/10.2298/VETGL181210011P>.
- Quigley, J.D., Wolfe, T.A., Elsasser, T.H., 2006. Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *J. Dairy Sci.* 89, 207–216. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72085-9](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72085-9).
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2006. *Veterinary Medicine, Textbook of the Disease of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, 10 ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Reddy, P. G., Morrill, J.L., Minocha, H.C, Morrill, M.B., Dayton, A.D., Frey, R.A., 1986. Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. *J. Dairy Sci.* 69:164. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(86\)80382-4](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(86)80382-4).
- Reddy, P.G., Morrill, J.L., Frey, R.A., 1987. Vitamin E requirements of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 70, 123–129. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)79987-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)79987-1).
- Reddy, P.G., Morrill, J.L., Frey, R.A., Morrill, M.B., Minocha, H.C., Galitzer, S.J., Dayton, A.D., 1985. Effects of supplemental vitamin E on the performance and metabolic profiles of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 68, 2259–2266. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81098-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81098-5).
- Reffett, J. K., Spears, J. W., Brown, T. T., 1987. Effect of dietary selenium on the primary and secondary immune responses in calves challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Nutr.* 118, 229-35.
- Reis, M.C., Costa, J.N., Peixoto, A.P.C., 2007. Efeito da idade e da suplementação oral com o acetato de DL-vitamina E sobre os níveis séricos de vitamina E sobre o proteinograma de bezerros. *Rev. Bras. Saúde Prod. Ani.* 8, 152-161.
- Rocha, T.G., Nociti, R.P., Sampaio, A.A.M., Fagliari, J.J., 2013. Hemograma e proteínas da fase aguda de bezerros sadios do nascimento aos 30 dias de idade. *Pesq. Vet. Bras.* 33, 25-31. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001300005>.
- Roquet, J., Nockels, C.F., Papas, A.M. 1992. Cattle blood plasma and red blood cell vitamina E levels in response to different chemical forms and routes of administration of vitamin E. *J. Ani. Sci.* 2542-2550. <https://doi.org/10.2527/1992.7082542x>.
- Rossi, R., Milzani, A., Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Lusini, L., Colombo, R., Di Simplicito, P., 2002. Blood glutathione disulfide: In vivo factor or in vitro artefact? *Clin. Chem.* 48, 742-753.

- Salles, M.S.V., Zanetti, M.A., Roma Junior, L.C., Salles, F.A., Azzolinic, A.E.C.S., Soares, E.M., Faccioli, L.H., Valim, Y.M.L., 2014. Performance and immune response of suckling calves fed organic selenium. *Ani. Feed Sci. and Tech.* 188, 28-35. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2013.11.008.
- Santra, A., Maiti, A., Chowdhury, A., Mazumder, D.N., 2000. Oxidative stress in liver of mice exposed to arsenic contaminated water, *Indian J. Gastr.* 19, 152–155.
- Seifi, H., Morhi, M., Shoorei, E., Farzaneh, N., 2006. Using haematological and serum biochemical findings as prognostic indicators in calf diarrhea. *Comparative Clinical Pathology*, 15, 143-147.
- Schalm, O.W., Jain, N.C.; Carrol, E.J., 1975. *Veterinary Hematology*. 3ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Zommara, M.A, Shams, A.S., Sayed-Ahmed, M.E, El-Nahrawy, M.M., 2020. Growth performance and immunity response of suckling friesan calves fed on ration supplemented with organic or nano selenium produced by lactic acid bacteria. *Egyptian J. Nut. and Feeds*, 23, 205-217. <https://dx.doi.org/10.21608/ejnf.2020.115085>.
- Sharma, N., Singh, N.K., Singh, O.P., Pandey, V., Verma, P.K., 2011. Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. *Asian-Austral. J. Anim. Sci.* 24, 479-84. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10220>.
- Shinde, P.L., Dass, R.S., Garg, A.K., 2009. Effect of vitamin E and selenium supplementation on haematology, blood chemistry and thyroid hormones in male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *J Anim. Feed Sci.* 18,241–56.
- Skrivanova, E., Marounek, M., De Smet, S., Raes, K., 2007 Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal. *Meat Sci.* 76, 495–500. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.003>.
- Spears, J. W., 2000. Micronutrients and immune function in cattle. *Proc. of the Nutr. Soc.*, 59, 587–594. <https://doi.org/10.1017/s0029665100000835>.
- Teixeira, A.G.V., Lima, F.S., Bicalho, M.L.S., Kussler, A., Lima, S.F., Felipe, M.J., Bicalho, R.C., 2014. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 97:4216–4226. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7625>.
- Trindade, H. I., Almeida, K. S., Souza, M. G., 2011. Frequência de *Anaplasma marginale* em bovinos da região de Araguaína, Estado do Tocantins, Brasil. *Ciência Animal*, 21, 119–125.
- Van Vleet, J. F., Crawley, R.R., Amstutz, H.E., 1977. Myodegeneration associated with selenium- vitamin E deficiency in a pregnant heifer. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171-443.
- Vannucchi, H., Moreira, E. A.M., Cunha, D. F., Junqueira Franco, M., V. M.; Bernardes, M. M., Jordão Junior, A. A., 1998. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema

- de defesa antioxidante. *Med.* 31, 31-34. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v31i1p31-44>.
- Wang, Y.X., Kiem, J., 1988. Effect of Selenium Supplementation on Platelet Selenium, Glutathione Peroxidase, and Aggregation. *Biologic. Trace Element. Res.* 15, 89-96. <https://doi.org/10.1007/bf02990128>.
- Weiss, W. P., Hogan, J. S., 2005. Effect of Selenium Source on Selenium Status, Neutrophil Function, and Response to Intramammary Endotoxin Challenge of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 88, 4366-4374. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73123-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73123-4).
- Weiss, W.P., Colenbrander, V.F, Cunningham, M.D., Callahan, C.J., 1983. Selenium/Vitamin E: Role in Disease Prevention and Weight Gain of Neonatal Calves. *J. Dairy Sci.* 66, 1101-1107. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(83\)81907-9](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(83)81907-9).
- Welchman, D. B., Whelehan, O.P., Webster, A.J.F., 1988. Hematology of veal calves reared in different husbandry systems and the assessment of iron deficiency. *Vet. Rec.* 123, 505–510. <https://doi.org/10.1136/vr.123.20.505>.
- Zarczynska, K., Baumgartner, W., Sobiech, P., 2017. Coagulology, biochemical profile and muscle pathology in calves diagnosed with nutritional muscular dystrophy. *Pol. J. Vet. Sci.* 20, 387–94. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0047>.
- Zarczynska, K., Sobiech, P., Radwinska, J., Rekawek, W., 2013. Effects of selenium on animal health. *J. Elemntol.* 18, 329–340. [10.5601/jelem.2013.18.2.1](https://doi.org/10.5601/jelem.2013.18.2.1)

CAPÍTULO III

3. Balanço de selênio e ferro em bezerros da raça Holandês em fase de aleitamento**RESUMO**

O manejo nutricional de bezerras leiteiras mostra-se essencial para que o sistema produtivo obtenha sucesso, pois influencia diretamente sobre a produção de leite futura. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da administração de selênio e ferro, em doses acima do recomendado, mas respeitando os limites máximos, sobre o status corporal dos referidos minerais, em bezerros da raça Holandês em fase de aleitamento, sendo estes minerais de grande importância para saúde animal. O experimento foi conduzido com 33 bezerros da raça Holandês distribuídos em três tratamentos: controle = sucedâneo + desafio imunológico; SSE = sucedâneo suplementado (0.3 mg selênio orgânico + 50 UI vitamina E/kg MS) + desafio imunológico e SSFE = sucedâneo suplementado (0.3 mg de selênio orgânico / kg MS + 50 UI vitamina E + 100 mg Fe quelato/kg MS) + desafio imunológico. O desafio imunológico foi realizado aos 40 dias de idade em todos os animais por meio de aplicação, via jugular, de solução contendo sangue com *Anaplasma marginale*. Antes de completar sessenta dias de idade, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais durante 5 dias, afim de se coletar amostras diárias de fezes e urina para a determinação do balanço de selênio e ferro. A ingestão de selênio foi maior nos animais que receberam os tratamentos SSE e SSFE ($P < 0.05$), sendo maior quantidade do mineral observada na urina dos animais que receberam o tratamento SSE ($P < 0.05$). A concentração de selênio no fígado e os níveis circulantes no soro sanguíneo foram maiores nos animais que receberam os tratamentos SSE e SSFE, sendo que o tratamento que continha ferro apresentou os maiores níveis circulantes do mineral. A deposição muscular de selênio foi maior nos animais que receberam o tratamento SSE ($P < 0.05$). A ingestão de ferro foi maior nos animais que receberam SSFE e a excreção via fezes, foi maior nos animais que receberam os tratamentos SSE e SSFE ($P < 0.05$), comparado ao controle. A excreção de ferro pela urina foi menor em SSFE ($P < 0.05$). No fígado foi observado uma maior concentração de ferro em SSFE ($P < 0.05$), comparado a SSE. Tanto, o balanço de selênio, quanto de ferro, foi positivo em ambos os tratamentos. Os animais que receberam os tratamentos experimentais apresentaram menores pesos do fígado ($P < 0.05$). A suplementação com selênio e ferro promoveu um aumento na absorção dos minerais, que refletiu em maior circulação sanguínea destes, levando a um balanço positivo. Há um aumento nas concentrações de selênio no

fígado dos animais suplementados. A suplementação de selênio promoveu uma maior retenção do mineral no músculo (*Longissimus dorsi*), entretanto, isto não é observado quando este é fornecido em conjunto com o ferro. A suplementação com ferro promoveu uma maior retenção corporal deste, quando este é fornecido em doses acima de 100 mg/kg MS.

