

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PEDRO AUGUSTO GALIOTTO MIRANDA

FONTES E NÍVEIS DE COBRE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES EM CRECHE E
FRANGOS DE CORTE

PONTA GROSSA

2021

PEDRO AUGUSTO GALIOTTO MIRANDA

FONTES E NÍVEIS DE COBRE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES EM CRECHE E
FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada para
obtenção do título de mestre na
Universidade Estadual de Ponta
Grossa, Zootecnia (Produção
Animal).

Orientadora: Prof. Dra. Cheila
Roberta Lehen

PONTA GROSSA

2021

M672 Miranda, Pedro Augusto Galiotto
Fontes e níveis de cobre na alimentação de leitões em creche e frangos de corte / Pedro Augusto Galiotto Miranda. Ponta Grossa, 2021.
74 f.

Tese (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Cheila Roberta Lehnen.

1. Leitões em creche. 2. Frangos de corte. 3. Sulfato de cobre. 4. Cobre quelatado. 5. Meta-análise. I. Lehnen, Cheila Roberta. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Produção Animal. III.T.

CDD: 636



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

TERMO

TERMO DE APROVAÇÃO

PEDRO AUGUSTO GALLIOTO MIRANDA

“ FONTES DE NÍVEIS DE COBRE NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES EM CRECHE E FRANGOS DE CORTE”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 19 de novembro de 2021.

Membros da Banca:

Profa. Dra. Cheila Roberta Lehen – (UEPG)
Presidente

Profa. Dra. Aline Remus – (Agriculture and Agri-Food Canada)
Membro Externo

Prof. Dr. Danyel Bueno Dalto – (Agriculture and Agri-Food Canada)
Membro Externo

Profa. Dra. Adriana de Souza Martins – (UEPG)
Suplente



Documento assinado eletronicamente por **Adriana Aparecida Telles, Secretário(a)**, em 19/11/2021, às 10:48, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Aline Remus, Usuário Externo**, em 22/11/2021, às 17:30, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Danyel Bueno Dalto, Usuário Externo**, em 22/11/2021, às 22:31, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Cheila Roberta Lehen, Professor(a)**, em 24/11/2021, às 14:16, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **0756055** e o código CRC **38E4BCB6**.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Lindamar de Fátima Galiotto por sempre acreditar em meu potencial, e investiram sua confiança em mim, dedicando todo seu tempo e amor à minha educação para formar meu caráter e tudo que eu sou hoje.

A minha orientadora Cheila Roberta Lehnen por dividir seus conhecimentos, por me orientar, ensinar, e puxar a minha orelha quando necessário, ao longo de mais de 6 anos.

Aos meus irmãos Abel Vinícius Galiotto Miranda, e João Antônio Galiotto Miranda, pela parceria e amizade.

Aos professores do Departamento de Zootecnia por todos os ensinamentos ao longo dessa jornada.

Aos colegas do grupo Biomodel, pelos ensinamentos e companheirismo.

Ao programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito de diferentes níveis e fontes de cobre sobre o desempenho de leitões em creche e frangos de corte por meio de meta-análise. Os critérios estabelecidos para a seleção dos artigos foram uso de diferentes fontes e níveis de cobre, dietas para leitões na fase de creche e frangos de corte, resultados de desempenho. Duas bases de dados foram elaboradas a partir de artigos e previamente selecionados que avaliavam diferentes fontes e níveis de cobre para leitões em creche e frangos de corte. Para leitões em creche foram compilados 59 artigos publicados entre os anos de 1990 e 2020, totalizando 931 tratamentos e 20.521 leitões. Na base de dados de frangos de corte foram compilados 57 artigos publicados entre os anos de 1991 e 2020, totalizando 96.606 aves em 717 tratamentos. A análise dos dados foi explorada por forest plot, heterogeneidade, correlações, variância e covariância e modelos mistos. A análise de forest plot indica efeitos positivos ($P < 0,05$) da suplementação de fontes inorgânicas e orgânicas de cobre em relação as dietas basais. Entretanto, os índices I^2 foram superiores a $> 50\%$, indicando alta heterogeneidade para leitões em creche e frangos de corte. A adição de cobre em níveis supra nutricionais (> 80 mg Cu/kg dieta) aumenta o ganho médio diário em 3,4% e diminui a conversão alimentar em 4,8% ($P < 0,05$) em leitões em creche. As fontes de cobre orgânicas e inorgânicas melhoram o ganho de peso e conversão alimentar em relação à dieta basal (1 a 15 mg Cu /kg dieta ($P < 0,05$)). Os modelos mistos indicam que o peso, idade média, e o consumo de cobre influenciam no desempenho de leitões em creche. A relação Zn/Cu não foi significativa em nenhum modelo ($P > 0,05$). O consumo de ração de frangos de corte diminui ($P < 0,05$) à medida que níveis superiores a 81 mg Cu/kg são adicionados à dieta. Entretanto, o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos de corte não é alterado com a adição de diferentes fontes e níveis de cobre às dietas. Os modelos mistos indicam que o peso das aves interfere sobre o desempenho. O consumo médio de zinco e cobre interferem no consumo de ração ($P < 0,05$) sem interferir sobre o ganho de peso e conversão alimentar. Fontes orgânicas e inorgânicas de cobre e níveis supra nutricionais ($> a 81$ mg Cu/kg dieta) em dietas melhoram o desempenho de leitões em creche. Leitões alimentados com dietas contendo fontes orgânicas ou inorgânicas apresentam desempenhos semelhantes. O consumo de ração de frangos de corte é influenciado pelo peso vivo e ingestão de cobre e zinco. Níveis supra nutricionais ($> a 81$ mg Cu/kg dieta) na dieta reduzem o consumo de ração de frangos de corte sem alterar o ganho de peso e conversão alimentar.

Palavras-chave: Leitões em creche, frangos de corte, sulfato de cobre, cobre quelatado, meta-análise

ABSTRACT

This work aims to evaluate the effect of different levels and sources of copper on the performance of nursery piglets and broilers through meta-analysis. The criteria established for selecting articles were using various sources and levels of copper, diets for nursery pigs and broilers, performance results. Two databases were created from previously selected articles that evaluated different sources and levels of copper for nursery pigs and broilers. Fifty-nine articles published between 1990 and 2020 were compiled for nursery piglets, for a total of 931 treatments and 20,521 piglets. For broilers, 57 articles published between 1991 and 2020 were compiled, for a total of 96,606 birds in 717 treatments. Data analysis was explored by forest plot, heterogeneity, correlations, variance and covariance, and mixed models. The forest plot analysis indicates positive effects ($P < 0.05$) of supplementation with inorganic and organic copper sources compared to basal treatments. However, the I² indexes were $> 86.9\%$, indicating high heterogeneity for nursery piglets and broilers. The addition of copper at supra nutritional levels (> 80 mg Cu/kg diet) increases the average daily gain by 3.4% and decreases feed conversion by 4.8% ($P < 0.05$) in nursery pigs. Organic and inorganic copper sources improve weight gain and feed conversion compared to the basal treatment (1 to 15 mg Cu/kg diet ($P < 0.05$)). Mixed models indicate that bodyweight and mean age, and copper consumption influence the performance of nursery piglets. The Zn/Cu ratio was not significant in any model ($P > 0.05$). In chickens, no variable was affected in the analysis of copper sources. Broiler feed intake decreases ($P > 0.05$) as levels above 81 mg Cu/kg in the diet are added. However, the weight gain and feed conversion of broilers are not altered by adding different sources and levels of copper to the diets. Mixed models indicate that the bodyweight of birds affects performance. The average intake of zinc and copper interfere with feed intake ($P < 0.05$) without interfering with average daily gain and feed conversion. Organic and inorganic sources of copper and supra nutritional levels (> 81 mg Cu/kg diet) improve the performance of nursery piglets. Piglets fed diets containing organic or inorganic sources show similar performance. Broiler feed intake is influenced by live weight and copper and zinc intake. Supra nutritional levels (> 81 mg Cu/kg diet) in the diet reduce broiler feed intake without altering weight gain and feed conversion.

Keywords: Piglets, broilers, sulphated copper, chelated copper, meta-analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Absorção do cobre transecular do enterócitos	15
Figura 2: Relações dos minerais no corpo. A absorção ou o metabolismo de um mineral individual é afetada de forma antagônica ou sinérgica pelos níveis de ingestão de outros minerais	18
Figura 3: Fluxograma PRISMA descrevendo o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fontes orgânicas e inorgânicas de cobre em leitões.....	45
Figura 4: Análise em forest plot sobre o efeito do cobre inorgânico no ganho de peso diário de leitões em creche	56
Figura 5: Análise em forest plot sobre o efeito do cobre orgânico no ganho de peso diário de leitões em creche	57
Figura 6: Fluxograma PRISMA descrevendo o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fontes orgânicas e inorgânicas de cobre em dietas de frangos de corte	63
Figura 7: Forest plot da comparação do efeito do cobre inorgânico em relação à dieta basal, sobre o ganho de peso, em frangos de corte.	73
Figura 8: Forest plot da comparação do efeito do cobre orgânico em relação à dieta basal, sobre o ganho de peso, em frangos de corte.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição nutricional, médias ajustadas de dietas experimentais para leitões em creche suplementados com diferentes fontes e níveis de cobre.	43
Tabela 2: Médias e erro padrão de desempenho de leitões em creche alimentados com dietas suplementadas com diferentes fontes e níveis de cobre.	46
Tabela 3: Coeficientes dos modelos mistos utilizados para verificar a eficiência da suplementação de diferentes níveis e fontes de cobre na dieta de leitões em fase de creche, usando uma abordagem Bayesiana.	47
Tabela 4: Composição nutricional, médias ajustadas de dietas experimentais para frangos de corte suplementados com diferentes fontes e níveis de cobre.	62
Tabela 5: Desempenho (médias e desvio padrão) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de cobre.	65
Tabela 6: Coeficientes dos modelos mistos utilizados para verificar a eficiência da suplementação com cobre na dieta de frangos de corte, usando uma abordagem Bayesiana. .	66

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 : ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	11
1.1 INTRODUÇÃO.....	11
1.2 FUNÇÕES DO COBRE NO ORGANISMO	12
1.3 METABOLISMO DO COBRE.....	14
1.3.1 Absorção e Transporte do Cobre no Organismo	14
1.3.2 Inter-Relações Entre Minerais	17
1.3.2.1 Interações em nível luminal e metabólicas.....	18
1.4 EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS.....	20
1.5 FONTES, DISPONIBILIDADE E IMPACTO AMBIENTAL DO COBRE	21
1.5.1 Fontes Inorgânicas.....	22
1.5.2 Fontes Orgânicas	23
1.5.2.1 Quelatos.....	23
1.6 DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE E LEITÕES	26
1.6.1. Por Que Integrar os Resultados do Uso de Cobre por Meio da Meta-Análise?	29
REFERÊNCIAS	29
CAPÍTULO 2: UMA ABORDAGEM META-ANALÍTICA SOBRE FONTES E NÍVEIS DE COBRE PARA LEITÕES EM CRECHE	39
2.1 INTRODUÇÃO.....	40
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
2.2.1 Sistematização das Informações: Seleção dos Artigos.....	41
2.2.2 Gerenciamento de Banco de Dados, Codificação e Filtragem dos Dados	42
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
2.4 RESULTADOS	44
2.4.1 Resultados da Busca de Literatura.....	44
2.4.2 Descrição da Base de Dados.....	45
2.4.3 Meta-Análise por <i>Forest plot</i>	46

2.5. DISCUSSÃO	48
2.6 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	52
CAPÍTULO 3 : FONTES E NÍVEIS DE COBRE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE	58
3.1 INTRODUÇÃO	59
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	60
3.2.1 Revisão Sistemática e Construção da Base de Dados	60
3.2.2 Gerenciamento de Banco de Dados, Codificação e Filtragem dos Dados	61
3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	61
3.4 RESULTADOS	63
3.4.1 Resultados da Busca de Literatura	63
3.4.2 Descrição da Base de Dados	63
3.4.3 Meta-Análise por <i>Forest plot</i>	64
3.5 DISCUSSÃO	66
3.6 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	70

CAPÍTULO 1 : ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

1.1 INTRODUÇÃO

A suplementação do cobre para aves e suínos como promotores de crescimento se disseminou muito nos últimos anos. Isso se deve a diversos fatores, como desenvolvimento genético, alta precocidade, novas tecnologias produtivas e principalmente, pelo mineral ser uma alternativa economicamente viável ao uso de antibióticos como promotores de crescimento (HORACIO; ROSTAGNO; GOMES, 2017). A partir disso, para atender as exigências nutricionais das espécies, as necessidades de suplementação dos minerais foram atendidas pela adição de fontes de minerais inorgânicos. Porém o uso indiscriminado destas fontes tem elevado a concentração de minerais nos dejetos de aves e suínos, aumentando seu potencial poluente.

O Cu apresenta importantes funções no organismo, como síntese de diversas enzimas como a hemoglobina, ativação de vários processos oxidativos no organismo e efeitos bactericidas e bacteriostáticos na microbiota intestinal (HAMDI *et al.*, 2018; NRC, 2012). Devido a sua ação antimicrobiana, em doses supranutricionais, o cobre tem sido adicionado às dietas de aves e suínos em níveis muito superiores aos requeridos pelo animal, sendo considerado um promotor de crescimento (MÄNNER *et al.*, 2006). A adição de fontes de Cu nas dietas atua como agente antimicrobiano em frangos de corte e poedeiras (PEKEL *et al.*, 2012). Em leitões no pós-desmame e creche os níveis de Cu adicionados às dietas são muito superiores aos recomendados para os animais e, conseqüentemente, podem melhorar o desempenho do animal nas fases iniciais da creche (NEWMAN; ROHRBACH; WILSON, 2015).

A suplementação do cobre historicamente é feita através das formas inorgânicas, como sais e sulfatos, entretanto a biodisponibilidade desses elementos sempre foi muito variável devido à competição dos elementos por sítios absorptivos, podendo reduzir a absorção e os efeitos do elemento (KIEFER, 2005). Porém, nas últimas décadas as formas orgânicas, ou quelatadas, se disseminaram nas cadeias suinícola e avícola. Na sua composição existe o complexo mineral conjugado a um aminoácido, como por exemplo, a metionina ou lisina (EBRAHIMZADEH; FARHOOMAND; NOORI, 2012). Esse complexo mineral-aminoácido promove uma melhor digestibilidade do elemento no trato gastrointestinal, facilitando, assim, a absorção do cobre no intestino (DA SILVA *et al.*, 2019).

Muitos estudos comparativos entre as fontes inorgânicas e orgânicas do cobre vêm sendo desenvolvidos nas últimas décadas (LIAO *et al.*, 2018; MAZZONI *et al.*, 2010). Comparar ambas as fontes do Cu pode trazer benefícios à cadeia produtiva, visto que fontes inorgânicas têm menor custo, fontes orgânicas menor poder poluente e ambas possuem efeitos positivos sobre o desempenho de suínos e aves. Atualmente, o volume de informações sobre a suplementação de cobre em dietas para leitões em creche e frangos de corte torna a tomada de decisões, pelos interessados no tema, desafiadora.

1.2 FUNÇÕES DO COBRE NO ORGANISMO

Os minerais são divididos em dois grupos, macro e microminerais. Os macrominerais ou macroelementos são requeridos em maiores quantidades pelo organismo, apresentando funções principalmente de origem fisiológica e metabólica (MARQUES *et al.*, 2016). Alguns exemplos de macrominerais: enxofre, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, sódio e cloro. Os microminerais, microelementos, oligoelementos ou apenas elementos de traço constituem minerais como ferro, cobre, manganês, zinco, níquel, cobalto, selênio, cromo, molibdênio, estanho, flúor, iodo, sílica, vanádio e arsênico (HORACIO; ROSTAGNO; GOMES, 2017). Os microelementos, embora requeridos em menores quantidades, são de extrema importância ao organismo, possuindo importantes funções metabólicas, reprodutivas e de crescimento, sendo essenciais para ação catalítica de enzimas, podendo agir em associações com elementos de origem proteica melhorando a atividade enzimática (AO *et al.*, 2017). No entanto, os oligoelementos possuem uma baixa biodisponibilidade no organismo, sendo formados por complexos com outras substâncias que podem interferir negativamente nos processos digestivos, apresentando uma absorção pequena pelo organismo (XIAO *et al.*, 2015). Um dos microelementos de maior importância na nutrição de aves e suínos é o cobre.

