



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

ALINY KÉTILIM NOVAIS

**FERRO QUELATADO PARA PREVENÇÃO DA ANEMIA
FERROPRIVA DE LEITÕES LACTENTES**

Londrina
2015

ALINY KÉTILIM NOVAIS

**FERRO QUELATADO PARA PREVENÇÃO DA ANEMIA
FERROPRIVA DE LEITÕES LACTENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Caio Abércio da Silva

Londrina
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

N716f Novais, Aliny Kétilim.

Ferro quelatado para prevenção da anemia ferropriva de leitões lactentes /
Aliny Kétilim Novais. – Londrina, 2015.
75 f.

Orientador: Caio Abércio da Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina,
Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2015.
Inclui bibliografia.

1. Leitão (Suíno) – Desempenho – Teses. 2. Rações – Suplementos dietéticos
– Teses. 3. Anemia em suíno – Teses. 4. Anemia ferropriva – Teses. I. Silva, Caio
Abércio da. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636.085

ALINY KÉTILIM NOVAIS

**FERRO QUELATADO PARA PREVENÇÃO DA ANEMIA
FERROPRIVA DE LEITÕES LACTENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Caio Abécio da Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Ana Maria Bridi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Cleandro Pazinato Dias
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 09 de Março de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me concedeu a vida e me deu esperança e força para concluir este projeto.

Aos meus pais Valdir Rodrigues Novais e Brasilina Maria da Silva Novais pelo entusiasmo e amor incondicional, ensinamentos e exemplo que fizeram que eu conseguisse conquistar cada etapa de minha vida.

À minha irmã Andrielli Cristina Novais, pelo apoio, incentivo e disponibilidade em me ajudar nos momentos mais desafiadores.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Caio Abércio da Silva, por ter me dado a oportunidade de ser sua orientada, pela sua amizade e pela constante orientação neste trabalho que esteve presente com enorme dedicação, sabedoria, paciência, gentileza contribuindo muito em minha formação, tanto profissional como pessoal.

À Universidade Estadual de Londrina, pela oportunidade de concluir a graduação e a pós-graduação nesta instituição respeitada e que contribui imensamente para o conhecimento em diversas áreas.

À empresa Yessinergy, pelo financiamento da pesquisa e pela matéria prima fornecida para a realização do experimento, a Marília Andrade e a Renato Libera, pela atenção, colaboração e apoio.

Agradeço à Cooperativa Agroindustrial LAR pela oportunidade de realização deste experimento, em especial ao Dirceu Zotti, Ademar Manteufel, Joicemara Tatiana da Silva, Cristiano Agnes e aos colaboradores da granja.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Aos Professores da Pós-Graduação em Ciência Animal pela orientação, amizade e valiosos ensinamentos ao longo do curso.

Aos colegas da Pós-Graduação em que durante estes dois anos proporcionaram momentos inesquecíveis de aprendizado e muitas risadas, em especial Ana Paula da Silva, João Antonio Barbosa, Murilo Dolfini, Ed Cristian Suzuki.

Agradeço ao grupo de suinocultura da UEL, Cleandro Pazinato Dias, Marco Aurélio Callegari, Rita de Kássia da Silva Santos, Marcino Pereira Júnior, Gabriela Nagi, Dalita Schomller, Jefferson Bastos, Giovani Frederico, Danielle Borges e João Paulo Baptista pelo aprendizado, amizade e convivência.

Ao amigo Eduardo Raele, pela disponibilidade na realização das análises estatísticas e pela amizade.

À secretária do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Helenice Kieski pela colaboração e atenção.

À todos os colegas da pós-graduação em Ciência Animal da UEL.

Agradeço a todos por mais essa vitória alcançada!

MUITO OBRIGADA !

Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso, aprendemos sempre.

Paulo Freire

NOVAIS, Aliny Kétilim. **Ferro quelatado para prevenção da anemia ferropriva de leitões lactentes**. 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

Os principais fatores para desencadear a anemia em leitões são a baixa transferência de ferro da mãe, através da placenta e do leite, e a baixa reserva de ferro ao nascimento. Portanto o ferro deve ser suplementado para suínos alojados em criações comerciais por outras vias que garantam níveis adequados de suas exigências, sendo o modo mais utilizado a aplicação injetável de ferro dextrano em leitões com três dias de idade. Neste estudo objetivou-se avaliar os efeitos do fornecimento de ferro quelatado para as matrizes suínas e suas respectivas leitegadas sobre parâmetros zootécnicos e hematológicos. Após o desmame foram verificados os efeitos no desempenho dos leitões durante a fase de creche. Foram utilizadas 96 matrizes suínas submetidas a três tratamentos sendo, T1: matrizes gestantes e lactantes tratadas com rações com ferro inorgânico (150mg/kg) e 200 mg de ferro dextrano injetável para leitões lactentes; T2: T1 mais 150 mg/kg de ferro quelatado para gestantes a partir de 84 dias de gestação e para lactantes e leitões lactentes, e 200 mg de ferro dextrano injetável para leitões lactentes; T3: T2 porém sem ferro dextrano injetável para os leitões lactentes. Na fase de creche todos os leitões receberam rações isonutrientes exceto para ferro e isoenergéticas e leitões provenientes dos tratamentos T2 e T3 receberam 150 mg/kg de ferro quelatado via ração. Na fase de lactação foram avaliados parâmetros de desempenho reprodutivo e o desempenho dos leitões, a concentração de ferro no colostro e no leite, no fígado de leitões natimortos e o hemograma completo dos leitões ao 8º e no 21º dia de idade. A ausência da administração de ferro dextrano injetável foi negativo para o desempenho dos leitões ($P < 0,05$) e a associação da administração do ferro quelatado para leitões lactentes, via ração pré-inicial, não promoveu melhora no desempenho. Nos dois períodos de avaliação (8º e 21º dia de idade) os animais que não receberam ferro injetável dextrano apresentaram quadro de anemia. Não houve diferença entre os tratamentos para a concentração do mineral no fígado. Não houve transferência de mais ferro para os leitões através da suplementação dietética do mineral quelatado às porcas e aos leitões lactentes, sendo necessária a administração de Fe injetável dextrano durante os primeiros dias após o nascimento. A oferta de ferro quelatado para leitões em fase de creche, via ração, não melhorou o desempenho na fase.

Palavras-chave: Desempenho. Mortalidade. Hemograma

NOVAIS, Aliny Kétilim. **Chelated iron to prevent iron deficiency anemia in suckling piglets**. 2015. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

The main factors related with anemia in piglets are the low iron transfer through the placenta and milk, and their low iron stores at birth. Therefore, the iron must be supplemented for pigs housed in commercial farms through other ways in order to ensure an adequate iron level to support their demands. The most widely used way to provide this mineral is the injectable form where the piglet receives the iron dextran until three days old. The management is simple and ensures the health of the animals related with the occurrence of iron deficiency anemia. This study aimed to evaluate the effects of the chelated iron supplementation (in feed) to the sows and their litters over the pre weaning performance and hematological parameters and over the post weaning piglet's performance. Ninety six sows subjected to three treatments: T1: pregnant and lactating sows treated with diets with inorganic iron (150mg/kg) and 200 mg of injectable iron dextran for suckling piglets; T2: T1 plus 150 mg/kg of chelated iron to pregnant sows from 84 days of gestation and to lactating sows and to suckling piglets, and 200 mg of injectable iron dextran for suckling piglets; T3: T2 without injectable iron dextran for suckling piglets. In the nursery phase all piglets received isonutrient and isoenergetic feed and piglets from T2 and T3 treatments received 150 mg/kg of chelated iron in feed. During the lactating phase were evaluated the sow and the piglets performance and the iron concentration in stillborn liver, colostrum, milk and the hematological parameters at 8° and 21° days old. The group that did not receive the injectable iron dextran showed a piglets with a poorer performance ($P < 0.05$), and the iron dextran supplementation associated with chelated iron, supplied via the pre-starter diet, did not improve the piglet performance. For the both evaluated periods (8° and 21° days old) the animals that did not receive the iron dextran presented anemia. There was no difference between the treatments for the mineral concentration in the liver. The chelated iron was not transfer to the piglets through the sow's dietary supplementation, showing the need to use iron dextran administration during the first days after birth. The chelated iron supplementation for weaned piglets, in feed, did not improve the performance during the nursery phase.

Keywords: Haemogram. Performance. Mortality.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHCM	Concentração e Hemoglobina Corpuscular Média
DMT1	Transportador de metal bivalente
FPN	Ferroportina
Hb	Hemoglobina
MCG	Micrograma
RBC	Contagem de Eritrócitos
VCM	Volume Corpuscular Médio

LISTA DE TABELAS ARTIGO

Table 1.	Composition of the basal diets used in the phases of pregnancy and lactation and their nutritional values and calculated energy	60
Table 2.	Percentage composition, energy and calculated nutrition in basal feed for piglets in the suckling and nursery phases.....	61
Table 3.	Means and standard deviations for reproductive parameters of sows fed with dietary inorganic and/or chelated iron, average birth weight, average weight at weaning (21 days) and daily weight gain of piglets treated with different iron supplementation programs	62
Table 4.	Means and standard deviations observed for the iron level in colostrum (colostrum Fe) and milk (milk Fe) on the 17th day of lactation in sow fed with dietary inorganic and/or chelated iron	63
Table 5.	Means and standard deviations of the weight of stillbirths, liver weight, the mineral concentration in the liver (Liver Fe), total iron in the liver (Fe/Liver) and the relationship of the total iron in the liver with the body weight of stillborn (Fe/Body Weight), according to experimental treatments.....	64
Table 6.	Means and standard deviations observed for blood count, platelet and white blood cell counts in piglets on the 8th and 21st days of age submitted to different iron supplementation regimens	65
Table 7.	Means and standard deviation observed for weight at 24 days, average final weight, total weight gain and daily gain weight during the period while piglets were submitted to different iron supplementation regimens	66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	PROPRIEDADES QUÍMICAS E FUNÇÕES FISIOLÓGICAS DO FERRO	14
2.1.1	Absorção	15
2.1.2	Transporte.....	20
2.1.3	Reserva.....	21
2.1.4	Excreção.....	22
2.2	EXIGÊNCIAS DE FERRO.....	23
2.2.1	Anemia Ferropriva.....	24
2.2.2	Suplementação de Ferro Dextrano.....	25
2.2.3	Minerais.....	28
2.3	MINERAIS QUELATADOS... ..	29
	REFERÊNCIAS	37
3	OBJETIVOS	44
3.1	OBJETIVO GERAL	44
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
4	ARTIGO: THE EFFECT OF SUPPLEMENTAL DIETARY CHELATED IRON ON SOWS AND SUCKLING AND WEANED PIGLETS.....	45
	ANEXO	67
	ANEXO A - Instructions to authors	68

1 INTRODUÇÃO

O sistema de produção de suínos no Brasil passou gradualmente de pequenas e extensivas criações para modelos confinados e intensivos, consolidados a partir da década de 70. Essas mudanças resultaram na necessidade de suplementação de ferro para que os leitões não desenvolvam um quadro de anemia grave que, eleva a taxa de mortalidade. Anteriormente, o acesso a terra, boa fonte deste mineral limitava a ocorrência deste fato (NUNES et al., 1997).

A deficiência de ferro é considerada o déficit nutricional mineral mais comum dos mamíferos, sendo mais prevalente no período neonatal (PESCE, 2002). A anemia é particularmente frequente e grave em suínos, independentemente da raça (LIPINSKI et al., 2010).

A exigência diária de ferro para leitões situa-se entre 5 e 10 mg/dia, principalmente nas primeiras semanas pós-nascimento. Pelo leite materno apenas 1 mg de ferro é suprido, correspondendo entre 10 a 20% da exigência dos leitões, o que significa que os 80 a 90% devem ser mobilizados da reserva de ferro do organismo (ALMEIDA et al., 2007). Esta maior exigência ocorre na fase em que leitão é lactente, cuja taxa de crescimento rápido e de elevada síntese de hemoglobina aumentam a demanda para este mineral (MAHAN; WATTS; ST-PIERRE, 2009).

Devido ao baixo armazenamento de ferro durante as fases de gestação e lactação da fêmea suína, os leitões detêm um baixo teor de ferro corporal, especialmente no fígado. Associados aos baixos níveis do mineral no leite e à alta demanda inicial, a anemia por deficiência de ferro se traduz por um quadro clínico bastante evidente (LEE et al., 1998, SVOBODA; DRABEK, 2002).

As principais causas do quadro de anemia nutricional está associada a baixa reserva de ferro ao nascimento (aproximadamente 50 mg), os reduzidos níveis de ferro no leite da porca e a rápida taxa de crescimento dos suínos (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

A forma mais utilizada para atender a deficiência fisiológica de ferro em leitões é a injetável dose única de 200mg, via intramuscular ou subcutânea na região do pescoço, realizada até o terceiro dia de vida. Neste procedimento estima-se que aproximadamente 50% do mineral somente seja absorvido pelas células epiteliais no local da aplicação (KOLB; HOFMANN, 2005).

O procedimento não considera o peso do leitão, sendo possível que haja um excesso do mineral no organismo, uma vez que não existe nenhum mecanismo fisiológico para a excreção deste excedente. A aplicação em dose única de 200 mg de ferro dextrano injetável implica em maior injúria no tecido e também maior estresse aos animais devido à intensa dor dessa aplicação, podendo-se verificar necrose do tecido ao abate (BERTECHINI, 2012).

Também a anemia pode ocorrer por uma situação inversa ou em razão das falhas na aplicação (refluxo do medicamento) ou erros de dosagem do ferro suplementar (COCATO et al., 2008).

O manejo, embora clássico, tem consequências também negativas, como a geração de dor no local da aplicação, com inflamação e inibição da mamada, e baixa absorção por condutas mal realizadas. A infecção por *Streptococcus suis* e *Escherichia coli*, levando a quadros de artrites, não é raro, sendo estes agentes veiculados pelo uso de seringas, agulhas, pele dos animais e mãos dos aplicadores. (DALLANORA; MACHADO, 2010). Outro fator importante é o estresse causado ao animal no momento da apanha para a aplicação, e a alta demanda de mão de obra, um fator muito limitante atualmente.

Dessa forma, mais especificamente através da nutrição micromineral, há constantes esforços para desenvolver tecnologias nutricionais que venham substituir esta via de administração de ferro. Nesse contexto, os minerais “orgânicos” ou quelatados, compostos constituídos de uma porção inorgânica (microminerais também chamados de elementos traço) e outra contendo a presença de carbono, aminoácidos ou polissacarídeos (RUTZ; MURPHY, 2009), que detém maior absorção que os minerais não quelatados, mostram viabilidade para tal, podendo ser um recurso viável para suprir as demandas deste mineral aos lactentes, evitando os fatores negativos do manejo de administração de ferro dextrano injetável (PINEDA; ASHMEAD, 2001).

Mateos, Valencia e Moreno (2004), avaliando o nível de ferro nos leitões mediante a suplementação do mineral para as matrizes durante a lactação, demonstraram que a utilização de ferro na forma de quelato melhorou o nível hepático do mineral, a formação de hemoglobina e o crescimento dos leitões, enquanto na forma inorgânica não exerceu os mesmos efeitos. Estudos com minerais orgânicos ou quelatados possuem a finalidade de garantir a absorção do mineral no trato intestinal sem entrar no processo de competição iônica (devido à

pressão iônica da mucosa intestinal), por carreadores que podem ter interferência no transporte de outros metais do lúmen intestinal aos enterócitos.

Todavia, atualmente ainda não há uma clareza plena da efetividade desta fonte de ferro sobre o ferro dextrano administrado parenteralmente. Paralelamente, a suinocultura moderna vem experimentando as mudanças significativas do desempenho dos suínos, o que tem levado a questionamentos sobre quais são os níveis ideais de suplementação de ferro para a espécie, bem como que formas outras de administração e de aproveitamento do mineral poderiam ser empregadas (BERTECHINI et al., 2012).

Portanto, buscou-se avaliar o uso de um ferro quelatado, via ração, fornecido para matrizes a partir de 84 dias de gestação e durante a lactação, e aos lactentes, a partir do 8º dia de vida, como forma de suprimir as demandas do mineral para os leitões lactentes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PROPRIEDADES E FUNÇÕES FISIOLÓGICAS DO FERRO

O ferro foi relacionado com os distúrbios no sangue no século XVI, mas as bases fisiológicas dessa relação foram propostas somente em 1866 por Zinoffsky, que descobriu que os cristais de hemoglobina em equinos possuíam 0,335% de ferro, observação também confirmada em outras espécies posteriormente (SUTTLE, 2010).

O elemento ferro (Fe) é um metal de transição, o que significa que tem níveis de energia não preenchidos abaixo dos níveis dos elétrons de valência. Com peso atômico 56 e dois estados de oxidação estáveis (+2 e +3) e uma grande variabilidade de potenciais redox, o ferro é caracterizado como um elemento usual nas reações de transferências de elétrons, sendo estável em ambientes secos, mas susceptível facilmente à oxidação em ambientes úmidos (RAMOS; GOMIDE, 2007).

O ferro se apresenta sob duas formas químicas: Fe^{3+} (forma férrica) e Fe^{2+} (forma ferrosa). Para ser absorvido o Fe^{3+} precisa ser reduzido a Fe^{2+} . A redução do ferro ocorre na superfície apical dos enterócitos e é facilitada pela ação da enzima citocromo-b duodeno ferro redutase ou Dcytb (DUNN; RAHMANTO; RICHARDSON, 2007). No organismo o mineral desempenha um papel indispensável em vários processos fisiológicos, com a eficiente capacidade de doar e receber elétrons durante a conversão entre suas diferentes formas, ferrosa e férrica. Somente os minerais de transição, como o ferro, o manganês, o cobre e o zinco apresentam características físico-químicas que possibilitam a formação de ligação covalente coordenada com aminoácidos e peptídeos formando complexos biologicamente estáveis (RUTZ; MURPHY, 2009).