Diante da importância dos referidos minerais para sanidade animal e, tendo em vista que a absorção destes foi melhorada nos animais suplementados, o fornecimento destes para bezerras em fase de aleitamento mostra-se como uma importante ferramenta para garantir o desenvolvimento saudável dos animais dentro do sistema produtivo.

Palavras chave: bezerras, desempenho, minerais, sanidade

ABSTRACT

The nutritional management of dairy calves is essential for the productive system to be successful, as it directly influences future milk production. Thus, the objective of this work was to evaluate the effects of the administration of selenium and iron, in doses above the recommended, but respecting the maximum limits, on the body status of the referred minerals, in lactating Holstein calves, being these minerals of great importance for animal health. The experiment was carried out with 33 Holstein calves distributed in three treatments: control = substitute + immunological challenge; SSE = supplemented substitute (0.3 mg organic selenium + 50 IU vitamin E/kg DM) + immune challenge and SSFE = supplemented substitute (0.3 mg organic selenium / kg DM + 50 IU vitamin E + 100 mg Fe chelate/kg DM) + immune challenge. The immunological challenge was performed at 40 days of age in all animals through the application, via jugular, of a solution containing blood with *Anaplasma marginale*. Before completing sixty days of age, the animals were housed in individual metabolic cages for 5 days, in order to collect daily samples of feces and urine to determine the balance of selenium and iron. Selenium intake was higher in animals that received SSE and SSFE treatments ($P < 0.05$), with a higher amount of the mineral observed in the urine of animals that received SSE treatment ($P < 0.05$). The concentration of selenium in the liver and the circulating levels in the blood serum were higher in the animals that received the SSE and SSFE treatments, and the treatment that contained iron had the highest circulating levels of the mineral. Muscular selenium deposition was higher in animals that received SSE treatment ($P < 0.05$). Iron intake was higher in animals receiving SSFE and excretion via feces was higher in animals receiving SSE and SSFE treatments ($P < 0.05$) compared to control. Urinary iron excretion was lower in SSFE ($P < 0.05$). In the liver, a higher concentration of iron was

observed in SSFE ($P < 0.05$), compared to SSE. Both selenium and iron balance were positive in both treatments. Animals that received the experimental treatments had lower liver weights ($P < 0.05$). Supplementation with selenium and iron promoted an increase in the absorption of minerals, which reflected in greater blood circulation of these, leading to a positive balance. There is an increase in selenium concentrations in the liver of supplemented animals. Selenium supplementation promoted greater retention of the mineral in the muscle (*Longissimus dorsi*), however, this is not observed when it is supplied together with iron. Iron supplementation promoted greater body retention when it is supplied in doses above 100 mg/kg DM.

In view of the importance of these minerals for animal health and, bearing in mind that their absorption was improved in supplemented animals, the supply of these to suckling calves is an important tool to ensure the healthy development of animals within the system productive.

Key words: minerals, health, heifers, performance

3.1 Introdução

A criação de bezerras é uma etapa de grande importância na atividade leiteira. É nesta fase onde bastante cuidado é demandado, visando garantir o bom desempenho dos animais, a partir da atenção dada à nutrição e saúde. O potencial produtivo das bezerras leiteiras, vai depender diretamente de como é manejada e cuidada durante seu desenvolvimento nos primeiros meses de vida. Sendo assim, a fase inicial da vida é importante para o desenvolvimento dos bezerros e determinados nutrientes, como o selênio, ferro e a vitamina E, são imprescindíveis para o desenvolvimento do sistema imunológico dos animais (Hugejiletu et al., 2013, Stewart et al., 2013, Khalili et al., 2019, Wysocka et al., 2020).

O selênio (Se) é classificado como um micronutriente essencial na nutrição de animais ruminantes, pois é fundamental para o crescimento, saúde e reprodução. Como componente da glutathione peroxidase, enzima envolvida na conversão do peróxido de hidrogênio em água, o suprimento do mineral se faz importante por ser necessário a manutenção do sistema antioxidante celular (NRC 2001, Salles et al., 2014, Necasova et al., 2019).

A absorção de selênio ocorre no intestino delgado e está diretamente relacionado com a forma na qual este é administrado, a quantidade ingerida e outros fatores relacionados a dieta, como por exemplo a presença de cálcio (Ca) e enxofre (S), que podem reduzir a absorção de selênio em até 50% (Surai, 2006, Guyot et al., 2007). Após absorvido o selênio é distribuído

entre vários órgãos, sendo encontrado em maiores concentrações nos rins e no fígado (Mehdi & Dufasne, 2016). Após a absorção, uma grande quantidade de selênio é diretamente direcionada ao fígado, que é um órgão de estocagem e, caso haja um excesso, este pode ser excretado por exalação na forma de metilselenol (cerca de 1%), urinária (1,9 – 2,7%) ou fecal. Uma parte de selênio pode ser excretada através da bile, sendo este importante para a reciclagem do mineral, apesar de contribuir significativamente para a concentração de selênio nas fezes de animais alimentados (Combs, 2015). Existe uma correlação entre o aumento na concentração de selênio na urina e a quantidade deste na dieta (Alhidary et al., 2015). O aumento relativo na excreção deste mineral na urina ocorre com o aumento na concentração de selênio na dieta, para diminuir a retenção de selênio e manter a homeostase (Burk & Hill, 2015). Comparado a animais monogástricos, ruminantes apresentam uma menor taxa de absorção de selênio devido a redução das formas biologicamente ativas ao passar pelo rúmem (Gerloff, 1992). Em bezerros, a absorção de selênio mostra-se tão eficiente quanto a absorção em animais não ruminantes (Jensen & Hidiroglou, 1986).

O ferro funciona principalmente como um componente do grupo heme encontrado na hemoglobina e na mioglobina, atuando também como cofatores de enzimas da cadeia de transporte de elétrons, citocromo oxidase, ferredoxina, mieloperoxidase, catalase e das enzimas do citocromo P-450. A deficiência de ferro resulta em anemia microcítica hipocrômica, devido à incapacidade de produzir hemoglobina, associada a respostas imunes depressivas e os bezerros ficam apáticos, diminuem a ingestão e o ganho de peso (NRC 2001, Grotto, 2008, Prodanovic et al., 2014).

A absorção do ferro ocorre no intestino delgado e esta, é definida de acordo com a necessidade do organismo, podendo ser afetada por fatores diversos como a idade, balanço do mineral no organismo e a fonte dietética. Quando há uma deficiência de ferro na dieta, há um aumento na expressão de transportares DMT1 nos enterócitos, facilitando assim as ligações com o ferro dietético (Moos et al., 2002). O controle da sensibilidade da mucosa foi demonstrado por (Roughead & Hunt, 2000), onde os autores observaram uma retenção de 60 para 9% quando as concentrações de ferro dietético aumentaram de 8 para 1.270 mg/kg MS em ratos. A diminuição dos níveis de ferro durante 24 horas foi suficiente para melhorar a absorção. A perda de ferro pelo organismo geralmente é pequena, sendo que a maior via de excreção deste mineral é pelas fezes, por descamação de células do tecido epitelial das mucosas e pelo ferro biliar que não foi absorvido. Uma menor quantidade do ferro é perdida por descamação cutânea e via urina. Além destas perdas, há também as perdas por infecções parasitárias (Anderson et al., 1990; Worwood, 1997). O estoque de ferro se dá principalmente

no fígado, baço e medula óssea, nas formas de ferritina e hemossiderina. (Fairbanks & Beutler, 2001). A hemossiderina é a forma de estocagem predominante quando o status de ferro está alto. Ela contém 35% de ferro, primeiramente em uma forma coloidal como hidróxido de ferro, e provavelmente resulta da agregação de moléculas de ferritina e subsequente desnaturação de suas proteínas (Kent & Bahu, 1979).

Os níveis adequados para a administração de selênio e ferro a dieta de bezerros de raça leiteiras ainda não estão claros. Estudos realizados nos últimos anos têm sugerido que, os valores recomendados para esta categoria possam ser extrapolados, trazendo benefícios ao animal em relação a saúde e desempenho. Ainda não há estudos relacionados ao status corporal de selênio e ferro, quando estes são acrescentados a dieta dos animais.

Diante disso, o objetivo o presente estudo foi avaliar os efeitos da administração de selênio e ferro, em doses acima do recomendado pelo NRC, (2001), sobre o status corporal dos referidos minerais, em bezerros da raça Holandês em fase de aleitamento. A hipótese é que o suprimento de selênio e ferro, em doses maiores possam: (1) aumentar o teor do mineral absorvido pelos animais e assim, aumentar os níveis circulantes dos mesmos na corrente sanguínea; (2) aumentar as reservas corporais de selênio e ferro proporcionando um balanço positivo; (3) melhorar a digestibilidade de nutrientes, devido a um melhor aproveitamento da dieta dos animais suplementados; (4) alterar as vias de excreção de selênio e ferro pela geração de excedente; (5) aumentar o acúmulo de selênio e ferro no fígado e músculo (*Longissimus dorsi*).