O cobre (Cu) é um elemento químico da tabela periódica, seu número atômico é 29. Em temperatura ambiente é encontrado na forma sólida, sendo classificado como um metal de transição. O Cu é mundialmente conhecido como um bom condutor de eletricidade, sendo muito utilizado para a produção de fios, cabos e ligas metálicas (OSORIO *et al.*, 2016). Assim como os demais microelementos, o Cu apresenta características intermediárias, ou seja, está à esquerda de compostos metálicos da tabela periódica, tais compostos fazem as chamadas ligações iônicas, e à direita dos compostos denominados não-metálicos, elementos que fazem as ligações neutras, ou covalentes (REIS *et al.*, 2009).

No organismo do animal o Cu é encontrado em baixas concentrações, e a maior parte

está no plasma na forma de ceruloplasmina, seu carregador específico do fígado para as demais regiões do organismo (ZHAO *et al.*, 2008). O fígado é o órgão central do metabolismo do Cu sendo responsável pelo armazenamento do elemento no organismo. A quantidade de cobre no órgão depende dos níveis do elemento ingerido, a fonte e idade do animal, pois a concentração hepática do Cu é alterada de acordo com a idade (HAMDI *et al.*, 2018).

Na década de 1980, o elemento era pouco conhecido na nutrição sendo raramente suplementado como promotor de crescimento (BIKKER, 2011). Contudo, nas últimas décadas seu consumo teve um grande aumento por apresentar diversas funções de extrema importância para o organismo vivo (GONZALES-EGUIA *et al.*, 2009). O Cu tem a capacidade de agir como um doador e receptor de elétrons, podendo se mover entre dois estados oxidativos, a forma cuprosa (Cu 1+), e a forma cúprica (Cu 2+) (ESPINOSA *et al.*, 2020). Essa característica torna o Cu um componente extremamente importante no processo de formação e síntese de diversas enzimas, entre elas a enzima citocromo oxidase, transportadora de elétrons, lisil oxidase, necessária para formação de tecidos no organismo, hepestina, transportadora do Fe para os enterócitos e a formação de ceruloplasmina e a Cu-Zn superóxido dismutase, sendo uma das principais enzimas antioxidantes de organismo (HASHIMOTO; KAMBE, 2015).

Muitas outras funções do Cu se destacam, tais como: o seu envolvimento em processos de desenvolvimento, crescimento ósseo e de diversos tipos de tecidos no organismo, processos reprodutivos além de ser um importante agente de pigmentação de cabelos em seres humanos, pelo, lã e plumas (VEUM *et al.*, 2004). O mineral é um cofator da tirosinase, necessária para a produção de pigmentos escuros e da melatonina, além da formação de importantes proteínas presentes no sangue (FAVERO *et al.*, 2013; BATISTEL *et al.*, 2016). O Cu juntamente com o Fe são os mais importantes componentes na formação da hemoglobina e de diversas metaloenzimas (GATTÁS ; BARBOSA, 2004).

Esse micromineral quando suplementado em níveis muito acima das exigências nutricionais, pode ser utilizado como um substituto para os antibióticos, como relatou Newman *et al.*, (2015) e Hudson *et al.*, (2004), sendo utilizado em frangos de corte durante todo seu ciclo, e em leitões, especialmente na fase de creche. A razão pela maior utilização nessa fase específica em leitões é evitar o aparecimento de diarreias e doenças gastrointestinais, além de melhorar a digestibilidade das dietas, uma vez que nessa fase os leitões apresentam o sistema digestório imaturo (SONG; LI; HU, 2013).

De acordo com Mei *et al.*, (2009) a suplementação do Cu nas primeiras semanas de vida de leitões, pode aumentar o consumo de ração e o ganho de peso, bem como melhorar a

atividade enzimática no trato gastrointestinal. O mesmo autor relata que a alta suplementação do cobre na dieta pode ser benéfica, mantendo a integridade intestinal e, como consequência, melhorar a absorção do animal e o crescimento do animal. Esses efeitos positivos ao ganho de peso ocorrem pelas propriedades enzimáticas e antimicrobianas, reduzindo no trato gastrointestinal (TGI) a presença de bactérias lácticas, *bacilos* e *estreptococos* (SAENMAHAYAK *et al.*, 2010).

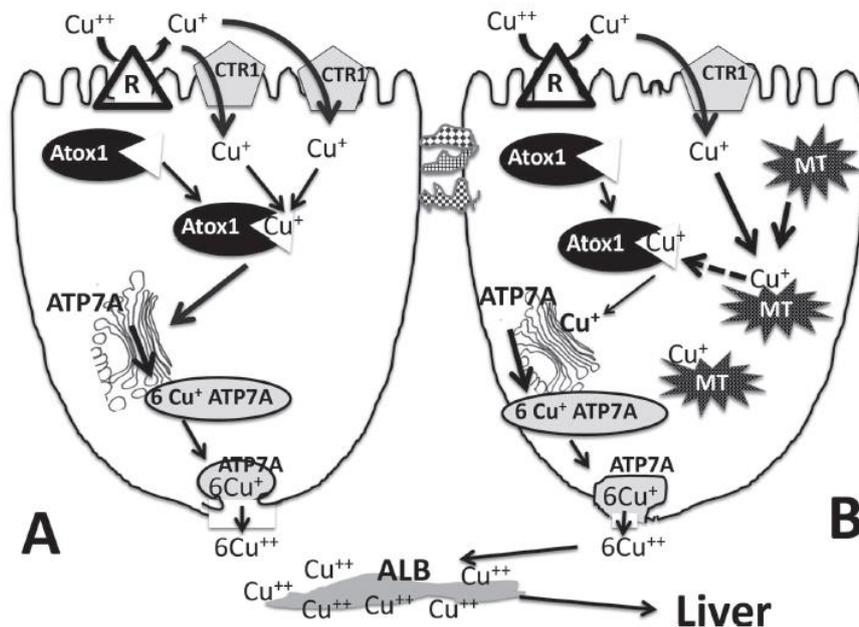
1.3 METABOLISMO DO COBRE

1.3.1 Absorção e Transporte do Cobre no Organismo

A principal forma de absorção do Cu no organismo se dá por uma difusão paracelular, via arrasto de solvente para o interior celular. Em monogástricos, o Cu é absorvido pelo estômago e intestino delgado por um processo transcelular (BERGHE; KLOMP, 2009). O Cu fornecido na dieta se encontra na maioria das vezes na forma cúprica (Cu²⁺), mas apenas os íons na forma cuprosa (Cu⁺) são transportados através da membrana apical intestinal (GOFF, 2018). Essa redução, essencial para a absorção do Cu, ocorre na borda em escova do intestino, sendo que o elemento precisa ser reduzido para que possa ser absorvido. O evento ocorre na borda da escova duodenal por enzimas metalorredutases, transformando os íons cúpricos em cuprosos, como demonstra a Figura 1.

Após o processo redutor o íon de Cu pode se ligar facilmente a uma proteína carregadora específica, que apresenta alta afinidade com o Cu (CTR1), para assim conseguir atravessar a membrana apical e entrar no enterócito (NOSE; REES; THIELE, 2006). Este processo de absorção do Cu é muito eficiente, cerca de 40 a 60% dos íons livres de Cu no organismo apresentam a capacidade de atravessar as membranas apicais do estômago e do intestino delgado facilmente (GOFF, 2018). Apesar da maior especificidade do Cu pelo transportador CTR1, a absorção desse nutriente também pode ocorrer, de maneira inespecífica, pelo transportador de metais divalentes (DMT1). É importante destacar que outros oligoelementos também utilizam destas proteínas carregadoras, CTR1, como transporte primário tendo alta afinidade pelo Cu e DMT1 como transporte secundário para atravessar a membrana apical, como é o caso do Zn, Mn e Fe (BERGHE; KLOMP, 2009).

Figura 1: Absorção transcelular do cobre nos enterócitos.



Fonte: GOFF, J. P. Invited review : Mineral absorption mechanisms , mineral interactions that affect acid – base and antioxidant status , and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.

Nota : A redução do cobre da borda em escova (R) converte o Cu^{2+} da dieta em Cu^{+} . (A) Um transportador de cobre, a proteína 1 (CTR1) facilita a difusão do Cu^{+} através da membrana apical. O Cu^{+} liga-se a uma proteína chaperona de cobre (Atox1). Atox1 transporta o Cu^{+} para o aparelho de Golgi, onde é transferido para uma proteína de transporte de cobre (ATP7) capaz de reter 6 íons Cu^{+} que está dentro da membrana de uma vesícula de transporte de Golgi. A vesícula ATP7A transporta o 6 Cu^{+} com segurança através da célula. A membrana da vesícula de transporte funde-se com a membrana basolateral liberando o Cu^{+} no fluido extracelular por exocitose. A membrana da vesícula de transporte ATP7A contém uma Cu oxidase, que oxida o Cu^{+} a Cu^{2+} conforme é liberado para o espaço intersticial. Os íons Cu^{2+} se ligam à albumina (ALB) por transporte. No entanto, se o corpo tiver reservas de cobre adequadas (B), os enterócitos começam a produzir metalotioneína (MT) em grandes quantidades. Os íons Cu^{+} que entram na célula a MT tem maior afinidade pelo Cu que a ATOX1. MT pode ceder Cu^{+} ao Atox1, mas apenas lentamente, e muito do Cu ligado ao MT pode ficar retido no enterócito e é perdido no momento da renovação celular eliminado e excretado com as fezes. A alta concentração de Cu também reduz a quantidade de CTR1 na membrana apical

Uma vez dentro da membrana apical o Cu será captado por proteínas chaperonas específicas, ou enzimas acompanhantes. Uma vez no meio intracelular, esses transportadores irão direcionar o Cu para diversas regiões intercelulares (GOFF, 2018). As proteínas chaperonas são moléculas que atuam na proteção contra o enovelamento incorreto das proteínas do organismo, auxiliando e protegendo as estruturas dos elementos, para que elas consigam alcançar uma estrutura espacial correta, bem como evitar a depreciação do Cu no interior celular (FERNANDO; RODRIGUES, 2020). Durante esse processo de direcionamento, as chaperonas podem fornecer íons de Cu para uma enzima antioxidante, a Zn/Cu superóxido dismutase. Outras chaperonas de Cu podem fornecer íons de Cu para a

proteína hepeptina, sendo essa proteína extremamente necessária para a absorção do Fe no organismo (RINCKER *et al.*, 2004).

A absorção acontecerá em definitivo no momento em que os íons de Cu se moverem para fora do epitélio celular dos enterócitos, assim as demais células do organismo podem utilizar o Cu (WEN *et al.*, 2019). A proteína chaperona de Cu (Atox1) irá se ligar ao Cu⁺ e transportá-lo através do citosol, até o complexo de Golgi da célula. No complexo de Golgi, o Cu será realocado para outra proteína transportadora localizada no complexo de Golgi, a ATP7A, capaz de se ligar em até 6 íons de Cu⁺. A ATP7A é incorporada a uma membrana de uma vesícula do complexo e translocada a membrana basolateral. Ambas as membranas, a basolateral e a vesicular se fundem, fazendo com que a proteína transportadora (ATP7A) use a energia de uma molécula de ATP para conseguir liberar os íons do Cu armazenados para os fluidos extracelulares (RINCKER *et al.*, 2004).

Antes de serem liberados para os fluidos extracelulares, o Cu sofre uma oxidação, convertendo o Cu⁺ em Cu²⁺. Esse fenômeno ocorre, pois os íons de Cu²⁺ se difundem mais facilmente no plasma, onde tem uma capacidade muito elevada de se ligar a moléculas de albumina e de histidina, e podem ser facilmente transportadas para o fígado (STRAUSAK *et al.*, 2003). Quando existem grandes quantidades de Cu⁺ entrando nos enterócitos, e aumenta concentração de Cu no citosol, a proteína ATP7A se torna ainda mais ativa, e com isso ocorre uma hidrólise maior de ATP, para que ocorra uma maior liberação de Cu⁺, liberando assim os íons dos enterócitos tornando-os acessíveis as demais células do organismo. O próprio enterócito, quando apresenta altas concentrações de Cu, aumenta a produção de uma enzima de ligação de Cu chamada metalotioneína, que dificulta a liberação do micromineral para os tecidos, sendo que esses íons ligados a enzima podem ser transferidos para o ATP7A (GOFF, 2018).

O Cu²⁺ transportado pela histidina e albumina deve ser novamente reduzido em Cu⁺ para que sua absorção pelos transportadores CTR1 dos hepatócitos seja possível. (BERGHE; KLOMP, 2009). As enzimas acompanhantes dos íons do Cu podem mover o elemento para o interior dos hepatócitos, permitindo assim a produção de várias enzimas que necessitam do Cu, como a Zn superóxido dismutase e citocromo oxidase, sendo enzimas muito importantes para a prevenção de danos associados ao estresse oxidativo (PAL *et al.*, 2010).

Para que ocorra a exportação dos íons de Cu para outros tecidos, é necessária a ação da chaperona Atox 1, movendo assim o Cu⁺ para transmembrana do Complexo de Golgi, onde o Cu será transportado pela ATPase (ATP7B) (LINDER, 2016). O Cu no fígado, seu principal local de armazenamento, é ligado ao ATP7B, sendo utilizado para a produção e

formação de aminoácidos e proteínas contendo Cu na sua composição. A principal proteína produzida pelo Cu é a ceruloplasmina, que necessita de seis átomos de Cu, sendo que o Cu está ligado à histidina ou cisteína e metionina (SALYER *et al.*, 2004).

A maior parte do Cu plasmático (40 a 70%) está ligado a ceruloplasmina. Esta enzima pode se ligar a receptores nas células para entregar os íons de Cu a elas. A ceruloplasmina é uma ferroxidase, sendo capaz de doar um elétron de Fe ferroso (Fe²⁺) para convertê-lo em Fe férrico (Fe³⁺) (LINDER, 2016). Esse processo de redução é vital para a transferência de Fe dos estoques no fígado, a transferrina, sendo de extrema importância para a conservação do Fe nos glóbulos vermelhos mais velhos. Esses glóbulos vermelhos são digeridos pela ação dos macrófagos e da ceruloplasmina plasmática, esta oxida o Fe quando ele sai da célula, para que o elemento em questão possa ser ligado a transferrina (HELLMAN E GITLIN, 2002). A enzima transferrina fornece os íons de Fe para os hemacitoblastos, estes sendo usados para a formação de novos glóbulos vermelhos (GOFF, 2018). O processo confirma a importante ação do Cu na formação de novas células sanguíneas, melhorando assim, o transporte de O₂ para os demais tecidos do organismo.

O fígado também armazena grandes quantidades do Cu absorvido. A maior parte dele está ligado a metalotioneína e as chaperonas (PAL *et al.*, 2010). O fígado é o órgão responsável pela homeostase do Cu no organismo, uma vez que o Cu do fígado é armazenado em concentrações muito elevadas. O excesso é eliminado pelo lado canicular do hepatócito, pelo ATP7B, sendo posteriormente excretado na bile. A excreção via bile não pode ser reabsorvida pelo epitélio intestinal dos animais. Sendo assim, o excesso é diretamente liberado via fezes. O processo regulatório via bile é então considerado o principal mecanismo de defesa do organismo dos animais contra a toxicidade por cobre (LÖNNERDAL, 2008).