Apesar da pequena participação na composição das dietas, a suplementação de ferro é essencial, uma vez que participa como constituinte de células e tecidos e também possui a função de regulação de diferentes processos biológicos (MONTEIRO, 2006).

O ferro é um íon inorgânico muito pesquisado dada a sua participação em múltiplos processos biológicos, como o transporte e o armazenamento de oxigênio, reações de liberação de energia na cadeia de transporte de elétrons, conversão de ribose a desoxirribose, co-fator de algumas

reações enzimáticas e envolvimento em várias reações metabólicas essenciais da cadeia respiratória (COOK; BAYNES; SKIKNE, 1992).

Segundo Bacila (2003), o ferro exerce papel fundamental na fisiologia das células e do organismo animal, por ser um componente essencial das ferrometaloproteínas não enzimáticas, ou seja, da hemoglobina, ferredoxina, ferritina, e também de ferrometaloproteínas enzimáticas (citocromos, citocromoxidase, peroxidase, catalase, xantinaoxidase).

O ferro se encontra no organismo animal em três compartimentos: 65% constituindo as ferrometaloproteínas (hemoglobina, mioglobina, citocromos etc); 20% constituindo a ferritina e a hemossiderina, formas de reserva de Fe no organismo; e 15% ligados aos tecidos. Representa cerca de 0,005% do peso corporal, estando principalmente ligado às proteínas, como os compostos heme, que são complexos de ferro, e protoporfirina, presentes na hemoglobina e na mioglobina (LEESON; SUMMERS, 2001).

O ferro é um elemento fundamental na síntese da hemoglobina nos eritroblastos, da mioglobina nos músculos e dos citocromos no fígado, na homeostase celular no transporte de oxigênio, síntese de DNA e no metabolismo energético (WIJAYANTI; KATZ; IMMENSCHUH, 2004).

2.1.1 Absorção

A absorção de ferro ao nível da mucosa ocorre em duas etapas: do lúmen para as células da mucosa, e a transferência do mineral das células da mucosa para a membrana serosa e desta para a circulação (MANIS; SCHACTER, 1962).

No trato gastrintestinal o ferro tem comportamentos variados de acordo com o pH de cada um dos compartimentos. No estômago de monogástricos, sob um pH ácido, o ferro é solúvel, mas em condições de alcalinização no intestino delgado as moléculas de água às quais estão ligados perdem rapidamente seus prótons para formar compostos hidróxi-metálicos. Conforme o pH do meio se aproxima da neutralidade outros prótons são liberados pelas moléculas de água numa tentativa de manter o equilíbrio, o que pode levar a uma ampla polimerização dos hidróxi-metais, precipitando e tornando os minerais não disponíveis para absorção (RUTZ; MURPHY, 2009).

Um bom ligante impede ou interfere na hidroxipolimerização e possivelmente pode competir com a mucina, permanecendo este ligado ao metal; por outro lado, não deve se ligar tão forte ao mineral de forma a impedir sua absorção e atuação metabólica (RUTZ; MURPHY, 2009). Para Power (2006), considera-se que os aminoácidos e os pequenos peptídeos estão entre os ligantes que melhor protegem os metais de transição no trato digestório, pois ao não expor a carga elétrica positiva do íon metálico, os ligantes impedem a hidroxipolimerização, permitindo a apresentação do metal à camada de muco negativamente carregada, acelerando a sua passagem, além de impedir as interações negativas com os fatores dietéticos, tais como o fitato e os polifenóis presentes no lúmen intestinal. Outra vantagem da quelatação é que, como o mineral quelatado não compete com íons não protegidos por sítios de ligação na mucina, antagonismos como os observados entre o cobre e o zinco são evitados.

Antes de chegarem à membrana do enterócito, onde ocorre a absorção propriamente dita, os nutrientes no lúmen intestinal precisam atravessar uma camada de água com características não homogêneas, que mede em torno de 600 µm de espessura e, logo abaixo, uma camada de muco, com 50-100 µm de espessura, contendo alta densidade de grupos sulfatos e grupos carboxilatos, que conferem natureza negativa para a mucosa, apresentando maior afinidade e capacidade de se ligar a cátions trivalentes, capacidade intermediária de se ligar a cátions bivalentes e menor capacidade de se ligar a cátions monovalentes (RUTZ; MURPHY, 2009). A velocidade de passagem dos cátions (C) pela mucosa intestinal, portanto, segue o padrão $C^+ > C^{2+} > C^{3+}$ o que explica a má absorção do íon férrico (Fe^{3+}) em relação ao íon ferroso (Fe^{2+}) (WHITEHEAD; THOMPSON; POWELL, 1996).

São diversos os fatores envolvidos na absorção e biodisponibilidade do ferro. Destacam-se a idade (animais mais jovens possuem maior absorção de ferro comparado com os mais velhos), a forma ou o estado do ferro (ferroso ou férrico), dosagem, interferência de outros ingredientes presentes na dieta, e forma disponibilizada (orgânico ou inorgânico) (ANDERSON; EASTER, 1999). Condições adversas do trato gastrintestinal, particularmente do duodeno, além do status do ferro no organismo (níveis e forma) de animais monogástricos, podem afetar também a absorção de ferro (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). Em relação à dieta, podem interferir a quantidade e a forma química do ferro, além da proporção de

outros minerais virem a competir pelo mesmo sítio de absorção. Neste, destacam-se os metais divalentes, cobre, manganês, cobalto e cádmio (MAIORKA; MACARI, 2002).

A absorção do ferro ocorre principalmente no duodeno em duas fases, através de um processo que envolve a absorção e a sua transferência da mucosa à serosa. Na fase da mucosa o ferro heme e não-heme são processados e regulados de forma diferente. O ferro heme, provavelmente, é ligado a uma proteína heme transportadora, HCP1, posicionada na membrana apical das células do duodeno. O heme liga-se a HCP1 proteína transportadora da membrana da borda em escova dos enterócitos duodenais e a proteína transmembrana atravessa intacta a membrana plasmática, importando o heme extracelular. A seguir o heme apresenta-se ligado à membrana de vesículas no citoplasma da célula e o ferro é liberado pela heme oxigenase intracelular (GROTTO, 2008).

Após a sua absorção o ferro passa à circulação ligado a uma proteína transportadora denominada transferrina, uma beta globulina capaz de ligar dois átomos de ferro através de seus receptores. Estes receptores cedem ferro para a medula óssea para ser incorporado em novas moléculas de hemoglobina, para outros tecidos que requerem ferro e para os locais de armazenamento. Depois da liberação a transferrina torna-se novamente disponível para transportar o ferro (AIRES, 1991). Após sua liberação, o Fe passa a fazer parte do mesmo grupo de Fe não heme, sendo armazenado na forma de ferritina ou liberado do enterócito para o sangue (MIRET; SIMPSON; MICKIE, 2003).

A absorção do ferro pelo organismo é controlada a fim de evitar o seu excesso, pois tanto um suprimento inadequado de ferro nos tecidos, quanto o excesso são prejudiciais (HENTZE; MUCKENTHALER; ANDREWS, 2004).

Níveis altos de ingestão ou administração parenteral do mineral são críticos, em especial porque não há mecanismos efetivos de excreção; sendo que uma perda pequena do mineral somente ocorre pela descamação da pele e mucosas, suor e hemorragias (HENRY, 1995).

A absorção de ferro na mucosa intestinal de leitões ocorre na forma ativa (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2012). O controle da absorção de ferro ocorre em nível de parede intestinal e através da apoferritina. Assim, quando existe maior demanda, e isso ocorre principalmente na fase pré-inicial, a absorção deste micromineral será maior, caindo nas fases posteriores (BERTECHINI, 2012). O

conteúdo de ferro corporal influencia a absorção intestinal, que aumenta quando ocorre perda de ferro e diminui quando há grandes estoques no organismo (ALENCAR et al., 2002).

O estado de oxigenação do indivíduo também regula a absorção do Fe e, durante a hipoxia crônica, aumenta a sua absorção (MAIORKA; MACARI, 2002). Portanto, a quantidade de Fe no organismo é mantida pela diferença entre o Fe absorvido e o Fe excretado.

O ferro dietético existe na forma de ferro-heme, derivado da hemoglobina e da mioglobina, de elevada biodisponibilidade na valência ferrosa (Fe^{2+}) e ferro não-heme, que inclui formas de transporte e armazenamento de ferro como a transferrina e a ferritina e ocorre na valência ferrica (Fe^{3+}), apresentando baixa biodisponibilidade, pois necessita ser reduzido a valência ferrosa, solúvel no pH do lúmen intestinal, portanto, mais biodisponível (COCATO et al., 2008). A absorção do ferro não-heme é bem menor e varia substancialmente em função da presença de fatores, como fitatos e taninos (JACINTHO, 2005). Por esse motivo, rações com fontes de ferro de origem animal permitem melhor absorção do mineral devido a maior proporção de radicais heme (MORRIS, 1987).

O mecanismo de absorção do ferro heme difere daquele do ferro não-heme. A hemoglobina é catabolizada no lúmen intestinal e a molécula heme é absorvida pelo enterócito como uma metaloporfirina intacta, sendo a internalização realizada por endocitose. Uma vez absorvido, o ferro é liberado do anel porfirínico por ação da heme oxigenase (MACHADO; IZUMI; FREITAS, 2005).

A absorção do ferro não-heme pelos enterócitos pode ocorrer por três mecanismos: mecanismo paracelular, que é inespecífico, não-regulado e tem uma baixa afinidade pelo ferro; mecanismo transcelular de difusão passiva, parcialmente regulado; e mecanismo de transporte altamente regulado, envolvendo carreador, glicoproteínas, ácidos graxos e/ou um complexo protéico (MACHADO; IZUMI; FREITAS, 2005).

A essa absorção é regulada em três níveis em resposta às necessidades de ferro. Num primeiro nível pode ser regulada pela quantidade de ferro recém-ingerida via dieta, de modo que após um consumo de ferro sob quantidades adequadas as necessidades momentâneas são atendidas, deixando os enterócitos mais resistentes à absorção de uma quantidade adicional de ferro, o que pode ser atribuído a um mecanismo de saturação do transportador, ou seja o

regulador principal da absorção de ferro é a sua concentração na mucosa epitelial das células (Teoria do Bloqueio de Mucosa, proposta por Hahn et al. (1943)). O segundo mecanismo é baseado no nível de ferro dos estoques do organismo, de modo que a absorção do ferro disponível na dieta é indiretamente influenciada pela saturação da transferrina no plasma. O terceiro mecanismo, chamado de regulação eritropoiética, tem maior capacidade em aumentar a absorção de ferro que a regulação pelos estoques. A regulação eritropoiética não responde aos níveis intracelulares de ferro, mas modula a absorção de ferro em resposta à necessidade da eritropoiese (MACHADO; IZUMI; FREITAS, 2005).

O processo de absorção do ferro ocorre em várias etapas, sendo primeira a captação pela superfície apical dos enterócitos. Este transporte para os enterócitos é feito pela proteína DMT1 (transportador de metais divalentes) seguida do seu transporte transcelular. A proteína de transporte do heme (HCP1) incorpora a fração heme no enterócito após a digestão enzimática da hemoglobina. No enterócito, o heme é degradado pela heme oxigenase e libera Fe^{2+} . No final do processo o ferro pode ser armazenado na forma de ferritina ou liberado do enterócito para o sangue pela ferroportina 1 (FPT1). Como a transferrina sérica tem grande afinidade pelo ferro na forma férrica, o Fe^{2+} externalizado pela FPT1 deve ser oxidado para Fe^{3+} . A hefaestina oxidase semelhante à ceruloplasmina sérica é responsável por essa conversão. O ferro não-heme no estado Fe^{3+} é reduzido na membrana apical e recuperado pelo transportador de metal divalente (DMT1). Animais deficientes em ferro absorvem este elemento ingerido com mais facilidade. Para responder a essa demanda maior, há uma maior expressão de proteínas envolvidas no processo de absorção de ferro, como a proteína transportadora de metal divalente (DMT1) e a proteína transportadora do heme (HCP1) (CONRAD; CROSBY, 1963).

O ferro reduzido (Fe^{2+}) é absorvido em sentido unidirecional, ou seja, da luz do intestino ao líquido circulante e aos tecidos, com a participação da apoferritina, que ao combinar-se com o metal oxidado (Fe^{3+}) forma a ferritina. Portanto, quando liberado da ferritina e na forma reduzida (Fe^{2+}) passa para a corrente circulatória e é transportado pela transferrina. A transferrina libera para o metabolismo somente um dos dois átomos de Fe^{3+} , que se reduz a Fe^{2+} para as reações de formação de hemoglobina (normoblastos), ferritina (órgãos hematopoiéticos), mioglobina (músculo), e de enzimas heme (BACILA, 2003).

O leite materno contém uma glicoproteína que se liga ao ferro, chamada lactoferrina. Esta possui uma importante atividade no mecanismo de absorção de ferro em leitões lactentes (GISLASON et al., 1995). A lactoferrina compete com as bactérias existentes no lúmen intestinal pelo ferro, uma vez que este mineral é um importante nutriente para bactérias entéricas.

Esta glicoproteína, membro da família da transferrina, é um importante componente do sistema imunológico inespecífico, sendo a ela atribuídos muitos papéis fisiológicos, incluindo a regulação do metabolismo do ferro, a proteção contra a infecção microbiana, regulação da função imune, a estimulação de respostas imunitárias não específicas e a modulação da resposta inflamatória. Além deste possível efeito protetor, a lactoferrina facilita a absorção de ferro através de um mecanismo receptor, sendo encontrada ao longo de toda membrana epitelial das células do intestino delgado dos leitões neonatos (GISLASON et al., 1995).

Detalhes precisos quanto aos mecanismos específicos da absorção intestinal de ferro, tanto seus mecanismos bioquímicos como sua regulação, não são totalmente conhecidos. Todavia, a absorção de ferro consiste de sua captação pelas células da mucosa, de seu movimento através da célula e, finalmente, de sua liberação pela célula, para que possa atingir a circulação.

2.1.2 Transporte

Como a distribuição do ferro tem uma dinâmica própria, esse mineral pode ocupar diferentes compartimentos (estoque, transporte e funcional) que são interligados. Estes compartimentos são afetados sequencialmente à medida que progride o déficit de ferro corporal. Inicialmente observa-se uma queda do ferro em estoque, seguida pela deficiência no transporte e, finalmente, redução no compartimento eritróide ou funcional. O ferro é transportado no corpo pela transferrina, uma proteína plasmática sintetizada no fígado (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

A transferrina di-férrica circulante liga-se a um receptor específico na superfície celular. Após essa ligação, há invaginação do complexo ligante-receptor em uma vesícula. A subsequente queda no pH, que ocorre no interior dessa vesícula, reduz a afinidade da transferrina pelo ferro, o qual é liberado e transportado no citosol. A apotransferrina permanece ligada ao seu receptor até que

retorne o pH fisiológico na superfície da célula. Nesse momento é liberada e está pronta para um novo ciclo de transporte de ferro. Quando há necessidade de ferro, existe um aumento de receptores de transferrina na superfície celular (COOK; BAYNES; SKIKNE, 1992).

Uma vez absorvidos, tanto o ferro heme quanto o ferro não heme são estocados complexados a proteínas (ferritina ou hemossiderina) ou transportados pela transferrina, através da membrana basolateral, para o plasma. Utilizando a técnica de clonagem posicional de genes, foi identificado o transportador ferroportina ou IREG-1 (*Iron regulated transporter protein-1*), responsável pelo influxo de ferro através da membrana basolateral dos enterócitos para a corrente circulatória. Este mecanismo requer a participação de uma oxidase. A hepaheptina e a ceruloplasmina são oxidases cobre dependentes que auxiliam na transferência do ferro da membrana basolateral do enterócito para a transferrina na corrente circulatória (MACHADO; IZUMI; FREITAS, 2005).

2.1.3 Reserva

A ferritina é uma proteína não heme (globulina) e seus níveis séricos refletem o status de ferro no organismo animal. Pode-se relacionar que os níveis de ferritina sérica aumentados podem ser usados como um marcador de sobrecarga de ferro, estando esta presente principalmente no intestino e no fígado (SUTLLE, 2010).

A hemossiderina contém 37% de ferro, principalmente na forma de hidróxido férrico, porém de liberação muito lenta. A maior parte do ferro administrado é encontrado no organismo como ferritina, sendo o excesso acumulado no fígado como hemossiderina. A hemossiderina é a forma de armazenamento predominante quando um status elevado de ferro é atingido, sendo um derivado da ferritina após a proteólise por enzimas lisossomais (BACILA, 2003).

A ferritina mensurada no plasma é uma apoferritina (molécula sem ferro), no entanto o termo ferritina sérica é o mais utilizado. Para sua denominação a apoferritina é sintetizada no fígado e apresenta uma estrutura geométrica esférica que é capaz de armazenar várias moléculas de Fe. Quando ligada ao ferro ganha o nome de ferritina, estrutura esta responsável pelo armazenamento de Fe no organismo, e capaz de mobilizar grandes quantidades quando necessário (THEIL, 2004).

O armazenamento de ferro em recém-nascidos é influenciado pela dieta materna durante o período gestacional, sendo que a maior parte da reserva ocorre no final da gestação. No entanto, se o número de recém-nascidos é maior que o normal, como no caso de leitegadas supranumerárias este aporte individual diminui (MAYNARD et al., 1979).

