

## AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FÓSFORO EM RUMINANTES POR MEIO DE BIOQUÍMICA SÉRICA

[*Evaluation of phosphorus deficiency in ruminants by serum biochemistry*]

Amélia Lizziane Leite Duarte<sup>1</sup>, Mônica Lorainy de Souza Pires<sup>2</sup>, Raquel Ribeiro Barbosa<sup>3</sup>, Regina Valéria da Cunha Dias<sup>4</sup>, Benito Soto-Blanco<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB.

<sup>2</sup> Médica veterinária, Natal, RN.

<sup>3</sup> Médica veterinária, Pedro Avelino, RN.

<sup>4</sup> Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, RN.

**RESUMO** - Uma das mais importantes causas de baixo desempenho produtivo em ruminantes está associada a deficiências minerais na dieta. Diversos elementos podem ser afetados, mas a deficiência de fósforo é a mais frequente no Brasil. Desta forma, o presente trabalho objetivou determinar a ocorrência de deficiência de fósforo em ruminantes no município de Mossoró, região oeste do Estado do Rio Grande do Norte, utilizando a avaliação bioquímica sérica como forma prática, rápida e econômica de diagnóstico. Foram coletadas amostras de sangue de 72 bovinos (vacas leiteiras) de 9 propriedades, 50 ovinos e 50 caprinos de 5 fazendas distintas localizados na periferia da cidade de Mossoró, RN. Nestas amostras, foram determinadas as atividades de fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase, e as concentrações de fósforo, cálcio e proteínas totais. Os resultados obtidos revelaram deficiência de fósforo nas três espécies animais avaliadas, e comprovaram a necessidade de adequada suplementação deste mineral na região avaliada. A avaliação bioquímica sérica utilizada demonstrou ser eficaz para a determinação da deficiência de fósforo, tratando-se de um sistema mais rápido e barato que as técnicas de avaliação tradicionalmente utilizadas.

**Palavras-Chave:** Carência mineral, fósforo, bovinos, ovinos, caprinos.

**ABSTRACT** - One of most important reasons for low productive performance in ruminants is mineral deficiency in the diet. Several elements can be affected, but phosphorus is the most frequent deficiency in Brazil. Thus, the present work aimed to determine the occurrence of phosphorus deficiency in ruminants at Mossoró city, west region of Rio Grande do Norte (RN) state, Brazil, using serum biochemistry assay as a practice, fast and cheap tool for diagnostic. It were collected blood samples from 72 bovines (dairy cattle) from 9 farms, 50 sheep and 50 goats from 5 farms each, localized at Mossoró city periphery, RN. In these samples it were measured the activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase and concentrations of phosphorus, calcium and total proteins. The obtained results revealed phosphorus deficiency in all three evaluated species, and corroborate to the need of adequate supplementation of this mineral at evaluated region. The utilized serum biochemistry panel proved to be efficient for determination of phosphorus deficiency, being a way faster and cheaper than traditionally used evaluation techniques.

**Keywords:** Mineral deficiency, phosphorus, cattle, sheep, goats.

### INTRODUÇÃO

Uma das mais importantes causas de baixo desempenho produtivo em ruminantes está associada a dietas com baixa disponibilidade de algum mineral. Estas deficiências podem ser de severidade variada, inclusive podendo acarretar manifestações clínicas nos animais (Tokarnia et al., 2000). Deste modo, as deficiências minerais representam impacto

econômico na produção animal, uma vez que animais que apresentem deficiência mineral possuem importante redução nos índices produtivos (Radostitis et al., 2002). Neste sentido, diversos trabalhos foram realizados visando avaliar os estados de carência nutricional de minerais nos ruminantes em muitas regiões do Brasil (Tokarnia et al., 1970; Moraes, 1998; Moraes et al., 1999; Tokarnia et al., 2000; Pinheiro et al., 2011; Silva et

al., 2011), mas esta avaliação ainda não havia sido realizada no Rio Grande do Norte.

Dentre as deficiências minerais, a mais importante em todo o Brasil é, indiscutivelmente, a de fósforo (Tokarnia et al., 2000), diagnosticada inicialmente em 1943 em Minas Gerais (Gióvine, 1943; Menicucci Sobrinho, 1943). A deficiência de fósforo nos jovens resulta em crescimento lento, apetite diminuído e debilidade. Em adultos, a produção leiteira é reduzida, os ossos tornam-se frágeis devido a osteomalácia, e o consumo alimentar insuficiente. Pode ocorrer anestro e baixas taxas de concepção, mas não há redução do teor de fósforo do leite. Embora a depravação do apetite ocorra frequentemente na deficiência de fósforo, esse sintoma não é específico (Call et al., 1986; McDowell et al., 1993).