1.3.2 Inter-Relações Entre Minerais

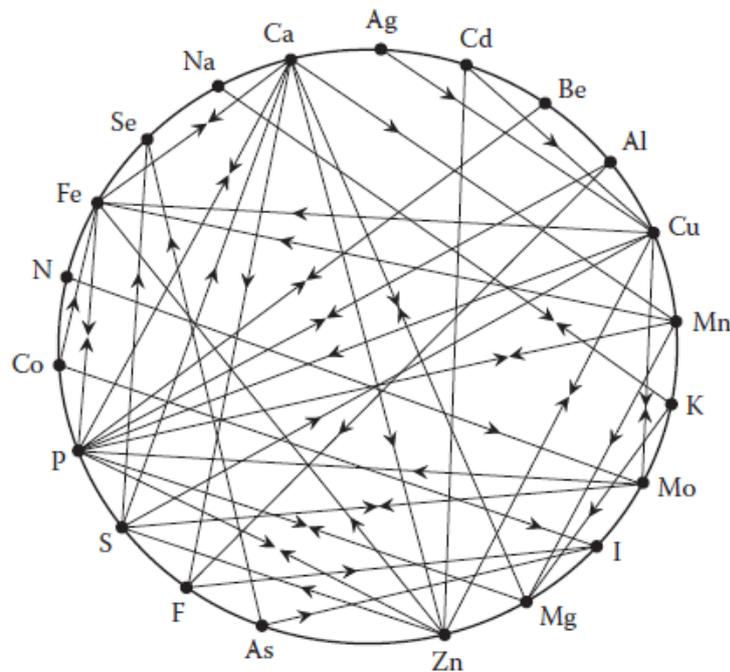
As interações metabólicas entre os minerais são muito frequentes entre metais que compartilham parâmetros químicos comuns e competem pelos mesmos sítios de ligação dentro do organismo, como foi descrito por Underwood. (1978) e Suttle. (1975). De acordo com Suttle (1975) as interações foram agrupadas em seis grupos distintos, sendo:

- Formação de complexos insolúveis entre íons dissimilares;
- Competição dos íons pelas mesmas vias metabólicas;
- Complexação de íons por agentes ligantes;
- Mudanças no componente metálico das metaloenzimas;

- Transporte facilitado de algum micro mineral;
- Codependência de reações de microminerais entre si.

Este último grupo pode ser definido pela Figura 2, onde é possível observar relações antagonônicas ou sinérgicas entre um elemento e outro. Os oligoelementos em sua forma iônica, no trato digestivo, formam complexos aniônicos insolúveis, com demais componentes presentes na dieta, reduzindo a biodisponibilidade do metal em questão. Um exemplo desses efeitos são os fosfatos que, quando em excesso na dieta, podem reduzir drasticamente a biodisponibilidade do Fe e Zn (YU; HUANG; CHIOU, 2000). Porém, o foco do estudo será dado nas relações que o Cu tem com outros metais, ou demais elementos que podem interferir no metabolismo absorptivo do elemento.

Figura 2: Relações dos minerais no corpo. A absorção ou o metabolismo de um mineral individual é afetada de forma antagonônica ou sinérgica pelos níveis de ingestão de outros minerais.



Fonte: ASHMEAD, H. DeWayne. **Amino acid chelation in human and animal nutrition**. CRC Press, 2012.

1.3.2.1 Interações em nível luminal e metabólicas

A absorção do Cu é reduzida na presença de íons de molibdênio (Mo) e enxofre (S) juntamente com a suplementação de ferro na dieta. O efeito de ambos os elementos se inicia com a substituição do enxofre no íon sulfeto pelo oxigênio (MoO_4), formando o composto tetratiomolibdato (MoSO_4) (WALK *et al.*, 2016). Tal composto tem a capacidade de se ligar facilmente a íons de cobre fornecidos ao animal, pois os compostos sulfatados do elemento podem ser facilmente reduzidos a sulfetos, substâncias altamente redutoras, facilitando o

sequestro dos íons livres do Cu. Essa ligação torna os íons de cobre insolúveis e indisponíveis uma vez que o tetratiomolibdato é um elemento extremamente estável e insolúvel (BAI; SUNDE; COOK, 1994). Portanto, a recomendação é de que a suplementação de Mo na dieta, embora pouco comum, deve ser inferior a 10 mg/kg para aves e suínos (GAO *et al.*, 2014).

A competição por sítios de ligação que transportam minerais para o interior da mucosa a partir do lúmen intestinal pode acontecer nos oligoelementos, e essa competição pode interferir negativamente na absorção de um mineral (HARTMAN, 2018). Os íons de Fe e Cu são preferencialmente ligados a molécula transportadora de proteínas na mucosa, CTR1 e DMT1, quando não existe saturação das moléculas, existem locais adequados para que haja a ligação de ambos os íons, tanto os íons do ferro quanto os íons do cobre (GAO *et al.*, 2014).

Porém se houver um desbalanceamento no fornecimento de um destes minerais, ou seja, a suplementação excessiva do Cu, a biodisponibilidade do ferro é reduzida, pois o cobre se liga primeiro a transferrina, fazendo com que exista uma grande limitação de locais de ligação para o Fe (GAO *et al.*, 2014). De acordo com Nose *et al.*, (2006) a suplementação em níveis maiores do Fe, o contrário pode acontecer, causando deficiência do Cu no animal. Isso ocorre pela competição das moléculas transportadoras, inibindo a absorção do elemento, ou seja, ambos podem ser antagônicos em determinadas circunstâncias. Entretanto, em um estudo em ratos, os altos níveis de Fe não alteraram a absorção do Cu. Porém, interferiu na biodisponibilidade do cobre pelos tecidos e no fígado, o que pode resultar em um quadro de deficiência (JUNG-HEUN HA; CAGLAR DOGUE, 2017).

Vale ressaltar que o Fe é um antagonista muito potente do metabolismo do Cu, assim como o ácido ascórbico (vitamina C), pode afetar a biodisponibilidade do mineral (LONG *et al.*, 2018). Esse fenômeno ocorre, pois o ácido ascórbico indiretamente promove uma maior mobilização e absorção do ferro, convertendo-o de sua forma ferrosa para a férrica, permitindo uma melhor absorção e armazenamento nos tecidos e no fígado, aumentando sua concentração na corrente sanguínea (SU *et al.*, 2018). A alta concentração do Fe pode afetar a absorção do Cu, e indiretamente pode acarretar a deficiência do Fe, pois não irá ocorrer à formação da ceruloplasmina, uma proteína que apresenta uma função catalítica muito semelhante ao ácido ascórbico, facilitando a absorção do ferro (BERGHE; KLOMP, 2009).

Outro elemento que apresenta efeitos antagônicos ao Cu é o Zn. Quando as concentrações de Zn dietéticos são muito elevadas podem induzir a deficiência do Cu no organismo animal (WALK *et al.*, 2016). Mesmo em situações nas quais as concentrações de Cu no fígado estejam em níveis ideais, elas vão induzir a produção e síntese de metalotioneína dentro dos enterócitos. Cabe salientar que o Zn é o ativador primário da metalotioneína e o

Cu, seu ativador secundário. A metalotioneína liga-se aos íons livres de Zn no interior celular, também sequestrando posteriormente os íons livres do Cu (ASHMEAD, 2012). Porém, quando a suplementação do Zn na dieta for em doses muito elevadas, a produção da enzima sequestradora será muito acentuada, resultando em um sequestro de Cu muito maior que o do Zn (GOFF, 2018). Isso ocorre por conta da maior afinidade da metalotioneína com o Cu.

A grande preocupação com a alta suplementação do Zn é de que, caso os íons estejam ligados a metalotioneína, ocorrerá descamação da vilosidade, ou até mesmo a morte dos enterócitos, causando danos à parede intestinal e comprometimento a integridade intestinal. Os elementos, por sua vez, seriam excretados via fezes, sem ter sido aproveitado pelo organismo animal (SHARMA *et al.*, 1999).

1.4 EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS

Muitos fatores podem afetar o requerimento do Cu em aves e suínos. Alguns desses fatores podem ser a raça, linhagem, gênero, consumo de ração, níveis energéticos da dieta e disponibilidade de nutrientes. Outros fatores externos como temperatura, umidade, estado sanitário e o estágio de desenvolvimento também podem influenciar as exigências nutricionais (NRC, 2012).

Juntamente com Zn, o Cu é suplementado na dieta em grandes quantidades especialmente em frangos de corte e em leitões nas fases de creche, para o aproveitamento das diversas funções que ambos apresentam como um promotor de crescimento, mantendo o bom desempenho e a saúde do animal (DĘBSKI, 2016). O requerimento de Cu em níveis nutricionais na fase de creche, varia de 5 a 15 mg/kg. Em frangos estes valores são próximos, variando de 6 a 8 mg/kg (HENDRIKS; VERSTEGEN, 2019).

Embora, atualmente, os sintomas de deficiência sejam mais raros, é importante saber detectar rapidamente, pois os efeitos podem ser variados e causarem grandes perdas aos animais (BERGHE; KLOMP, 2009). A falta de Cu na dieta pode levar ao desenvolvimento de uma forte anemia microcítica e hipocrômica, esse processo ocorre pelo fato do Cu, juntamente com o Fe, serem os elementos necessários para a formação da hemoglobina (AKTER; IJI; GRAHAM, 2017). Outros sintomas de deficiência incluem o arqueamento, fraturas espontâneas pelo organismo, aparecimento de distúrbios vasculares e cardíacos, além de despigmentação, especialmente nas penas e plumas. É importante destacar que o Cu é o formador de várias enzimas e proteínas de transporte de diversas moléculas pelo organismo, o que leva a uma baixa mobilização e transporte de Fe, além de afetar negativamente os

processos de síntese de colágeno e queratinização (LU *et al.*, 2010).

O cuidado também deve ser tomado quando a suplementação do Cu for muito elevada. Em monogástricos os problemas são menores, pois o animal pode facilmente excretar o excesso de cobre via fezes e urina, sendo realmente prejudiciais quando o animal é exposto a altas concentrações por um longo período. Em ruminantes, o excesso de Cu pode sobrecarregar a bile causando um grande sequestro de Cu no fígado (HENDRIKS; VERSTEGEN, 2019). Esse processo pode liberar radicais livres e causar danos oxidativos graves ao animal (GOFF, 2018).

Os principais sinais da toxicidade do Cu é a redução dos níveis de hemoglobina no sangue, causada pelos altos acúmulos do elemento no fígado, podendo ser acumulado também em outros órgãos vitais. Baixos níveis de Zn e Fe na dieta, ou altos níveis de cálcio, podem acentuar os sintomas de toxicidade de Cu. De acordo com (NRC, 2012), os níveis toleráveis máximos para suínos e frangos, é de no máximo 250 mg/kg na dieta, pois valores acima, podem ser prejudiciais aos animais. Atualmente, o elemento é utilizado em diferentes níveis, porém na maioria dos casos as doses utilizadas são entre 80 a 150 mg/kg (ZHANG; GUO, 2009). O cobre nesses níveis pode trazer benefícios como um promotor de crescimento, e o animal não se intoxica com níveis muito elevados (YOON; WERNER; BUTLER, 2007).

1.5 FONTES, DISPONIBILIDADE E IMPACTO AMBIENTAL DO COBRE

Durante muitas décadas a suplementação dos oligoelementos ocorria nas suas formas inorgânicas, especialmente nas formas de óxidos e sulfatos. Estas fontes sempre foram consideradas as melhores formas de suplementar o Cu na dieta de maneira segura, e com um custo mais baixo. Contudo, as fontes inorgânicas tendem a sofrer processos de dissociação no baixo pH estomacal, deixando o Cu suscetível a diversos nutrientes antagônicos presentes no trato gastrintestinal, formando complexos insolúveis e muito estáveis, ocasionando uma menor absorção e metabolização do elemento (ABDELRAHMAN *et al.*, 1998).

Portanto, a procura pela melhor taxa absorptiva do elemento é importante, pois a suplementação em níveis supranutricionais, ou seja, níveis bem altos de suplementação do Cu, podem ser benéficos aos animais devido às características antimicrobianas e promotoras de crescimento. Entretanto, os altos níveis de inclusão na dieta ocasionam altos níveis do elemento nos dejetos (CHOWDHURY *et al.*, 2004). A alta concentração do mineral nos dejetos inibe os processos fermentativos naturais, e seu grande acúmulo no solo pode causar problemas ambientais (SEO *et al.*, 2008). As maiores taxas de eliminação via fezes são das

formas inorgânicas, especialmente pelas suas características formadoras de complexos insolúveis aumentando a excreção do Cu no ambiente (CREECH *et al.*, 2004). Esse acúmulo do elemento nas fezes pode causar toxicidade de médio a longo prazo no solo, causando a morte de microrganismos e plantas, e em alguns casos pode poluir rios e lagos, causando a morte dos diversos tipos de vida que existem no meio (CHOWDHURY *et al.*, 2004).

No solo o Cu, pode ser absorvido em pequenas quantidades pelas plantas, porém a maior parte do elemento fica retida no solo, especialmente naqueles que são ricos em matéria orgânica (SOARES; AMARAL; LUCAS JÚNIOR, 2003). Contudo, em solos com presença reduzida de matéria orgânica, a retenção é menor, e por um processo denominado de lixiviação, o elemento é deslocado para rios, lagoas, açudes e lençóis freáticos. As altas concentrações do elemento na água podem causar morte de peixes, microrganismos e outros tipos de vida, deixando muitas vezes a água imprópria para o consumo (WESTPHALEN, 2019). Por conta disso, a busca por aditivos que reduzam o impacto poluente, e possam manter o bom desempenho dos animais se intensificou, entre eles, os minerais orgânicos têm se destacado nas últimas décadas. As fontes orgânicas do Cu, especialmente as formas quelatadas dos elementos, apresentam uma maior digestibilidade pelo organismo, evitando a formação de complexos antagônicos que podem prejudicar a absorção do Cu (IVANIŠINOVÁ *et al.*, 2016).

1.5.1 Fontes Inorgânicas

A fonte de Cu mais utilizada é o sulfato de cobre penta hidratado (CuSO_4), elemento produzido a partir do Cu e de ácido sulfúrico (MILES *et al.*, 1998). A fonte apresenta um preço acessível ao produtor, e seus resultados nos animais na maioria das vezes são positivos como demonstrado por Huang *et al.*, (2015) e por Sirri *et al.*, (2016), em que os animais apresentaram maior ganho de peso e consumo de ração. Porém, no trato gastrointestinal pode ocorrer a formação de complexos insolúveis (HASHIMOTO; KAMBE, 2015) que reduzem a capacidade absorptiva do elemento (LEBEL; MATTE; GUAY, 2014). Outra fonte inorgânica de grande destaque é o cobre tri-básico (TBCC), o elemento apresenta um destaque menor que o CuSO_4 , todavia os resultados apresentados aos produtores foram satisfatórios e, em alguns casos, melhores que o CuSO_4 (ZHANG; GUO, 2009).

As duas fontes de cobre são inorgânicas, porém elas apresentam características químicas bem diferentes, o CuSO_4 é muito solúvel em água e a ácidos, diferentemente do TBCC elemento insolúvel na água (MILES *et al.*, 1998). O TBCC é um subproduto do

processo de fabricação da borda de um circuito, em que o ácido, cloreto cúprico e uma solução alcalina de cloreto de cupramina são neutralizados para formar uma fonte purificada de coloração verde (ARTHINGTON; PATE; SPEARS, 2003). Portanto, devido a essas características o TBCC é uma forma que diminui a formação de complexos insolúveis em comparação com o CuSO_4 . De acordo com Cromwell *et al.*, (1998), o TBCC foi tão eficaz no desempenho em leitões de creche quanto o CuSO_4 . Além disso, o TBCC apresentou uma menor instabilidade oxidativa durante o seu armazenamento, oferecendo benefícios ao incluir o aditivo em uma pré-mistura de outros elementos, como minerais e vitaminas.

Outras fontes inorgânicas existentes, porém pouco utilizadas são: cloreto de cobre (CuCl_2), cobre Montimolirolita (CuMMT), óxido de cobre (CuO_2), carbonato de cobre, nitrato de cobre e o sulfato de cobre monohidratado (HORACIO; ROSTAGNO; GOMES, 2017)

1.5.2 Fontes Orgânicas

As fontes orgânicas de Cu foram disseminadas mais recentemente. A maior parte dos produtores utilizavam preferencialmente as fontes inorgânicas, pelo seu menor custo e pelo maior conhecimento do aditivo. Porém, nas últimas décadas a utilização das fontes orgânicas aumentou muito, inicialmente na nutrição humana, posteriormente em ruminantes, e por último se consolidando em monogástricos (HENDRIKS; VERSTEGEN, 2019). As fontes orgânicas de Cu podem ser várias: de origem proteica (DAS *et al.*, 2009), enriquecidos com microrganismos como bactérias e leveduras (LIM *et al.*, 2006), com glicinatos (DE MARCO *et al.*, 2017) e as mais conhecidas, as formas quelatadas complexadas com aminoácidos (OSORIO *et al.*, 2016).