O ferro em excesso pode lesar diferentes tecidos por catalisar a reação que converte peróxidos de oxigênio em íons radicais livres, que destroem a membrana celular, proteínas e o DNA (HENTZE; MUCKENTHALER; ANDREWS, 2004). Portanto, o excesso de ferro não é benéfico devido a complicações tóxicas ocasionadas pelo seu acúmulo. Assim é necessário que haja uma homeostase constante no metabolismo do ferro, possibilitando a manutenção das funções celulares essenciais e evitando possíveis danos teciduais (GROTTO, 2008).

2.1.4 Excreção

O termo biodisponibilidade, relacionado ao ferro, é a fração do mineral capaz de ser absorvida pelo trato gastrintestinal e armazenada e incorporada ao heme. A homeostase de ferro no organismo é mantida pelo processo de absorção, pois apenas pequenas quantidades são excretadas. O excesso de ferro é armazenado sob a forma de ferritina, sendo facilmente mobilizado quando as necessidades corporais deste mineral aumentam. Quantidades menores de ferro são armazenadas como hemossiderina, uma forma de depósito mais estável e menos acessível. Uma vez absorvido é retido pelo organismo, que não o elimina em quantidades consideráveis. Portanto, o ferro não é facilmente excretado do organismo (MAYNARD et al., 1979).

O ferro não é excretado na urina devido a afinidade da transferrina pelo metal, o que impede a passagem pelo glomérulo. No entanto, o ferro que excede a quantidade de apoferritina no organismo é depositado como hemossiderina (BACILA, 2003).

O nível de ferro adicionado as dietas, principalmente através do carbonato e do sulfato ferroso, geralmente é mais elevado do que o necessário para o máximo desempenho, resultando em prejuízos para o animal, além de aumento na excreção e, conseqüentemente, maior impacto ambiental (ROSTAGNO et al., 2011).

Pesquisas indicam que somente cerca de 50% do ferro absorvido a partir de sulfato de ferro é utilizado pelo organismo, sendo o restante eliminado (ASHMEAD, 1993).

2.2 EXIGÊNCIAS DE FERRO

O ferro possui diversas funções relevantes no metabolismo dos suínos. A transferência de ferro através da placenta é baixa, regulada em grande parte pela uteroferrina, uma glicoproteína contendo ferro. O ferro, que é transferido através do tecido placentário, é usado para hematopoiese no feto em desenvolvimento, sendo o restante disponível para armazenamento. As tentativas para estimular a transferência de ferro para o tecido fetal, alimentando as porcas com vários compostos durante várias fases da gestação, não foram bem sucedidas (DUCSAY et al., 1984; POND et al., 1961).

O trato digestório do leitão ao nascimento está adaptado à digestão e utilização do leite da porca, cujo conteúdo de ferro é cerca de 1,3 mg/mL (POUND; HOUPPT, 1978). Através do leite materno apenas 1 mg de ferro é suprido, isto representa 10 a 20% das necessidades reais dos leitões, o que significa que os 80 a 90% restantes devem ser mobilizados da reserva de ferro do organismo (ALMEIDA et al., 2007). Csapó et al. (1996) analisaram a concentração de ferro no colostro e no leite e constataram que o valor do mineral obtido no colostro foi de 1,70 mg/mL e no leite o valor foi de 2,92 mg/mL.

Embora a reserva de ferro do leitão ao nascimento seja de aproximadamente 50 mg e a exigência diária do leitão esteja entre 7 a 16 mg (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2012), esta é baixa para atender à exigência e se esgota no período de 7 a 10 dias pós-parto. Portanto leitões lactentes alimentados com leite materno e criados em baias de piso de concreto sem acesso direto ao solo, são altamente susceptíveis a sinais clínicos de deficiência de ferro, demandando que uma fonte exógena de Fe deva ser fornecida para prevenir a anemia (GAMBLING; LORRAINE; MAcARDLE, 2004).

A necessidade de ferro na dieta diminui com o aumento da idade e peso dos suínos, devido a diminuição do volume sanguíneo por unidade de peso corporal e devido a uma maior ingestão diária de ferro através do maior consumo de ração. Então, a necessidade de ferro para leitões de 1 a 5 kg e de 20 a 50 kg de peso vivo é variável de 100 e 60 mg/kg, respectivamente. Os leitões possuem maior

exigência que animais adultos devido a alta taxa de ganho de peso nos primeiros dias de vida, sendo uma das espécies mais susceptíveis às deficiências do mineral, cujos valores recomendados para o período imediato ao pós-desmame são de 80mg/kg (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2012).

A absorção do ferro é maior quando sua demanda é maior. Assim, animais em fases pré-inicial e inicial exigem mais ferro e também apresentam maior taxa de absorção, que é naturalmente baixa nas fases posteriores, de modo que para os leitões recém-nascidos a taxa de assimilação é de 99% do ferro da dieta e em animais adultos é ao redor de 12% (BERTECHINI, 2012).

2.2.1 Anemia Ferropriva

Em leitões lactentes criados em sistemas de confinamento ou em animais dependentes de alimentação baseada exclusivamente em leite, a deficiência de ferro é comum. Este quadro é devido a múltiplos elementos à baixa reserva de ferro ao nascimento, à baixa transferência de ferro da mãe aos fetos através da placenta, e o baixo nível de ferro no leite materno associado à rápida curva de crescimento após o nascimento até o desmame (UNDERWOOD, 1981).

A primeira alteração é uma depleção de ferro armazenado como hemossiderina ou ferritina no fígado, rins, baço e na mucosa. Estas alterações são acompanhadas pela diminuição da ferritina sérica. A duração da fase de depleção é determinada pelo tamanho da reserva inicial de ferro e o fornecimento diário na dieta. A segunda alteração é caracterizada por uma diminuição de ferro no soro (SUTTLE, 2010).

A fase de disfunção pode ser observada quando a taxa de crescimento diminui. A atividade de enzimas dependentes de ferro diminui e ocorre um aumento da glicólise anaeróbica e da reciclagem de lactato-glicose, levando a utilização ineficiente de glicose. Nesta fase, os leitões apresentam diminuição nas concentrações de mioglobina e de enzimas do grupo citocromo oxidase. A privação prolongada de ferro provoca a perda de apetite, diminuição do crescimento, letargia, palidez das mucosas, aumento da taxa de respiração e, quando grave, a mortalidade. Estes sinais são largamente causados pelo desenvolvimento da anemia, mostrado por uma queda acentuada no número de eritrócitos em circulação (SUTTLE, 2010).

Os leitões anêmicos comparados a animais saudáveis apresentam uma maior susceptibilidade à endotoxina de *Escherichia coli* (KLASING; KNIGHT; FORSYTH, 1980).

A deficiência de ferro resulta em pelo menos duas anormalidades na resposta imune, defeito na imunidade mediada por células e prejuízos na morte bacteriana por fagocitose (atividade da mieloperoxidase reduzida). A evidência da piora da imunidade mediada por células defeituosas inclui uma redução de até 35% do número de células T circulantes. Tanto as células T auxiliares como as supressoras são afetadas (LEE et al., 1998).

A falta de ferro afeta diversos sistemas em função da redução na oxigenação pelo decréscimo na concentração de hemoglobina. O sinal mais comum de deficiência é a anemia microcítica hipocrômica caracterizada por células vermelhas menores e com concentração menor de hemoglobina (HARVEY, 2000).

O quadro típico de anemia ferropriva em leitões pode ser observado através do exame de mucosas, também a pele com aparência pálida é observada em animais anêmicos (MORES et al., 1998). Um sinal de quadro agudo é a respiração evidente, ou seja, aumento da frequência respiratória e cardíaca, redução da viscosidade sanguínea, com um excessivo trabalho do músculo do diafragma após exercício e respiração dificultosa (VIOLA, 2003).

Para suprir a exigência uma fonte exógena de ferro deve ser fornecida para os leitões com o intuito de prevenir o aparecimento de um quadro anêmico. A exigência corporal total de Fe para os suínos é baixa, porém é maior na fase de maternidade, cuja taxa de crescimento rápido e síntese de hemoglobina elevada aumentam a demanda para este mineral. A suplementação de ferro injetável nos leitões, feita de forma intramuscular na dose única de 200 mg, é um manejo bastante conhecido e utilizado devido à baixa reserva hepática do mineral nos neonatos. A ausência de suplementação de ferro para os leitões entre o segundo e o terceiro dia de vida pode levar ao aumento na mortalidade na maternidade.

2.2.2 Suplementação de Ferro Dextrano

O manejo mais praticado de suplementação de ferro dextrano para os leitões é através da administração injetável de 200 mg em dose única, via intramuscular ou subcutânea até o 3º dia de vida. A partir do local da aplicação do

ferro dextrano uma parte significativa é captada pelo sistema mononuclear fagocitário. O composto é absorvido por enzimas lisossomais dos fagócitos e armazenado como ferritina (KAMPHUES; MAENNER; NETZER, 1992).

A eliminação do ferro dextrano pelo sistema mononuclear fagocitário é rápida. Segundo Sladic e Cvetkovic (1978), verificou-se que todo o ferro foi eliminado do local da aplicação sete dias após a administração. Depois da aplicação intramuscular de ferro dextrano, o conteúdo dos linfonodos inguinais e nódulos linfáticos intestinais aumentaram. O aumento do teor de Fe nos linfonodos é induzido pela ingestão de ferro dextrano pelos macrófagos.

Apenas 1 a 2% de ferro dextrano encontra-se presente como Fe livre e liga-se diretamente à transferrina quando atinge a corrente sanguínea (KOLB; HOLFMAN, 2005).

A resposta ao tratamento com ferro dextrano sobre os parâmetros hematológicos é rápida. Holter et al. (1991) observaram que a aplicação de ferro dextrano para leitões anêmicos levou a um aumento da hemoglobina, do hematócrito, e do volume globular médio quatro dias após o tratamento e constataram que o ferro dextrano injetável estimulou a produção de eritrócitos.

A suplementação de ferro dextrano no 3º dia de idade preveniu a diminuição da concentração de retinol no plasma, essencial no desenvolvimento dos tecidos e na integridade das mucosas (SWEIGERT et al., 2000).

Uma única dose de ferro dextrano deve assegurar que cada leitão receba ferro suficiente para manter a sua concentração de hemoglobina no sangue. No entanto, a recomendação dada por diferentes autores sobre a dosagem e o número de doses é conflitante. A abordagem mais comum para a prevenção da anemia é a suplementação de 200 mg de ferro dextrano no terceiro dia de vida.

A suplementação excessiva de ferro injetável ou por via oral, acima de 200 mg, deve ser evitada porque o ferro sérico em excesso estimula o crescimento de bactérias e resulta em aumento da susceptibilidade à infecção e à diarreia (KADIS et al., 1984). A administração oral de ferro promove o crescimento de *E. coli* patogênica entérica, sendo por isso preterido em relação à injetável (KLASING; KNIGHT; FORSYTH, 1980).

O excesso de ferro que atinge a corrente sanguínea após a ingestão ou a injeção parenteral, pode aumentar a participação do mineral livre no soro por exceder a capacidade de transporte pela transferrina. Este quadro causa danos às

membranas celulares, resultando em lesão vascular, hepática, choque e morte (SOBESTIANSKY et al., 1999).

Neste aspecto, um fator importante correlacionado com a suplementação dos leitões com o ferro injetável é a ausência de um critério que considere a dose em relação ao peso dos leitões, o que, portanto, pode apresentar riscos pelo seu excesso (PUNTARULO, 2005).

Também nos quadros patológicos, o ferro é o primeiro nutriente limitante para o crescimento de muitos agentes nos fluidos extracelulares (WARD; BULLEN; ROGERS, 1996). Portanto, o aporte de ferro deve estar em equilíbrio, promovendo a prevenção da anemia e o risco de toxicidade de ferro (LIPINSKI et al., 2010).

Quanto as vias de administração do Fe, vários experimentos vem sendo conduzidos nos últimos anos. Maes et al. (2011) concluíram que a administração oral de ferro foi tão eficaz quanto a intramuscular. Uma ração rica em ferro foi fornecida três vezes em duas semana, sendo cada leitão suplementado com 10 g de ferro em cada período. O outro grupo recebeu uma aplicação única de 1 mL de 200 mg de ferro dextrano. As maiores concentrações de hemoglobina foram vistas com o tratamento de ferro oral, sendo que o desempenho e o consumo de ração foram semelhantes em ambos os tratamentos.

Lipinski et al. (2010) investigaram um protocolo de divisão de aplicações de ferro com o objetivo de minimizar os possíveis efeitos tóxicos do mineral e melhorar o metabolismo do ferro. Os leitões receberam duas aplicações de 40 mg de ferro no terceiro dia e no décimo dia ou uma dose de 100 mg no terceiro dia. As primeiras aplicações impediram a diminuição dos parâmetros eritrocitários. Outra vantagem do protocolo com as subdivisões das doses foi a prevenção da alta expressão do RNAm HepC (hepcidina). Diferentes receptores nas células do duodeno são responsáveis pelo transporte do ferro para dentro da célula, transportador de metal bivalente (DMT1) e ferroportina (FPN). Nos primeiros dias de vida dos leitões a expressão destas proteínas foi baixa, já no quarto dia de vida a expressão foi detectada pela primeira vez. Durante os primeiros dias os enterócitos ainda estão em processo de transformação, o que pode ser uma explicação para a baixa expressão de DMT1 e FPN. Assim, a absorção de ferro quando administrado pela via oral em leitões não é tão eficaz como em suínos em crescimento. O mineral

sofre uma baixa absorção nos dois primeiros dias dada a regulação negativa da FPN, devido à hepcidina.

A hepcidina é um dos mecanismos envolvidos na absorção do ferro no duodeno apical. Neste estudo, o RNAm HepC mostrou-se elevado nos dois primeiros dias de vida dos leitões, um comportamento comum em suínos em fase de terminação. Depois de dois dias de vida o RNAm HepC diminuiu, sugerindo, teoricamente, que o leitão apresentou-se capaz de obter o ferro a partir do segundo dia. Já a concentração do mineral aumentou após sua suplementação, apontando a regulação negativa do receptor ferroportina (LIPINSKI et al., 2010).

2.2.3 Minerais

Os elementos minerais essenciais são classificados em macro (cálcio, fósforo, potássio, magnésio, sódio, enxofre e cloro) e microminerais (ferro, zinco, cobre, manganês, níquel, cobalto, molibdênio, selênio, cromo, iodo, flúor, estanho, silício, vanádio e arsênio) de acordo com as quantidades exigidas pelos animais (VIEIRA, 2005). Os macrominerais são necessários em quantidades de 100mg ou mais por dia enquanto que os microminerais são necessários apenas em pequenas quantidades, alguns miligramas ou microgramas (ASHMEAD, 1993).

Na carência ou deficiência de um dado elemento mineral essencial ocorre uma serie de fenômenos negativos, que invariavelmente, levam ao desequilíbrio homeostático, sendo resumidamente observados menor desempenho produtivo, ocorrências de enfermidades e morte (BARUSELLI, 2008).

O baixo custo relativo dos minerais inorgânicos e as exigências mal definidas resultaram na utilização de níveis muito elevados destes minerais na indústria de nutrição animal em comparação com as recomendações do National Research Council (2012).

As fontes de minerais mais utilizadas na nutrição animal são as fontes inorgânicas (óxidos, sulfatos, cloretos, carbonatos e fosfatos) que ao atingirem o estômago dissociam-se das moléculas liberando íons metálicos, que para serem absorvidos necessitam de um agente ligante ou molécula transportadora (POLLI, 2002). Muitas vezes estes íons não encontram este agente ligante e acabam sendo excretados (HERRICK, 1993).

Portanto, as fontes de ferro utilizadas nos suplementos para rações de aves e suínos no Brasil são o carbonato de ferro e o sulfato ferroso mono ou heptahidratado, que contém, respectivamente, 43%, 30% e 20% de ferro (ROSTAGNO et al., 2011). O sulfato de ferro heptahidratado, apesar da alta biodisponibilidade, forma grandes cristais cujas propriedades não permitem boa distribuição nas rações, além disso, o composto possui elevado potencial prooxidante e reage com outros componentes da ração, produzindo características organolépticas indesejáveis ou se tornando menos disponível para absorção (COCATO et al., 2008). Pesquisas indicam que somente cerca de 50% do ferro absorvido a partir do sulfato de ferro é utilizado pelo organismo, sendo o restante dirigido para o intestino grosso onde é eliminado (ASHMEAD, 1993).

Existe também uma inibição da absorção de minerais quando estes, na forma inorgânica, estão associadas com diversas substâncias como o ácido oxálico e fitico, tanino, fibras etc. Portanto, o simples fornecimento não garante sua absorção e utilização pelo animal, pois é preciso que tenham uma boa disponibilidade biológica. Para diminuir este impacto e neutralizar esse efeito indesejado surgiu a utilização na forma quelatada desses minerais (OLIVEIRA, 2004), que são resultantes de processos industriais de ligação de um ou mais metais a uma ou mais moléculas orgânicas, como aminoácidos e peptídeos (ACDA; CHAE, 2002).

É importante ressaltar que para a avaliação dos suplementos minerais para animais deve-se considerar a concentração e a biodisponibilidade dos elementos. Essa biodisponibilidade diz respeito às formas como os minerais podem ser absorvidos no intestino e usados pelas células (UNDERWOOD, 1981).