3.2 Material e Métodos

3.2.1. Animais, Dieta e Tratamentos

O ensaio de digestibilidade dos nutrientes e balanço metabólico dos minerais selênio e ferro foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia para o Agronegócio - APTA, localizada no município de Ribeirão Preto/SP - Brasil, nos meses de maio a outubro de 2019, com 33 bezerros machos da raça Holandês, pesando em média $61,22 \pm 8,20$ kg e com 57 ± 5 dias de idade. A utilização dos animais no presente estudo foi submetida a avaliação da comissão de ética no uso de animais (CEUA) do Instituto de Zootecnia e aprovada no dia 07/11/2018, protocolo nº 286 -18. Os animais foram obtidos de uma fazenda comercial com idades entre 1 e 6 dias de vida. Todos os animais receberam colostro logo após o nascimento, com o fornecimento de 4 litros de colostro de qualidade (Brix > 21%) por animal e, a partir do segundo dia vida, passaram a receber a mesma quantidade de colostro de segunda ordenha.

No dia da chegada a estação experimental, os bezerros foram alojados em uma baia coletiva, previamente preparada com cama de maravalha e desinfetada com cal virgem. Afim de se minimizar o estresse do transporte, cada animal recebeu 2 litros de soro eletrolítico (Calf Care®, DeLaval), via mamadeira e diluído em água morna conforme recomendações do fabricante. No dia seguinte, os bezerros foram distribuídos em casinhas individuais de madeira com cobertura de telhas de zinco do tipo sanduíche e piso de areia grossa. Os animais foram distribuídos, de acordo com cada tratamento experimental, sendo: controle = sucedâneo sem adição de selênio, ferro ou vitamina E, (n=10); SSE = sucedâneo contendo selênio orgânico + vitamina E (n=11) e SSFE = sucedâneo contendo selênio orgânico + vitamina E + ferro quelato (n=12).

A suplementação foi administrada por meio de cápsulas previamente manipuladas e adicionadas ao sucedâneo no momento de seu preparo diário. Foi utilizado como matéria prima na confecção das cápsulas, o selênio orgânico (Yes minerals®), ferro glicinato (BASF®), Lutavit 50 (BASF®). A quantidade de matéria prima contida nas cápsulas foi calculada visando complementar a quantidade de selênio, ferro e de vitamina E fornecidos pela ração farelada e sucedâneo e assim, garantir que os animais suplementados ingerissem as quantidades acima das exigências diárias, mas respeitando os limites máximos. Os valores referentes as fontes utilizadas, bem como, a quantidade de selênio, ferro e vitamina E fornecida por estas está apresentado na **Tabela 1**.

Tabela 1. Quantidade de selênio, ferro e vitamina E contidos nas cápsulas, de acordo com as respectivas fontes.

<i>fontes (mg)¹</i>		
selênio orgânico	ferro glicinato	vitamina E
22,72	284,96	136,32
<i>conteúdo (mg/animal/dia)</i>		
selênio	ferro	vitamina E
0,21	62,48	70,45

¹ (YES-minerals®) = 8434 mg de se/kg; ferro glicinato (BASF®) = 220 g de ferro/kg; Lutavit 50 (BASF®) = 517 g de vitamina E/kg.

O aleitamento foi realizado duas vezes ao dia sendo que, com 4 litros de sucedâneo por animal/dia. Foi utilizado sucedâneo comercial (Sprayfo®, Trouw Nutrition) diluído em água pré aquecida a 39°C a uma concentração de 1:6, conforme recomendação do fabricante. A água, fornecida aos animais continha 0,008 e 0,010 mg/L de selênio e ferro, respectivamente.

A dieta foi fornecida diariamente, em cocho de plástico com orifício voltado para dentro das gaiolas afim de se evitar as perdas e sub quantificar as sobras. O fornecimento foi reajustado de acordo com o consumo de cada animal, sendo que, quando observado a ausência de sobras por dois dias consecutivos, foi realizado um acréscimo de 10 % no fornecimento de ração. A composição bromatológica da dieta, está apresentada na **Tabela 2**.

Tabela 2. Composição química e bromatológica da dieta.

<i>Dieta</i>		
ingredientes (%)	concentrado	sucedâneo ²
fubá de milho	36,00	-
farelo de trigo	20,00	-
farelo de soja	40,00	-
Sal (<i>NaCl</i>)	1,00	-
premix ¹	3,00	-
<i>Composição química³</i>		
Matéria seca (%)	90,30	89,93
Proteína Bruta	25,67	20,53
Extrato etéreo	3,88	8,81
FDN	17,81	2,56
FDA	7,20	2,23
Carboidratos totais	63,75	62,98
Carboidratos não fibroso	36,25	37,02
Nutrientes digestíveis totais	86,11	91,23
Matéria mineral	6,70	7,68
Energia digestível (<i>kcal/kg MS</i>)	3,80	4,02
Energia metabolizável	3,11	3,30
selênio (<i>mg/kg MS</i>)	0,590	0,215
Ferro	141,07	237,53
α -tocoferol	46,04	101,86

¹ Núcleo bezerras: Cálcio, 270 g/kg; Cobalto, 25 mg/kg; Cobre, 840 mg/kg; Enxofre, 40 g/kg; Flúor, 500 mg/kg; Fósforo, 50 g/kg; Iodo, 50 mg/kg; Magnésio, 15g/kg; Manganês, 2500 mg/kg; Selênio, 25 mg/kg; Sódio, 55 g/kg; Virginamicina, 800 mg/kg; Vitamina A, 333.330 UI/kg, Vitamina D3, 33.330 UI/kg; Vitamina E, 1.210 UI/kg; Zinco, 3.360 mg/kg; ² PB = 200,00 g/kg; EE = 160,00 g/kg; Lactose = 460 g/kg; MM = 800 mg/kg; P = 5.000 mg/kg; Ca = 7.000 mg/kg; EM = 4178,00 kcal/kg; Vit. A = 2.500 UI; Vit. D3 = 5.000 UI; Vit. E = 80,00 mg/kg; Vit. K = 4,50 mg/kg; Vit. C = 158,00 mg/kg; Vit. B1 = 6,00 mg/kg; Vit. B2 = 6,00 mg/kg; Vit. B6 = 4,00 mg/kg; Vit. B12 = 80,00 mcg/kg; Ácido fólico = 1,00 mg/kg; Niacina = 50,00 mg/kg; Biotina = 0,10 mg/kg; Ácido pantotênico = 15,50 mg/kg; I = 2,00 mg/kg; Fe = 90,00 mg/kg; Mg = 300,00 mg/kg; Mn = 45,00 mg/kg; Se = 0,30 mg/kg; Zn = 84,00 mg/kg; Enterococcus faecum = 0,3 x 1010 UFC/g; Lactobacillus rhamnosus = 0,7 x 1010 UFC/g; ³ FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido;

3.2.2. Desafio Imunológico

O desafio imunológico foi realizado em todos os animais 40 dias após o início do experimento (D40), através da aplicação via jugular de 1 mL de solução contendo 1×10^7 hemácias infectadas com *Anaplasma marginale* por mL de sangue. A cepa utilizada (UFMG1) está registrada no GenBank (número EU676176). Oriundo do estado de Minas Gerais, o isolado foi obtido do sangue de um bezerro naturalmente infectado no município de Pará de Minas (Ribeiro et al., 1997) e apresenta baixa virulência (Bastos et al., 2010). A solução concentrada de sangue contendo a cepa, foi armazenada em criotubos de 5 mL imersos em nitrogênio líquido, juntamente com crioprotetor DMSO. No dia previsto para a inoculação, os criotubos contendo o material foram então descongelados e preparados em um laboratório localizado a aproximadamente 50 metros do bezerreiro e de acordo com o número de animais a ser inoculado no dia. Para a preparação do material, foi realizada a transferência de 15 microlitros de solução concentrada, com auxílio de uma micropipetadora, para eppendorfs previamente preparados e contendo 1 mL de solução de conservação. O material foi homogeneizado cuidadosamente e acondicionado em caixas de isopor com gelo para o transporte até as baias de cada bezerro. No local, os eppendorfs foram abertos e seu conteúdo foi retirado e aplicado com o uso de uma seringa e agulha.

3.2.3. Gaiolas Metabólicas, Coletas de Amostras e Análises Laboratoriais

O balanço metabólico dos animais se iniciou após realizada a inoculação, quando os animais passaram para as gaiolas metabólicas individuais, onde permaneceram durante 5 dias consecutivos, recebendo a dieta e água “*ad libitum*”, bem como, os tratamentos experimentais via sucedâneo. Passados os cinco dias de ensaio, os animais retornaram as casinhas individuais no bezerreiro.

As gaiolas metabólicas foram instaladas em local coberto, próximo ao bezerreiro, e preparadas antes início do experimento, sendo pintadas para evitar o contato dos animais com o metal. A base das gaiolas foi coberta com piso emborrachado para o escoamento correto da urina. Periodicamente, durante o ensaio, o piso era lavado com água corrente, a fim de se evitar que alguma sujidade contaminasse as amostras de urina.

A coleta de fezes foi realizada diariamente no período da manhã, antes do arraçoamento e fornecimento do sucedâneo, por meio de sacolas coletoras acopladas aos animais. As amostras foram pesadas em sua totalidade com balança digital e um total 10% foi retirado, armazenado em embalagens de alumínio, posteriormente congeladas a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao final do quinto dia de ensaio as amostras foram descongeladas, secas em estufa de ar forçado (55° por

72 horas) e moídas em moinho com peneiras de 1 mm. Foi feito um pool dessas amostras, posteriormente transferidas a sacos plásticos e direcionadas para análises.