Para que se possa realizar a correção da deficiência mineral, é necessária sua correta identificação. Muitos trabalhos confirmam a deficiência de um mineral por meio da avaliação do desempenho produtivo, em especial do ganho de peso, em animais que receberam a suplementação do mineral suspeito (Riet-Correa et al., 1993; Tokarnia et al., 2000; Marques et al., 2003; Silva et al., 2011). Entretanto, esta técnica de avaliação torna-se bastante onerosa e requer muito tempo (geralmente de 1 a 12 meses) para realização. Por outro lado, a avaliação do estado de nutrição mineral através da determinação bioquímica utilizando amostras de sangue se torna extremamente útil, permitindo a obtenção de resultados mais rapidamente e com maior eficiência e economia de recursos financeiros. De fato, os níveis séricos de minerais, incluindo cálcio e fósforo, são influenciados diretamente pela composição da dieta (Marten, 1995). Para isto, esta avaliação bioquímica deverá ser rigorosamente avaliada e testada para que se possa confirmar a validade e confiabilidade.

Devido à falta de informações a respeito da ocorrência de deficiência de fósforo em ruminantes no Rio Grande do Norte, faz-se necessária a realização de trabalhos que avaliem a ocorrência desta deficiência mineral, especialmente porque a maioria dos solos deste estado são reconhecidamente ricos em cálcio e pobres em fósforo (Brasil, 1971), o que propicia a ocorrência da deficiência nos animais. Desta forma, o presente trabalho objetivou determinar a ocorrência de deficiência de fósforo em ruminantes no município de Mossoró, região oeste do Estado do Rio Grande do Norte. Para isto, foi utilizado como forma de diagnóstico a avaliação bioquímica sérica em bovinos, ovinos e caprinos, como forma prática, rápida e econômica de diagnóstico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 72 bovinos (vacas leiteiras) de 9 propriedades, 50 ovinos e 50 caprinos, SRD, de 5 fazendas distintas localizados na periferia da cidade de Mossoró, independentemente do sexo do animal. Feitas as coletas sanguíneas com os devidos procedimentos higiênicos, numa quantidade de aproximadamente 3mL, em seringas e transferidos para tubos de ensaio sem anticoagulante.

O material foi levado ao laboratório, centrifugado, e separado o soro. As amostras de soro foram acondicionadas individualmente em tubos para micro-centrífuga, identificadas e armazenadas em congelador (cerca de  $-10^{\circ}\text{C}$ ) até o momento das análises bioquímicas. Foram determinadas as atividades séricas de fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), e as concentrações de fósforo, cálcio e proteínas totais. Exceto para as proteínas totais, as determinações bioquímicas foram realizadas utilizando kits comerciais específicos (DOLES®, Goiânia, GO) e um espectrofotômetro (ANALYZER®); foram seguidas as instruções constantes nos manuais dos kits. A determinação da concentração de proteínas totais foi realizada com o auxílio de refratômetro (QUIMIS®, Diadema, SP).

Foram calculadas as médias com seus respectivos desvios-padrão para cada substância analisada em cada propriedade. As diferentes categorias foram comparadas estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis, sendo a diferenciação das diferenças entre as médias pelo teste de Dunn. O nível de significância estatística foi estabelecido como  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* GraphPad InStat v.3.01, 1998.

## RESULTADOS

Todos os animais avaliados eram criados em sistema semi-extensivo, sendo soltos diariamente em áreas de caatinga. Apenas uma das 9 propriedades de bovinos fornecia suplementação mineral, que era específica para vacas leiteiras. Das 5 propriedades de ovinos visitadas, apenas uma (Propriedade 3) fornecia sal mineral específico para ovinos. Duas propriedades forneciam pedras de sal (Propriedades 1 e 2), enquanto as outras duas não forneciam qualquer suplementação mineral (Propriedades 4 e 5). Por outro lado, nenhuma das propriedades de caprinos fornecia qualquer suplementação mineral. Estas informações a respeito da alimentação dos animais condizem com as observações realizadas nas propriedades da região, onde a maioria dos produtores não fornece nenhuma suplementação

mineral para o rebanho, sendo que diversos administram sal residual de salinas acreditando que este seria suficiente.