2.3 MINERAIS QUELATADOS

A palavra “quelatos” vem do grego *chele* que significa “garra”, um termo que descreve a maneira que os íons metálicos polivalentes são ligados a compostos orgânicos ou sintéticos. Em geral a biodisponibilidade dos minerais na forma quelatada é dependente de três condições básicas na estrutura do composto, da forma de ligação com o metal, do peso molecular do quelato e da constante de estabilidade do quelato. A primeira condição na estrutura do composto, na forma de ligação com o metal que pode formar quelatos com dois ou três aminoácidos, é o

estado de inércia do íon metálico na molécula, permitindo que este entre com facilidade nas vias metabólicas, pois assume a característica de uma molécula orgânica (RUTZ; MURPHY, 2009).

O uso de minerais associados a fontes orgânicas ou quelatadas tem sido crescente na nutrição animal e, de acordo com Maletto (1984), apresenta vantagens em relação às fontes inorgânicas como maior absorção, alta estabilidade, alta disponibilidade, maior tolerância pelo organismo animal (menos tóxico), ausência de problemas de interações com outros macros e microminerais da dieta e com componentes como gordura e fibra.

Fatores como aqueles inerentes ao animal, como idade, pH do trato digestivo, ou relacionados ao excesso ou ausência de determinados minerais, conteúdo de nutrientes orgânicos, sanidade, entre outros, são menos impactantes quando o mineral está na forma orgânica, ligado a um aminoácido, pois sua absorção é direta, não sofrendo interferência destes fatores (SUTTLE, 2010).

Os minerais orgânicos, segundo a Association American of Feed Control Officials (1999), podem ser classificados diferentemente de acordo com as fontes orgânicas a que estão vinculados. Assim, os minerais orgânicos ou quelatados são compostos formados por íons metálicos sequestrados por aminoácidos, peptídeos ou complexos polissacarídeos que proporcionam a esses íons alta disponibilidade biológica, alta estabilidade e solubilidade (MAIORKA; MACARI, 2002).

Usualmente são mais caros quando comparados com fontes inorgânicas do mesmo mineral e, tradicionalmente, o aumento na inclusão destas fontes inorgânicas é considerado mais econômico. Entretanto, há indicações de que, em algumas situações, os minerais orgânicos podem atingir fins biológicos que os inorgânicos não podem. Os minerais orgânicos ou quelatados tem sido desenvolvidos com a finalidade de garantir a absorção do mineral no trato intestinal sem entrar no processo de competição iônica (pressão iônica da mucosa intestinal), normalmente determinada pela presença de maior concentração dos íons minerais (VIEIRA, 2005).

Por serem absorvidos em praticamente 100% a utilização da suplementação mineral na forma de quelatos permite reduzir os requerimentos dietéticos de minerais dos animais. Por serem mais eficientemente utilizados pelo

organismo animal, os quelatados também diminuem a contaminação ambiental (OLIVEIRA, 2004).

Como principal característica, estes elementos minerais estão ligados a carreadores como aminoácidos ou polissacarídeos que têm a habilidade de se ligar a metais, normalmente através de ligações covalentes aos grupos amino ou oxigênio. O quelato normalmente é uma estrutura em forma de anel com metais bi ou multivalentes ligadas forte ou fracamente através de duas ou mais ligações covalentes. O ferro na hemoglobina é um exemplo clássico. A ligação covalente é tal que o quelato não tem carga elétrica (LEESON; SUMMERS, 2001).

A neutralidade dos minerais orgânicos, isto é, sua estrutura química estável de natureza eletricamente neutra no trato digestório, termina por conferir ao composto uma maior solubilidade, sendo este fato muito importante para a compreensão dos mecanismos de absorção dos minerais orgânicos (RUTZ; MURPHY, 2009).

Todavia, o baixo peso molecular é a chave para a absorção como molécula intacta. Se o peso molecular de um quelato for maior do que 800 dáltons, certamente sofrerá prévia hidrólise na luz do trato digestório e a absorção pela mucosa não será garantida (ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS, 1999).

Para a produção de quelatos pode-se usar várias moléculas como ligantes, que têm função específica no metabolismo. Esses ligantes são de baixo peso molecular e têm a capacidade oxidativa ou “ligante” dependente do tamanho da molécula e da presença de radicais carboxílicos. Um cátion polivalente pode fazer a ligação com uma, duas ou várias dessas moléculas para formar um quelato. Os microminerais que chegam ao intestino delgado na forma quelatada não formam complexos insolúveis no nível de lúmen intestinal e são mais rapidamente absorvidos e liberados para a corrente sanguínea. As propriedades dos íons metálicos diferem daquelas dos íons livres ou simplesmente hidratados, porque sua presença nas estruturas quelatadas modifica as características químicas e físicas dos grupos coordenados, protegendo-os da influência dos agentes externos, tornando-os resistentes à dissociação dos componentes e dando-lhes estabilidade química. A forma quelatada deve ser constituída de dois ou três anéis de aminoácidos quelantes para serem estáveis. Quando a constante de estabilização dos aminoácidos é grande, estes irão resistir à ação de peptidases que quebram as

ligações peptídicas internas, liberando o átomo de metal na molécula (ASHMEAD, 1993).

De acordo com Leeson e Summers (2001), devido a grande semelhança com pequenas cadeias de aminoácidos mono, di e tri-peptídeos, os proteínatos são a forma de minerais orgânicos mais indicada para a utilização em dietas animais.

Os minerais quelatados com aminoácidos têm a absorção garantida através de mecanismos de transporte passivo no jejuno, onde a absorção pode ocorrer de duas formas: o mineral pode ser ligado à borda em escova, sendo absorvido pela célula epitelial; ou, como ocorre na maioria das vezes, o agente quelatante é absorvido levando consigo o metal que a ele se ligou, de modo que o mineral se aproveita do aminoácido para obter o destino final (SECHINATO et al., 2006).

A forma utilizada de quelato aminoácido com metal é produto resultante da reação entre um íon metálico oriundo de um sal metálico solúvel com aminoácidos dentro de uma relação molar de um mol de metal para um a três moles de aminoácidos (preferencialmente dois) para formar ligações covalentes coordenadas. Somente os minerais de transição como o cobre, o ferro, o manganês e o zinco apresentam as características físico-químicas que possibilitam a formação de ligação covalente coordenada com aminoácidos e peptídeos e, desta forma, os complexos biologicamente estáveis (ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS, 1999).

O primeiro experimento com o uso de minerais quelatados na alimentação animal foi desenvolvido por Neathery et al. em 1972 na Universidade da Geórgia. Os autores, utilizando dietas à base de milho com zinco marcado radiotivamente, sendo uma dieta com zinco quelatado e outra com o sulfato de zinco, verificaram que a quantidade de zinco em alguns órgãos e tecidos foi 40% maior para o mineral quelatado em comparação ao normal.

Os minerais quelatados apresentam como principal característica a utilização de vias de absorção alternativas, como é o caso do Fe orgânico. Nesta forma os minerais são absorvidos pelos carreadores intestinais de aminoácidos e peptídeos e não pelos transportadores intestinais clássicos de minerais. Assim, não sofrem competição por já possuírem seu próprio aminoácido ao entrar no trato digestório.

Devido a sua forma de ligação, o mineral metálico é quimicamente inerte, não interagindo assim com os íons metálicos livres. Desta maneira é absorvido, passando diretamente para o plasma através das células da mucosa intestinal, sem que sua ligação seja alterada. A separação do aminoácido quelante irá acontecer no local em que o mineral será usado. Um mineral que foi corretamente quelado, seja naturalmente ou por processos industriais, tende a ser absorvido no intestino de forma semelhante a um dipeptídeo ou tripeptídeo que normalmente apresentam altos coeficientes de absorção (ASHMEAD, 1993).

Todavia, isto evita a competição entre minerais pelos semelhantes mecanismos de absorção. As moléculas dos minerais na forma orgânica não sofrem dissociação em pH ácido, e permanecem com carga elétrica neutra. Portanto, não ocorre reação com outras moléculas presentes na luz intestinal, sendo a maior parte absorvidos, e suas concentrações diminuídas nas fezes (COSTA et al., 2008).

Acredita-se que a utilização de ferro quelatado proteja o mineral da reação com diversos constituintes da dieta, aumentando a sua biodisponibilidade (PINEDA; ASHMEAD, 2001).

Yu, Huang e Chiou (2000) relataram que leitões que receberam via ração um complexo de ferro quelatado tiveram um aumento na concentração de hemoglobina (14%) após 5 semanas comparados com aqueles alimentados com sulfato de Fe (9%), o que sugere uma maior biodisponibilidade do quelatado.

Quando o ferro é fornecido na forma de quelato de aminoácidos, a absorção intestinal deste mineral foi melhorada, como aponta um experimento *in vitro*, onde a exposição intestinal a 50 mcg de ferro de várias formas durante 2 minutos demonstrou que a absorção do Fe quelado foi 4,9 vezes do que o óxido, 3,8 vezes mais do que o sulfato, e 3,0 vezes mais do que o carbonato (ASHMEAD, 1993).

Estudos têm demonstrado que minerais sob a forma de sais inorgânicos são geralmente ionizados no estômago e absorvidos no duodeno, onde o pH determina sua solubilidade. A partir disso são ligados a proteínas e incorporados pela membrana das células da mucosa intestinal. O transporte para o interior das células se dá pela difusão passiva ou pelo transporte ativo. Nessas condições é que podem ocorrer perdas pela reação com compostos, como colóides insolúveis ou no processo de competição pelos sítios de absorção entre os elementos minerais, com interações antagônicas que inibem a absorção. Nos

aminoácidos quelatados o elemento mineral metálico na molécula é quimicamente inerte, por causa da forma de ligação. Então não é afetado pelos diferentes ânions como os íons metálicos livres. São absorvidos no jejuno, atravessam as células da mucosa e passam diretamente para o plasma. A separação do aminoácido quelante dá-se no local onde o elemento mineral metálico é utilizado (ASHMEAD, 1993).

O uso de microminerais quelatados pode melhorar a biodisponibilidade de minerais para animais. A vantagem potencial da utilização de minerais quelatos é que o ligante orgânico com o mineral pode fornecer estabilidade ao complexo no trato gastrointestinal superior, minimizando as perdas minerais para antagonistas e permitindo melhor absorção no intestino delgado (LIM; PAIK, 2003).

Segundo Rutz e Murphy (2009), a absorção intestinal do ferro quelatado é diferente da absorção de sulfato ferroso. O quelato chega ao sangue como a mesma molécula pequena (aproximadamente 800 daltons) que foi originalmente ingerida, enquanto o ferro a partir do sulfato que chega ao sangue está ligado a transferrina, uma molécula relativamente grande (aproximadamente 86.000 daltons). O peso molecular muito pequeno do ferro quelatado permite a molécula atravessar a placenta, enquanto o sulfato ferroso ligado à molécula de transferrina, por ter um maior peso molecular, não tem esta habilidade.

Alguns estudos demonstraram que a melhor absorção de ferro ocorre na forma orgânica (YU; HUANG; CHIOU, 2000; MUNIZ et al., 2005; BERTECHINI et al., 2012) e várias pesquisas avaliando o desempenho animal e a absorção de minerais orgânicos na dieta de suínos têm sido realizada com êxito (PETERS; MAHAN, 2005; MAHAN; WATTS; ST-PIERRE, 2009; PETERS et al., 2010).

Mateos, Valencia e Moreno (2004), avaliando o nível de ferro nos leitões mediante a suplementação de ferro para as matrizes durante a lactação, demonstraram que a utilização de ferro na forma de quelato melhorou o nível hepático do mineral, a formação de hemoglobina e o crescimento dos leitões, enquanto na forma inorgânica não exerceu os mesmos efeitos. Estudos com minerais orgânicos ou quelatados possuem a finalidade de garantir a absorção do mineral no trato intestinal sem entrar no processo de competição iônica.

Spears e Flowers (1995) estudaram o peso dos leitões a desmama quando as matrizes foram alimentadas com duas dietas distintas. Na primeira dieta as matrizes receberam 100% dos níveis indicados pelo National Research Council

(2012) de Zn, Fe, Mn e Cu, porém 25% eram compostos de minerais quelatados. A segunda dieta era composta por 125% dos níveis indicados pelo NRC, porém apenas de minerais inorgânicos. Observou-se que o peso da leitegada à desmama na primeira dieta foi significativamente superior ao peso dos leitões da segunda dieta (75,5 kg vs 67,5 kg).

Resultados indicaram que a suplementação de 200 ppm de ferro orgânico para matrizes gestantes aumenta as reservas fetais, diminui o número de natimortos, aumenta o peso dos leitões ao nascimento e ao desmame, incrementa o nível de hemoglobina (Hb), além do aumento na concentração de ferritina e de imunoglobulinas e reduz a mortalidade pós-natal (CLOSE, 1999).

Peters e Mahan (2005) concluíram que fêmeas suplementadas até o quarto ciclo gestacional com mineral orgânico no terço final da gestação obtiveram aumento no número de leitões nascidos vivos por leitegada. Também houve aumento no peso da leitegada ao nascimento quando receberam microminerais orgânicos, diferindo dos que receberam microminerais inorgânicos.

A adição de ferro quelatado com aminoácidos ou proteínas na dieta pode prevenir e tratar a deficiência de Fe em animais e seres humanos (BOVELL-BENJAMIN; VITERI; ALLEN, 2000; KEGLEY et al., 2002). Um estudo mostrou que a fonte de Fe quelatado ou de Fe proteinado apresentou 125-185% de disponibilidade relativa em comparação ao sulfato ferroso (HENRY; MILLER, 1995). Um estudo com a suplementação de ferro com complexo de aminoácidos aumentou o ferro no plasma e a capacidade de ligação de ferro total no sangue e a hemossiderina e a ferritina no fígado e no baço de leitões desmamados (YU; HUANG; CHIOU, 2000).

A gestação e a lactação da matriz suína são fases muito críticas do ponto de vista da nutrição mineral. Durante a gestação uma quantidade muito importante de minerais é transferida da matriz para o leitão. A maior parte dessa transferência de minerais ocorre nas últimas semanas e aproximadamente 50% dos macros e microminerais são transferidos nos últimos 15 dias de gestação. A fonte desta quantidade tão expressiva de minerais são os tecidos corporais ou a ração consumida pela matriz.

Mahan, Watts e St-Pierre (2009) observaram maior transferência de minerais para os fetos em matrizes que receberam minerais no final da gestação, indicando a necessidade de aumentar a suplementação durante esta fase para recuperar a depleção, principalmente de microminerais.

Bertechini et al. (2012) avaliaram a suplementação de microminerais para porcas em gestação e lactação e os efeitos sobre os leitões ao nascer e aos 21 dias de idade. Foram utilizados dois suplementos de microminerais (formas orgânica e inorgânica) sob níveis de suplementação de ferro de 40 e 80 ppm administrados às porcas trinta dias pré-parto, prosseguindo até 21 dias pós-parto. Em relação aos teores de ferro contidos no leite, o tratamento com a fonte orgânica proporcionou os maiores valores ($P < 0,05$). O conteúdo de ferro no leite somente se elevou com a utilização de 80 ppm na forma orgânica. Verificou-se alteração da reserva de ferro hepático do leitão ao nascer e o teor de ferro no leite de forma significativa, sendo que os dados indicam benefícios importantes no desempenho da leitegada.

O peso ao nascimento e ao desmame também foi influenciado pela forma de fornecimento. O aumento de teor de ferro encontrado no fígado e sangue dos leitões oriundos de porcas tratadas com minerais orgânicos indica que houve uma maior passagem de ferro transplacentário para os leitões. No entanto, os mecanismos de absorção dos minerais orgânicos no intestino e a sua transferência placentária para os leitões ainda precisam de estudos específicos (BERTECHINI et al., 2012).

Portanto, em razão da potencialidade dos minerais quelatados este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar sua biodisponibilidade, definindo esta fonte de Fe dietético como um procedimento e produto viável para suprir as demandas deste mineral aos lactentes, evitando paralelamente os efeitos e os fatores negativos do manejo de administração injetável de ferro dextrano.

REFERÊNCIAS

- ACDA, S. P.; CHAE, B. J. A review on the applications of organic trace minerals in pig nutrition. **Pakistan Journal of Nutrition**, Pakistan, v. 1, n. 1, p. 25-30, 2002.
- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 5. ed. São Paulo: Ganabara Koogan, 1991.
- ALENCAR, N. X. et al. Metabolismo do ferro nos animais domésticos: revisão. **Revista de Educação Continuada do CRMV**, São Paulo, v.5, p.192-205, 2002.
- ALMEIDA, R. F. et al. Metabolismo do ferro em suínos recebendo dietas contendo fitase, níveis reduzidos de fósforo inorgânico e sem suplemento micromineral e vitamínico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1097-1103, 2007.
- ANDERSON, B. K.; EASTER, R. A. **A review of Iron nutrition in pigs**. Champaign: Illinois University, 1999.
- ASHMEAD, H. D. **The roles of amino acid chelates in animal nutrition**. Park Ridge: Noyes Publications, 1993.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. **Official Publication**. Atlanta, 1999.
- BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Robe, 2003.
- BARUSELLI, M. S. Minerais em forma orgânica: nova fronteira da mineralização na saúde animal. **Fármacos e Medicamentos**, São Paulo v.9, n.53, p.42-48, jul./ago. 2008.
- BERTECHINI, A. G. et al. Effects of dietary mineral bioplex in pregnant and lactating sow diets on piglet performance and physiological characteristics. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, mar. 2012 .
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2012.
- BOVELL-BENJAMIN, A. C.; VITERI, F. E.; ALLEN, L. H. Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v. 71, n. 6, 1563-1569, 2000.
- CLOSE, W. H. Organic minerals for pigs: an update. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 15., 1999. Nottingham. **Anais...** Nottingham: University Press, 1999. p. 51-60.
- COCATO, M. L. et al. Biodisponibilidade de ferro em diferentes compostos para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 12, p.2129-2135, 2008.
- CONRAD, J. H.; CROSBY, M. H. Intestinal mucosal mechanisms controlling iron absorption. **Blood**, Philadelphia, v.22, p.406, 1963.