1.5.2.1 Quelatos

A utilização do Cu na forma quelatada complexada com aminoácidos está em evidência nos últimos anos na nutrição animal. Os elementos podem apresentar uma biodisponibilidade maior que o Cu em sua forma inorgânica, podendo proporcionar um transporte e absorção bem mais rápido que em outras formas (GENTHER-SCHROEDER; BRANINE; HANSEN, 2016). Contudo, os oligoelementos nas formas de quelatos já são estudados há muitos anos, desde os anos de 1950, quando iniciou o processo de quelar íons metálicos utilizando íons sintéticos, em especial o ácido etilenodiaminotetracético (ETDA)

(ASHMEAD, 2012). Atualmente, a “Association of American Feed Control Officials”(AAFCO), classifica os quelatos dentro de 7 grupos distintos:

- Grupo 1: Complexos de metal com aminoácidos específicos: São produtos resultantes da complexação de um sal metálico solúvel, com um aminoácido específico na sua proporção molar, ou seja, um mol do metal em questão para três moles do aminoácido, estes ligados por uma ligação covalente. Por exemplo os complexos mais comuns são a metionina de zinco (ZnMet), a lisina de cobre (CuLys) e a metionina de manganês (MnMet), ambos os elementos são produzidos pela combinação de sulfatos e o aminoácido em questão. Os complexos formados são mais facilmente absorvidos no intestino, dentre todas as demais formas orgânicas.
- Grupo 2: Complexo aminoácido-metal: Esses compostos são formados por um átomo de metal complexado com vários aminoácidos livres. Nesse grupo em específico cada molécula individual ainda é um íon metálico e um aminoácido, porém existe uma variabilidade maior de aminoácidos na mistura. Um exemplo é um complexado de cobre, nesta categoria a mistura teria metionina de cobre (CuMet), leucina de cobre (CuLeu), entre outros elementos.
- Grupo 3: Quelatos de aminoácidos metálicos: Este grupo é formado entre a reação de um íon metálico a partir de um sal metálico solúvel com aminoácidos, possuindo uma razão molar de um mol de metal para três moles de aminoácidos, formando assim ligações covalentes coordenadas. Atualmente o elemento mais utilizado como um ligante é a glicina, formando o grupo dos glicinatos (CORNESCU *et al.*, 2014).
- Grupo 4: Metal proteinado: É um produto resultante da quelação de um sal solúvel com uma proteína hidrolisada. O composto final pode até conter alguns aminoácidos de cadeia simples como dipeptídeos, tripeptídeos ou outros elementos derivados de proteínas. Entretanto, o tamanho molar dos metais proteinados acaba sendo maior que o desejado, reduzindo a biodisponibilidade do elemento, em relação aos demais grupos de minerais orgânicos (KAWASHIMA *et al.*, 1997).
- Grupo 5: Complexos metal-polissacarídeo: São elementos resultantes de uma complexação de um sal solúvel e polissacarídeos que envolve o metal em questão. As moléculas desses polissacarídeos são grandes e possuem na cadeia

açúcares simples conhecidos pelo seu fácil metabolismo no sistema digestório (BUFF *et al.*, 2005). Alguns elementos são o gluconato e acetato de zinco, citrato e fumarato de Fe.

- Grupo 6: Propionato de Metal: Esse grupo é resultado da combinação de metais com ácidos orgânicos solúveis, como por exemplo o ácido propiônico e o ácido cítrico. Os elementos formados apresentam uma alta solubilidade e podem se desassociar em soluções.
- Grupo 7: Complexo derivado de leveduras: Embora ainda seja pouco comum, a levedura enriquecida com minerais está ganhando mais espaço nos últimos anos (RAO *et al.*, 2012). Na maioria dos casos a levedura é complexada com selênio (selenometionina) e cromo, em alguns casos até em cobre. Porém ainda é uma fonte pouco utilizada em relação aos demais grupos.

Portanto, os quelatos são compostos formados por íons metálicos resultantes de substâncias orgânicas como peptídeos, polissacarídeos e, até mesmo, aminoácidos, proporcionando aos íons metálicos alta disponibilidade biológica, além da alta solubilidade e estabilidade (JIAO; LI; KIM, 2019). Uma vez o quelato complexado com o mineral em questão o complexo metal-aminoácidos tem alta afinidade para ligações com íons de oxigênio (O₂) no organismo, por meio de ligações covalentes, formando uma estrutura denominada de estrutura cíclica (LEITE *et al.*, 2018). Essa formação do composto solúvel ligante dos quelatos com o mineral facilita a absorção no trato gastrointestinal, protegendo o mineral de sofrer reações com outras enzimas e de formar complexos insolúveis de baixa ou nenhuma metabolização (URSO *et al.*, 2015).

A proteção do mineral pelo agente quelante se inicia na boca, especialmente em suínos, protegendo o mineral da ação da enzima alfa-amilase, mantendo a integridade do Cu até a chegada do complexo no estômago. No estômago os quelatos têm a capacidade de proteger o mineral contra a ação dos ácidos estomacais como a pepsina, sendo lentamente afetado pelo ácido clorídrico, mas sem degradar a estrutura como um todo. Quelatos de baixa estabilidade podem se romper com esse pH e destruir a estrutura, deixando os íons dos minerais livres no trato gastrointestinal (ASHMEAD, 2012). Em certo momento, a estrutura é rompida em um processo chamado de dissociação, permitindo que o íon metálico se ligue potencialmente a uma carga negativa em uma molécula de transporte. A absorção do cobre se inicia no estômago, por transporte ativo, pois os íons devem ser submetidos a um pH ácido para adicionar um íon hidrogênio de carga positiva, para poderem ser parcialmente absorvidos pelo estômago (CONDÉ *et al.*, 2015).

Após a passagem pelo estômago, ocorre a absorção dos íons metálicos por transporte ativo, porém como os quelatos não apresentam carga positiva em seus ligantes, porque eles não têm a capacidade de serem anexados a uma molécula transportadora e serem absorvidos (JIAO; LI; KIM, 2019). Portanto, no intestino os íons deverão passar por um processo de neutralização, quando os íons metálicos serão absorvidos unindo a uma molécula, chamada de agente ligante. O agente é um elemento possuidor de uma ligação neutra que permite ao mineral em questão atravessar a parede do intestino delgado. Após chegar até a corrente sanguínea, o elemento é transportado até locais mais específicos do organismo, como órgãos e tecidos. Caso esse processo não ocorra, esses compostos não teriam a capacidade de atravessar as paredes celulares e seriam excretados via fezes. O quelato que protegia o mineral quelatado também é absorvido pelo trato gastrointestinal do animal (ASHMEAD, 2012).

1.6 DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE E LEITÕES

A adição do cobre em doses supranutricionais indicou resultados positivos no ganho de peso e crescimento dos leitões, aumento da eficiência alimentar, e redução no surgimento de diarreias nas primeiras semanas pós desmame (LIAO *et al.*, 2018; HASMAN *et al.*, 2006; HILL *et al.*, 2000; LIAO *et al.*, 2017; XING *et al.*, 2014; YUAN *et al.*, 2015). Ambas as fontes de Cu suplementadas em doses supra nutricionais demonstram efeitos positivos, porém ainda existem resultados contraditórios entre as fontes. Esses resultados podem acontecer em virtude das diferentes biodisponibilidades das fontes. Alguns autores relataram que apenas 25% do cobre nas fontes de sulfato de cobre pentahidratado, são absorvidos pelos animais (HAMDI *et al.*, 2018). Wang *et al.*, (2016) demonstrou que a biodisponibilidade do cobre orgânico foi superior ao inorgânico e, conseqüentemente, a absorção do Cu aumentou, ocasionando uma disponibilidade maior do mineral no trato digestivo (WANG *et al.*, 2016).

Portanto, os leitões suplementados com Cu na forma quelatada podem apresentar resultados de desempenho superior em relação as fontes de cobre sulfatada (MILANI, 2017). Em alguns estudos a adição de 170 mg/kg de cobre em ambas as fontes, o peso foi de 22,9 % superior às dietas basais, além de maior acúmulo do mineral no fígado (ZHAO *et al.*, 2014). Porém é importante destacar que na maior parte dos estudos sugerem que ambas as fontes apresentam resultados similares sobre respostas de desempenho. Mello *et al.*, (2012) e Liao *et al.*, (2017) não encontraram diferenças entre as variáveis de GPD e CRD em leitões suplementados com fontes quelatadas e sulfatadas em diferentes níveis.

A suplementação do Cu supranutricional, em ambas as formas são muito eficientes nos primeiros 14 dias após o desmame. Chabaev *et al.*, (2020), demonstrou que a suplementação do Cu apresentam um efeito maior no início da fase de creche, mas após o envelhecimento do animal, os efeitos tornam-se menores ou até mesmo nulos. Esse cenário ocorre pelas importantes características de reparos intestinais, e ativador enzimático no trato gastrointestinal, facilitando a absorção no período de imaturidade fisiológica do animal (JIAO; LI; KIM, 2019). Huang *et al.*, (2010) atribui essa melhoria de desempenho aos efeitos protetores contra agentes patogênicos que o cobre possui, embora esses mecanismos ainda não sejam totalmente esclarecidos.

Os estudos com os suínos nas fases de crescimento e terminação são menores, porém na sua maioria, a fonte utilizada é inorgânica. A suplementação de Cu nas fases de crescimento e terminação não apresentaram mudanças no ganho de peso dos animais. Em alguns grupos suplementados com níveis mais elevados de CuSO_4 o ganho de peso foi até menor (COBLE *et al.*, 2013). Resultados semelhantes foram encontrados por Coble *et al.*, (2017), com a suplementação de Cu nas formas de CuSO_4 e TBCC em níveis de 75 e 150 mg/kg. Os mesmos autores encontraram resultados positivos na carcaça suína, com um aumento da área de olho de lombo e uma maior porcentagem de carne magra nos grupos suplementados com o Cu.

Em frangos de corte os resultados foram positivos em vários estudos, como demonstraram Paik., (2001); Chowdhury *et al.*, (2004) e El-Kazaz; Hafez.,(2020). Os trabalhos indicam que as formas inorgânicas e orgânicas melhoraram o desempenho das aves quando suplementados em doses supra nutricionais. Contudo, diferente dos dados de suínos, os trabalhos em frangos de corte apresentam dados mais discrepantes. Em alguns estudos utilizando apenas os minerais inorgânicos os resultados apresentados foram contraditórios (EL-KAZAZ; HAFEZ, 2020). Karimi; *et al.*, (2011) não observou nenhum efeito significativo no desempenho das aves suplementadas com doses sulfatadas entre 125 à 250 mg/kg, além disso, não houve alteração nos parâmetros sanguíneos e hepáticos. Hamdi *et al.*, (2018) encontrou resultados bem discrepantes, em aves suplementadas em quatro grupos contendo CuO_2 e CuSO_4 em dois níveis, 150 e 300 mg/kg. Os resultados mostraram que os pesos das aves suplementadas com os níveis mais elevados foram superiores aos demais grupos, porém doses extremamente elevadas tendem a reduzir o consumo de ração, ou causar efeitos supressores nas aves (LIU *et al.*, 2020).

Esses dados discrepantes podem ser explicados pela fonte de cobre, embora o CuSO_4 seja fonte inorgânica mais utilizada, outras fontes apresentaram resultados melhores,

como o TBBC (ROCHELL, 2015). Outro ponto que precisa ser discutido é a quantidade e o efeito antagonico do Cu com outros elementos, especialmente o Zn. Outros elementos, se adicionados em concentrações muito elevadas podem interferir na disponibilidade do mineral, causando menor absorção do nutriente pelo animal independentemente da fonte adicionada na dieta (FEEDAP *et al.*, 2016).

O Cu também é muito utilizado para a melhoria da morfologia intestinal, o elemento tem a capacidade de promover reparos nos tecidos do trato gastrointestinal, especialmente no intestino delgado, podendo também ser um estimulador da síntese de enzimas ocasionando uma melhor absorção dos nutrientes disponíveis, resultando em um desempenho superior (HEDEMANN; JENSEN; POULSEN, 2006). Porém, muitos estudos não apresentaram nenhum efeito intestinal quando a suplementação do Cu é feita, entre os níveis de 100 a 500 mg/kg (CHIOU *et al.*, 1999; OKIAMA, 2017; MENDONÇA, 2018; ZHAO *et al.*, 2007). Okiama, (2017) sugeriu em seu estudo que a morfologia intestinal pode não ser um bom parâmetro comparativo para a avaliação dos efeitos dos diferentes níveis de cobre como um promotor de crescimento, pelo elemento poder apresentar resultados discrepantes dependendo da idade do animal. Contudo Yue *et al.*, (2017) utilizou fontes quelatadas do aditivo ao nível de 100 mg/kg, apresentando resultados diferentes, observando um aumento da altura dos vilos, menor profundidade da cripta e maior proporção dos vilos:cripta.

Estudos realizados por Xia *et al.*,(2005) e Xia *et al.*, (2004) em suínos e frangos respectivamente mostraram resultados promissores com adições intermediárias de 40 mg/kg de cobre inorgânico. Os mesmos autores relataram a redução da contagem de bactérias como a *E. Colie* o *Clostridium spp*, exercendo uma função estimulante sobre as bactérias benéficas ao organismo (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus*). Esses efeitos são extremamente benéficos especialmente para leitões na fase transitória entre a maternidade e a creche, pois a estrutura da mucosa intestinal pode mostrar informações sobre o estado de saúde do animal. Os fatores estressantes podem levar com rapidez a alterações na mucosa intestinal do animal, devido à proximidade da superfície da mucosa e conteúdo no trato gastrointestinal, causando alterações na morfologia intestinal, como o encurtamento de vilosidades e a profundidade de criptas, sendo muitas vezes associados a toxinas presentes na dieta em frangos e suínos (XIA; HU; XU, 2004). Esse encurtamento pode levar a redução da área de absorção de nutrientes e prejudicar o desenvolvimento do animal.

1.6.1. Por Que Integrar os Resultados do Uso de Cobre por Meio da Meta-Análise?

A meta-análise é uma técnica utilizada para analisar e reunir diversos resultados, combinando esses dados de diversos estudos para produzir e quantificar novos resultados (LOVATTO *et al.*, 2007). O principal objetivo em utilizar as metodologias analíticas e estatísticas é tentar explicar a diversidade de dados discrepantes apresentados em diversos estudos envolvendo fatores comuns, como por exemplo, os mesmos aditivos. Posteriormente, esses dados poderão fornecer uma outra resposta a partir desses estudos, podendo apresentar dados mais precisos para a comunidade científica, melhorando a representatividade dos dados e a possibilidade da geração de uma nova e mais confiável hipótese (ST-PIERRE, 2007).

A utilização da técnica possibilita uma otimização maior dos resultados encontrados em pesquisas já finalizadas de diversas regiões do globo, sendo um recurso muito importante para a tomada de decisão no campo, pois muitas vezes torna-se inviável o estudo de uma população muito grande de animais (LOVATTO *et al.*, 2007). O estudo pode, muitas vezes, ser economicamente inviável e a aprovação do projeto pelos comitês de ética vem sendo muito discutida (ROSCOE; JENKINS, 2005).

Os estudos envolvendo aves e suínos com o Cu são diversos na literatura, o elemento já vem sendo suplementado na dieta há muitas décadas na nutrição animal. Entretanto, com o passar dos anos diversos novos produtos foram sendo disponibilizados no mercado, muitas vezes como substituto do CuSO_4 , ou outros produtos muito diferentes, como o Cu enriquecido com proteínas ou nas formas de quelatos. Portanto, existem diversas lacunas sobre os níveis de suplementação de cada aditivo, bem como qual das formas podem ser mais benéficas aos animais, sendo também importante saber em qual estágio de desenvolvimento do animal o elemento pode apresentar melhores resultados.

Neste sentido, a sistematização e meta-análise de dados pode contribuir para integrar o grande volume de resultados publicados sobre o tema, e fazer uma síntese reproduzível e quantificável dos seus resultados. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar por meio da meta-análise o desempenho de leitões em creche e frangos de corte alimentados com dietas, contendo diferentes fontes e/ou níveis de cobre.

REFERÊNCIAS

AKTER, M.; IJI, P. A.; GRAHAM, H. Increased iron level in phytase-supplemented diets reduces performance and nutrient utilisation in broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 58, n. 4, p. 409–417, 2017.