Os resultados das avaliações bioquímicas séricas nos bovinos, ovinos e caprinos estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Foi observado que 39 dos 72 bovinos (54,2%), 11 dos 50 (22%) ovinos e 12 dos 50 caprinos (24%) avaliados, em quatro das

cinco propriedades visitadas, apresentaram hipofosfatemia. Com relação à fosfatase alcalina, 6 dos 72 (8,3%) bovinos, 7 dos 50 (14%) ovinos e 20 dos 50 (40%) caprinos avaliados, presentes em duas das cinco propriedades visitadas, apresentaram atividade sérica desta enzima aumentada em relação aos valores de referência. Por outro lado, não foram identificadas alterações nas atividades séricas de ALT e AST.

**Tabela 1.** Níveis séricos de fósforo, cálcio (em mg/dl), fosfatase alcalina – FA, alanina aminotransferase – ALT, aspartato aminotransferase – AST (em U/l) e proteínas totais – PT (em g/l) de ovinos criados em cinco diferentes propriedades (P1 a P5) na região de Mossoró, RN. São apresentadas as médias seguidas pelo respectivo desvio-padrão.

Parâmetro	P1 (n=13)	P2 (n=9)	P3 (n=8)	P4 (n=10)	P5 (n=10)	Valores de referência
Fósforo	5,61±1,01	5,76±1,06	6,64±1,17	4,64±1,43	5,75±1,35	5,0-7,3
Cálcio	9,74±0,44	8,19±1,08 <sup>a,b</sup>	9,05±1,31	10,5±1,09 <sup>a</sup>	10,0±1,65 <sup>b</sup>	8,0-13,0
FA	57,7±39,0 <sup>a</sup>	72,8±68,4	96,6±29,3 <sup>a</sup>	85,7±30,7	69,5±22,3	20-80
ALT	27,3±7,30 <sup>a,b</sup>	36,3±6,33 <sup>c</sup>	48,1±3,57 <sup>a,d,e</sup>	23,7±5,83 <sup>d</sup>	11,3±4,57 <sup>b,c,e</sup>	10-80
AST	129±27,6 <sup>a</sup>	129±48,5 <sup>b</sup>	173±13,6 <sup>c,d</sup>	102±24,8 <sup>c</sup>	64,3±11,8 <sup>a,b,d</sup>	0-300
PT	67,1±3,73 <sup>a</sup>	71,8±4,60 <sup>b,c</sup>	60,6±2,92 <sup>a,b,d</sup>	67,2±3,79	63,2±4,73 <sup>c,d</sup>	60-79

n: número de animais analisados

<sup>a,b,c,d,e</sup>: dados com letras semelhantes em cada linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ , teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn)

**Tabela 2.** Níveis séricos de fósforo, cálcio (em mg/dl), fosfatase alcalina – FA, alanina aminotransferase – ALT, aspartato aminotransferase – AST (em U/l) e proteínas totais – PT (em g/l) de caprinos criados em cinco diferentes propriedades (P1 a P5) na região de Mossoró, RN. São apresentadas as médias seguidas pelo respectivo desvio-padrão.

Parâmetro	P1 (n=13)	P2 (n=9)	P3 (n=10)	P4 (n=10)	P5 (n=10)	Valores de referência
Fósforo	5,27±1,37 <sup>a</sup>	8,74±2,30 <sup>a,b</sup>	6,81±3,66	4,68±1,93 <sup>b</sup>	5,70±1,63	4,2-9,1
Cálcio	9,32±0,82	9,41±2,30	9,27±2,78	9,82±0,97	9,14±0,82	8,2-11,7
FA	112,1±70,1	80,2±84,85	91,0±60,6	101,5±74,7	96,0±67,9	20-80
ALT	30,9±3,80	36,8±5,22 <sup>a,b</sup>	42,2±7,65 <sup>c,d</sup>	25,0±5,61 <sup>a,c</sup>	20,9±9,32 <sup>b,d</sup>	10-80
AST	79,9±18,5 <sup>a</sup>	117,1±34,1 <sup>b</sup>	125,1±26,9 <sup>a,c,d</sup>	74,8±12,8 <sup>c</sup>	55,1±7,96 <sup>b,d</sup>	0-300
PT	68,5±4,48	68,2±5,42	69,3±10,1	66,9±74,3	66,6±4,32	64-78

n: número de animais analisados

<sup>a,b,c,d,e</sup>: dados com letras semelhantes em cada linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ , teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn)

**Tabela 3.** Níveis séricos de fósforo, cálcio (em mg/dl), fosfatase alcalina – FA, alanina aminotransferase – ALT, aspartato aminotransferase – AST (em U/l) e proteínas totais – PT (em g/l) de bovinos criados em nove diferentes propriedades (P1 a P9) na região de Mossoró, RN. São apresentadas as médias seguidas pelo respectivo desvio-padrão.