COOK, J. D.; BAYNES, R. D.; SKIKNE, B. S. Iron deficiency and the measurement of iron status. **Nutrition research reviews**, Cambridge, v. 5, n. 1, p.189-202, 1992.

COSTA, F. G. P. et al. Novos avanços da nutrição de aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, CBNA, 2008. **Anais...** Fortaleza, 2008. p. 1-22.

CSAPÓ, J. et al. Protein, fats, vitamin and mineral concentration in porcine colostrums and milk from parturition to 60 days. **International Dairy Journal**, Essex, v. 6, n. 3, p. 881- 902, 1996.

DALLANORA, D.; MACHADO, I. P. Manejo com o leitão na maternidade. In: ALFIERI, A. et al. **Tópicos em sanidade e manejo de suínos**. Curuca Consciência Ecológica: Campinas, 2010.

DUCSAY, C. A. et al. Role of uteroferrin in placental iron transport: Effect of maternal iron treatment on fetal iron and uteroferrin content and neonatal hemoglobin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 11, p.1-12, 1984.

DUNN, L.L.; RAHMANTO, S. Y.; RICHARDSON, D. R. Iron uptake and metabolism in the new millennium. **Trends in Cell Biology**, Cambridge, v. 17, p. 93-100, 2007.

GAMBLING, L.; LORRAINE, J.; MCARDLE, H. J. Iron, copper and fetal development. **Proceedings the of Nutrition Society**, Aberdeen, v. 63, n. 4, p. 553-562, 2004.

GISLASON, J. et al. Receptor mediated binding of milk lactoferrin to nursing piglet enterocytes: a model for studies on absorption of lactoferrin-bound iron. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Paris, v. 21, p.56-66, 1995.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008.

HAHN, P. F. et al. Radioactive iron absorption by gastro-intestinal tract: influence of anemia, anoxia, and antecedent feeding distribution in growing dogs. **Journal of Experimental Medicine**, New York, n. 78, p. 169-188, 1943.

HARVEY, J. W. Microcytic anemias. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphi: Lippincott Williams&Wilkins, 2000. p. 200-204.

HENRY, J. B. **Diagnóstico clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18. ed. São Paulo: Manole, 1995.

HENRY, P. R.; MILLER, E. R. Iron availability. In: AMMERMAN, C. B.; BAKER, D. H.; LEWIS, A. S. (Ed.). **Bioavailability of nutrients for animals**. San Diego: Academic Press, 1995. p. 169-199.

HENTZE, W. M.; MUCKENTHALER, M. U.; ANDREWS, N. C. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. **Cell**, Cambridge, v. 117, n. 3, p. 285-297, 2004.

HERRICK, J. B. Mineral in animal health. In: ASHMEAD, H. D. **The roles of amino acid chelates in animal nutrition**. New Jersey:Noyes, 1993. p. 3-9.

HOLTER, P. H. et al. Effect of iron treatment on erythrocyte parameters in postnatal anemia of the pig. **Pediatric Hematology and Oncology**, London, v. 8, n. 1, p.1-11, 1991.

JACINTHO, T. M. Qual a diferença entre ferro heme e ferro não-heme? São Paulo: **Nutritotal**, set. 2005. Disponível em: <<http://www.nutritotal.com.br/perguntas/?acao=bu&id=236&categoria=23>> Acesso em: 20 set. 2014.

KADIS, S. et al. Relationship of iron administration to susceptibility of newborn pigs to enterotoxic colibacillosis. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago,v. 45, n. 2, p. 255-259, 1984.

KAMPHUES, J.; MAENNER, K.; NETZER, C. H. Effect of 2nd iron injection in suckling piglets on iron retention and performance before and after weaning. In: IPVS CONGRESS, 12., 1992, Hague. **Proceedings**... The Netherland, 1992. p. 601.

KEGLEY, E. et al. Iron methionine as a source of iron for the neonatal pig. **Nutrition Research**, v. 22, n.10, p. 1209-1217, 2002.

KLASING, K. C.; KNIGHT, C. D.; FORSYTH, D. M. Effects of iron on the anti coli capacity of sow's milk in vitro and in ligated intestinal segments. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 110, n. 9, p.1914-1921, 1980.

KOLB, E.; HOFMANN, U. Significance, metabolism and administration of iron compounds to pigs: A review. **Tieraerztliche Umschau**, Konstanz, v. 60, n. 7, p. 365-371, 2005.

LEE, G. R. et al. Wintrobe. **Hematologia clínica**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1998.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph, Ontario: University Books, 2001.

LIM, H. S.; PAIK, I. K. Effects of supplementary mineral methionine chelats (Zn, Cu, Mn) on the performance and eggshell quality of laying hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 16, n. 12, p. 1804-1808, 2003.

LIPINSKI, P. et al. Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 177, n. 3, p. 1233-1243, 2010.

MACHADO, A. A.; IZUMI, C.; FREITAS, O. Bases moleculares da absorção do ferro. **Alimentos e Nutrição**, Marília, v. 16, n. 3, p. 293-298, jul/set. 2005.

MAES, D. et al. Comparison of oral versus parenteral iron supplementation on the health and productivity of piglets. **Veterinary Record**, London, v. 168, n. 7, p.188, 2011.

MAHAN, D. C.; WATTS, M. R.; ST-PIERRE, N. Macro and trace mineral composition of fetal pigs and their accretion rates during fetal development. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 2823-2832, 2009.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Campinas: FACTA, 2002. p. 167-174.

MALETTO, S. Absorção e interferência dos elementos minerais no organismo animal. Micro-elementos: Importância na sanidade. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL, 1., 1984, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1984.

MANIS, J. G.; SCHACTER, D. Active transport of iron by intestine: feature of a two step mechanism. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v 203, p. 73-80, 1962.

MATEOS, G. G.; VALENCIA, D. G.; MORENO, E. J. Microminerales em alimentación de monogástricos. Aspectos técnicos y consideraciones legales. In: CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA, 20., Barcelona, 2004. **Actas...** Barcelona, 2004. p. 275-323.

MAYNARD, L. A. et al. **Animal nutrition**. 7. ed. New York: McGraw-Hill, 1979.

MIRET, S.; SIMPSON, J. R.; MICKIE, A. T. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. **Annual Reviews of Nutrition**, Palo Alto, v. 23, p. 283-301, 2003.

MONTEIRO, D. P. **Utilização de um suplemento alimentar a base de ferro quelatado em substituição ao ferro dextrano na fase pré-inicial de vida dos leitões**. 2006. Dissertação (Mestrado em ciências veterinárias) - Universidade Federal do Parana, Curitiba, 2006.

MORES, N. et al. Manejo do leitão do nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S.; SESTI, L.A.C. (Ed.) **Suinocultura intensiva**. Concórdia: Embrapa - CNPSA, 1998. p.135-161.

MORRIS, E. R. **Trace elements in human and animal nutrition**. 5. ed. New York: Academic Press, 1987.

MUNIZ, M. et al. Chelated minerals in diets for weaned piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.83, suppl. 2, p.178, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 11. ed., Washington: National Academic Press, 2012.

NEATHERY, M. W. et al. Effect of chemical form orally administered Zn-65 on absorption and metabolism in the cattle. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, Malden, v. 139,n.3, p. 953-956, 1972.

- NUNES, R. C. et al. Uso de ferro dextrano e acesso controlado e livre à terra no desempenho e prevenção da anemia ferropriva dos leitões. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v. 27, n.1, p.49-55, 1997.
- OLIVEIRA, A. S. **Minerais quelatados**. Rehagro, Inhaúma, 8 dez. 2004. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=472>>. Acesso em: 12 abr. 2014.
- PESCE, D. M. C. Microminerais protegidos em nutrição animal. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. 39, p. 85-91, 2002.
- PETERS, J. C.; MAHAN, D. C. Effects of dietary organic and inorganic trace minerals at NRC or elevated levels on sow reproductive performance over four parities. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.83, suppl. 2, p. 204, 2005.
- PETERS, J. C. et al. Effect of dietary organic and inorganic micromineral source and level on sow body, liver, colostrum, mature milk, and progeny mineral compositions over six parities. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 2, p.626-637, 2010.
- PINEDA, O.; ASHMEAD, H. D. Effectiveness of treatment of iron-deficiency anemia in infants and young children with ferrous bis-glycinate chelate. **Nutrition**, Burbank, v. 17, n. 5, p. 381-384, 2001.
- POLLI, S.R. Minerais orgânicos na alimentação de cães e gatos. **Boletim Informativo Nutron Pet**, n. 4, 2002. Disponível em:<<http://www.animalworld.com.br/vet/ver.php?id=190>>. Acessado em: 15 abr. 2014.
- POND, W. C. et al. Parenteral iron administration to sows during gestation and lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 20, p.747-750, 1961.
- POUND, W. G.; HOUP, K. A. **The biology of the pig**. London: Cornell University Press, 1978.
- POWER, R. Organic mineral absorption: molecular mimicry or modified mobility? In: LAUE, D. K.; TUCKER, L. A. (Ed.). **Recent Advances in Pet nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 2006.
- PUNTARULO, S. Iron oxidative stress and human health. **Medicine**, Buenos Aires, v. 26, n. 4-5, p. 299-312, 2005.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Viçosa: UFV, 2007.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2009, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2009.

- SECHINATO, A. S. et al. Efeito da suplementação dietética com micro minerais orgânicos na produção e qualidade de ovos de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 159-166, 2006.
- SLADIC-SIMIC, D.; CVETKOVIC, M. Iron resorption and iron stores in piglets after intramuscular injection of ^{59}Fe -iron dextran. **Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe A**, Berlin, v. 25, n. 8, p.680-683, 1978.
- SOBESTIANSKY, J. et al. **Clínica e patologia suína**. 2. ed. Goiania: Art 3 Impresses Especiais, 1999.
- SPEARS, J. W.; FLOWERS, W. I. **Effect of mineral proteinates on bay pig growth and survival and sow reproductive performance**. Technical report. Salt Lake City: Chelated Minerals Corp, 1995.
- SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 4. ed. Oxfordshire: CABI, 2010.
- SVOBODA, M.; DRÁBEK, J. Effect of oral administration of Fe^{2+} fumarate on erythrocyte profile and growth rate of suckling piglets. **Acta Veterinaria**, Brno, v. 71, p. 217-222, 2002.
- SWEIGERT, F. J. et al. Effect of iron supplementation on plasma levels of vitamins A, E and C in piglets. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 63, p. 297-302, 2000.
- THEIL, E. C. Iron, ferritin, and nutrition. **Annual review of nutrition**, Palo Alto, v. 24, p. 327-343, 2004.
- UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. 2nd ed. Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981.
- UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford: CABI, 1999.
- VIEIRA, S. L. Minerais Quelatados na Nutrição Animal. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 3., 2005, Cascavel – PR. **Anais...** Cascavel, 2005. p. 153-172.
- VIOLA, E. S. **Deficiências de microelementos: enfoque metabólico e nutricional**. Porto Alegre: UFRGS. 2003. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
- WARD, C. G.; BULLEN, J. J.; ROGERS, H. J. Iron and infection-new developments and their implications. **The Journal of trauma**, Baltimore, v. 41, n. 2, p. 356-364, 1996.
- WHITEHEAD, M. W.; THOMPSON, R. P. H.; POWELL, J. J. Regulation of metal absorption in the gastrointestinal tract. **Gut**, London, v. 39, n. 5, p. 625-628, 1996.

WIJAYANTI, N.; KATZ, N.; IMMENSCHUH, S. Biology of heme in health and disease. **Current medicinal chemistry**, The Netherlands, v. 11, n. 8, p. 981-986, 2004.

YU, B.; HUANG, W.; CHIOU, P.W. Bioavailability of iron from amino acid complex in weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 86, n. 1, p. 9-52, 2000.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Objetivou-se com este experimento avaliar o uso de ferro quelatado fornecido para matrizes em gestação e aos lactentes, a partir do 8º dia de vida como forma de suprimir as demandas do mineral para os leitões lactentes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os níveis de ferro presente no colostro e no leite das matrizes e no fígado de leitões natimortos.

Analisar o desempenho dos leitões na fase de maternidade e pós-desmama.

Avaliar o efeito dos tratamentos por meio do hemograma dos leitões.

1 **4 ARTIGO**

2
3 **THE EFFECT OF SUPPLEMENTAL DIETARY CHELATED IRON ON SOWS AND**
4 **SUCKLING AND WEANED PIGLETS**

5
6
7 **Running title:** Chelated iron for piglets

8
9 **Manuscript category:** Animal Science and Pastures

10
11
12 **Physiological effects and performance of suckling piglets treated with chelated and**
13 **injectable dextran iron**

14
15 Aliny Kétilim Novais¹, Eduardo Raele de Oliveira¹, Marco Aurélio Callegari¹, Cleandro

16 Pazinato Dias¹, Rita de Kássia da Silva dos Santos¹, Caio Abércio da Silva^{1*}

17
18 ¹Londrina State University - Dept. Animal Science. C.P. 86057-970 – Londrina, PR – Brazil.

19 * Corresponding author: <casilva@uel.br>

20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33 The article prepared according to the following guidelines: Scientia Agricola

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49

Abstract

The goal of this study was to evaluate the effect of chelated iron supplementation on gestating and lactating sows and on their suckling and weaned piglets. Reproductive traits, piglet performance, hematological parameters and the iron concentrations in colostrum, milk and stillborn livers were measured. Ninety-six sows were subjected to one of three treatment groups: T1, T2, or T3. Group T1 comprised pregnant and lactating sows treated with diets supplemented with inorganic iron (150 mg/kg) and suckling piglets administered 200 mg of injectable iron dextran. Group T2 was the same as T1, except that pregnant sows after 84 days of gestation, lactating sows and suckling piglets were fed a diet supplemented with 150 mg/kg of chelated iron, and suckling piglets were administered 200 mg of injectable iron dextran. Group T3 was the same as T2 but without injectable iron dextran for suckling piglets. During the nursery phase, all of the weaned piglets were penned with their original groups or treatments and received isonutritive and isocaloric feeds. Piglets from the T2 and T3 treatment groups also received an additional 150 mg/kg of chelated iron via their feed. There were no differences between the treatment groups in terms of reproductive traits or the iron concentrations the in colostrum, milk or liver. The piglets that did not receive the injectable iron dextran showed the poorest performance during the pre- and post-weaning phases and showed the poorest hematological parameters of the suckling piglets ($P < 0.05$). The iron dextran supplementation with chelated iron supplied via feed did not improve piglet performance. The chelated iron supplementation was insufficient to meet piglet demand. The iron dextran supply was necessary for suckling and weaned piglets.

Keywords: Iron deficiency anemia, iron dextran, hemogram, swine.

Introduction

The most commonly used procedure to address physiological iron deficiency is parenteral supplementation with iron dextran in a single dose of 200 mg, in the neck 3 days after birth (National Research Council, 2012). However, in this procedure, the piglet's weight is not taken into consideration when selecting the dose, making it possible to administer an excess of the mineral. Anemia can also occur because of failures in administration (reflux of medication) or because of dosing errors, given that 50% of the mineral is absorbed by epithelial cells at the injection site (Kolb and Hofmann, 2005). Iron management, although well established, can also have negative consequences including pain at the injection site, which leads to inflammation and can inhibit feeding. However, this method is very stressful to the piglets, they will suffer more pain if a greater dosage of iron is given intramuscularly (Chwen et al. 2001). Infections with *Streptococcus suis* and *Escherichia coli* can frequently progress to arthritis (Johansen et al. 2004). These pathogens are transferred through the use of contaminated syringes, needles, animal skin or contaminated hands.

There have been positive results from the use of chelated minerals, unlike from other research, in which the supplements tested did not promote improvement in serum parameters or in the performance of piglets. Wei et al. (2005) treated sows in late pregnancy and during lactation with one of three diets: supplementation with 80 mg of iron sulfate, with 120 mg of chelated iron, or with 120 mg of iron sulfate per kg of feed. The mineral level in the sow milk treated with 120 mg of chelated iron was higher in than the other treatments. However, the increase in iron concentration was not sufficient to replace the injectable mineral supplementation.

Bertechini et al. (2012) compared the iron content in the blood and liver of piglets and found that the piglets of sows treated with organic minerals had higher mineral levels at the first treatment and a greater weight at birth and at weaning than piglets from sows treated with

1 inorganic minerals. This increase indicates a higher transfer of transplacental iron. Parenteral
2 administration of chelated iron to sows, instead of the traditional treatment of 3-day old
3 piglets, is not widely practiced on commercial farms. Therefore, this study aimed evaluate the
4 use of dietary chelated iron, classified as a metal proteinate, on the gestation and lactation of
5 sows and on nursing suckling and weaned piglets to determine whether there are similar
6 physiological effects and similar performances obtained when compared to the use of
7 injectable iron dextran .

8 **Materials and Methods**

9 The experiment was approved by the Animals Ethics Committee of the Universidade
10 Estadual de Londrina (UEL), registered under number n. 24.939.2013.09, and was conducted
11 at a commercial swine farm. Ninety-six pregnant Topigs[®] sows that had been inseminated
12 with male Agroceres PIC[®] between 0-7 pregnancy cycles and their resulting litters were used
13 until the end of the nursery phase.

14 The experiment was divided into two phases. The first stage involved the sows and
15 suckling piglets. The randomized experimental design divided the sows into blocks according
16 to their gestational cycle. The sows were selected and distributed into three treatments with
17 thirty-two repetitions, in which each sow and its respective progeny were considered an
18 experimental unit. The gestating sows were housed in individual cages and subjected to
19 treatments for thirty days pre-partum. The lactating sows and their litters were housed in
20 individual pens throughout the lactation period.