A coleta de urina foi realizada por meio de baldes plásticos alocados abaixo de cada gaiola, sendo aferido o volume diário com uma proveta e retirada uma alíquota de 10 % do total, posteriormente armazenado em garrafas plásticas e congelada. Ao final do quinto dia, essas amostras foram descongeladas, homogeneizadas e um total de 300 mL foi transferido para frascos plásticos e congelados novamente a -20°C.

Amostras de água foram coletadas diariamente em potes plásticos de 300 mL e congeladas a - 20 °C. Um pool dessas amostras foi utilizado, resultando numa única amostra que foi enviada para o laboratório para análises de selênio e ferro.

Para a determinação dos níveis sanguíneos de selênio e ferro, amostras de sangue total foram coletadas em tubo de vácuo não heparinizado, via punção jugular, 60 dias após a chegada dos animais a estação experimental. As amostras foram então centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e uma alíquota de 5 mL de soro foi retirada para cada análise e armazenada em 2 eppendorfs de 2,5 mL que foram posteriormente mantidos em congelador - 20°C.

Ao final do período experimental, os animais foram abatidos, por meio de insensibilização com uso de pistola pneumática e posterior sangria, no abatedouro da Prefeitura do Campus USP “Fernando Costa”. As amostras de fígado foram coletadas e pesadas no local com uma balança digital, após remoção da vesícula biliar. Posteriormente, uma fração de 10 % do peso total do fígado foi coletada de porções dos lobos direito e esquerdo, armazenadas em sacos plásticos e congeladas a - 20 °C. As amostras de músculo (*longissimus dorsi*) foram coletadas em quantidade suficiente para a determinação dos níveis de selênio e ferro.

As análises bromatológicas da dieta, sucedâneo e das fezes foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP). Sendo que as amostras da dieta e do sucedâneo foram coletadas semanalmente e mantidas congeladas a - 20 °C. Após o final do experimento, foi feito um “pool” destas amostras para as análises. Estas foram pesadas e secas em estufa com ventilação de ar forçado a 65°C, durante 72 horas. Em seguida, foram moídas em moinho com peneira de orifício 2 mm, retirando-se uma sub amostra para análises da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), de acordo com AOAC (1996). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), foram determinados conforme Silva e Queiroz (2005). Os teores de carboidratos totais (CT), carboidratos não

fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia digestível (ED), energia metabolizável (EM), foram determinados pelas seguintes equações: $CT (\%) = 100 - (PB - EE - MM)$; $CNF (\%) = 100 - CT$; $NDT (\%) = 93.53 - (1.03 \times FDA)$; $ED (kcal/kg MS) = NDT \times 0.004409$; $EM (kcal/kg MS) = ED \times 0.82$.

A determinação dos níveis de selênio e ferro nas amostras da dieta, sucedâneo, fezes, urina, fígado, músculo e sangue foram realizadas no Laboratório de Minerais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos FZEA/USP) em Pirassununga-SP. Os níveis de selênio foram determinados por meio da digestão úmida (nítrico-perclórica) e posterior leitura fluorimétrica, segundo metodologia proposta por Olson et al. (1975) e os níveis de ferro foram determinados pela leitura em espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente. Os níveis de selênio e ferro na água foram determinados em laboratório Realiza Serviços Analíticos e Ambientais, no município de Ribeirão Preto - SP, pelo método USEPA 200.7 (SMEWW, 2017).

Para a determinação de vitamina E na dieta, foi utilizada a metodologia MA-119 (AOAC, 2005). Por este método, é adicionado BHT e ácido pirogálico a 3 gramas de amostra, juntamente com 30 mL de água destilada a 40 °C e 10 mL de glicerina e 0,2 gramas de Taka-Diastase. Após 15 minutos em agitador magnético, o material é levado em banho maria a 40 °C durante 30 minutos. Em seguida é adicionado hidróxido de potássio 14% e o material volta ao agitador magnético por mais 16 horas. É adicionado, após esse período, 40 mL de solução extratora e o material é agitado novamente. O material é então transferido para balão volumétrico de 250 mL e deixado em repouso até a separação das fases. A fase etérea (superior) é transferida para um funil de separação. Este processo é repetido por mais 3 vezes com a adição de solução extratora. Por fim é adicionado 100 mL de água deionizada ao funil, que contem os extratos, agitado e deixado até separação das fases. A fase etérea é filtrada através de sulfato de sódio em funil com algodão, recolhendo o filtrado num balão de 100 mL. A leitura é feita em HPLC isocrático com detector de fluorescência. A concentração de Vitamina E é então calculada através da curva de calibração.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CD_{ap}) dos nutrientes, foram determinados pela equação:

$$CD_{ap} = \frac{\text{ingerido} - \text{fezes}}{\text{ingerido}} \times 100$$

O balanço dos minerais selênio e ferro, calculados utilizando a equação:

$$BAL = ingerido - fezes - urina$$

onde:

CD ap. = coeficiente de digestibilidade aparente (%); *BAL* = balanço de selênio ou de ferro; *ingerido* = quantidade ingerida de selênio ou ferro (mg/ dia); *fezes* = quantidade de selênio ou ferro que não foram absorvidos (mg/ dia); *urina* = quantidade de selênio ou ferro (mg/ dia) que não foram retidos no organismo animal;

3.2.4 Análise Estatística

Os dados foram analisados considerando um delineamento inteiramente casualizado (DIC) conforme modelo a seguir:

$$y_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij},$$

onde:

y_{ij} = média observada; μ = constante; t_i = efeito do tratamento i ; ϵ_{ij} = erro aleatório ij ;

Os dados foram analisados usando SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Antes da análise propriamente dita, os dados foram explorados em busca de informações díspares ("outliers") e de normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). Uma observação individual foi considerada um outlier quando os desvios padrão sobre a média residual ou para o modelo foram maiores que +3 ou menores que -3. Os efeitos dos tratamentos nas variáveis foram ajustados por meio de modelos mistos lineares generalizados (PROC GLIMMIX) incluindo os efeitos fixos dos tratamentos. As médias dos mínimos quadrados foram relatadas para todas as variáveis avaliadas. Contrastes ortogonais pré planejados foram realizados para determinar o efeito da suplementação de Se + Vitamina E (SSE) e Se + Vitamina E + Fe (SSFE), onde: C1 = controle vs. SSE/SSFE e C2 = SSE vs. SSFE. Para todas as análises, as diferenças detectadas em $P \leq 0,05$ foram consideradas significativas e as diferenças em $0,05 < P < 0,10$ foram consideradas uma tendência à significância estatística.

3.3. Resultados

3.3.1 selênio

Os animais que receberam a suplementação com selênio apresentaram maior ingestão do mineral quando comparados ao controle ($P < 0,0001$). Não houve diferença significativa

entre os tratamentos SSE e SSFE para esta variável. A presença selênio nas fezes foi semelhante entre os tratamentos experimentais, bem como, em comparação ao controle ($P>0.05$), **Tabela 3**.

Na urina, a concentração de selênio foi maior nos animais que receberam os tratamentos SSE e SSFE em comparação ao controle ($P=0.0014$) sendo que, os maiores valores para a concentração do mineral na urina foram observados nos animais que receberam SSE ($P=0.0001$, SSE vs. SSFE).

Maiores concentrações de selênio foram observadas no fígado dos animais que receberam a suplementação do mineral (SSE e SSFE) em comparação ao controle, ($P<.0001$), não apresentando diferenças significativas entre os referidos tratamentos. Na amostra do músculo *Longissimus dorsi*, foi observada uma tendência de aumento na concentração do mineral quando os animais receberam os tratamentos SSE e SSFE ($P=0.0731$), sendo observado maiores concentrações no músculo dos animais que receberam SSE em comparação a SSFE ($P=0.0015$), **Tabela 4**.

Tabela 3. Balanço de minerais em bezerros da raça Holandês, suplementados com selênio e/ou ferro via sucedâneo.

selênio	tratamentos ¹			EPM ²	P-valor	contrastes ³	
	controle	SSE	SSFE			C ₁	C ₂
ingerido (mg/dia)	0.658	0.751	0.740	0.037	<.0001	<.0001	0.5572
fezes (mg/dia)	0.273	0.255	0.248	0.020	0.3926	0.1717	0.9741
absorção (%) ⁴	59.79	66.13	67.56	1.743	0.3331	0.1480	0.7509
urina (mg/dia)	0.251	0.364	0.252	0.016	<.0001	0.0014	0.0001
retido (mg/dia) ⁵	0.13	0.13	0.24	0.025	0.0059	0.0249	0.0151
retenção (%) ⁶	16.08	16.37	32.62	2.806	0.0026	0.0344	0.0041
<i>ferro</i>							
ingerido (mg/dia)	265.53	243.76	303.90	9.61	0.0168	0.6485	0.0048
fezes (mg/dia)	196.82	202.62	203.85	11.405	0.1153	0.0397	0.7735
absorção (%)	27.25	24.36	32.72	3.396	0.3499	0.8036	0.1570
urina (mg/dia)	1.576	1.749	1.060	0.119	0.0241	0.4130	0.0088
retido (mg/dia)	67.13	54.85	98.99	7.298	0.0191	0.4771	0.0068
retenção (%)	26.61	23.67	32.36	3.214	0.3185	0.7866	0.1402

¹ SSE = selênio + alfa-tocoferol, SSFE = selênio + alfa-tocoferol + ferro; ² EPM = erro padrão da média; ³ C₁ = controle vs. SSE/SSFE, C₂ = SSE vs. SSFE; ⁴ percentual de absorção do mineral em relação ao ingerido; ⁵ retido = ingerido (mg/dia) – fezes (mg/dia) – urina (mg/dia); ⁶ percentual de retenção do mineral em relação ao ingerido.