AO, T. *et al.* Effects of dietary supplementation of organic minerals on the performance of broiler chicks fed oxidised soybean oil. **Journal of Applied Animal Nutrition**, v. 5, p. 1–5, 2017.

ARTHINGTON, J. D.; PATE, F. M.; SPEARS, J. W. Effect of copper source and level on performance and copper status of cattle consuming molasses-based supplements. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 6, p. 1357–1362, 1 jun. 2003.

ASHMEAD, H. DeWayne. **Amino acid chelation in human and animal nutrition**. CRC Press, 2012.

BAI, Y.; SUNDE, M. L.; COOK, M. E. Molybdenum but not copper counteracts cysteine-induced tibial dyschondroplasia in broiler chicks. **Journal of Nutrition**, v. 124, n. 4, p. 588–593, 1994.

BATISTEL, F. *et al.* Immunometabolic Status during the Peripartum Period Is Enhanced with Supplemental Zn, Mn, and Cu from Amino Acid Complexes and Co from Co Glucoheptonate. **PLOS ONE**, v. 11, n. 5, p. 155804, 31 maio 2016.

BEILIN, B. *et al.* Comparison of the Flexiblade levering laryngoscope with the English Macintosh laryngoscope in patients with a poor laryngoscopic view. **Anaesthesia**, v. 60, n. 4, p. 400–405, abr. 2005.

BERGHE, P. V. E. VAN DEN; KLOMP, L. W. J. New developments in the regulation of intestinal copper absorption. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 658–672, 2009.

BIKKER, P. Dose-response relationships between dietary copper level and growth performance in piglets and growing-finishing pigs and effect of withdrawal of a high copper level on subsequent growth performance. **Livestock Research**, v. 2 n. 11. p. 458–475, 2011.

BORTOLUZZI, C.; VIEIRA, B. S.; APPLGATE, T. J. Influence of Dietary Zinc, Copper, and Manganese on the Intestinal Health of Broilers Under *Eimeria* Challenge. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 1, p. 1–7, 2020.

BUFF, C. E. *et al.* Comparison of growth performance and zinc absorption, retention, and excretion in weanling pigs fed diets supplemented with zinc-polysaccharide or zinc oxide. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 10, p. 2380–2386, 1 out. 2005.

CHABAEV, M. G. *et al.* Effects of Different Levels and Forms of Chelated Metal Proteinates on Productive Performance and Metabolic Processes in Fattening Young Pigs. **Russian Agricultural Sciences**, v. 46, n. 2, p. 161–166, 2020.

CHIOU, P. W. S. *et al.* Effect of High Dietary Copper on the Morphology of Gastro-Intestinal Tract in Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 12, n. 4, p. 548–553, 1999

CHOWDHURY, S. D. *et al.* Responses of broiler chickens to organic copper fed in the form of copper-methionine chelate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, n. 3–4, p. 281–293, 2004.

- COBLE, K. F. *et al.* Influence of copper sulfate and tribasic copper chloride on feed intake preference in finishing pigs. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, n. 10, p. 181–185, 1 jan. 2013.
- COBLE, K. F. *et al.* The effects of copper source and concentration on growth performance, carcass characteristics, and pen cleanliness in finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 9, p. 4052, 2017.
- CONDÉ, M. S. *et al.* Minerais quelatados na nutrição de suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 4, p. 3547-3565, 2015.
- CORNESCU, G. M. *et al.* Study concerning the effects of using organic trace mineral supplements (Mn and Zn) on egg quality. **Archiva Zootechnica**, v. 172, n. 1, p. 77–83, 2014.
- CREECH, B. L. *et al.* Effect of dietary trace mineral concentration and source (inorganic vs. chelated) on performance, mineral status, and fecal mineral excretion in pigs from weaning through finishing. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 7, p. 2140–2147, 2004.
- CROMWELL, G. L. *et al.* Tribasic Copper Chloride and Copper Sulfate as Copper Sources for Weanling Pigs. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 118–123, 1998.
- DAS, T. K. *et al.* Influence of Level of Dietary Inorganic and Organic Copper and Energy Level on the Performance and Nutrient Utilization of Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 1, p. 82–89, 22 dez. 2009.
- DE MARCO, M. *et al.* Dietary administration of glycine complexed trace minerals can improve performance and slaughter yield in broilers and reduces mineral excretion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, n. 6, p. 182–189, 2017.
- DEBSKI, B. Supplementation of pigs diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 4, p. 917–924, 1 dez. 2016.
- EL-KAZAZ, S. E.; HAFEZ, M. H. Evaluation of copper nanoparticles and copper sulfate effect on immune status, behavior, and productive performance of broilers. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 7, n. 1, p. 16–25, 2020.
- ESPINOSA, C. D. *et al.* Effects of copper hydroxychloride on growth performance and abundance of genes involved in lipid metabolism of growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 1, p. 1–9, 2020.
- FAVERO, A. *et al.* Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 1, p. 80–91, 2013.
- FEEDAP, A. F. *et al.* Revision of the currently authorised maximum copper content in complete feed. **EFSA Journal**, v. 14, n. 8, ago. 2016.
- FERNANDO, L.; RODRIGUES, D. C. **Determinação da Estrutura e do Estado Oligomérico de Proteínas nas Chaperonas por Espalhamento de Raios-X a Baixos**

Angulos (SAXS). 2020. Tese (Doutorado em Biologia) – Programa de Pós-Graduação em Biologia, São Paulo, Universidade de São Paulo , 2020.

GAO, S. *et al.* Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sciences**, v. 109, n. 1, p. 50–56, 2014.

GENTHER-SCHROEDER, O. N.; BRANINE, M. E.; HANSEN, S. L. The influence of supplemental Zn-amino acid complex and ractopamine hydrochloride feeding duration on growth performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 10, p. 4338–4345, 2016.

GOFF, J. P. Invited review : Mineral absorption mechanisms , mineral interactions that affect acid – base and antioxidant status , and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.

GONZALES-EGUIA, A. *et al.* Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. **Livestock Science**, v. 126, n. 1–3, p. 122–129, 2009.

HAMDI, M. *et al.* Including copper sulphate or dicopper oxide in the diet of broiler chickens affects performance and copper content in the liver. **Animal Feed Science and Technology**, v. 237, n. 12, p. 89–97, 2018.

HARTMAN, S. Comparison of trace mineral repletion strategies in beef cattle to overcome a high antagonist diet. **Iowa State University Animal Industry**, v. 92, n. 2 p. 0–3, 2018.

HASHIMOTO, A.; KAMBE, T. Mg, Zn and Cu transport proteins: A brief overview from physiological and molecular perspectives. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 61, p. S116–S118, 2015.

HEDEMANN, M. S.; JENSEN, B. B.; POULSEN, H. D. Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 12, p. 3310–3320, 2006.

HENDRIKS, W. H.; VERSTEGEN, M. W. A. **Poultry and pig nutrition**. New York, Wageningen Academic Publishers, 2019.

HORACIO, A.; ROSTAGNO, S.; GOMES, P. C. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. **Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa**, p. 488, 2017.

HUANG, Y. *et al.* The effects of different copper (inorganic and organic) and energy (tallow and glycerol) sources on growth performance, nutrient digestibility, and fecal excretion profiles in growing Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 5, p. 573–579, 2010.

HUANG, Y. L. *et al.* Effect of dietary copper amount and source on copper metabolism and oxidative stress of weanling pigs in short-term feeding. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 6, p. 2948–2955, 2015.

HUDSON, B. P. *et al.* Live performance and immune responses of straight-run broilers: Influences of zinc source in broiler breeder hen and progeny diets and ambient temperature during the broiler production period. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, n. 2, p. 291–301, 2004.

IVANIŠINOVÁ, O. *et al.* Effects of feed supplementation with various zinc sources on mineral concentration and selected antioxidant indices in tissues and plasma of broiler chickens. **Acta Veterinaria Brno**, v. 85, n. 3, p. 285–291, 2016.

JAROSZ, M. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- κ B signaling. **Inflammopharmacology**, v. 25, n. 1, p. 11–24, 2017.

JEGEDE, A. V. *et al.* Growth response, blood characteristics and copper accumulation in organs of broilers fed on diets supplemented with organic and inorganic dietary copper sources. **British Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 133–139, 2011.

JIAO, Y.; LI, X.; KIM, I. H. Changes in growth performance, nutrient digestibility, immune blood profiles, fecal microbial and fecal gas emission of growing pigs in response to zinc aspartic acid chelate. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 1–8, 2019.

JUNG-HEUN HA, CAGLAR DOGUE, AND J. F. C. Consumption of a High-Iron Diet Disrupts Homeostatic Regulation of Intestinal Copper Absorption in Adolescent Mice. **J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 15, n. 1, p. 8–16, 2017.

KARIMI, A.; SADEGHI, G.; VAZIRY, A. The effect of copper in excess of the requirement during the starter period on subsequent performance of broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 20, n. 2, p. 203–209, jul. 2011.

KAWASHIMA, T. *et al.* Bioavailability of cobalt sources for ruminants. 2. Estimation of the relative value of reagent grade and feed grade cobalt sources from tissue cobalt accumulation and vitamin B12 concentrations. **Nutrition Research**, v. 17, n. 6, p. 957–974, 1997.

LEBEL, A.; MATTE, J. J.; GUAY, F. Effect of mineral source and mannan oligosaccharide supplements on zinc and copper digestibility in growing pigs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 68, n. 5, p. 370–384, 2014.

LEITE, F. L. *et al.* The effects of zinc amino acid complex supplementation on the porcine host response to *Lawsonia intracellularis* infection. **Veterinary Research**, v. 49, n. 1, p. 1–9, 2018.

LIAO, P. *et al.* Effects of dietary supplementation with cupreous N-carbamylglutamate (NCG) chelate and copper sulfate on growth performance, serum biochemical profile and immune response, tissue mineral levels and fecal excretion of mineral in weaning piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 28, n. 6, p. 1315–1329, 2 nov. 2017.

LIAO, P. *et al.* Effect of dietary copper source (inorganic vs. chelated) on immune response, mineral status, and fecal mineral excretion in nursery piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 29, n. 1, p. 548–563, 2018.

LIM, H. S. *et al.* Effects of supplementary copper chelates in the form of methionine, chitosan and yeast on the performance of broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 9, p. 1322–1327, 2006.

LINDER, M. C. Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: An update. **Metallomics**, v. 8, n. 9, p. 887–905, 2016.

LIU, H. *et al.* Effects of Copper Amino Acids Complex on Growth Performance and Serum Cu-Zn SOD Activity in Piglets. **Additives Biotechnology**, p. 1–8, 2020.

LONG, S. F. *et al.* Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p. 23–32, 2018.

LÖNNERDAL, B. Intestinal regulation of copper homeostasis: A developmental perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 846–850, 2008.

LOVATTO, P. A. *et al.* Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. suppl, p. 285–294, jul. 2007.

LU, L. *et al.* Effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on the growth performance, liver copper concentrations of broilers fed in floor pens, and stabilities of vitamin e and phytase in feeds. **Biological Trace Element Research**, v. 138, n. 1–3, p. 181–189, 2010.

MA, W. Q. *et al.* Effects of iron glycine chelate on growth, tissue mineral concentrations, fecal mineral excretion, and liver antioxidant enzyme activities in broilers. **Biological Trace Element Research**, v. 149, n. 2, p. 204–211, 2012.

MÄNNER, K. *et al.* Effects of different iron, manganese, zinc and copper sources (sulphates, chelates, glycinate) on their bioavailability in early weaned piglets. **Tagung Schweine und Geflügelernahrung**, v.147, n. 111, p. 28–30, 2006.

MARQUES, R. S. *et al.* Effects of organic or inorganic cobalt, copper, manganese, and zinc supplementation to late-gestating beef cows on productive and physiological responses of the offspring. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 3, p. 1215–1226, 2016.

MAZZONI, M. *et al.* Effect of two doses of different zinc sources (Inorganic vs. Chelated form) on the epithelial proliferative activity and the apoptotic index of intestinal mucosa of early-weaned pigs orally challenged with E. coli K88. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 6, p. 777–785, 2010.

MEI, S. F. *et al.* Effect of different levels of copper on growth performance and cecal ecosystem of newly weaned piglets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 9, n. 4, p. 378–381, 2009.

MELLO, G. *et al.* Sources of organic trace minerals in diets for weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 8, p. 1872–1877, 2012.

MENDONÇA, M. V. **Efeitos da associação de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta**

de leitões desmamados. 2018. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de pós-graduação em Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

MILANI, N. C. **Utilização de zinco, na forma de óxido de zinco nanoparticulado, em dietas para leitões recém-desmamados.** 2017. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de pós-graduação em Zootecnia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

MILES, R. D. *et al.* The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. **Poultry Science**, v. 77, n. 3, p. 416–425, mar. 1998.

NEWMAN, S.; ROHRBACH, B.; WILSON, M. Overgrown Claws. **Poultry Science**, v. 23, n. 2, p. 91–96, 2015.

NOSE, Y.; REES, E. M.; THIELE, D. J. Structure of the Ctr1 copper trans'PORE'ter reveals novel architecture. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 31, n. 11, p. 604–607, 2006.

NRC. **Nutrient Requirements of Swine.** Washington, D.C.: National Academies Press, 2012.

OKIAMA, W. H. D. E. **Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados Pirassununga Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados.** 2018. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

OLSON, P. A. *et al.* Effects of Supplementation of Organic and Inorganic Combinations of Copper, Cobalt, Manganese, and Zinc above Nutrient Requirement Levels on Postpartum Two-Year-Old Cows. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 3, p. 522–532, 1999.

OSORIO, J. S. *et al.* Supplementing Zn, Mn, and Cu from amino acid complexes and Co from cobalt glucoheptonate during the peripartur period benefits postpartur cow performance and blood neutrophil function. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 3, p. 1868–1883, 2016.

PAIK, I. Application of chelated minerals in animal production. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 14, n. 12, p. 191–198, 2001.

PAL, D. T. *et al.* Effect of copper- and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 24, n. 2, p. 89–94, abr. 2010.

PEKEL, A. Y. *et al.* Influence of different dietary copper sources on eggshell quality and phosphorus retention in laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 3, p. 460–466, set. 2012.

RAO, S. V. R. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic chromium on performance, carcass traits, oxidative parameters, and immune responses in commercial broiler chickens. **Biological trace element research**, v. 147, n. 1–3, p. 135–41, 12 jun. 2012.

REIS, R. N. *et al.* Selenium contents of eggs from broiler breeders supplemented with sodium selenite or zinc-L-selenium-methionine. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, n. 2, p.

151–157, 2009.

RINCKER, M. J. *et al.* Effects of dietary iron supplementation on growth performance, hematological status, and whole-body mineral concentrations of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 11, p. 3189–3197, 2004.

ROCHELL, S. J. Eimeria Acervulina Infection And Amino Acid Nutrition In Broiler Chickens. **Journal of Animal Science**, v. 13, n. 3, p. 1576–1580, 2015.

ROSCOE, D. D.; JENKINS, S. A meta-analysis of campaign contributions' impact on roll call voting. **Social Science Quarterly**, v. 86, n. 1, p. 52–68, 2005.

SAENMAHAYAK, B. *et al.* Live and processing performance of broiler chickens fed diets supplemented with complexed zinc. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, n. 4, p. 334–340, 2010.

SALYER, G. B. *et al.* Effects of copper and zinc source on performance and humoral immune response of newly received , lightweight beef heifers. **Journal of Animal Science** , v. 82, n. 8, p. 2467–2473, 2004.

SEO, S. H. *et al.* The effect of level and period of Fe-methionine chelate supplementation on the iron content of boiler meat. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 10, p. 1501–1505, 2008.

SHAMSUDEEN, P.; SHRIVASTAVA, H.; RAMSINGH. Biointeraction of Chelated and Inorganic Copper with Aflatoxin on Growth Performance of Broiler Chicken. **International Journal of Veterinary Science**, v. 2, n. 3, p. 106–110, 2013.

SHARMA, S. S. *et al.* Combination toxicology of copper, zinc, and cadmium in binary mixtures: Concentration-dependent antagonistic, nonadditive, and synergistic effects on root growth in *Silene vulgaris*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 348–355, 1999.