21 The treatments, which were administered by the use of inorganic iron and/or chelated
22 (organic) iron in the sows and in piglets' rations, or by the administration of injectable iron
23 dextran to suckling piglets, are outlined as follows. Treatment 1 (T1): pregnant and lactating
24 sows were fed diets with iron sulfate (551 mg/kg and 537 mg/kg of feed, respectively) and
25 suckling piglets were administered 200 mg of iron dextran by injection. Treatment 2 (T2): the

1 same as T1, plus 150 mg of chelated iron/kg of feed for pregnant sows after 84 days of
2 gestation as well as for nursing piglets. Treatment 3 (T3): the same as T2, but without
3 administration of injectable iron dextran to the suckling piglets.

4 The piglets received intramuscular administration 200 mg of iron dextran at three days
5 old (2 mL). The iron amino acid chelate added at 160 g Fe/kg of feed and was classified as the
6 product of iron salts chelated by amino acids and partially hydrolyzed soluble proteins. The
7 mineral was administered to sows and piglets through the feed at the dose of 150 mg chelated
8 iron/kg of feed.

9 Gestating sows in the second or more reproductive cycle were submitted to restricted
10 feeding, with approximately 3 kg/day in a single dose. The nulliparous also received 3 kg
11 feed/day, but in two doses. Lactating sows were fed *ad libitum* after the third day post-partum,
12 with two tracts/day. The water supply was *ad libitum* in all phases. All of the piglets were
13 provided with pre-starter diets after 8 days old until weaning. The feeds during gestation
14 phases, lactation and nursing feeds were isonutritive and isocaloric, except for the level of
15 iron, which varied according to the treatments (Tables 1 and 2).

16 The phases of gestation and lactation were evaluated by the number of total births,
17 total live births, the average weight at birth and weight at weaning at 21 days old. The
18 incidence of diarrhea in piglets was verified according to the methodology proposed by
19 Rivera et al. (1978).

20 Samples of colostrum were collected (50 ml) from all of the functional teats between 4
21 and 8 hours after delivery, and milk samples were collected on the 17th day of lactation. The
22 samples were stored at 4 °C for the later assessment of iron concentration.

23 Stillborn piglets were collected, weighed, and their livers were removed and weighed
24 and tested for iron concentration. We analyzed 10 liver samples from each treatment,
25 producing a total of 30 samples.

1 The iron concentration in the colostrum, milk and liver were carried out by optical
2 emission spectrometry using inductively coupled plasma (ICP/ OES).

3 On the 8th day, 48 piglets were randomly chosen and 5 mL samples of blood were
4 collected in an EDTA anticoagulant Vacutainer bottle by puncturing the neck region of the
5 vessel. This produced 16 samples per treatment. At 21 days of age, 57 samples of blood were
6 collected, corresponding to 19 samples per treatment. To obtain hematologic variables, we
7 used an electronic counter model CC530-Celm®. Blood count was assessed by the total
8 number of red blood cells/ μ l, the hemoglobin concentration (g/dl), the packed cell volume
9 (%), the mean corpuscular volume (fL), the mean corpuscular hemoglobin concentration (%)
10 and the total count of differentiated leukocytes and platelets.

11 The second phase of the experiment was performed after weaning. Piglets from the
12 first experimental treatments (involving pregnant and lactating sows and their litters),
13 consisting of 1,015 animals were used. Piglets were kept in the same groups and housed in
14 collective boxes (with both genders per pen), with up to 35 animals of both sexes. Piglets
15 were assessed for performance between 24 and 63 days old. The three treatments were
16 assigned by a completely randomized design, with an unbalanced number of repetitions (10,
17 10, 9), and corresponded to the following: T1 - diets with inorganic iron in the pre-starter I,
18 pre-starter II and initial I rations (with 39.42, 59.54 and 33.75 mg/kg diet, respectively); T2 –
19 equal to T1 plus 150 mg of chelated iron/kg diet; T3 equal to T2, but the piglets in the
20 farrowing did not receive the injectable iron dextran. The experimental diets were subdivided
21 into phases to meet the animal requirements (pre-starter I, 21 to 24 days; pre-starter II, 25 to
22 35 days; initial I, 36-63 days old) and presented in isonutritive and isocaloric levels except for
23 the level of chelated iron (Table 2).

24 The piglets received water and feed ad libitum. The pens had a slatted floor, a semi-
25 automatic feeder, a nipple drinker and side curtains for thermal control of the environment.

1 For data analysis, the results of both experiments were submitted to ANOVA and
2 Tukey's test at a 5% confidence interval. The nonparametric data were submitted to the
3 Kruskal-Wallis test. For the analysis, we used the statistical software Minitab.

4 **Results and Discussion**

5 The reproductive parameters of the treatments influenced the number of total births,
6 live births and the number weaned (Table 3).

7 Mahan and Newton (1995) and Mahan et al. (2009) found that highly prolific sows
8 have a lower bodily iron content than less prolific sows and therefore have a greater need for
9 supplementation. Accordingly, the results of the treatments (Table 3) did not show a
10 difference with respect to the higher requirements of the sows, given their high prolificacy.
11 Trace minerals have predominantly been used in their inorganic form so the efficacy of
12 organic minerals in pig nutrition requires further study, especially in the reproductive phase.

13 There was no difference in the birth and weaning weight, but at weaning the piglets
14 that had received injectable iron and those who had received chelated iron through their feed
15 in addition to injectable iron dextran showed better performance than those who did not
16 receive the injectable iron dextran (Table 3). This demonstrates that the chelated iron did not
17 influence the performance of piglets, but the supply of injectable iron dextran was essential
18 for piglet development.

19 These results contradict the findings of Svoboda and Drabek (2003), which conclude
20 that free access to a commercial product containing iron chelated with glycine and methionine
21 vehicles prevents piglet anemia and results in piglet growth comparable to that of those that
22 received injectable iron dextran.

23 Iron is vital for cell homeostasis because of its ability to accept and donate electrons,
24 which makes it indispensable for the formation of the heme molecule and for the composition
25 of several other proteins (Dunn et al. 2007). Piglets have a high iron demand in the first weeks

1 of life. If this demand is not met, growth will suffer. Peters and Mahan (2008) also tested the
2 effects of treatment with organic minerals on piglet weight at birth and at weaning. The
3 results of their study were differed from ours; they found that litters in the group treated with
4 diets with organic minerals were heavier, with more weight gained before weaning.

5 Acda and Chae (2002) used organic and inorganic mineral in sow diets in four
6 treatments. Two had a low concentration of organic minerals (87.5 and 50 mg/kg) and two
7 had high concentrations of inorganic mineral (100 and 175 mg/kg). They did not observe any
8 difference ($p > 0.05$) in the growth rate of the piglets at birth, but the piglets from sows that
9 received a low level of organic minerals during the lactating period had a tendency to grow
10 faster ($p < 0.10$), resulting in higher body weight at weaning ($p < 0.05$). These results also
11 differed from those obtained by Close (1999), which evaluated organic iron supplementation
12 (90 mg/kg) compared with the inorganic iron injection (60 and 80 mg/kg) in sow diets in the
13 final third of pregnancy and throughout lactation. Observed that the organic minerals were
14 more effective and resulted in litters with higher iron stores, fewer stillbirths, piglets that were
15 heavier at birth and had higher hemoglobin values, as well as a reduced mortality rate and
16 heavier weight at weaning.

17 The different iron supplementation procedures performed via the feed for pregnant and
18 lactating sows were not sufficient to alter bodily mineral levels, suggesting that neither the
19 colostrum nor the milk had an improvement in iron content (Table 4).

20 These results do not agree with those of Wei et al. (2005). Tested sows that were
21 submitted to one of three diets in late pregnancy and throughout lactation (80 mg of iron
22 sulfate, 120 mg of chelated iron and 120 mg of iron sulfate). They found a higher iron level in
23 the sow milk for the group that received 120 mg of chelated iron ($p < 0.05$), suggesting that
24 higher absorption and utilization of chelated Fe and higher transfer into the mammary gland.
25 However, it also could not replace the injectable iron supplements of piglets.

1 Csapó et al. (1996) found that iron levels were lower at delivery (1.70 mg / kg), and
2 peaked on the third day after birth (2.92 mg/kg), after which the levels remained between 2.02
3 and 2.44 mg/kg until 60 days postpartum. Plasma iron transfer to milk initially occurs via the
4 transferrin receptor (TfR), which is located in the secretory epithelial cells of the mammary
5 gland. Iron transfer is facilitated by a divalent metal carrier (DMT1). In cases of iron
6 deficiency in women and rats, the levels of this mineral in milk are not affected, despite a
7 reduction in iron storage in breast glandular tissues (Kelleher and Lönnerdal, 2005).

8 According to Bertechini et al. (2012), supplementing pre-partum sows with 40 and 80
9 mg of chelated iron/kg feed raised the levels of serum transferrin and the iron content in
10 colostrum, which was higher than the levels attained after feed supplementation with 40 and
11 80 mg/kg of inorganic iron. Our results (Table 4) do not support these observations; the
12 chelated iron used in this study was not more bioavailable than the inorganic iron used in the
13 gestation and lactation feed controls.

14 The average iron values in the liver ranged from 163.4 mg/kg to 185.8 mg/kg. There
15 were no apparent differences between the treatments in terms of the mineral concentrations in
16 the liver, the total iron in the liver and the relationship between total iron in the liver or in the
17 stillborn body weight (Table 5). These results indicate that the chelated iron in sow feed did
18 not increase the mineral reserves in the liver.

19 Douglas et al. (1972) reported that placental iron transfer in sows that were
20 supplemented with ferric citrate increased the mineral content in fetal tissues (heart, kidney,
21 pancreas and liver), with the largest increased observed in the liver, which corresponded to
22 0.533% of the applied dose. This increased the iron deposition by approximately 1.3% and is
23 related to the high level of transferrin. There is an increase in iron in fetal tissues in response
24 to iron supplementation for sows but the increase is limited by the placental transfer.

1 According Mores et al. (1998), during the gestation period, a small amount of iron can pass
2 the placental barrier and be stored in the liver of the fetus.

3 Our results also contradict the observations of Bertechini et al. (2012), who conclude
4 that piglets from sows supplemented with organic minerals are born with higher levels of iron
5 in the blood and increased iron stores in the liver.

6 The treatments with inorganic iron and injectable iron dextran supplementation for
7 piglets, the inorganic and chelated iron in sow feed with the injectable iron dextran
8 supplementation and the chelated iron piglet feed showed high levels of erythrocytes,
9 hemoglobin and hematocrit at both 8 and 21 days of age (Table 6). There was a loss during
10 the same periods when the injectable iron dextran was withdrawn, resulting in hematological
11 parameters below the normal range for the species, reflecting anemia.

12 Prolonged deprivation of iron causes performance degradation and the development of
13 anemia, which is evidenced by a sharp drop in the number of red blood cells in circulation
14 (Suttle, 2010).

15 Complexed and chelated minerals are thought to be more bioavailable and therefore
16 more efficiently used by the animal. The results indicate advantages for the supplementation
17 of sows and the effect of sow supplementation on the piglets. However, the supplementation
18 of iron dextran by injection does not help the piglets. The results support the conclusions of
19 Harmon et al. (2000), who concluded that the iron proteinate, a mineral chelated by a protein
20 component, affects piglet survival at birth but does not alter the hematological parameters of
21 piglets when offered by ration at the end of pregnancy and during lactation.

22 Differences were observed for the mean corpuscular volume and platelet count in
23 piglets that received injectable iron when compared to those that received iron feed
24 supplementation. These differences were determined by either the deprivation of the mineral
25 or by the deprivation of the injectable iron dextran administration. The mean corpuscular

1 volume (MCV) is a good indicator for anemia after birth. In piglets not receiving iron, the
2 cells become microcytic and the MCV will decrease (Jain, 1993). The mean corpuscular
3 hemoglobin concentration (MCHC) did not show significant differences between the
4 treatments. According Wallach and Kanaan (2003), large platelets are common in anemic
5 animals that do not receive injectable iron dextran.

6 The global leukocyte count showed differences between the treatments, with lower
7 counts in piglets that did not receive injectable iron. Gainer and Guarnieri (1985) report a
8 decrease in white blood cell counts in the bloodstream. Piglet immunocompetence is reduced
9 by early iron deficiency. This effect is especially relevant for cell-mediated immunity and for
10 the phagocytic activity of neutrophils. Svoboda et al. (2004) describe a failure in the mitotic
11 activity of lymphocytes in vitro and the changes in the distribution of lymphocytes in the
12 blood of piglets with iron deficiency. They concluded that iron deficiency negatively affects
13 the immune competence of piglets.

14 It was found that the animals that received only dietary chelated iron without
15 supplemental iron by injection showed lower hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular
16 hemoglobin and mean corpuscular volume, which are indicators of hypochromic-microcytic
17 anemia. Animals that received injectable iron and the inclusion of dietary organic minerals
18 from the 8th day of life showed higher hematocrit and hemoglobin levels, but levels that were
19 still lower than those of the animals that received injectable iron. Although the results are
20 different for the treatments with dietary inorganic iron for sows and injectable iron dextran for
21 piglets versus the dietary inorganic and chelated iron in for sows and injectable iron dextran
22 supplementation and dietary chelated iron for piglets, they do not result in a deficiency or
23 anemia and both produce blood parameters within the normal limits (Svoboda and Drabek,
24 2005).

1 Iron deficiency is associated with a reduced phagocytic capacity in granulocytes.
2 Neutrophils have many iron-containing compounds as well as myeloperoxidase, an enzyme
3 that contributes to antimicrobial activity (Table 6) (Egeli et al., 1998).

4 Suckling piglets had mortality rates of 7.4; 5.6 and 6.3%, for treatments with dietary
5 inorganic iron for sows and injectable iron dextran for piglets; with dietary inorganic and
6 chelated iron for sows and injectable iron dextran supplementation with dietary chelated iron
7 piglets; and dietary inorganic and chelated iron for sows and piglets, respectively. No
8 differences were observed ($p < 0.05$) between the groups, although animals treated with
9 dietary chelated iron exhibited signs of clinical anemia. Crushing was the main cause of
10 mortality of suckling piglets. The occurrence of diarrhea was insignificant (1.10; 2.03 and
11 2.10% for treatments with injectable iron, injectable iron/chelated and chelated, respectively).
12 These results partially refute the expectation that anemic piglets have a higher susceptibility to
13 *Escherichia coli* endotoxins compared to healthy animals (Klasing et al., 1980), which could
14 result in diarrhea in piglets that did not receive injectable iron.

15 The performance results during the nursery phase (Table 7) show differences between
16 the treatments ($p < 0.05$). The piglets that received injectable iron with or without chelated
17 iron supplementation performed better than animals that did not receive injectable iron,
18 indicating that the deprivation of the mineral in the initial phase has repercussions in the
19 subsequent phases.

20 McDowell (1992) explains that iron-deficient animals showed reduced weight gain
21 because of the reduced activity of iron-dependent enzymes. There is a resulting increase in
22 anaerobic glycolysis and recycling of lactate, leading to inefficient glucose utilization.

23 The research results on the relative bioavailability of chelated mineral sources for
24 swine are inconsistent and vary depending on the inorganic mineral source used as standard
25 (its degree of solubility and chemical formula). The results also depend on the organic mineral

1 characteristics, the mineral interaction with other food components, the iron content and the
2 proportion of other minerals in the diet. The results are also affected by the response criteria
3 considered for estimating the bioavailability, age and physiological state of the animals and
4 previous degree of mineral restriction imposed on the animals (Wang et al. 2014). The results
5 of this study diverge from others that noted the efficacy of dietary chelated iron in preventing
6 piglet anemia and should be kept in mind, especially when the aspects described above are
7 observed.

8

9

Conclusion

10 The administration of iron proteinate at a dose of 150 mg/kg of feed for sows in late
11 gestation and lactation and also via feed for suckling piglets did not produce a significant
12 response compared with the traditional management of iron supplementation by dextran
13 injection in piglets. Supplementation with iron proteinate in piglets in the nursery phase did
14 not improve animal performance, which reinforces the importance of early and effective iron
15 supply (in injectable form) to piglets in farrowing pens. Injections should also be maintained,
16 given the negative effects of mineral deprivation post weaning and the fact that various
17 factors may affect the efficacy of chelated iron in the body.

18

References

- 19 Acda, S.P.; Chae, B.J. 2002. A review on the applications of organic trace minerals in pig
20 nutrition. *Pakistan Journal of Nutrition* 1(1): 25-30.
- 21 Bertechini, A. G.; Fassani, E. J.; Brito, J. Á. G. de.; Barrios, P. R. 2012. Effects of dietary
22 mineral bioplex in pregnant and lactating sow diets on piglet performance and
23 physiological characteristics. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41(3): 624-629.
- 24 Close, W. H. 1999. Mineral Nutrition in the new millenium: the scientific case for organic
25 minerals. p. 131-142. *In: Lyons, T. P.; Cole, D. J. A., eds. Concept in Pig Science.*
26 *Nottingham University Press, Nottingham, UK.*
- 27 Csapó. J.; Martin, T.G.; Csapó-Kiss, Z.S. et al. 1996. Protein, fats, vitamin and mineral
28 concentration in porcine colostrums and milk from parturition to 60 days. *International*
29 *Dairy Journal* 6(3): 881-902.
- 30 Chwen L.T.; Heng L.K.; Lee T.H.; Kong, M. C.; Yoon, C. P. 2001. The effects of iron
31 supplementation in preweaning piglets. *Malaysian Journal of Nutrition* 7: 41-49.