Parâmetro	Fósforo	Cálcio	FA	ALT	AST	PT
P1 (n=8)	5,16±1,28	8,93±0,93	26,1±9,66 <sup>a,b,c</sup>	54,0±1,82	42,9±1,60	70,1±6,38
P2 (n=8)	4,55±0,71 <sup>a</sup>	9,02±0,73	60,3±15,5 <sup>a</sup>	64,4±1,29	53,8±1,90	74,5±2,98
P3 (n=8)	6,94±1,70 <sup>a,b</sup>	10,8±0,65	47,6±15,2	64,1±1,14	56,3±2,02	73,0±3,38
P4 (n=7)	5,0±0,93	11,8±0,46	44,1±19,7	58,8±1,92	50,4±3,2	67,3±4,15
P5 (n=9)	5,51±1,93	12,7±0,56	31,5±8,70 <sup>d,e</sup>	56,0±5,00	43,8±1,12	75,0±4,73
P6 (n=8)	4,92±0,89	12,2±1,05	64,1±18,2 <sup>b,d</sup>	63,0±1,51	57,2±1,12	73,1±6,38
P7 (n=8)	4,71±0,61 <sup>b</sup>	13,0±0,94	73,2±27,6 <sup>c,e</sup>	56,1±2,16	47,6±2,38	64,5±6,74
P8 (n=8)	5,99±1,05	10,4±1,48	43,7±8,24	59,4±1,25	53,6±3,76	62,9±13,0
P9 (n=8)	4,90±1,23	14,2±2,82	50,2±7,43	60,2±1,10	55,1±2,39	71,0±7,84
Valores de referência	5,6-8,3	9,4-12,4	10-80	26-94	20-110	59-88

n: número de animais analisados

<sup>a,b,c,d,e</sup>: dados com letras semelhantes em cada coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ , teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn)

## DISCUSSÃO

Os níveis de fósforo sérico são mais altos nos animais em crescimento que em adultos, em consequência da rápida mobilização do tecido ósseo (hiperfosfatemia). Pacientes com hiperparatireoidismo nutricional secundário resultante da avitaminose D ou da deficiência de cálcio dietético apresentam o fósforo sérico normal ou diminuído (Kaneko et al., 2008). As concentrações sanguíneas de fósforo não fornecem indicações seguras do conteúdo do elemento em um animal, pois seu teor pode permanecer em nível normal por longos períodos, mesmo após os bovinos terem sido expostos a séria deficiência de fósforo. Alguns fatores, como idade do animal, produção leiteira, estágio da gestação, estação do ano, raça, padrões alimentares e níveis de fósforo na dieta, influenciam o teor sérico de fósforo inorgânico. As deficiências leves a moderadas, que são as mais comuns, normalmente são acompanhadas de concentrações sanguíneas normais de fósforo (Radostits et al., 2002). No presente trabalho, foi observada hipofosfatemia nas três espécies animais avaliadas, sendo 55,6% dos bovinos, 22% dos ovinos e 24% dos caprinos. Com base nestes dados, pode-se sugerir que a deficiência do fósforo ocorra nas três espécies no RN, sendo a espécie mais afetada a bovina. No entanto, apenas a determinação dos níveis séricos de fósforo não é suficiente para afirmar a ocorrência de deficiência nutricional deste elemento, uma vez que diversos outros fatores podem estar interferindo em seus níveis séricos (Kaneko et al., 2008; Underwood & Suttle, 2001).

A fosfatase alcalina é encontrada em todo o organismo, todavia sua maior concentração ocorre nos ossos, fígado, mucosa intestinal, túbulos renais e placenta. Pode-se observar aumento desta enzima em lesões esplênicas, hepáticas, renais, ósseas, obstruções biliares e neoplasias ósseas malignas (Kaneko et al., 2008; Allen, 2003; Fernandez & Kidney, 2007). Em animais apresentando deficiência de fósforo, a atividade sérica da fosfatase alcalina está aumentada em decorrência do aumento da atividade osteoclástica (Kerr, 2002). Assim, a determinação da fosfatase alcalina deve ser realizada em paralelo à determinação do fósforo para o diagnóstico da deficiência deste elemento. De fato, foi observado aumento da atividade sérica desta enzima nas três espécies animais avaliadas. Entretanto, o aumento da fosfatase alcalina também pode ter origem hepática. Para certificar-se da não existência desta possibilidade, foram avaliadas as atividades séricas de ALT e AST, enzimas também produzidas pelo fígado, que estão aumentadas em casos de hepatopatias (Kerr, 2002; Kaneko et al., 2008).