Tabela 4. Distribuição dos minerais nos tecidos de bezerros da raça Holandês, suplementados com selênio e/ou ferro via sucedâneo.

	tratamentos ¹				<i>P</i> -valor	contrastes ³	
	controle	SSE	SSFE	EPM ²		C ₁	C ₂
<i>selênio</i>							
fígado (mg/kg MS)	0.657	0.993	0.947	0.0438	<.0001	<.0001	0.2411
músculo (mg/kg MS)	0.282	0.459	0.291	0.0360	0.0024	0.0731	0.0015
sangue (mg/kg MO) ⁴	0.066	0.077	0.094	0.003	0.0005	0.0019	0.0026
<i>ferro</i>							
fígado (mg/kg MS)	202.88	137.18	197.36	16.931	0.0341	0.0371	0.0875
músculo (mg/kg MS)	38.97	39.47	42.29	1.424	0.7043	0.7167	0.4420
sangue (mg/kg MO) ⁴	158.14	183.67	198.00	13.592	0.4810	0.2563	0.6416
peso fígado (kg)	1.6518	1.3860	1.494	0.0615	0.1647	0.0790	0.4426

¹ SSE = selênio + alfa-tocoferol, SSFE = selênio + alfa-tocoferol + ferro; ² EPM = erro padrão da média; ³ C₁ = controle vs. SSESSFE, C₂ = SSE vs. SSFE; ⁴ nível sérico de selênio ou ferro nas amostras coletadas nos animais aos 60 dias de idade, MO = matéria original;

Os níveis circulantes de selênio foram maiores nos animais que receberam os tratamentos experimentais quando comparados ao controle (P=0.0019) sendo, os maiores valores foram observados em SSFE em comparação a SSE (P=0.0026).

Ambos aos tratamentos proporcionaram um balanço positivo de selênio, entretanto, para os animais que receberam SSE e SSFE, o nível de retenção de selênio foi maior em comparação ao controle (P=0.0249), sendo os maiores valores observados nos animais que receberam o tratamento SSFE em comparação a SSE (P=0.0151).

3.3.2. ferro

A ingestão de ferro foi maior nos animais que receberam o tratamento SSFE, em comparação aos que receberam o tratamento SSE (P=0.0048). Não houve diferença nas médias dos tratamentos experimentais em comparação ao controle.

Embora não significativo na análise de variância (P = 0.1153), o teste de contrastes mostrou que os animais que receberam SSE e SSFE apresentaram maiores níveis de ferro nas fezes, quando comparados ao controle (P=0.0397). As médias dos tratamentos não apresentaram diferenças entre si (P>0.05) para esta variável, **Tabela 3**.

A concentração de ferro na urina foi menor nos animais que receberam o tratamento SSFE, quando comparado ao tratamento SSE (P=0.0088), não diferindo estatisticamente, as médias dos tratamentos, em relação ao controle.

No fígado, foi observado uma menor concentração de ferro em SSE e SSFE quando comparado ao controle ($P=0.0371$), e tendência a ser menor em SSE em comparação a SSFE ($P=0.0875$). Não foram observadas diferenças significativas sobre a concentração de ferro no músculo.

Tabela 5. Médias de ingestão de matéria seca, de acordo com cada tratamento experimental (kg).

	Consumo (MS)	DP ¹	CV	IC	
				<i>min.</i>	<i>máx.</i>
<i>controle</i> ²					
concentrado	0,925	0,45	0,49	0,495	1,205
sucedâneo	0,594	0,02	0,01	0,539	0,600
total	1,518	0,46	0,30	1.257	1.780
<i>SSE</i>					
concentrado	0,7380	0,28	0,38	0,573	0,902
sucedâneo	0,5720	0,06	0,10	0,539	0,600
total	1,3100	0,32	0,24	1.130	1.490
<i>SSFE</i>					
concentrado	0,682	0,33	0,48	0,495	0,868
sucedâneo	0,599	.	.	0,597	0,600
total	1,280	0,33	0,26	1.093	1.468

¹ DP = desvio padrão, CV = coeficiente de variação e IC = intervalo de confiança;

² Tratamentos experimentais onde, SSE = selênio + vitamina E, SSFE = selênio + vitamina E + ferro;

Foi observado um balanço positivo de ferro em ambos os tratamentos, entretanto, os animais que receberam a suplementação do mineral (SSFE), apresentaram uma maior retenção deste em comparação a SSE ($P=0.0068$). Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos SSE e SSFE em comparação ao controle.

Os resultados observados sobre os níveis séricos de ferro, não apresentaram diferença estatisticamente, entre os tratamentos experimentais e em comparação ao controle ($P>0.05$), embora, os maiores níveis observados em SSFE, tenham sido superiores numericamente em comparação aos demais.

O peso do fígado apresentou uma tendência a menores valores nos animais que receberam os tratamentos SSE e SSFE, quando comparados ao controle ($P<0.079$). Não houve diferença entre SSE e SSFE para esta variável.

3.3.3. Ingestão e digestibilidades

As médias de consumo de matéria seca do sucedâneo do leite e da ração concentrada, de acordo com cada tratamento experimental, são apresentadas na Tabela 4.

A ADF e TC tenderam a valores menores quando comparados ao tratamento controle (0,0806 e 0,0844, respectivamente), não havendo diferença entre SEVITE e SEVITEFE.

Não foram observadas diferenças significativas para as demais variáveis analisadas, tanto entre os tratamentos experimentais quanto em relação ao controle (Tabela 5).

Tabela 6. Efeitos dos tratamentos experimentais sobre a ingestão e digestibilidade de nutrientes durante os cinco dias de ensaio.

	tratamentos ¹			EPM ²	P-valor	contrastes ³	
	controle	SSE	SSFE			C ₁	C ₂
<i>Ingestões (mg/kg MS)⁴</i>							
MS	1.518	1.310	1.280	0.110	0.2921	0.1234	0.8497
MM	0.107	0.093	0.092	0.008	0.3282	0.1425	0.8610
PB	0.357	0.307	0.298	0.029	0.3312	0.1462	0.8240
EE	0.088	0.079	0.079	0.005	0.3369	0.1435	0.9686
FDN	0.178	0.146	0.137	0.019	0.3219	0.1473	0.7355
FDA	0.079	0.066	0.062	0.008	0.3145	0.1429	0.7362
CNF	0.254	0.245	0.247	0.005	0.4451	0.2169	0.7669
CT	0.388	0.386	0.384	0.001	0.1207	0.0806	0.3330
NDT	0.962	0.868	0.859	0.005	0.3450	0.1500	0.9080
<i>digestibilidades aparentes (%)</i>							
MS	84.81	82.56	84.51	1.10	0.3078	0.3602	0.2096
MM	83.22	78.38	80.51	2.80	0.4920	0.2829	0.5903
PB	96.03	95.75	95.71	0.26	0.6236	0.3410	0.8984
EE	96.03	95.68	94.95	0.42	0.1903	0.1911	0.2238
FDN	85.74	79.74	83.45	2.16	0.1637	0.1366	0.2280
FDA	76.75	68.01	67.89	3.90	0.2189	0.0844	0.9827
CNF	86.85	86.04	85.61	1.02	0.6922	0.4340	0.7669
CT	48.77	50.91	57.61	5.21	0.4562	0.4071	0.3595
NDT	84.81	82.56	84.51	1.10	0.3078	0.3602	0.2096

¹ SSE = selênio + vitamina E, SSFE = selênio + vitamina E + ferro; ² EPM = erro padrão da média; ³ C₁ = controle vs. SSE/SSFE, C₂ = SSE vs. SSFE; ⁴ MS = matéria seca, MM = Matéria mineral, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN = fibra insolúvel em detergente neutro, FDA = fibra insolúvel em detergente ácido, CNF = carboidratos não fibrosos, CT = carboidratos totais, NDT = nutrientes digestíveis totais.

3.4 Discussão

Conforme esperado, a suplementação com selênio, em doses acima do recomendado, refletiu numa maior ingestão do mineral, aproximadamente 13 % para ambos os tratamentos,

o que refletiu num aumento na concentração do mineral observada no fígado desses animais, 51.14 e 44.14 %, para SSE e SSFE, respectivamente, em comparação ao controle, **Figura 1**.

A maior concentração de selênio no fígado, observada nos animais que receberam a suplementação com o mineral, já era esperada tendo em vista que, após a absorção, este é o primeiro órgão alcançado. Como os tratamentos experimentais proporcionaram maiores ingestões do mineral, a concentração destes também foi maior no referido órgão. No fígado, o selênio é metabolizado e, caso os requerimentos corporais de selenoproteínas sejam atendidos em totalidade, metabólitos menores são formados, a partir do excedente, e liberados via fezes e urina, as principais vias de excreção deste pelo organismo animal (NRC, 2001; BURK & HILL, 2015). A excreção de selênio está diretamente relacionada a ingestão deste (PEDROSA et al., 2012), sendo assim, como a ingestão foi maior nos tratamentos SSE e SSFE, esperava-se uma maior concentração de selênio nas fezes, entretanto, isto não ocorreu. Por outro lado, a concentração de selênio na urina foi maior nos animais que receberam o tratamento SSE, corroborando em parte com tal afirmação. Uma possível explicação para esta observação está na diferença das vias de excreção do selênio em relação ao atendimento dos requerimentos do mineral pelo animal. Após absorvido, moléculas contendo selênio podem ser empregadas em dois pools específicos, seja ele, para a incorporação em proteínas, no lugar de metionina, ou direcionado para a excreção ou retenção e, o que vai ditar isso é o suprimento fornecido pela dieta e sua capacidade de atender ou não as necessidades corporais de selenoproteínas (BURK & HILL, 2015). A partir destas observações pode se considerar que, no tratamento SSE, o suprimento de selênio foi suficiente para atender as necessidades corporais, gerando excedente, que resultou numa maior retenção muscular do mineral e maior excreção via urina, **Figura 1**.