SIRRI, F. *et al.* Effect of different levels of dietary zinc, manganese, and copper from organic or inorganic sources on performance, bacterial chondronecrosis, intramuscular collagen characteristics, and occurrence of meat quality defects of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 95, n. 8, p. 1813–1824, 2016.

SOARES E BARROS, L. S.; AMARAL, L. A. DO; LUCAS JÚNIOR, J. DE. Poder poluente de águas residuárias de suinocultura após utilização de um tratamento integrado. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 126–135, 2003.

SONG, J.; LI, Y. LI; HU, C. HONG. Effects of copper-exchanged montmorillonite, as alternative to antibiotic, on diarrhea, intestinal permeability and proinflammatory cytokine of weanling pigs. **Applied Clay Science**, v. 77–78, p. 52–55, 2013.

SUTTLE, NF, “Trace element interactions in animals,” in Nicholas, DJD, and Egan, AR, eds., Trace Elements in Soil-Plant-Animal Systems (**New York: Academic Press**) 278–285, 1975.

ST-PIERRE, N. R. Meta-analyses of experimental data in the animal sciences. **Revista**

Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. suppl, p. 343–358, 2007.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014.

STRAUSAK, D. *et al.* Kinetic analysis of the interaction of the copper chaperone Atox1 with the metal binding sites of the Menkes protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 23, p. 20821–20827, 2003.

SU, Y. *et al.* The detoxification effect of vitamin C on zearalenone toxicity in piglets. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 158, n. April, p. 284–292, 2018.

UNDERWOOD, E, “The current status of trace elements: an overview,” paper presented at **International Minerals Conference**, St. Petersburg Beach, Florida, January 17, 1978.

URSO, U. R. A. *et al.* Vitamin E and selenium in broiler breeder diets: Effect on live performance, hatching process, and chick quality. **Poultry Science**, v. 94, n. 5, p. 976–983, 2015.

VEUM, T. L. *et al.* Copper proteinate in weanling pig diets for enhancing growth performance and reducing fecal copper excretion compared with copper sulfate. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 4, p. 1062–1070, 2004.

WALK, C. L. *et al.* **Phytate destruction Consequences for precision animal nutrition.** Wageningen Academic Publishers, 2016.

WANG, Z. *et al.* Effects of Dietary Zinc Pectin Oligosaccharides Chelate Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Tissue Zinc Concentrations of Broilers. **Biological Trace Element Research**, v. 173, n. 2, p. 475–482, 2016.

WEN, A. *et al.* Copper bioavailability, mineral utilization, and lipid metabolism in broilers. **Czech Journal of Animal Science**, v. 64, n. No. 12, p. 483–490, 2019.

WESTPHALEN, F. **Ectomicorrização e composto de água residuária de suinocultura no crescimento de Ilex paraguariensis A. St.-Hil. cultivada em solo contaminado com cobre.** 2019 . Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria; 2019.

XIA, M. S.; HU, C. H.; XU, Z. R. Effects of Copper-Bearing Montmorillonite on Growth Performance , Digestive Enzyme Activities , and Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. **Poultry Science**, v. 83, n 11, p. 1868–1875, 2004.

XIA, M. S.; HU, C. H.; XU, Z. R. Effects of copper bearing montmorillonite on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 118, n. 3–4, p. 307–317, 2005

YOON, I.; WERNER, T. M.; BUTLER, J. M. Effect of source and concentration of selenium on growth performance and selenium retention in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 86, n. 4, p. 727–730, 2007.

YU, B.; HUANG, W. J.; CHIOU, P. W. S. Bioavailability of iron from amino acid complex in weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, n. 1–2, p. 39–52, 2000.

YUE, X. *et al.* Dietary chitosan-Cu chelate affects growth performance and small intestinal morphology and apoptosis in weaned piglets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 62, n. 1, p. 15–21, 2017.

ZHANG, B.; GUO, Y. Influence of tetrabasic zinc chloride and copper sulphate on growth performance and some physiological parameters in the digestive tract of weanling piglets. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 18, n. 3, p. 465–477, 2009.

ZHAO, J. *et al.* Growth performance and intestinal morphology responses in early weaned pigs to supplementation of antibiotic-free diets with an organic copper complex and spray-dried plasma protein in sanitary and nonsanitary environments. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 5, p. 1302–1310, 2007.

ZHAO, J. *et al.* Effects of a chelated copper as growth promoter on performance and carcass traits in pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 7, p. 965–973, 2014.

CAPÍTULO 2: UMA ABORDAGEM META-ANALÍTICA SOBRE FONTES E NÍVEIS DE COBRE PARA LEITÕES EM CRECHE

RESUMO

O objetivo deste estudo é avaliar o impacto de diferentes níveis e fontes de cobre nas respostas de desempenho em leitões em creche, por meio da meta-análise. A base de dados incluiu 59 artigos publicados entre os anos de 1990 a 2020, totalizando 20.521 leitões em 931 tratamentos. Os seguintes critérios foram estabelecidos para a seleção dos artigos: uso de diferentes fontes e níveis de cobre, dietas para leitões na fase de creche e resultados de desempenho. A avaliação dos dados envolveu forest plot, heterogeneidade, análises de variância e covariância através do desenvolvimento de modelos mistos. A análise de forest plot indica efeitos positivos ($P < 0,05$) da suplementação de fontes inorgânicas e orgânicas de cobre em relação a dieta basal. Entretanto, o índice I^2 foi de 94,5% e 95,6%, respectivamente, indicando alta heterogeneidade. A adição de cobre em níveis supra nutricionais aumenta o ganho médio diário em 3,4% e diminui a conversão alimentar em 4,8% ($P < 0,05$). É possível observar também, que as fontes de cobre supranutricionais (orgânica e inorgânica), foram superiores em relação à dieta basal ($P < 0,05$), melhorando em 2,55% o ganho de peso e reduzido a conversão alimentar em 4,2%. Os modelos mistos indicaram que o peso médio, idade média dos leitões e o consumo de cobre influenciaram ($P > 0,05$) no desempenho. A relação Zn/Cu não foi significativa em nenhum modelo ($P > 0,05$). Em conclusão o desempenho dos leitões é influenciado pelo peso vivo, idade, ingestão de zinco e de cobre. Fontes orgânicas e inorgânicas de cobre e níveis supra nutricionais (> 81 mg Cu/kg dieta) em dietas melhoram o desempenho de leitões em creche. Leitões alimentados com dietas contendo fontes orgânicas ou inorgânicas apresentam desempenhos semelhantes.

Palavras-chave: biodisponibilidade, cobre quelatado, sulfato de cobre , suínos.

ABSTRACT

This study aims to assess the impact of different copper levels and sources on performance responses in nursery piglets through meta-analysis. The database included 59 articles published between 1990 and 2020, totaling 20,521 piglets in 931 treatments. Articles were

selected according to the following criteria: use of different sources and levels of copper, diets for nursery piglets, performance results. Data evaluation involved a forest plot, heterogeneity, and analysis of variance and covariance through the development of mixed models. The forest plot analysis indicates positive effects ($P < 0.05$) of the supplementation of inorganic sources of copper compare to the basal diet. The use of organic sources did not differ ($P > 0.05$) from basal diet. The addition of copper at super nutritional levels increases the average daily gain by 3,4% and decreases feed conversion by 4,8% ($P < 0.05$). It is also possible to observe that the copper sources (organic and inorganic) were superior compared to the basal diet ($P < 0.05$), improving weight gain by 2,55% and reducing feed conversion by 4,2%. The mixed models indicated that the weight and average age of the piglets and the copper consumption influence ($P > 0.05$) the performance. The Zn/Cu ratio was not significant in any model ($P > 0.05$). In conclusion the piglet performance is influenced by live weight, age, zinc, and copper intake. Organic and inorganic sources of copper and super nutritional levels (> 81 mg Cu/kg diet) improve the performance of nursery piglets. Piglets fed diets containing organic or inorganic sources show similar performance.

Keywords: bioavailability, chelated copper, copper sulphate, pigs

2.1 INTRODUÇÃO

O micromineral cobre desempenha um papel fundamental no organismo animal, O elemento participa de diversos processos bioquímicos, como o desenvolvimento e crescimento de tecidos, órgãos, além da manutenção e desenvolvimento do sistema imune, especialmente em leitões mais jovens (BORTOLUZZI; VIEIRA; APPLGATE, 2020).

Atualmente, a suplementação desse mineral na produção de suínos é extremamente elevada, superando as exigências mínimas descritas pelo NRC; (2012). As doses adicionadas variam muito, tendo níveis suplementares que ultrapassam 250 mg/kg de cobre na dieta (SHELTON *et al.*, 2011). O principal objetivo em adicionar doses tão elevadas é utilizar o cobre como um promotor de crescimento (LIAO *et al.*, 2018). O elemento pode melhorar o desempenho de leitões em creche, reduzindo o aparecimento de diarreias pós-desmame, além de alguns autores relatarem que o elemento apresenta funções bactericidas (HASHIMOTO; KAMBE, 2015; ESPINOSA *et al.*, 2020). Porém, altas doses de cobre na dieta podem levar a um acúmulo do elemento nas fezes, aumentando o potencial poluente no ambiente, além de desenvolver resistência bacteriana aos antibióticos (ESPINOSA *et al.*, 2017). Na União

Europeia, as doses suplementares de Cu nas dietas têm níveis limítrofes de 170 mg/kg nas cadeias suína e a recomendação da inclusão de fontes de maior biodisponibilidade (FEEDAP *et al.*, 2016).

Neste sentido, destacam-se as fontes orgânicas, especialmente o cobre quelatado. Tais fontes apresentam uma biodisponibilidade superior que as demais, por apresentarem íons metálicos de alta disponibilidade, solubilidade e estabilidade biológica, conjugado com o mineral, geralmente um aminoácido (ASHMEAD, 2012). Portanto, pode ser uma alternativa viável para substituir fontes menos disponíveis, e manter resultados superiores sobre o desempenho dos leitões em relação às fontes inorgânicas, reduzindo assim o impacto causado pelas concentrações elevadas do mineral nas fezes (CONDÉ *et al.*, 2015).

Com embasamento na grande gama de informações publicadas a respeito da utilização do cobre em diferentes fontes e níveis, e com resultados discrepantes entre vários trabalhos (ZHAO *et al.*, 2014; LIN *et al.*, 2020; SONG; LI; HU, 2013; YUE *et al.*, 2017) a utilização de uma técnica denominada meta-análise, se torna uma ótima ferramenta para integrar os resultados já publicados ao longo dos anos. Estudos de meta-análise são apropriados para a análise conjunta dos dados, particularmente quando as variáveis medidas são consistentes entre os estudos (SAUVANT *et al.*, 2020). Em relação à revisão narrativa e sistemática, a meta-análise é menos influenciada pela opinião pessoal e fornece conclusões imparciais (POMPEO *et al.*, 2018). O objetivo desta meta-análise é avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis de cobre suplementados em dietas sobre o desempenho de leitões em creche.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Sistematização das Informações: Seleção dos Artigos

Uma análise sistemática criteriosa foi conduzida para selecionar os estudos que compuseram a base de dados. Os estudos foram selecionados principalmente pelas bases eletrônicas Periódicos Capes, Scielo, Science Direct, Web of Science, Pub Med, Highwire Press e Scholar Google, usando termos nos idiomas português, inglês e espanhol. A estratégia de busca dos trabalhos foi desenvolvida seguindo o método adaptado PICO, com a combinação e variação de termos para definir a população (suínos, leitões em creche), intervenção (cobre quelatado, cobre orgânico, cobre inorgânico, sulfato de cobre) e desfecho (desempenho, ganho de peso, consumo de ração). As buscas pelos estudos foram realizadas entre setembro de 2019 a agosto de 2020.

Os estudos encontrados foram criteriosamente avaliados quanto à sua qualidade e pertinência aos objetivos propostos, seguindo os critérios de seleção, para posteriormente serem incluídos na base de dados. Os critérios avaliados foram: a) estudos com leitões em creche; b) suplementação de fontes orgânicas e/ou inorgânicas de cobre nas dietas; c) respostas de desempenho (ganho médio diário, consumo de ração, conversão alimentar). Diversos trabalhos foram excluídos da base, por não estarem adequados aos critérios de seleção. Estudos envolvendo suínos em outras fases ou com outros aditivos foram descartados, sendo esse o primeiro critério de exclusão. Outros trabalhos também foram eliminados por não apresentarem resultados de desempenho, ou seus resultados foram expressos nas formas de gráficos ou figuras, impossibilitando a tabulação.

O espaço temporal do estudo foi determinado em 30 anos (1990-2020). Considerando os termos da estratégia de busca e o espaço temporal cerca de 110 artigos foram previamente selecionados por elegibilidade. Após a análise, 59 estudos compuseram a base de dados sendo 50 artigos científicos e nove trabalhos provenientes de dissertações ou teses, sendo a literatura cinza.

2.2.2 Gerenciamento de Banco de Dados, Codificação e Filtragem dos Dados

Após o final da seleção, os estudos foram incluídos em uma planilha eletrônica Microsoft Excel, onde cada coluna representou uma variável e cada linha um tratamento (Microsoft Corporation, 2013). Os dados tabulados incluíram informações relativas aos aspectos bibliográficos (autores, ano, periódico, país e instituição de origem etc.), as características experimentais (linhagem genética, idade, peso inicial, tempo de experimentação, temperatura, composição da dieta, presença ou não de desafio sanitário, tipo de desafio, patógenos, troca da ração etc.), aos tratamentos (fontes e níveis de cobre nas dietas), e aos resultados de desempenho zootécnico.

Foram criadas codagens moderadoras para considerar: a) efeito de estudo, em que cada artigo recebeu um número sequencial (COD 01, 02, 03...), b) codificação inter-estudo (COD artigo 01 + tratamento = 011) e c) codificação intraestudos, para considerar os efeitos de medidas repetidas no tempo ou doses seriadas. Outras codificações foram aplicadas para caracterizar os tratamentos e padronizar grupos na análise dos dados (Sauvant 2020). Assim, os estudos foram codificados em fontes de cobre orgânico (ORG), inorgânico (INO), basal (DB) (suplementação basal proveniente de premix vitamínico/mineral de até 15 mg/kg). Os níveis de Cu, independente da fonte utilizada, foram classificados de 1 a 15 mg Cu/kg dieta

para atender as exigências nutricionais dos leitões (NRC, 2012); 16 a 80 mg Cu/kg dieta considerados níveis intermediários; 81 a 200 mg Cu/kg na dieta e suplementações superiores a 201 mg de Cu/kg na dieta, considerado como doses supra nutricionais com base nas observações obtidas em (NRC, 2012; FEEDAP *et al.*, 2016).

A composição das dietas foi determinada a partir dos níveis de inclusão de cada ingrediente incluídos nos estudos. Posteriormente, a composição nutricional foi recalculada usando o Evapig® (v. 1.4.0.1; INRA, Saint-Gilles, France). Este método foi considerado para minimizar a variação de nutrientes nas dietas entre experimentos (Tabela 1). Os níveis de cobre nas dietas basais foram usados como referência para estimar a variação entre a composição nutricional de cada estudo sendo aceitas variações de até 5%.

Tabela 1: Composição nutricional, médias ajustadas de dietas experimentais para leitões em creche suplementados com diferentes fontes e níveis de cobre.

Fontes ¹	Média	Mínima	Máximo
ED, kcal/kg	3388,0	3071,6	3843,1
EM, kcal/kg	3240,5	2947,6	3666,3
PB %	20,0	11,67	25,29
Ca %	0,847	0,134	1,64
P %	0,70	0,25	0,94
Relação Ca/P	2,26	0,40	4,5
Lis %	1,22	0,79	1,88
Met %	0,34	0,25	0,7
M+C %	0,64	0,31	0,97
Treo %	0,80	0,48	0,97
Trip %	0,22	0,13	0,3
Cu, mg/kg	120,9	5,00	1500
Zinco, mg/kg	665,4	45	3125
Relação Zn/Cu	13,92	0,05	250

¹ED: Energia Digestível, EM: Energia metabolizável, PB: Proteína bruta, Ca: Cálcio, Na: Sódio, Lis: Lisina, Met: Metionina, M+C: Metionina e cistina, Treo: Treonina, Trip: Triptofano.