- 1 Douglas, T.A.; Rent, J.P.; Watts, C. et al. 1972. Placental transfer of iron in the sow (*Sus*
2 *domesticus*). Compendium Biochemistry Physiology 43A: 665-671.
- 3 Dunn, L. L.; Rahmanto, Y. S.; Richardson, D.R. 2007. Iron uptake and metabolism in the new
4 millennium. Trends Cell Biol. 17(2): 93-100.
- 5 Egeli A.K.; Framstad T.; Morberg H. 1998. Clinical biochemistry, haematology and body
6 weight in piglets. Acta Veterinaria Scandinavica 39: 381-393.
- 7 Gainer, J.H.; Guarnieri, J. 1985. Effects of poly I:C in porcine iron-deficient neutropenia.
8 Cornell Veterinarian 75: 454-465.
- 9 Harmon, B.G.; Barlow, S.L.; Einstein, M.E. 2000. Bioplex iron vs iron sulfate in
10 estation/lactation diets fed sows: effects on piglet iron status and mortality. Journal of
11 Animal Science 82: p. 62.0
- 12 Jain, N.C. 1993. Blood loss or hemorrhagic anemias. Essentials of veterinary hematology. Lea
13 & Febiger, Philadelphia.
- 14 Johansen, M.; Alban, L.; Kjærsgaard, H.D.; Bækbo, P. 2004. Factors associated with suckling
15 piglet average daily gain. Preventive Veterinary Medicine 63:91-102.
- 16 Kellehaer, S.L.; Lönnerdal, B. 2005. Molecular regulation of milk trace mineral
17 homeostasis. Molecular Aspects of Medicine 26(2): 328-339.
- 18 Klasing, K. C.; Knight, C.D.; Forsyth, D.M. 1980. Effects of iron on the anti coli capacity of
19 sow's milk in vitro and in ligated intestinal segments. Journal of Nutrition. 110: 1914.
- 20 Kolb, E.; Hofmann, U. 2005. Significance, metabolism and administration of iron compounds
21 to pigs: A review. Tieraerztliche Umschau 60(7): 365-371.
- 22 Mahan, D.; Newton, C. A. 1995. Effect of initial breeding weight on macro- and micro-
23 mineral composition over a three-parity period using a high-producing sow genotype.
24 Journal of Animal Science 73: 151-158.
- 25 Mahan, D.C.; Watts, M.R.; St-Pierre, N. 2009. Macro and trace mineral composition of fetal
26 pigs and their accretion rates during fetal development. Journal of Animal Science 87(12):
27 2823-2832.
- 28 McDowell, L.R. 1992. Minerals in animal and human nutrition. Academic, Orlando.
- 29 National Research Council [NRC]. 2012. Nutrient Requirements of Swine. 11ed. National
30 Academic Press, Washington, D.C.
- 31 Peters, J. C.; D. C. Mahan. 2008. Effects of dietary organic and inorganic trace mineral levels
32 on sow reproductive performance and daily mineral intake over six parities. Journal
33 Animal Science 86: 2247–2260.
- 34 Rivera, E. R., Armstrong, W. D., Clawson, A, J. and Linnerud, A. C. 1978. Effect of dietary
35 oats and kaolin on performance and incidence of diarrhea of weanling pigs. Journal of
36 Animal Science 46: 1685-1693.
- 37 Suttle, N. F. Mineral nutrition of livestock. 4. ed. Oxfordshire: CABI, 2010.
- 38 Svoboda, M.; Drábek, J. 2003. Efficiency of Voluntary Consumption of Amino Acid chelated
39 Iron in Preventing Anaemia of Suckling Piglets. Acta Veterinaria Brno 72: 499–507.
- 40 Svoboda, M.; Drabek, J.; Krejci, J.; Rejakova, Z.; Faldyna, M. 2004. Impairment of the
41 peripheral lymphoid compartment in iron-deficient piglets. Journal Veterinary Medicine 51:
42 231–237.

- 1 Svoboda, M.; Drabek, J. 2005. Iron deficiency in suckling piglets: etiology, clinical aspects
2 and diagnosis. *Folia Vet* 49: 104–111.
- 3 Wallach, J.; Kanaan, S. 2003. Interpretation of laboratory tests.= Interpretação de exames
4 laboratoriais. Medsi, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. (in portuguese).
- 5 Wang, J.; Li, D.; Che, L.; Lin, Y.; Fang, Z.; Xu.; S.Wu, D. 2014. Influence of organic iron
6 complex on sow reproductive performance and iron status of nursing pigs. *Livestock*
7 *Science* 160: 89-96.
- 8 Wei, K.Q.; Xu, Z.R.; Luo, X.G.; Zeng, L.L.; Chen, W. R.; Timothy, M. F. 2005. Effects of
9 iron from an amino acid complexo on the iron status of neonatal and suckling piglets.
10 *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 18(10): 1485-1491.
- 11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

1 **Table 1.** Composition of the basal diets used in the phases of pregnancy and lactation and
 2 their nutritional values and calculated energy.

Ingredient	Pregnancy	Lactation
Corn (%)	50	68
Wheat bran (%)	33	-
Soybean meal (%)	13	28
Pregnancy lactation supplement (%) ¹	4	4
Nutritional and energy values		
Metabolizable Energy (Kcal/kg)	2.886	3.300
Crude protein (%)	15.178	18.386
Crude fiber (%)	4.813	3.181
Calcium (%)	0.995	0.979
Phosphorus (%)	0.595	0.519
Digestible Lysine (%)	0.574	0.847
Digestible Met + Cysteine (%)	0.423	0.512
Digestible Threonine (%)	0.395	0.542
Digestible Tryptophan (%)	0.151	0.189
Sodium (%)	0.223	0.226
Iron (mg/kg)	551	537
Manganese (mg/kg)	73	39
Zinc (mg/kg)	100	74
Copper (mg/kg)	111	16
Iodine (mg/kg)	1	1
Selenium (mg/kg)	0.3	0.3

3 ¹Composition per kilogram of product: 170 g calcium; 17 g phosphorus; 112.500 IU vitamin A; 20.000 IU vitamin D3; 500
 4 IU vitamin E; 25 mg vitamin K3; 25 mg vitamin B1; 87,5 mg vitamin B2; 31 mg vitamin B6; 400 mcg vitamin B12; 450 mg
 5 niacin; 250 mg pantothenic acid; 30 mg folic acid; 2,25 mg biotin; 8.170 mg choline; 50 g sodium; 625 mg manganese; 1.375
 6 mg zinc; 1.000 mg iron; 1.875 mg copper; 23 mg iodine; 7.5 mg selenium.

7
 8 ¹Composition per kilogram of product: 210 g calcium; 42.50 g phosphorus; 112.500 IU vitamin A; 20.000 IU vitamin D3;
 9 500 IU vitamin E; 25 mg vitamin K3; 25 mg vitamin B1; 87 mg vitamin B2; 31 mg vitamin B6; 400 mcg vitamin B12; 450
 10 mg niacin; 250 mg pantothenic acid; 30 mg folic acid; 2.50 mg biotin; 5.000 mg choline; 51 g sodium; 625 mg manganese;
 11 1.375 mg zinc; 1.000 mg iron; 175 mg copper; 23 mg iodine; 7.5 mg selenium.
 12
 13

1 **Table 2.** Percentage composition, energy and calculated nutrition in basal feed for piglets in
 2 the suckling and nursery phases.

Ingredients	Feed		
	Pre-starter I	Pre-starter II	Initial I
Corn (%)	40.00	35.50	52.20
Soybean meal (%)	-	17.50	23.80
Sugar (%)	-	5.00	4.00
Supplement 60 ¹ (%)	60.00	-	-
Supplement 420 ² (%)	-	42.00	-
Supplement 200 ³ (%)	-	-	20.00
Nutritional and energy values			
Metabolizable Energy (Kcal/kg)	3.400	3.400	3.400
Crude protein (%)	19.200	21.400	19.500
Crude fiber (%)	2.190	3.300	3.150
Calcium (%)	0.480	0.380	0.590
Phosphorus (%)	0.660	0.530	0.690
Digestible Lysine (%)	1.22	1.25	1.06
Digestible Met + Cysteine (%)	0.85	0.72	0.62
Digestible Threonine (%)	0.92	0.74	0.58
Digestible Tryptophan (%)	0.27	0.21	0.18
Iron (mg/kg)	39.42	59.54	33.75

3 ¹Composition per kilogram of nursery diet: 218 g crude protein; 60 g ether extract; 22 g crude fiber; 97 g mineral
 4 matter; 15 g calcium (max); 9.50 mg calcium (min); 8.550 mg phosphorus; 7.000 mg methionine; 20 g lysine;
 5 14.40 g threonine; 4.320 mg tryptophan; 33.375 IU vitamin A; 8.775 IU vitamin D₃; 229.50 IU vitamin E; 8.77
 6 mg vitamin K₃; 12.15 mg vitamin B₂; 6.75 mg vitamin B₆; 77.62 mcg B₁₂; 57.37 mg Niacin; 30.37 mg
 7 pantothenic acid; 5.40 mg folic acid; 0.37 mg biotin; 1,080.00 mg choline; 6.000 mg sodium; 144 mg
 8 manganese; 4.500 mg zinc; **67.50 mg iron**; 14.40 mg copper; 3.06 mg iodine; 1.08 mg selenium.

9
 10 ²Composition per kilogram of nursery diet: 218 g crude protein; 50 g ether extract; 212.22 lactose g; 21 g crude
 11 fiber; 99.99 g mineral matter; 18.72 mg copper; 15.5 g calcium (Max); 12 g calcium (min); 8.000 mg
 12 phosphorus; 6.600 mg methionine; 17.10 g lysine; 10.89 g threonine; 43.200 IU vitamin A, 11.232 IU vitamin
 13 D₃; 210.78 UI vitamin E; 11.23 mg vitamin K₃; 15.55 mg vitamin B₂; 8.64 mg vitamin B₆; 99.36 mcg vitamin
 14 B₁₂; 73.44 mg niacin, 38.88 mg pantothenic acid, 6.91 mg folic acid; 0.47 mg biotin; 1.544,40 mg choline;
 15 7.500 mg sodium; 187.20 mg manganese; 7.400 mg zinc; **141.75 mg iron**; 3.97 mg iodine; 1.38 mg selenium;
 16 1.000 units phytase; 95.24 mg colistin.

17
 18 ³Composition per kilogram of nurse diet: 209.43 g crude protein; 45.99 g ether extract; 210.06 g lactose; 33 g
 19 crude fiber; 145.53 g mineral matter; 711 mg copper; 28.20 g calcium (Max); 23 g calcium (min); 14.20 mg
 20 phosphorus; 7.560 mg methionine; 19.53 g lysine; 13.50 g thiamine; 90.000 UI vitamin A; 23.400 UI vitamin
 21 D₃; 216.00 UI vitamin E; 23.40 mg vitamin K₃; 32.40 mg vitamin B₂; 18.00 mg vitamin B₆; 207.00 mcg
 22 vitamin B₁₂; 153 mg niacin; 81.00 mg pantothenic acid; 14.40 mg folic acid; 0.99 mg biotin; 2.700,40 mg
 23 choline; 10.80 g sodium; 36.00 mg manganese; 11.25 g zinc; **168.75 mg iron**; 7.65 mg iodine; 2.28 mg
 24 selenium; 2.250 units phytase; 300 mg halquinol.

25

26

27

28

1 **Table 3.** Means and standard deviations for reproductive parameters of sows fed with dietary
 2 inorganic and/or chelated iron, average birth weight, average weight at weaning (21 days)
 3 and daily weight gain of piglets treated with different iron supplementation programs.

Parameters	Treatments			CV%	P valor
	T1 ¹	T2 ²	T3 ³		
Total number of born piglets	13.32± 2.91	13.87± 2.68	14.38± 2.87	21.30	0.862
Number of live births	12.51± 2.62	12.67± 2.59	12.50± 2.92	21.60	0.953
Average birth weight (kg)	1.357± 0.34	1.384 ± 0.29	1.391 ± 0.34	16.13	0.980
Daily gain weight (kg)	0.212 ± 0.03a	0.220± 0.04a	0.183± 0.04b	19.71	0.001
Average weight at weaning (kg)	5.915 ± 0.62a	6.178± 0.92a	5.235± 0.85b	15.69	0.001
Number of weaned piglets	10.92 ± 2.05	11.10 ± 1.44	11.05 ±1.95	16.53	0.979

4 * Different letters indicate a significantly different mean.

5 ¹ Inorganic iron and injectable iron dextran supplementation for piglets ² Inorganic iron and dietary chelated iron
 6 for sows and injectable iron dextran supplementation for piglets and dietary chelated iron for piglets ³ Dietary
 7 inorganic and chelated iron for sows and piglets.
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25

1 **Table 4.** Means and standard deviations observed for the iron level in colostrum (colostrum
 2 Fe) and milk (milk Fe) on the 17th day of lactation in sow fed with dietary inorganic
 3 and/or chelated iron.

Parameters	Treatments			CV%	P valor
	T1 ¹	T2 ²	T3 ³		
Colostrum Fe (mg/mL)	1.623 ± 0.533	1.396 ± 0.392	1.598 ± 0.833	39.70	0.646
Milk Fe (mg/mL)	1.193 ± 0.103	1.262 ± 0.176	1.334 ± 0.185	12.23	0.278

4 ¹Inorganic iron and injectable iron dextran supplementation for piglets ² Dietary inorganic and chelated iron for
 5 sows and injectable iron dextran supplementation and dietary chelated iron for piglets ³ Dietary inorganic and
 6 chelated iron for sows and piglets.
 7

8

1 **Table 5.** Means and standard deviations of the weight of stillbirths, liver weight, the mineral
 2 concentration in the liver (Liver Fe), total iron in the liver (Fe/Liver) and the relationship
 3 of the total iron in the liver with the body weight of stillborn (Fe/Body Weight),
 4 according to experimental treatments.

Parameters	Treatments			*CV%	P valor
	T1 ¹	T2 ²	T3 ³		
Stillborn weight (kg)	1.055 ± 0.35	1.341 ± 0.26	1.251 ± 0.42	18.56	0.138
Liver weight (g)	37.6 ± 15.74	49.55 ± 14.13	40.70 ± 14.28	15.69	0.171
Fe in liver (mg/kg)	185.8 ± 50.3	171.6 ± 84.5	163.4 ± 68.0	39.13	0.769
Fe/Liver (mg/g)	6.99 ± 0.03	8.36 ± 0.04	6.34 ± 0.04	49.79	0.437
Fe/body weight (mg/ton)	6.42 ± 1.77	6.03 ± 2.41	5.50 ± 2.97	39.82	0.700

5 ¹Inorganic iron and injectable iron dextran supplementation for piglets ² Inorganic iron and chelated iron in feed
 6 for sows and injectable iron dextran supplementation and chelated via feed for piglets ³ Inorganic iron and
 7 chelated iron in feed for sows and piglets.

8 *Coefficient of variation

9

1 **Table 6.** Means and standard deviations observed for blood count, platelet and white blood
 2 cell counts in piglets on the 8th and 21st days of age submitted to different iron
 3 supplementation regimens.

Parameters	Treatments			CV %	P valor
	T1 ¹	T2 ²	T3 ³		
Values for the 8-day-old					
Erythrocytes (millions/ μ L)	4.697 \pm 0.58 a	4.489 \pm 0.89a	3.474 \pm 0.63b	20.34	0.000
Hemoglobin (g/dL)	9.600 \pm 1.06 a	8.836 \pm 1.36a	6.555 \pm 1.20b	20.4	0.000
Hematocrit (%)	34.64 \pm 3.56 a	31.57 \pm 5.15a	23.18 \pm 4.17b	20.51	0.000
MCV (fL)	73.75 \pm 5.16 a	70.79 \pm 4.90ab	66.94 \pm 4.51b	7.77	0.006
MCHC (%)	27.79 \pm 0.72	28.11 \pm 0.90	28.37 \pm 1.21	3.38	0.316
Platelets (n/ μ L)	467.143 \pm 100a	706.643 \pm 244ab	1.031.364 \pm 360b	81.68	0.051
Leukocytes (n/ μ L)	11176 \pm 3382a	12378 \pm 2078ab	8659 \pm 2179b	27.42	0.005
S. neutrophils (μ L)	6.195 \pm 2947	6.014 \pm 1560	4.513 \pm 2244	41.84	0.169
Lymphocytes (μ L)	4.741 \pm 1213b	6.005 \pm 1466a	3.801 \pm 1237b	31.87	0.001
Monocytes (μ L)	163.0 \pm 185	159.0 \pm 97	126.0 \pm 110	88.77	0.982
Values for the 21-day-old					
Erythrocytes (millions/ μ L)	5.98 \pm 0,99a	5.36 \pm 0.47a	3.83 \pm 0.69b	21.73	0.000
Hemoglobin (g/dL)	11.45 \pm 1.47 a	10.26 \pm 0.87b	5.19 \pm 1.19c	31.01	0.000
Hematocrit (%)	37.15 \pm 4.27 a	32.74 \pm 1.96b	17.92 \pm 4.60c	28.88	0.000
MCV (fL)	62.82 \pm 8.62 a	61.27 \pm 4.57a	46.85 \pm 11.07b	18.24	0.000
MCHC (%)	30.98 \pm 2.28ab	31.37 \pm 1.33a	29.51 \pm 2.31b	6.71	0.033
Platelets (n/ μ L)	512.8 \pm 148.3a	552.1 \pm 136.9a	1.300 \pm 559b	62.36	0.000
Leukocytes (n/ μ L)	12729 \pm 3382a	10358 \pm 2078a	9082 \pm 2179b	33.06	0.005
S. neutrophils (μ L)	6.178 \pm 2729 a	4.239 \pm 2338a	3.247 \pm 2834b	62.25	0.010
Lymphocytes (μ L)	6.248 \pm 2516	5.864 \pm 1473	5.630 \pm 1889	3222	0.724
Monocytes (μ L)	153.3 \pm 188.3	83.2 \pm 92.4	69.3 \pm 71.2	125.98	0.566

4 * Different letters indicate a significantly different mean.