No presente estudo, o aumento na atividade sérica de fosfatase alcalina pode ser atribuído a origem óssea uma vez que as atividades séricas de ALT e AST não estavam elevadas, o que permite excluir a possibilidade de origem hepatocelular. Associando-se os dados obtidos com a determinação da fosfatase alcalina com aqueles provenientes da fosfatemia, pode-se sugerir que oito das nove propriedades de bovinos, quatro das cinco propriedades de ovinos e todas as propriedades de caprinos estudadas apresentam deficiência nutricional de fósforo. Vale ressaltar que as propriedades que não apresentaram esta deficiência eram aquelas nas quais era realizada a adequada suplementação mineral, sendo esta específica para a respectiva espécie animal. Assim, estes dados reforçam a necessidade de adequação da nutrição dos ovinos criados no município de Mossoró, bem como nas demais regiões onde ocorra a deficiência mineral.

## CONCLUSÕES

A deficiência de fósforo ocorre no município de Mossoró, RN, e afeta bovinos, ovinos e caprinos. O sistema adotado para avaliação desta deficiência, por meio da bioquímica sérica, se mostrou adequado para este diagnóstico, pois apresenta as vantagens de ser rápido, econômico e preciso.

## REFERÊNCIAS

- Allen M.J. 2003. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. *Vet. Clin. Path.* 32:101-113.
- Brasil, Convênio de Mapeamento de Solos MA/DNPEA-SUDENE/DRN/ - Convênio MA/CONTAP/USAID. 1971. Levantamento exploratório – reconhecimento de solos do estado do Rio Grande do Norte. *Boletim Técnico n° 21 – DNPEA/MA.* 531p.
- Call J.W., Butcher J.E., Shupe J.L., Blake J.T. & Olson, A.E. 1986. Dietary phosphorus for beefcows. *Am. J. Vet. Res.* 47:475-481.
- Fernandez N.J. & Kidney B.A. 2007. Alkaline phosphatase: beyond the liver. *Vet. Clin. Path.* 36:223-233.
- Gióvani N. 1943. Estudo clínico da deficiência de fósforo inorgânico nos bovinos em Minas Gerais. *Arquivo da Escola de Veterinária* 1:17-25.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 6<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego. 928p.
- Kerr M.G. 2002. *Veterinary Laboratory Medicine: clinical biochemistry and haematology.* 2.ed. Blackwell Science, Oxford. 368p.
- Marten H. 1995. Plasma concentration of minerals in ruminants. *Tierärztliche Umschau* 5:321-326.

Marques A.P., Riet-Correa F., Soares M.P., Ortolani E.L. & Giuliodori M.J. 2003. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. *Pesq. Vet. Bras.* 23:21-32.

McDowell L.R., Conrad J.H., Ellis G.L. & Loosli J.K. 1993. *Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions*. University of Florida, Gainesville. 86p.

Menicucci Sobrinho L. 1943. Carência de fósforo e cálcio nos bovinos. *Arquivo da Escola de Veterinária* 1:9-15.

Moraes S.S. 1998. Avaliação das concentrações de zinco, manganês e ferro no fígado de bovinos e ovinos de várias regiões do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 18:107-110.

Moraes S.S., Tokarnia C.H. & Döbereiner, J. 1999. Deficiências de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 19:19-33.

Pinheiro C.P., Bomjardim H.A., Andrade S.J.T., Faial K.C.F., Oliveira C.M.C. & Barbosa J.D. 2011. Níveis de fósforo, cobre, cobalto e zinco em bubalinos (*Bubalus bubalis*) na Ilha de Marajó, Estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.* 31:193-198.

Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff, K.W. 2002. *Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9.ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1737p.

Riet-Correa F., Bondan E.F., Mendez M.C., Moraes S.S. & Concepción M.R. 1993. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 13:45-49.

Silva T.R., Simões S.V.D., Miranda Neto E.G., Pereira Filho J.M., Assis A.C.O., Aguiar G.M.N., Lima F.A. & Riet-Correa F. 2011. Efeitos da suplementação com fósforo em caprinos no semiárido do Nordeste Brasileiro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 63:1268-1271.

Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A., Döbereiner J. & Langenegger J. 1970. Deficiência de fósforo em bovinos no Piauí. *Pesq. Agropec. Bras.* 5:483-494.

Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. *Pesq. Vet. Bras.* 20:127-138.

Underwood E.J. & Suttle N.F. 2001. *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3rd ed. CABI Publishing, Oxon. 614p.