Por outro lado, quando se observa o balanço de selênio no tratamento que continha ferro (SSFE), nota-se uma maior retenção do mineral 102,86 e 99,27%, em relação ao controle e SSFE, respectivamente (**Figura 1**). No entanto, este foi observado em maiores quantidades no soro sanguíneo destes animais, indicando um direcionamento ao pool de incorporação a selenoproteínas, não gerando muito excedente, indicando um equilíbrio na homeostase de selênio. Segundo BURK & HILL (2009), o selênio no soro sanguíneo é encontrado, em sua maioria, ligado a selenoproteínas, tais como, a selenoproteínas P1 (SEPP1) e glutathiona peroxidase.

De maneira geral, os resultados obtidos no presente estudo corroboram com a literatura (AWADEH et al., 1998; Skrivanová et al., 2007; SALLES et al., 2014). SALLES et al. (2014), administraram suplementação 0.8 mg/dia de selênio em bezerros da raça Holandês e

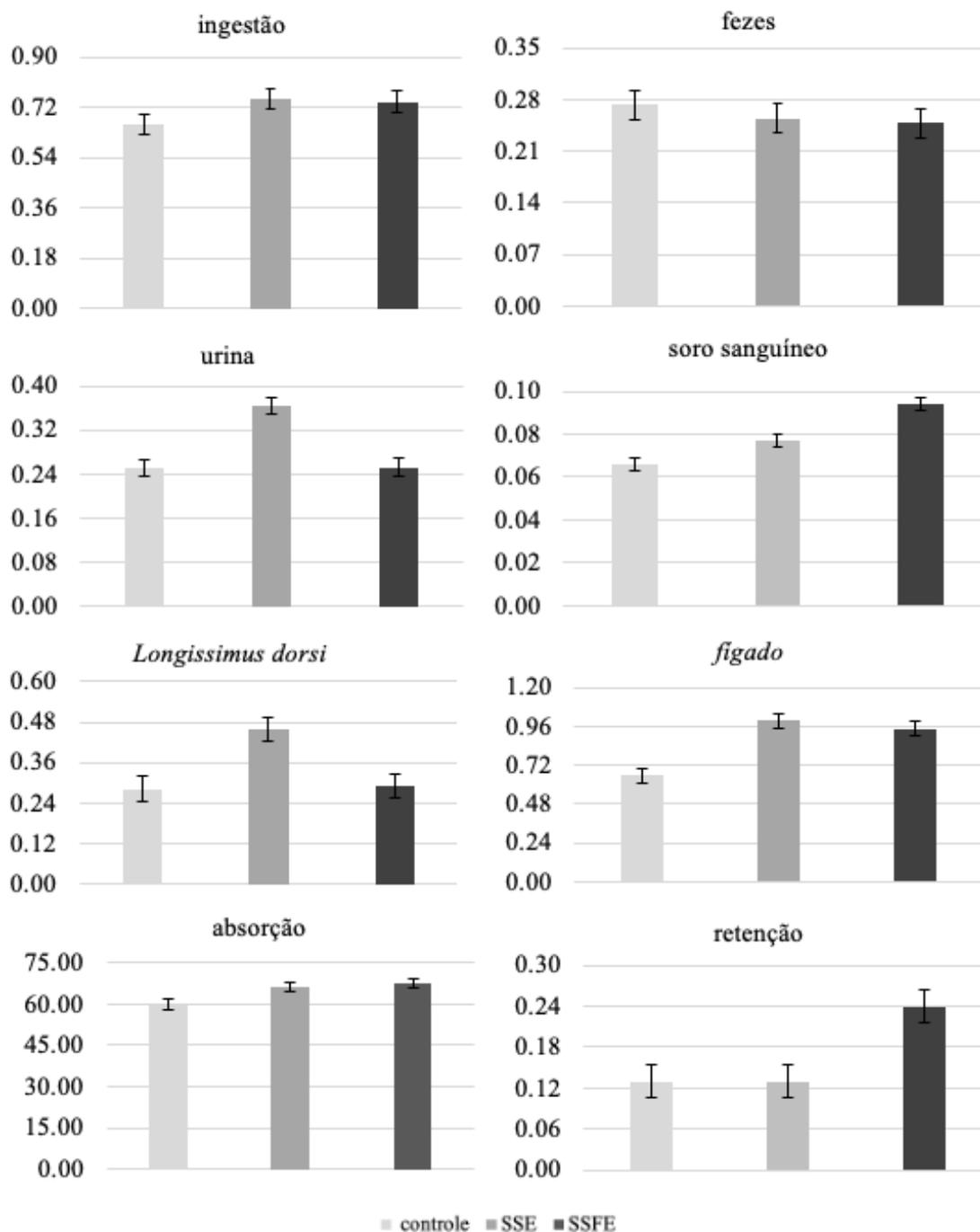


Figura 1. Ingestão, concentração sanguínea, níveis de selênio nas fezes e urina (mg/kg MS), retenção de selênio (mg/kg MS), taxa de absorção (%), concentração hepática (mg/kg MS), e músculo (mg/kg MS) dos animais alimentados com os tratamentos experimentais (controle, SSE = selênio + vitamina E e SSFE = selênio + vitamina E + ferro).

observaram mudanças significativas na ingestão do mineral, bem como o aumento nos níveis sanguíneos. AWADEH et al., (1998), observaram aumento significativo nas concentrações séricas do mineral quando os animais receberam doses crescentes de fonte inorgânica de

selênio, 20, 60 e 120 ppm, e este, foi ainda maior quando os animais receberam 60 ppm na forma orgânica. Skrivanová et al., (2007), observaram aumento significativo na concentração de selênio no músculo (*longissimus toraxis*) e fezes de bezerros suplementados com o mineral. No referido estudo, embora não tenha se observado aumentos significativos na concentração do mineral no fígado, estes foram 16% maiores em comparação ao controle, o que teria sido suficiente para a aumentar significativamente a atividade da GPX no órgão.

O acúmulo de selênio observado no músculo esquelético dos animais quando suplementados por este, pode ser interessante do ponto de vista de qualidade da carne e tempo de prateleira. As reações de oxidação lipídicas podem impactar diretamente na coloração, textura e valor nutricional da carne (Waschulewski & Sundde, 1988; Wirth et al., 2010), sendo a suplementação com selênio importante para minimizar esses efeitos. Por outro lado, do ponto de vista da saúde humana, o aumento dos níveis deste na carne podem significar o consumo de um alimento de melhor qualidade, pois a suplementação deste esta diretamente relacionada com o a redução da quantidade de gordura da carne, bem como, com a diminuição dos níveis de colesterol presente neste (Ebrahimi et al., 2009; Saran Netto et al., 2014).

A suplementação com ferro proporcionou um aumento de aproximadamente, 24% na ingestão de mineral em comparação a SSE, o que refletiu em maiores níveis de ferro circulante conforme esperado, aproximadamente 7,8 %, em comparação a SSE respectivamente (**Figura 2**). Resultados semelhantes foram observados na literatura, entretanto, a concentração de ferro circulante pode variar de acordo com a forma de administração (via oral ou injetado), fonte (orgânico ou inorgânico), status corporal de ferro, bem como da espécie animal (Kupczynski, et al., 2017). Asadi et al., 2022, em observou que cordeiros suplementados com fonte ferro orgânica do mineral apresentaram um aumento de aproximadamente 11.98 e 17.8% nos níveis de ferro na circulação sanguínea dos animais suplementados com 25 e 50 mg de ferro/dia. No entanto, Hecker et al., (2022), observaram um aumento de aproximadamente de 70 % nos níveis circulantes de ferro em bezerros suplementados, via colostro, com dose de 10 g de suplemento/litro de leite integral, em comparação aos animais sem suplementação.