5 ¹Inorganic iron and injectable iron dextran supplementation for piglets ² Inorganic iron and chelated iron in feed
 6 for sows and injectable iron dextran supplementation and chelated via feed for piglets ³ Inorganic iron and
 7 chelated iron in feed for sows and piglets.

8

9

10

1 **Table 7.** Means and standard deviation observed for weight at 24 days, average final weight,
 2 total weight gain and daily gain weight during the period while piglets were submitted to
 3 different iron supplementation regimens.

Parameters	Treatments			CV%	P valor
	T1 ¹	T2 ²	T3 ³		
Mean weight at 24 days (kg)	6.190 ± 1.40a	6.590 ± 1.81a	5.452 ± 1.46b	25.38	0.003
Mean weight at 63 days (kg)	20.816 ± 2.51a	21.911 ± 2.92a	17.582 ± 2.73b	15.85	0.007
Total Gain Weight (kg)	14.626 ± 1.21a	15.723 ± 1.42a	12.130 ± 1.46b	13.70	0.001
Daily Gain Weight (kg)	0.375 ± 0.03a	0.403 ± 0.04a	0.311 ± 0.04b	13.70	0.001

4 *Different letters indicate a significantly different mean.

5 ¹Inorganic iron ² Inorganic iron and iron chelated ³ Inorganic iron and chelated iron except iron dextran phase of
 6 suckling piglet

ANEXO

ANEXO A

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

MANUSCRIPT SUBMISSION

Start the submission process by reviewing the Instructions for Authors to ensure that the article is in agreement with *Scientia Agricola* standards. To submit reviews the authors should check the specific instructions. As these pages are updated periodically, it is strongly recommended so you read them even if you have done so previously.

Please read the checklist carefully before submitting your manuscript.

- Authors should submit manuscripts through the online system at <http://www.scielo.br/sa>, by clicking on "submissão online".
- A manuscript submission file in Microsoft Word (or a compatible format) is required. Avoid the use of word processing features such as automated bulleting and numbering, head and subhead formatting, internal linking, or styles.
- When submitting a manuscript, authors must recommend five qualified reviewers who are experts in the subject area, and provide their emails and affiliation. At least two of these reviewers must be of another nationality than the corresponding author. Reviewers from the corresponding author's institution should be avoided.
- Publication of a short or extended abstract in a scientific event is not considered previous publication of the research. However, results of researches published previously as a full manuscript in scientific events will not be accepted.

COVER LETTER (must be written in English)

- The content of the cover letter must present the warranty that the manuscript is original, has not been published before, and is not being considered for publication elsewhere in its final form neither in printed nor in electronic format. The corresponding author must sign the cover letter on behalf of all authors. Upload your cover letter in a separated file in the designated area in the submission page.
- Authors should insert five highlights (maximum 100 characters including spaces for each highlight) explaining the importance of their work and how and why their major findings relate to the scope of the journal.

MANUSCRIPT STYLE

- Define all abbreviations at their first mention in the abstract and text, and again in the tables and figures. Once an abbreviation is used, it should be used throughout the entire article, except at the beginning of a sentence.
- The Latin name or binomial (or trinomial) nomenclature and authority must be used at the first mention of all plants, insects, pathogens, and animals.
- Both the active ingredient and chemical name of pesticides must be given when first mentioned.
- Identify soils using the USDA soil taxonomy (<http://soils.usda.gov/technical/classification/osd/index.html>) up to the second level (suborder) or if possible up to the fourth level (subgroup). FAO classification may be used up to the second level. Free translations of soil classifications or names are not allowed.

- The International Units System must be used in all manuscripts.
- Check any Greek characters and figures carefully.
- Spell out numbers one through nine, except when used with units. For decimal quantities <1, place a zero before the decimal point.
- For the decimal marker use a period.
- Percentages must be expressed as whole numbers, e.g.: 35 % rather than 35.4 %; 48 % rather than 47.5 %; 79 % rather than 78.9 %.
- Denote and interrelate units as positive or negative powers, not with slashes, e.g.: kg ha⁻¹, not kg/ha.
- Leave a single space between units, e.g.: g L⁻¹, not g.L⁻¹, or gL⁻¹.
- Use the 24-h time system, with four digits for hours and minutes: 09h00; 18h30.
- Dates should be written with the day first, then the month, and the year last: 18 Mar 2000; 01 Feb 1987.
- Abbreviate months with more than four letters, e.g.: Jan, July, Sept, etc.

MANUSCRIPT PREPARATION

- Text and illustrations intended for publication at *Scientia Agricola* must be written in concise and grammatically correct English, USA orthographic and grammatical rules apply.
- Manuscripts should be organized as one file containing the main document. MS Word for Windows or compatible software should be used for the main document, with 12-point Times New Roman, 3.0-cm margins, and double spacing. Organize the main document in the following order: Cover Page, Abstract (maximum of 250 words), Keywords (maximum of five), Introduction (30 lines), Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments (optional), References, Figures and Tables with their respective legends.
- A Conclusion section is optional and when used should come after the Discussion section. The Results and Discussion section may be combined, and the Conclusion may be incorporated into the Discussion.
- Keep the manuscript to a maximum of 30 pages (A4 paper), with continuous line numbering and consecutive page numbering, including illustrations and tables.
- Tables and Figures must be included in the end of the main document.

Cover Page:

- Each manuscript must have a cover page bearing the title (maximum 15 words), authors' full names, and institutional affiliations in English.
- A running title of 40 characters or fewer (in addition to the full paper title) should also be provided.
- Authors should select a category from the following: Agricultural Engineering; Agricultural Microbiology; Agrometeorology; Animal Science and Pastures; Biometry, Modeling, and Statistics; Crop Science; Ecology; Entomology; Food Science and Technology; Forestry Science; Genetics and Plant Breeding; Plant Pathology; Plant Physiology and Biochemistry; Soils and Plant Nutrition; and Zoology.
- The corresponding author should be identified with an asterisk and must have an institutional affiliation.
- Please provide as detailed information as possible regarding author's present institutional affiliation.

- The corresponding author assumes full responsibility for the manuscript, including compliance with journal policies and will be the primary contact with the journal office. The submitting author may assume this position if indicated in the cover letter.

Cover Image Submissions:

The cover of *Scientia Agricola* may feature an image representative of an article published in that issue. Authors are invited to submit scientifically interesting and visually appealing cover images. Images should be high-resolution (300 DPI) and should measure 17 x 17 cm. Cover images can be photographs of organisms, habitats, montages of photographs, diagrams, maps or data.

Illustrations need not be reprinted in the article but should be representative of the work. Images should be original, and authors grant *Scientia Agricola* the exclusive license to publish. Upload the image as an additional supplemental file along with a separate text file that includes a brief one-paragraph description of the image describing its relevance to the published manuscript. If an author does not hold the copyright for a submitted image, they are responsible for obtaining the necessary permission to use it.

Tables and Figures

Tables:

- Number tables sequentially using Arabic numerals; tables should be created with the "Tables" function of MS Word or in MS Excel (manuscripts showing tables pasted as figures will be returned to authors).
- The title of the table should appear immediately above the body of the table.
- Number figures and graphs sequentially using Arabic numerals.

Figures/Graphs:

- Graphs should be created using MS Excel.
- Supply photographs as tagged image format files [TIFF], 300 DPI.
- Number figures consecutively in the order they appear in the text.
- Figures should provide enough information that the reader can understand them without referring to the text.
- For figures that contain more than one panel, designate the panels with capital letters (no parentheses and no periods following letters) in the upper left-hand corner of each panel, if possible.
- Wording in figures must match the rest of the manuscript with regard to capitalization, italics, and the use of symbols.

COMPLEMENTARY INFORMATION

- Manuscripts that evaluate the bioactivity of chemical and/or biological products, including growth regulators of insects, spiders, fungi, bacteria, nematodes, and weeds, will not be considered for publication in *Scientia Agricola*.
- Manuscripts that evaluate tissue culture improvements or protocols based on tests of additives, explants, or growth conditions, or that fail to demonstrate a substantial improvement that could not be deduced from the existent literature, will no longer be considered for publication in *Scientia Agricola*.
- Manuscripts must follow the criteria established by the International Codes of each area.
- Opinions and concepts expressed in the articles are the authors' exclusive responsibility.
- All submitted manuscripts will be subjected to the journal's policy of screening for plagiarism and self-plagiarism.

REFERENCES

Scientia Agricola does not allow authors to cite congress or workshop abstracts, technical articles, dissertations and theses. References in Portuguese or languages other than English should be avoided. References written in languages other than English will be allowed only if the authors provide an explanation for keeping them in the text. If allowed by the Scientific Editor, these references must be cited in English with the text in the original language provided at the end of the reference, in the following format: (in Portuguese, with abstract in English).

Scientia Agricola does not recommend that authors cite statistical analyses or software packages as references. These tools should be mentioned in the text (Materials and Methods) by including the specific procedure and the name of the software with its version and/or year, e.g., "...statistical procedures were conducted using PROC NLIN in SAS (Statistical Analysis System, version 9.2)".

References and citations in *Scientia Agricola* articles should be formatted in the 'author, year' or 'name (year)' style. Remember to ensure that text citations match the list of references. Examples:

1. Single author: Reichardt (2000) or (Reichardt, 2000).
2. Two authors: Fiorio and Demattê (2009) or (Fiorio and Demattê, 2009).
3. Three or more authors: Rosso et al. (2009) or (Rosso et al., 2009).
4. Arrange references alphabetically and chronologically within brackets, and use semicolons (;) to separate multiple citations within brackets, e.g.: (Boleli, 2003; Boerjan, 2006; Muraroli and Mendes, 2003).
5. Order multiple citations 'same author-same date' with the aid of lower case letters, e.g.: (Cyrino, 2004a, b).
6. Use the "author-year" style to format the list of references, and: (i) do not abbreviate any other words apart from the first and middle names of authors; (ii) use all capitals only for acronyms, i.e., when the author is an organization; (iii) name all authors and capitalize authors' last name and initials, which should be separated by a period (.); (iv) separate

authors by semicolon; (v) do not use ampersands (&) in the citations nor in the reference list; (vi) do not use bold characters to highlight any part of the reference; (vii) capitalize books and periodical titles; (viii) do not use a comma (,) to separate the title and volume of a periodical; (ix) separate the periodical volume from the page numbers with a colon (:); (x) use full page numbering; (xi) separate page numbers with a dash (-); (xii) separate page groups by a comma if the article was published in discontinuous pages; (xiii) indicate the number of a given edition of a book or manual, e.g., "2ed"; (xiv) for books and manuals, indicate the publisher or editorial office before the main locality of the publisher or editorial office; (xv) separate publishers or editorial offices from locality with a comma; and (xvi) in such cases, name city, state and/or province and country.

6.1 Scientific journals

Guillard, R.R.L.; Wangersky, P. 1958. The production of extracellular carbohydrates by some marine flagellates. *Limnology and Oceanography*, 3: 449-454.

6.2 Books

6.2.1 Books with authors

Pais, I.; Jones Jr., J.R. 1998. *The Handbook of Trace Elements*. St. Lucie Press, Boca Raton, FL, USA.

6.2.2 Books with editors/organizers

Day, W.; Atkin, R.K., eds. 1985. *Wheat Growth and Modelling*. Plenum Press, New York, NY, USA.

6.2.3 Books (and manuals) with an organization as author or editor/organizer

Association of Official Analytical Chemists - International [AOAC]. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18ed. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.

6.3 Book chapters

Sharpley, A.N.; Rekolainen, S. 1997. Phosphorus in agriculture and its environmental implications. p. 1-53. In: Tunney, H.; Carton, O.T.; Brookes, P.C.; Johnston, A.E., eds. *Phosphorus loss from soil to water*. CAB International, New York, NY, USA.

6.4 Electronic media sources

6.4.1 Required elements for listing website citations are:

Authorship, author or source. Year. Title of Web Document or Web Page (i.e., page's main heading). [Medium] (date of update). Available at: full Uniform Resource Locator (i.e. URL / address) [Accessed Sept 14, 1992]

6.4.2 Required elements for listing publications available online are:

Authorship, author or source. Year. Title of Document or Web Page. [Medium] Producer/Publisher. Available at: full Uniform Resource Locator [Accessed Sept 14, 1992]

6.5 Listing references not written in English

Provide the English title and indicate the original publishing language of the journal at the end of the citation, as below:

Baretta, D.; Santos, J.C.P.; Figueiredo, S.R.; Klauberg-Filho, O. 2005. Effects of native pasture burning and Pinus monoculture on changes in soil biological attributes on the Southern Plateau of Santa Catarina - Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29: 715-724 (in Portuguese, with abstract in English).

Mingoti, A.S. 2005. Data analysis using multivariate statistics methods: an applied approach. = *Análise de Dados Através de Métodos de Estatística Multivariada: uma abordagem aplicada*. Editora UFMG, Belo Horizonte, MG, Brazil (in Portuguese).

COPYRIGHT

Once the manuscript is approved, the authors grant an exclusive license to publish the submitted article in printed and electronic format including photographs that may be selected as a cover image.

The copyright law also requires that the authors must provide to the *Scientia Agricola* the permissions to use copyrights material that was published by others journals or publishers, which include figures, tables and images. The permissions must be uploaded in the system as a supplemental file.

CHECKLIST FOR MANUSCRIPT SUBMISSION

- Check if cover page is organized as required and all information fully provided.
- Work to eliminate expressions like: Influence of...; Study on...; Effect of... from the title.
- Use scientific names in the manuscript's title only when absolutely mandatory.
- Fellowship recipients must be indicated in the subtitle "Acknowledgements", not in the cover page.
- Make sure the abstract brings an introductory phrase (rationale) to the subject of the research and/or identify the problem to be investigated.
- Eliminate expressions such as: It was concluded that...; From the obtained results...; It was possible to observe that...; Data show that... from the Abstract, and make sure Abstract includes main results and conclusions.
- Make sure the Introduction (maximum of 30 lines) contains information on the state of the art of the subject, identifies the objectives of the study.
- Do not name Schools, Institutes, Laboratories, Farms, etc., where the study was carried out. Identify only the city, state and country, and in the M&M include geographic coordinates of where field experiment(s) was (were) carried out.
- Describe statistical design and statistical procedures as detailed as possible, preferably at the end of the M&M section.
- Make sure Results are discussed in detail. Explain cause-effects relationships and compare results with related bibliographic references in the R&D.

- Double check R&D for elimination of cumbersome expressions such as: It was observed that...; Notice that...; It is important to note that...
- Do not include table(s) with results from the analysis of variance (ANOVA); provide such information on statistical results as text.
- Scientia Agricola does not require the subtitle Conclusions, but allows authors utilizing such subtitle if they feel necessary. In that case, do not use expressions such as: “In the conditions of the experiment...”; “For the conditions of this experiment...” etc., and avoid using claims or implications that merely replicate the description of the results.
- Check if the reference list observes strictly the Instructions to Authors, available at www.esalq.usp.br/scientia or www.scielo.br/sa.
- Update references to the last five years, but feel free to acknowledge timeless, classical references and key papers.
- Citing congress or workshop abstracts, technical articles, dissertations, and theses is not allowed.
- Make sure the manuscript is organized on A4 paper, double spaced, font Times New Roman 12.
- Tables and Figures captions and footnotes have to be self-explanatory and without abbreviations.
- Eliminate Tables with little or minute information; favor a short text to present such information.
- Tables and Figures captions should not display units. Instead, display units right below the horizontal line separating the columns’ titles from the measured values of Tables, or in the axis titles of the Figures.
- Make sure International Units System was used all through the text, as well as in the Figures and Tables.
- Denote and interrelate units as positive or negative powers, not with slashes, e.g.: kg ha⁻¹, not kg/ha.
- Leave a single space between units, e.g.: g L⁻¹, not g.L⁻¹, or gL⁻¹
- Make sure complete scientific nomenclature, authority included, follow common names of animals and plants the first time they appear in the abstract and in introduction. Ex. *Vigna unguiculata* (L.) Walp.
- Avoid the use of trademarks except when / where absolutely essential to the comprehension of the experimental methodology.
- Define abbreviations in full when used by the first time.
- Except when followed by units, numbers from one to ten should be spelled out in the text.
- Each paragraph shall contain one main idea. Consolidate short paragraphs and split long ones (i.e. eliminate loose phrases from the text).
- Eliminate the word "significant" when discussing statistical differences or effects. Details of the statistical design and analysis should be presented in the M&M subtitle, level of significance included.
- Use low case, italic "p" to note statistical probability: if statistical differences were detected, use for example $p < 0.05$; $p < 0.01$; etc.; if statistical differences were not detected, use $p > 0.05$; $p > 0.01$ etc.
- When possible, move/insert bibliographic citations to/at the end of the paragraphs (the subject is more important than the author). Use the same procedure regarding citations of Figures and Tables.
- Please review your text for accuracy and clearness. Manuscripts submitted to Scientia Agricola are considered for publication on the basis of scientific competence and the

significance of the information to their specific area of interest. Even if an important study was carried out using appropriate methodology, it may not be accepted for publication if the manuscript submitted to evaluation was poorly organized or difficult to understand. Well written papers are reviewed quicker and published in less time because they will be submitted to fewer revisions.