Fonte: O autor

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados graficamente para verificar a coerência e distribuição biológica, com base nessa análise foram formuladas hipóteses de correlação para definir o modelo estatístico. A análise de correlações entre as colunas da base de dados foi aplicada para identificar a presença de colinearidade entre variáveis. A heterogeneidade (I^2) é descrita como a proporção da variação total de estudos cruzados. Os estudos foram avaliados quanto à apresentação dos devidos efeitos do aditivo no estudo, bem como o tamanho da amostra, divididos em seu grupo experimental. Para isso os dados foram integrados em um gráfico *forest plot*, seguindo a metodologia proposta por Balduzzi; Rücker; Schwarzer, (2019). Os gráficos foram elaborados pelo procedimento metafor do Rstudio 1.4.117. A definição das

variáveis dependentes e independentes e a codificação dos dados, de maneira a permitir a análise dos efeitos inter e intraexperimentos, foram realizadas segundo Lovatto *et al.*, (2007) e Sauvant *et al.*, (2008); (2020). Na análise de heterogeneidade, o modelo de efeitos aleatórios foi utilizado para todas as codagens de fontes e níveis de cobre.

Um modelo misto foi desenvolvido para consumo de ração diário, ganho de peso diário e conversão alimentar de leitões em creche, os estudos foram fixados como s efeitos aleatórios e os tratamentos como os efeitos fixos. Foram submetidos os dados que apresentaram alta correlação com os tratamentos, podendo ser incluídos vários efeitos no modelo, como a idade média, peso médio, consumo de zinco e cobre e relação Zn/Cu. Os estudos foram fixados como os efeitos aleatórios dos modelos.

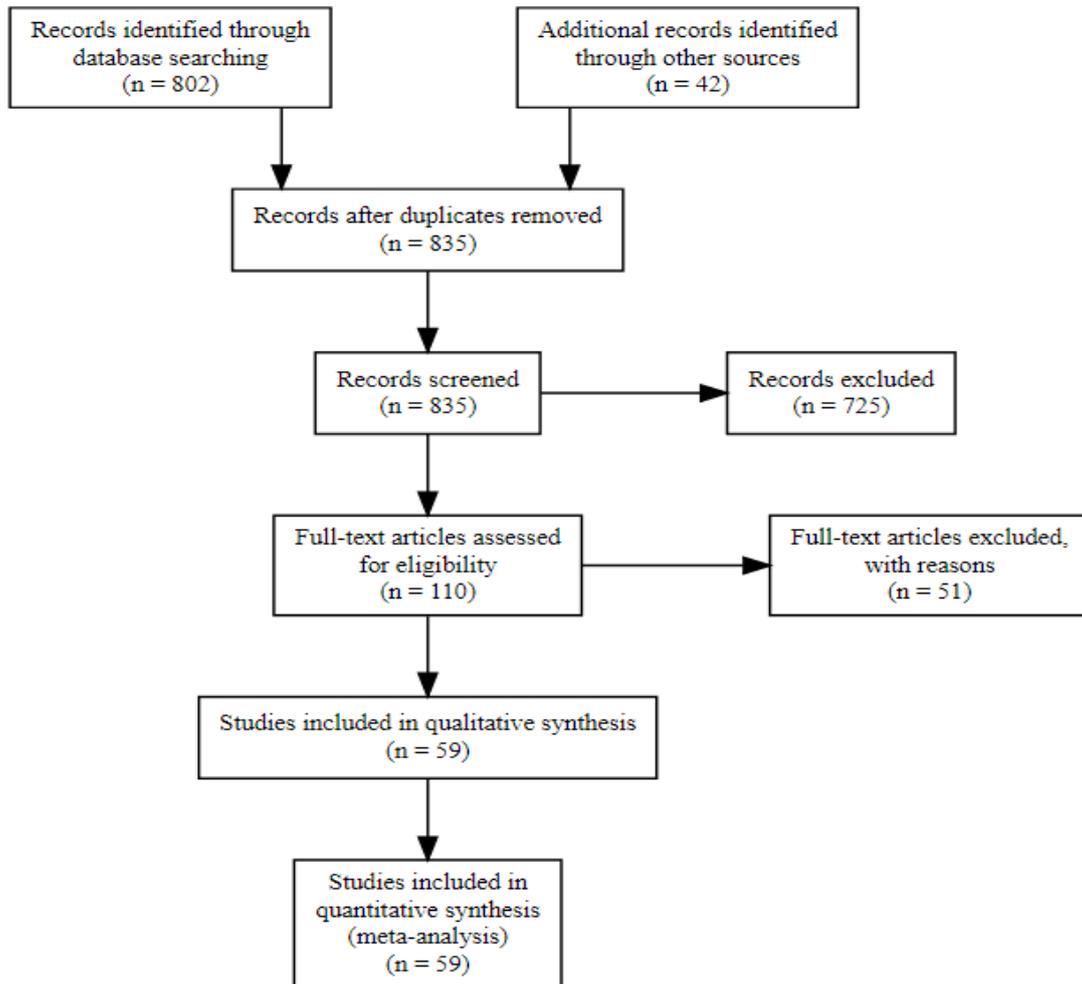
No modelo estatístico da análise de variância mista foi considerado os efeitos aleatórios dos estudos, o efeito fixo das fontes de Cu e de níveis na dieta. As comparações entre os dados foram feitas ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. As análises estatísticas e gráficas foram realizadas através do programa estatístico Rstudio 1.4.117. Portanto, os desempenhos das fontes e níveis de cobre suplementares foi analisada usando o pacote lmer4. O pacote Performance foi usado para avaliar os modelos, e definir qual foi o melhor modelo desenvolvido com base no critério de informação de Akaike (AIC), raiz quadrada média (RMSE), coeficiente de determinação (R²) para modelos mistos (Nakagawa *et al.*, 2017).

2.4 RESULTADOS

2.4.1 Resultados da Busca de Literatura

O fluxograma de PRISMA proposto por Moher *et al.* (2020) na figura 3 indica o processo de seleção de trabalhos para inclusão na base de dados. De início, 802 estudos foram selecionados nas principais bases eletrônicas, 42 estudos foram incluídos pelo *Scholar Google*. Nove estudos foram excluídos por estarem duplicados, como consta no fluxograma (figura 3). Dos 835 artigos selecionados inicialmente, 725 foram excluídos por não estarem de acordo com os critérios de seleção, restando 110. Desses estudos 51 foram eliminados por não apresentarem dados de desempenho, sobrando 59 trabalhos que foram incluídos no banco de dados.

Figura 3: Fluxograma PRISMA descrevendo o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fontes orgânicas e inorgânicas de cobre.



Fonte: O autor

2.4.2 Descrição da Base de Dados

A base de dados contemplou uma planilha de 953 linhas e 169 colunas. O espaço temporal da base foi de 30 anos, sendo o artigo mais antigo publicado em 1990 e o mais recente em 2020 (Moda 2011). A maioria dos estudos foi realizada em instituições americanas (44% dos artigos), brasileiras (21,90%), chinesas (17,2%) e italianas (3,13%). A base foi composta por 20.521 leitões (243 animais por estudo) divididos em 931 tratamentos diferentes. Dos 931 tratamentos, 419 (45,00%) continham fontes inorgânicas, 318 (34,16%) apresentavam fontes orgânicas e 194 tratamentos faziam parte do grupo basal (20,84%). Os tratamentos basais apresentavam níveis de até 15 mg/kg de Cu na dieta. Ao analisar os níveis presentes dos 931 tratamentos, os níveis nutricionais de 1 a 15 mg/kg suplementados foram de

194 tratamentos (21,27%), os níveis intermediários de 9 à 80 mg/kg, foi de 161 tratamentos (17,29 %), as doses supra nutricionais, 81 à 200 mg/kg, foi de 447 tratamentos (47,58 %), e as concentrações acima de 201 mg/kg, foram 129 tratamentos (13,86 %).

2.4.3 Meta-Análise por *Forest plot*

Cinquenta e quatro estudos comparando fontes inorgânicas de cobre ao tratamento basal indicam efeitos positivos sobre o ganho de peso ($P < 0,01$) de leitões em creche (figura 4). O mesmo foi observado comparando as fontes de cobre orgânico em relação à dieta basal, a análise contemplou 27 estudos (figura 5). O índice I^2 foi de 94,6 % (figura 4) e de 95,6 % (figura 5).

A suplementação de fontes inorgânica e orgânica de cobre nas dietas melhora ($P < 0,05$) o ganho de peso e a conversão alimentar em relação às dietas basais (Tabela 2). Níveis supranutricionais de 81 -200 mg/kg de Cu e supra nutricionais (>201 mg/kg de Cu) aumentam ($P < 0,05$) o ganho de peso em 3,4% e diminuem ($P < 0,05$) a conversão alimentar em 4,8% em relação a doses nutricionais <80 mg/kg de Cu na dieta. Entretanto, níveis de 81 a 200 mg/kg na dieta e níveis superiores a 201 mg/kg de Cu apresentam resultados semelhantes ($P < 0,05$) sobre o desempenho de leitões em creche.

Tabela 2: Médias e erro padrão de desempenho de leitões em creche alimentados com dietas suplementadas com diferentes fontes e níveis de cobre.

	N	Consumo de Ração kg/d	Ganho Médio Diário kg/d	Conversão Alimentar
Fonte de Cobre				
Basal	194	0,596±0,08	0,353±0,05 ^a	1,68±0,03 ^a
Inorgânica	419	0,588±0,09	0,364±0,06 ^b	1,61±0,03 ^b
Orgânica	318	0,587±0,08	0,364±0,06 ^b	1,62±0,02 ^b
	P	0,283	0,013	0,02
Níveis de Cobre				
1 - 15 mg/kg	194	0,597±0,09	0,352±0,06 ^a	1,68±0,02 ^a
16 - 80 mg/kg	161	0,595±0,09	0,358±0,05 ^a	1,66±0,03 ^{ab}
81 -200 mg/kg	447	0,584±0,08	0,366±0,05 ^b	1,60±0,03 ^{bc}
>201 mg/kg	129	0,586±0,12	0,368±0,07 ^b	1,57±0,04 ^c
	P	0,166	0,005	$>0,001$

Letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância.

Fonte: O autor

Diversos modelos lineares mistos foram desenvolvidos, porém os que apresentaram em conjunto os melhores coeficientes AIC, BIC, R^2 , RMSE e ICC ajustados foram apresentados na tabela 3. Os fatores que não indicaram quaisquer efeitos estatísticos, como

por exemplo, gênero, linhagem, delineamento experimental, tamanho da amostra, entre outros, foram excluídos dos modelos.

Tabela 3: Coeficientes dos modelos mistos utilizados para verificar a eficiência da suplementação de diferentes níveis e fontes de cobre na dieta de leitões em fase de creche, usando uma abordagem Bayesiana.

	Consumo Médio Diário	Ganho Médio Diário	Conversão Alimentar
	Modelo 1 (SE)	Modelo 2 (SE)	Modelo 3 (SE)
Intercepto ¹	-0,141 (0,022) **	-0,044 (0,016) **	1,379 (0,039) **
CM Cu, mg/d	0,0077 (0,003) **	0,0072 (0,0018) **	-0,013 (0,0045) **
CM Zn, ,mg/d	0,001 (0,00017) **	0,0001 (0,00017) **	-0,0004 (0,0002)
Relação Zn/Cu	0,00004 (0,0001)	-0,00004 (0,00008)	0,0002 (0,0002)
Peso Médio, kg	0,037 (0,001) **	0,021 (0,0001) **	0,012 (0,002) **
Idade Média	0,006 (0,0007) **	0,00296 (0,00046) **	0,003 (0,001) **
Fonte de Cobre	-0,003 (0,005)	0,002(0,004)	-0,0193 (0,085) *
AIC	-1395,80	- 2069,69	-603,5
BIC	-1353,22	- 2027,11	-560,92
Num Observações	838	838	838
Num Grupos: Estudos	53	53	53
Variância: Estudos	0,01	0,006	0,041
Variância Residual	0,009	0,004	0,023
R2 condicional	0,851	0,825	0,682
R2 Marginal	0,689	0,560	0,111
RMSE	0,093	0,062	0,147
ICC ajustado	0,520	0,603	0,147

¹ CM Cu: Consumo médio de cobre, CM Zn: Consumo médio de zinco, AICC: Critério de informação de Akaike corrigido, BIC: Critério de Informação Bayesiana, ICC: Coeficiente de correlação entre as variáveis, RMSE: Raiz quadrada média do erro, R2: coeficiente de determinação.

Fonte: O autor

O consumo diário de cobre (CM Cu), peso vivo e idade média foram significativos ($P < 0,05$) nos modelos de consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. O consumo médio de Zn (CM Zn) não interfere na conversão alimentar ($P > 0,05$). Já a relação Zn/Cu não influencia ($P > 0,05$) nos modelos de consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar.

O coeficiente de determinação dos estudos foi elevado, sendo que o modelo desenvolvido para o consumo de ração, explica 85,1% da variabilidade dos dados de resposta de sua média. Nos modelos de ganho de peso e conversão alimentar, o coeficiente de determinação (R2 condicional) foi de 82,5% e 68,2% respectivamente. O AIC dos três modelos desenvolvidos foi baixo, sendo o menor valor observado no Modelo 2 (-2069,69). O mesmo foi observado nos resultados do critério Bayesiano (BIC), que descreve a relação entre a variável dependente e as diversas variáveis explicatórias entre os modelos. Portanto, quanto menor o BIC mais ajustado é o modelo assim como o AIC. O Modelo 2 apresenta os menores resultados (-2027,11), embora os demais modelos também apresentem valores de BIC e AIC semelhantes. As variâncias residuais dos modelos foram pequenas, assim como o RMSE (raiz quadrada média do erro), indica que os modelos foram precisos por conta dos baixos valores

encontrados nas variáveis citadas. O ICC (coeficiente de correlação entre as variáveis) não foi tão elevado. Portanto, quanto mais elevado o valor de ICC mais explicativo é o modelo

2.5. DISCUSSÃO

Ao comparar as abordagens de meta-análise utilizadas, verificamos que tanto o uso dos gráficos em *forest plot* quanto a análise de variância-covariância indicaram efeito positivo das fontes inorgânicas e orgânicas sobre o ganho de peso de leitões em creche em comparação com o grupo basal. Porém, cabe destacar que o desenho experimental de cada estudo deve ser criteriosamente avaliado para o uso em *forest plot*. Os valores de I^2 de ambas as figuras foram superiores a 50% indicando uma alta heterogeneidade entre os estudos, por consequência existe a necessidade de desenvolver um modelo misto para as variáveis estudadas. Devido ao desenho experimental, variabilidade no peso e idade dos leitões, e propósitos avaliados em estudos contendo diferentes fontes e níveis de cobre nas dietas consideramos as análises dos dados por correlações, variância e covariância e de modelos mistos como apropriadas ao objetivo deste estudo.

Os resultados desta meta-análise indicam que tanto níveis quanto fontes de cobre na dieta de leitões em creche influenciam positivamente as respostas de desempenho ($P < 0,05$). Atualmente, a suplementação do cobre é feita em concentrações extremamente superiores em relação às doses mínimas exigidas pelo NRC (2012), com o intuito de melhorar o desempenho dos leitões na fase de creche (DĘBSKI, 2016). Embora nossos resultados demonstraram efeitos positivos das adições supra nutricionais do cobre em leitões, os mecanismos por trás desses efeitos ainda não são totalmente compreendidos. A melhora no desempenho dos leitões está associada com as funções antimicrobianas do elemento (LIAO *et al.*, 2017 ; DI GIANCAMILLO *et al.*, 2018). Ou seja, menos carga microbiana e menos metabólitos microbianos potencialmente tóxicos no intestino, deixam mais nutrientes e energia disponíveis para o leitão, além de ajudar na preservação da estrutura intestinal e evitar ou reduzir o aparecimento de diarreias.

Outros autores afirmam que a melhora no desempenho pode estar associada a um efeito sistêmico ao invés de um efeito antimicrobiano no trato gastrointestinal, resultando em um aumento de Zn no plasma, devido às interações antagônicas e sinérgicas entre os dois elementos (HUANG *et al.*, 2015; XING *et al.*, 2014). O aumento de Zn plasmático também está relacionado com efeitos antimicrobianos, pois o elemento pode inibir o crescimento de microrganismos patogênicos no intestino e ajudar a desenvolver o sistema imune do leitão

(MAYORGA *et al.*, 2018). A melhora no desempenho também pode ser atribuída a um efeito de regulação positiva do cobre sobre o apetite dos leitões, gerando um aumento no consumo de ração (FRY *et al.*, 2012).