Diferentemente do metabolismo do selênio, a regulação dos níveis corporais de ferro se dá através da modulação da absorção do mineral a nível intestinal. Em situações onde há excesso deste, nota-se uma diminuição na absorção intestinal de ferro e este, aliado a eliminação via fezes, ajuda na sua regulação. Em menores quantidades observa se uma excreção deste, via urina (Grotto, 2008; Vogt et al., 2021; Wysocka et al., 2020). Diante disto,

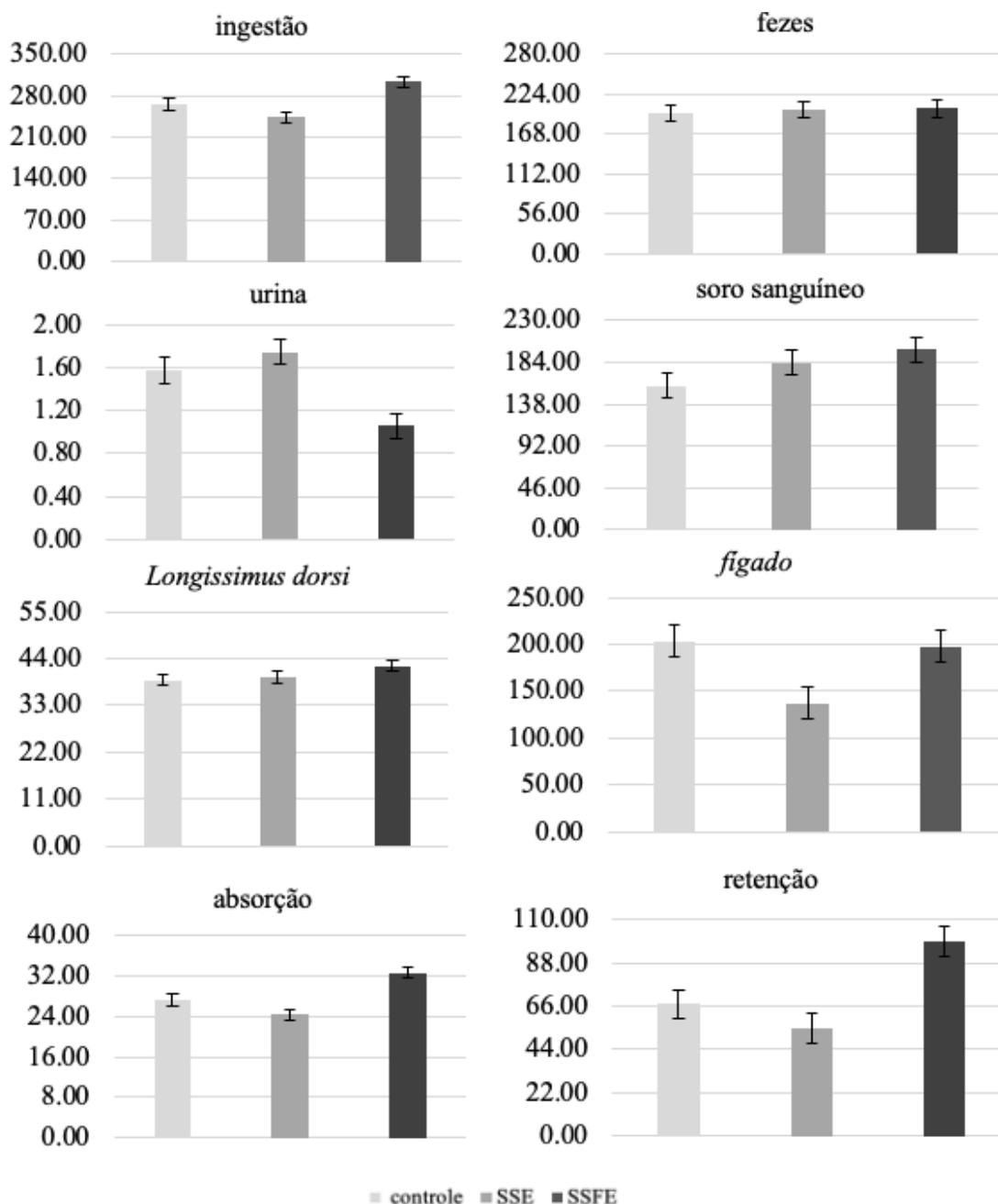


Figura 2. Ingestão, concentração sanguínea, níveis de ferro nas fezes e urina (mg/kg MS), retenção de ferro (mg/kg MS), taxa de absorção (%), concentração hepática (mg/kg MS), e músculo (mg/kg MS) dos animais alimentados com os tratamentos experimentais (controle, SSE = selênio + vitamina E e SSFE = selênio + vitamina E + ferro).

esperava-se uma maior presença de ferro nas fezes dos animais que receberam o tratamento SSFE, em relação a SSE, uma vez que este proporcionou uma maior ingestão de ferro, porém isto não ocorreu.

Quando se observam os resultados obtidos pelo tratamento que não continha ferro (SSE), a absorção deste foi numericamente menor, comparado aos valores obtidos por SSFE (**Figura 2**), e este, aliado a uma maior excreção via urina, bem como, tendência a menores concentrações metal no fígado, indicam que os mecanismos de regulação do ferro foram mais ativos no referido tratamento em relação a SSFE. Por outro lado, quando houve a suplementação com ferro, a retenção do mineral foi maior em SSFE, quando comparado a SSE, sendo este observado em concentrações numericamente superiores no soro sanguíneo dos animais que receberam o referido tratamento. Azevedo et al. (2014), observaram que bezerros de raça leiteira, abatidos aos 60 dias de idade, apresentaram peso do fígado de 1580.70 gramas, valores acima do encontrados no presente estudo, para SSE e SSFE, e abaixo do que foi observado no controle (1.750,80 g).

MacGhee et al., (2016), testando os efeitos a subnutrição de bezerros da raça Holandês, observaram que o tamanho fígado dos animais que receberam a dieta com menor teor de proteína, foi menor em comparação aos demais, 871.2 versus 2106.60 g, respectivamente, aos 60 dias de idade. Segundo os autores, quanto menor for o tamanho do fígado, menor será a produção e a circulação sanguínea de IGF-I, comprometendo o crescimento dos bezerros. Poucos estudos tem sido realizados com a suplementação de selênio para bezerros e seus efeitos sobre a digestibilidade de nutrientes, entretanto, um aumento na porção digerida destes foi relatada em animais adultos suplementados com o referido mineral. Wang et al., (2009), testando os efeitos da suplementação em doses crescentes de selênio-leveduras a dieta de vacas leiteiras, observaram um aumento quadrático na digestibilidade dos nutrientes estudados, inclusive o extrato etéreo contrastando com o presente estudo. Resultados semelhantes também foram observados por Wei, et al. (2019), Liu et al. (2007), com novilhas de corte e Alimohamady et al. (2013), o qual relataram melhora na digestibilidade de ovinos quando suplementados com fontes de selênio.

Uma possível causa da divergência com o presente estudo está no fato de bezerros ainda não apresentarem um rúmen funcional, estando ainda em fase de transição. Os resultados observados nos trabalhos citados estão relacionados a uma melhora no ambiente ruminal e aumento na produção de AGV's, quando da suplementação com selênio.

3.5 Conclusões

Diante da importância dos referidos minerais para sanidade animal e, tendo em vista que a absorção destes foi melhorada nos animais suplementados, seu fornecimento junto a

dieta bezerras em fase de aleitamento mostra-se como uma importante ferramenta para garantir o desenvolvimento saudável dos animais dentro do sistema produtivo.

3.6 Referências Bibliográficas

- Alhidary, I. A., Shini, S., Al Jassim, R. A. M., Abudabos, A., Gaugha, J. B. 2015. Effects of selenium and vitamin E on performance, physiological response, and selenium balance in heat-stressed sheep *Journal of Animal Science*. 93, 576–588. doi:10.2527/jas2014-8419.
- Alimohamady, R., Aliarabi, H., Bahari, A., Dezfoulian, A. H. 2013. Influence of different amounts and sources of selenium supplementation on performance, some blood parameters, and nutrient digestibility in lambs. *Biological Trace Elements Research*. 154, 45-54.
- Anderson, G. J., Powell, L. W., Halliday, J. W. 1990. Transferrin receptor distribution and regulation in the rat small intestine: Effect of iron stores and erythropoiesis, *Gastroenterology*, 98, 576-585, [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(90\)90276-7](https://doi.org/10.1016/0016-5085(90)90276-7).
- Asadi M, Toghdory A, Hatami M, Ghassemi Nejad J. 2022. Milk Supplemented with Organic Iron Improves Performance, Blood Hematology, Iron Metabolism Parameters, Biochemical and Immunological Parameters in Suckling Dalagh Lambs. *Animals (Basel)*, 12, 510. doi: 10.3390/ani12040510.
- Azevedo, R. A.; Duarte, D. V. L; Soares, A. C. M; Oliveira, N. J. F.; Coelho, S. G.; Duarte, E. R.; Geraseev, L. C., 2014. Desenvolvimento de bezerros leiteiros alimentados com silagem de leite de transição. II - Órgãos internos *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66, 505-509. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-41626624>.
- Awadeh, F.T., Kincaid, R.L., Johnson, K.A., 1998. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *Journal of Animal Science*. 76, 1204–1215. <https://doi.org/10.2527/1998.7641204x>.
- Burk, R.F. & Hill, K.E, 2015. Regulation of Selenium Metabolism and Transport. *Annual Review of Nutrition*. 35, 109-34.
- Burk, R.F. & Hill, K.E., 2009. Selenoprotein P - Expression, functions and roles in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790, 11, 1441–1447. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.03.026>.
- Combs, G. F. Jr. 2015. Biomarkers of selenium status. *Nutrients*. 31, 2209-36. doi: 10.3390/nu7042209.
- Connor, E.E., Kahl, S., Elsasser, T.H. et al., 2010. Enhanced mitochondrial complex gene function and reduced liver size may mediate improved feed efficiency of beef cattle during compensatory growth. *Functional and Integrative Genomics* 10, 39–51. <https://doi.org/10.1007/s10142-009-0138-7/annurev-nutr-071714-034250>.

- Ebrahimi, M., Towhidi, A., Nikkhah, A., 2009. Effect of organic selenium (Sel-Plex) on thermometabolism, blood chemical composition and weight gain in Holstein suckling calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(7), 984-992. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80698>.
- Fairbanks, V. F., Beutler E. 2001. Iron metabolism. In : Beutler E , Lichtman MA , Collier BS, et al . , eds . *Williams ' hematology*, 6th ed, 295–304.
- Gerllof, B.J., 1992. Effect if selenium supplementation on dairy cattle. *J. Ani. Sci.* 70, 3934–3940. <https://doi.org/10.2527/1992.70123934x>.
- Grotto, H. Z. W. 2008. Iron metabolism: an overview on the main mechanisms involved in its homeostasis. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 30, 390-397. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000500012>.
- Guyot, H., Spring, P., Andrieu, S., Rollin, F., 2007. Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livest. Sci.* 111, 259–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2007.04.018>.
- Hecker OC, Schröter I, Rienhoff A, Thönnissen A, Meininghaus E, Burkert S, Mergenthaler M, Boelhauve M. 2022. The Combined Effect of IgG and Fe Supply and Feeding Management on Growth Rates of Calves on Eight Commercial Dairy Farms in Germany. *Animals (Basel)*. 28;12(7):850. doi: 10.3390/ani12070850.
- Hugejiletu, H., Bobe, G., Vorachek, W. R., Gorman, M. E., Mosher, W. D., Pirelli, G. J., Hall, J. A. 2013. Selenium supplementation alters gene expression profiles associated with innate immunity in whole-blood neutrophils of sheep. *Biol Trace Elem Res.* 154, 28-44. doi: 10.1007/s12011-013-9716-6.
- Hunt, J. R. and Zamzam K. 2000. “Adaptation of iron absorption in men consuming diets with high or low iron bioavailability.” *The American journal of clinical nutrition* 71,94-10.
- Kent, G. and Bahu, R. M. 1979. Iron overload. In: *Pathology of the Liver*, RNM MacSween, PP Anthony, and PJ Scheuer (eds). Chur-chill Livingstone, New York, pp. 148-163.
- Khalili, Mohsen, et al. 2019. "The effect of feeding inorganic and organic selenium sources on the hematological blood parameters, reproduction and health of dairy cows in the transition period." *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 42. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v42i1.45371>.
- Kupczynski, R., Bednarski, M., Spitalniak, K., Pogoda-Sewerniak, 2012. Effects of Protein-Iron Complex Concentrate Supplementation on Iron Metabolism, Oxidative and Immune Status in Prewaning Calves. *International Journal of Molecules Science.* 18, 1501. doi:10.3390/ijms18071501.
- Liu, Q., Huang, Y. X., Wang, C., Dong, S., Lin, W. A. 2007. Effects of selenium yeast on nutrient metabolism and serum physico-chemical parameters in Simmental steer. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 19, 379–385.

- MacGhee ME, Bradley JS, McCoski SR, Reeg AM, Ealy AD, Johnson SE. 2017. Plane of nutrition affects growth rate, organ size and skeletal muscle satellite cell activity in newborn calves. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*. 101, 475-483. doi: 10.1111/jpn.12568.
- Mehdi, Y. & Dufrasne, I. 2016. Selenium in Cattle: A Review. *Molecules*. 21, 545. doi: 10.3390/molecules21040545.
- Moos, T. and Morgan, E.H., 2004. The significance of the mutated divalent metal transporter (DMT1) on iron transport into the Belgrade rat brain. *Journal of neurochemistry*, 88, 233-245. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02142.x>
- Moosavian, H.R.; Mohri, M.; Seifi, H.A., 2010. Effects of parenteral over-supplementation of vitamin A and iron on hematology, iron biochemistry, weight gain, and health of neonatal dairy calves. *Food and Chemical Toxicology*. 48, 1316–1320. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.02.030>.
- Moriel, P.; Johnson, S. E.; Vendramini, J. M. B.; McCann, M. A.; Gerrard, D. E.; Mercadante, V. R. G.; Hersom, M. J.; Arthington, J. D., 2014: Effects of calf weaning age and subsequent management systems on growth performance and carcass characteristics of beef steers. *Journal of Animal Science* 92, 3598–3609.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 6. ed. Washington: Academy Press, 2001.
- Necasova, A., Pechova, A., Bodor, R., Masar, M., Holasova, M., 2019. The evaluation of glutathione concentration in whole blood of Holstein dairy calves. *Acta Vet. Brno*. 88, 129-141. <https://doi.org/10.2754/avb201988020129>.
- Netto, A. S.; Zanetti, M. A.; Del Claro, G. R.; Melo, M. P.; Vilela, F. G.; Correa, L. B. 2014. Effects of Copper and Selenium Supplementation on Performance and Lipid Metabolism in Confined Brangus Bulls. 27, 488-494. <http://dx.doi/10.5713/ajas2013.13400>.
- Olson, O. E., Palmer, L.S., Cary, EL., 1975. Modification of the official fluorometric method for selenium in plants. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58, 117-121.
- Pedrosa, L.F.C.; Motley, A.K.; Stevenson, T.D.; Hill, K.E.; Burk, R.F. 2012. Fecal selenium excretion is regulated by dietary selenium intake 1. *Biological Trace Element Research*, 149, 377–381. DOI: 10.1007/s12011-012-9430-9.
- Prodanovic, P. R., Rovski, D. Ki, Vujanac I., Dodovski P., Jovanovic L., šamanc H. 2014. Relationship between serum iron and insulin-like growth factor-I concentrations in 10-day-old calves. *Acta Vet. Brno*, 83, 133-137. DOI: 10.2754/avb201483020133
- Ribeiro, T. R., Pereira, J. C., Leão, M. I., Oliveira, M. V. M., Queiroz, A. C., Cecon, P., R., Alvarenga e Melo, R. C., 2001. Tamanho de órgãos e vísceras de bezerros holandeses, para produção de vitelos, recebendo dietas com diferentes níveis de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30, 2163-2168.

- Salles, M.S.V., Zanetti, M.A., Roma Junior, L.C., Salles, F.A., Azzolinic, A.E.C.S., Soares, E.M., Faccioli, L.H., Valim, Y.M.L., 2014. Performance and immune response of suckling calves fed organic selenium. *Ani. Feed Sci. and Tech.* 188, 28-35. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2013.11.008.
- Skrivanova, E., Marounek, M., De Smet, S, Raes, k., 2007. Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal. *Meat Science*, 76, 495-500. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.003>.
- Staniek, H.; Wójciak, R.W. The combined effects of iron excess in the diet and chromium (III) supplementation on the iron and chromium status in female rats. *Biological Trace Element Research*. 2018, 184, 398–408. DOI: 10.1007/s12011-017-1203-z.
- Stewart, W. C, Bobe, G., Vorachek, W. R., Stang, B. V., Pirelli, G. J., Mosher, W. D., Hall, J. A. 2013. Organic and inorganic selenium: IV. Passive transfer of immunoglobulin from ewe to lamb, *Journal of Animal Science*, 91, 1791–1800. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5377>.
- Surai, P.F. (2006) *Selenium in Nutrition and Health*. (Nottingham, Nottingham University Press), 86, 270.
- Vogt, A. S; Arsiwala, T.; Mohsen, M.; Vogel, M.; Manolova, V.; Bachmann, M. 2021. On iron metabolism and its regulation. *International Journal of Molecules Science*. 22, 4591. <https://doi.org/10.3390/ijms22094591>.
- Waschulewski, I. H. & Sunde, R.A., 1988. Effect of dietary methionine on utilization of tissue selenium from dietary selenomethionine for glutathione peroxidase in the rat. *Journal of Nutrition*. 118, 367–74. <https://doi.org/10.1093/jn/118.3.367>.
- Wang, C., Liu, Q., Yang, W. Z., Dong Q., Yang, X. M., He, D. C., Zhang, P., Dong, K. H., Huang, Y. X. 2009. Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. *Livestock Science* 126, 239–244.
- Wirth, E. K., Conrad, M., Winterer, J., Wozny, C., Carlson, B. A., 2010. Neuronal selenoprotein expression is required for interneuron development and prevents seizures and neurodegeneration. *FASEB Journal*. 24, 844–851. <https://doi.org/10.1096/fj.09-143974>.
- Wei, J. Y, Wang, J., Liu, W., Zhang, K. Z., Sun, P. 2019. Short communication: Effects of different selenium supplements on rumen fermentation and apparent nutrient and selenium digestibility of mid-lactation dairy cows, *Journal of Dairy Science*. 102, 3131-3135. Doi:10.3168/jds.2018-15455.
- Worwood, M. 1997. Influence of disease on iron status. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56, 409-419. doi:10.1079/PNS19970042.
- Wysocka, D.; Snarska, A.; Sobiech, P., 2020. Iron in cattle health. *Journal of Elementology*. 25, 1175-1185. DOI: 10.5601/jelem.2020.25.2.1960.

4 Considerações Finais

A suplementação com selênio, ferro e vitamina E, para bezerras em fase de aleitamento, mostra-se de grande importância para o setor produtivo, tendo em vista que o emprego deste influencia diretamente no status nutricional e na sanidade dos animais, aperfeiçoando o sistema imune e, conseqüentemente, aumentando a resistência a doenças.

Embora, os resultados tenham mostrado a eficácia da referida suplementação, mais trabalhos são necessários afim de se definir a quantidade exata, a qual os referidos minerais devem ser fornecidos, visando garantir o máximo de desempenho dos animais.

A proposta do presente estudo foi avaliar os níveis de inclusão de selênio, ferro e vitamina E, em doses acima do recomendado pelo NRC, 2001 (0,3 mg/kg, 100 mg/kg e 50 UI, respectivamente) e assim, verificar os supostos benefícios proporcionados por estes. Entretanto, uma nova versão do NRC foi publicada em 2021, não havendo alteração nas referidas recomendações. Ambas as foram baseadas em estudos com a utilização de animais adultos, o que reflete uma abundância de estudos nesta categoria animal e escassez de estudos com animais em fase de aleitamento. Mais estudos são necessários para se avaliar as doses adequadas a animais jovens e assim potencializar os efeitos das referidas suplementações sobre a resposta imune e desempenho.