É importante destacar ainda que o Cu pode apresentar um efeito importante na atividade sérica da enzima Superóxido dismutase (SOD) (LIU *et al.*, 2020). A SOD é uma enzima chave na regulação do estresse oxidativo de radicais superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (WANG *et al.*, 2010). Portanto a enzima tem a capacidade de remover radicais livres e reduzir a concentração de ácidos graxos insaturados na membrana que desempenham processos de peroxidação lipídica, protegendo as células dos danos oxidativos. Por isso a atividade do SOD pode refletir no grau de peroxidação anti-lipídica *in vivo* (CHEN *et al.*, 2000). Portanto a suplementação do cobre em doses supranutricionais pode efetivamente melhorar a atividade da SOD Cu-Zn nos tecidos corporais do animal. Como consequência, altas doses de Cu podem melhorar o desempenho de leitões nas fases de creche, o que corrobora com os dados obtidos na tabela 2.

Outro ponto a ser abordado no presente estudo, foram os resultados observados com diferentes fontes de cobre. Os dados demonstraram que ambas as fontes foram capazes de melhorar o desempenho dos leitões em relação à dieta basal, porém não mostraram diferenças de desempenho entre si (Tabela 2). As fontes inorgânicas de Cu são utilizadas há várias décadas como promotoras de crescimento, especialmente na forma do sulfato de cobre penta hidratado (CuSO₄). Embora se saiba que as fontes inorgânicas possuem efeitos positivos no leitão (PÉREZ *et al.*, 2011), tais elementos possuem uma biodisponibilidade muito pequena em comparação com as fontes orgânicas. Apenas 25% do mineral presente no sulfato de cobre é absorvido pelo trato gastrointestinal (HAMDI *et al.*, 2018), o restante não é aproveitado pelo organismo podendo sofrer reações com demais íons presentes no trato gastrointestinal. Isso significa que grande parte do cobre suplementado na dieta acaba sendo excretado via fezes, o que aumenta consideravelmente o impacto poluente na cadeia suína, gerando grandes preocupações do ponto de vista ambiental (FEEDAP *et al.*, 2016).

Dessa forma, embora nossos dados demonstraram efeito positivos em adições acima de 81 mg/kg de cobre em níveis suplementares, diversos países da União Europeia, tendem a proibir a suplementação em níveis elevados (RECORD, 2017). Alguns estudos sugerem uma redução nos níveis suplementares adicionados nas dietas, a fim de tentar reduzir os impactos causados pelas excreções do elemento no ambiente, visto que os microelementos em quantidades muito elevadas podem ocasionar problemas de toxicidade no solo (FEEDAP *et al.*, 2016).

Por isso, as fontes orgânicas, especialmente os quelatos, estão sendo utilizados em uma maior escala. As formas orgânicas, especialmente as quelatadas, podem apresentar resultados de desempenho superior que as formas inorgânicas (MELLO *et al.*, 2012; YUE *et al.*, 2017). Em nosso estudo, a principal forma orgânica encontrada e classificada de acordo com a AAFCO; (2019), foi à forma quelatada, complexo metal-aminoácido (CA) (30,27% dos tratamentos). Outras fontes como o proteinato de cobre, quelato metal-ácido orgânico (QMA) e cobre complexado com polissacarídeos estão presentes na base de dados, porém com um menor número de tratamentos, apenas 3,8%, 2,4% e 1,4 %, respectivamente. As formas orgânicas apresentam uma substância quelante, ou complexada, que forma uma reação quimicamente inerte devido às ligações covalentes e iônicas. Tal ligação protege o mineral, tornando o elemento extremamente estável e menos propenso a sofrer reações e interações com demais íons no trato gastrointestinal (CHABAEV *et al.*, 2020). O quelato pode proteger o Cu de interações negativas, especialmente do fitato, que se liga aos cátions, tornando-os indisponíveis para absorção (ASHMEAD, 2012; CONDÉ *et al.*, 2015). Alguns estudos na literatura, demonstraram que doses supra nutricionais (80-200 mg/kg) do cobre orgânico apresentam resultados de desempenhos mais homogêneos que as formas inorgânicas, especialmente pelas características de estabilidade proporcionadas pelo agente quelante (CHABAEV *et al.*, 2020).

É importante destacar que além dos níveis de Cu e Zn ingeridos pelo leitão, a idade dos animais interfere no desempenho zootécnico. Efeitos positivos são observados em adições supra nutricionais do cobre em níveis de até 250 mg/kg, nas primeiras duas semanas de vida dos leitões, sendo que após esse período os efeitos foram nulos (CHABAEV *et al.*, 2020; MAYORGA *et al.*, 2018). Liao *et al.*, (2018) sugere que as adições supra nutricionais podem ocasionar efeitos durante todo período de creche, porém apenas nas primeiras duas semanas, os efeitos são mais evidentes. Sabe-se que doses muito elevadas do Cu são adicionadas durante todo o ciclo de produção suína (DALTO; DA SILVA, 2020), o que torna a adições muito elevadas sem grandes efeitos em animais mais velhos. Esses resultados podem acontecer por conta da imaturidade do sistema digestivo do leitão, e do pouco desenvolvimento do sistema imune, porque o mineral afeta o desenvolvimento das células T (SILVA *et al.*, 2017). Portanto, o Cu como um ativador enzimático, pode melhorar o desempenho e reduzir o aparecimento de diarreias pós-desmame minimizando os efeitos do estresse observado nessa fase (SONG; LI; HU, 2013; YUE *et al.*, 2017).

Outro fator determinante na expressão dos resultados da suplementação de cobre, é a relação Zn: Cu, sendo que a proporção ideal de ambos os minerais deve ser de 120:8

(DALTO; AUDET; MATTE, 2019). Nossos modelos mistos (Tabela 3) também indicaram que os níveis ingeridos de zinco nas dietas dos leitões influenciam no consumo de ração e ganho médio diário. Atualmente, existem suplementações de Zn em doses muito elevadas para leitões em creche, chegando a níveis suplementares dietéticos de até 3000 mg/kg do elemento como óxido de zinco. Embora não exista um nível pré-estabelecido, sabe-se que doses acima de 1500 mg/kg podem inibir a absorção do Cu no organismo (FEEDAP *et al.*, 2016).

A importância de se evitar níveis excessivos de Zinco na dieta ocorre pelas reações antagônicas do elemento em relação ao Cu. O'Dell (1985) considera o Zn como o microelemento mais crítico na absorção do cobre. Altas suplementações de Zn podem levar a uma maior produção e síntese de metalotioneína, esta metaloproteína liga-se preferencialmente ao Cu em comparação com o Zn nos enterócitos. Esse cenário leva a um sequestro intracelular do Cu, prejudicando assim o fluxo do mineral para as células, podendo eventualmente resultar em uma deficiência sistêmica do Cu (OESTREICHER, 1985). Em nosso estudo a média de adição de Zn foi de 665,4 mg/kg, porém sendo possível observar em alguns trabalhos doses suplementares acima de 1000 mg/kg (MA *et al.*, 2015; GONZALEZ-ESQUERRA, R; ARAUJO, R. B; HAESE, D.; KILL, 2019; OKIAMA, 2017).

Portanto, doses extremamente elevadas de Zn, podem mascarar os reais efeitos da suplementação de Cu para leitões, independente da fonte do elemento adicionado, ou da quantidade, visto as reações antagônicas do Zn em relação ao elemento. Outros elementos como o fitato presente em cereais, grãos e sementes também podem afetar a magnitude das interações entre o cobre, e outros microelementos (MARTIN *et al.*, 2011). Isso ocorre, pois o fitato é carregado negativamente e pode se ligar com íons de cargas positivas, como o cálcio, o Zn e o Cu, tornando esses elementos menos disponíveis para serem absorvidos no trato gastrointestinal (HUANG *et al.*, 2013).

A meta-análise indicou que a suplementação de doses supra nutricionais de cobre, independente da fonte utilizada, pode melhorar o desempenho de leitões em creche em relação à suplementação de níveis nutricionais <80 mg Cu/dieta. Reitera-se ainda que embora doses elevadas do elemento tenham causado melhora no desempenho, conhecer a biodisponibilidade da fonte adicionada é extremamente importante, visto que diversos países buscam reduzir os impactos poluentes causados pela utilização excessiva dos microelementos na dieta. Salienta-se ainda uma observação das doses de Zn adicionadas na dieta, sabendo das características antagônicas propiciadas por quantidades extremamente elevadas do micro mineral.

2.6 CONCLUSÃO

O desempenho dos leitões é influenciado pelo peso vivo, idade, ingestão de zinco e de cobre. Fontes orgânicas e inorgânicas de cobre e níveis supra nutricionais (> a 81 mg Cu/kg dieta) em dietas melhoram o desempenho de leitões em creche. Leitões alimentados com dietas contendo fontes orgânicas ou inorgânicas apresentam desempenhos semelhantes.

REFERÊNCIAS

- AAFCO. Association of American Feed Control Officials 2019 AAFCO Midyear Meeting Agenda Book Hyatt Regency. **2019 AAFCO Midyear Meeting**, p. 8, 2019.
- ASHMEAD, H. DeWayne. **Amino acid chelation in human and animal nutrition**. CRC Press, 2012.
- BALDUZZI, S.; RÜCKER, G.; SCHWARZER, G. How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. **Evidence Based Mental Health**, v. 22, n. 4, p. 153–160, nov. 2019.
- BORTOLUZZI, C.; VIEIRA, B. S.; APPLGATE, T. J. Influence of Dietary Zinc, Copper, and Manganese on the Intestinal Health of Broilers Under Eimeria Challenge. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. January, p. 1–7, 2020.
- CHABAEV, M. G. *et al.* Effects of Different Levels and Forms of Chelated Metal Proteinates on Productive Performance and Metabolic Processes in Fattening Young Pigs. **Russian Agricultural Sciences**, v. 46, n. 2, p. 161–166, 2020.
- CHEN, J. R. *et al.* Identification of the copper-zinc superoxide dismutase activity in *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Veterinary Microbiology**, v. 73, n. 4, p. 301–310, 2000.
- CONDÉ, M. S. *et al.* Minerais quelatados na nutrição de suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 4, p. 3547-3565, 2015.
- DALTO, D. B.; AUDET, I.; MATTE, J. J. Impact of dietary zinc:copper ratio on the postprandial net portal appearance of these minerals in pigs1. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 9, p. 3938–3946, 3 set. 2019.
- DALTO, D. B.; DA SILVA, C. A. A survey of current levels of trace minerals and vitamins used in commercial diets by the Brazilian pork industry—a comparative study. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 4, p. 1–18, 1 out. 2020.
- DĘBSKI, B. Supplementation of pigs diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 4, p. 917–924, 2016.
- DI GIANCAMILLO, A. *et al.* Copper sulphate forms in piglet diets: Microbiota, intestinal morphology and enteric nervous system glial cells. **Animal Science Journal**, v. 89, n. 3, p. 616–624, 2018.

ESPINOSA, C. D. *et al.* Copper hydroxychloride improves growth performance and reduces diarrhea frequency of weanling pigs fed a corn–soybean meal diet but does not change apparent total tract digestibility of energy and acid hydrolyzed ether extract. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 12, p. 5447–5454, 2017.

ESPINOSA, C. D. *et al.* Effects of copper hydroxychloride on growth performance and abundance of genes involved in lipid metabolism of growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 1, p. 1–9, 2020.

FEEDAP, A. F. *et al.* Revision of the currently authorised maximum copper content in complete feed. **EFSA Journal**, v. 14, n. 8, ago. 2016.

FRY, R. S. *et al.* Amount and source of dietary copper affects small intestine morphology, duodenal lipid peroxidation, hepatic oxidative stress, and mRNA expression of hepatic copper regulatory proteins in weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 90, n. 9, p. 3112, 1 set. 2012.

GONZALEZ-ESQUERRA, R.; ARAUJO, R. B.; HAESE, D.; KILL, J. L. Effect of dietary copper sources on performance, gastric ghrelin-RNA expression and growth hormone concentrations in serum in piglets. **Oxford University Press on behalf of the American Society of Animal Science**, n. 2, p. 1–27, 2019.

HAMDI, M. *et al.* Including copper sulphate or dicopper oxide in the diet of broiler chickens affects performance and copper content in the liver. **Animal Feed Science and Technology**, v. 237, n. 12, p. 89–97, 2018.

HASHIMOTO, A.; KAMBE, T. Mg, Zn and Cu transport proteins: A brief overview from physiological and molecular perspectives. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 61, p. 116–118, 2015.

HUANG, Y. L. *et al.* Relative bioavailabilities of organic zinc sources with different chelation strengths for broilers fed diets with low or high phytate content. **Animal Feed Science and Technology**, v. 179, n. 1–4, p. 144–148, 2013.

HUANG, Y. L. *et al.* Effect of dietary copper amount and source on copper metabolism and oxidative stress of weanling pigs in short-term feeding. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 6, p. 2948–2955, 2015.

LIAO, P. *et al.* Effects of dietary supplementation with cupreous N-carbamylglutamate (NCG) chelate and copper sulfate on growth performance, serum biochemical profile and immune response, tissue mineral levels and fecal excretion of mineral in weaning piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 28, n. 6, p. 1315–1329, 2 nov. 2017.

LIAO, P. *et al.* Effect of dietary copper source (inorganic vs. chelated) on immune response, mineral status, and fecal mineral excretion in nursery piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 29, n. 1, p. 548–563, 2018.

LIN, G. *et al.* Optimal dietary copper requirements and relative bioavailability for weanling pigs fed either copper proteinate or tribasic copper chloride. **Journal of Animal Science and**

Biotechnology, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2020.

LIU, H. et al. Effects of Copper Amino Acids Complex on Growth Performance and Serum Cu-Zn SOD Activity in Piglets. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 52, n. 5, p. 1–8, 2020.

LOVATTO, P. A. *et al.* Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 285–294, jul. 2007.

MA, Y. L. *et al.* Multitrial analysis of the effects of copper level and source on performance in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 2, p. 606–614, 2015.

MARTIN, R. E. *et al.* Effect of dietary organic microminerals on starter pig performance, tissue mineral concentrations, and liver and plasma enzyme activities¹²³. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 4, p. 1042–1055, 1 abr. 2011.

MAYORGA, E. J. *et al.* Effects of zinc amino acid complex on biomarkers of gut integrity and metabolism during and following heat stress or feed restriction in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 10, p. 4173–4185, 2018.

MELLO, G. *et al.* Sources of organic trace minerals in diets for weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 8, p. 1872–1877, 2012.

MOHER D, LIBERATI A, TETZLAFF J, ALTMAN DG, The PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: **The PRISMA Statement**. Disponível em: www.prisma-statement.org.

NAKAGAWA, Shinichi; JOHNSON, Paul CD; SCHIELZETH, Holger. The coefficient of determination R² and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 14, n. 134, p. 20170213, 2017.

NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2012.

OESTREICHER, P. Copper and Zinc Absorption of Mutual Antagonism¹ in the Rat: Mechanism. **Journal Nutrition**, v. 115, p. 159–166, 1985.

OKIAMA, W. H. D. E. **Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados Pirassununga Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados. 2018**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

PÉREZ, V. G. *et al.* Additivity of effects from dietary copper and zinc on growth performance and fecal microbiota of pigs after weaning. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 2, p. 414–425, 2011.

RECORD, V. 2017. Pig industry fears withdrawal of zinc oxide from this summer. **Vet. Rec.** 180:315.

SAUVANT, D. *et al.* Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. **Animal**, v. 2, n.

8, p. 1203–1214, 2008.

SAUVANT, D. *et al.* Review: Use and misuse of meta-analysis in Animal Science. **Animal**, v. 14, p. 207–222, 2020.

SHELTON, N. W. *et al.* Effects of copper sulfate, tri-basic copper chloride, and zinc oxide on weanling pig performance. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 8, p. 2440–2451, 2011.

SILVA, J. S. *et al.* Efeito da suplementação parenteral extra de cobre e zinco sobre a resposta imunológica de vacas Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 4, p. 870–876, ago. 2017.

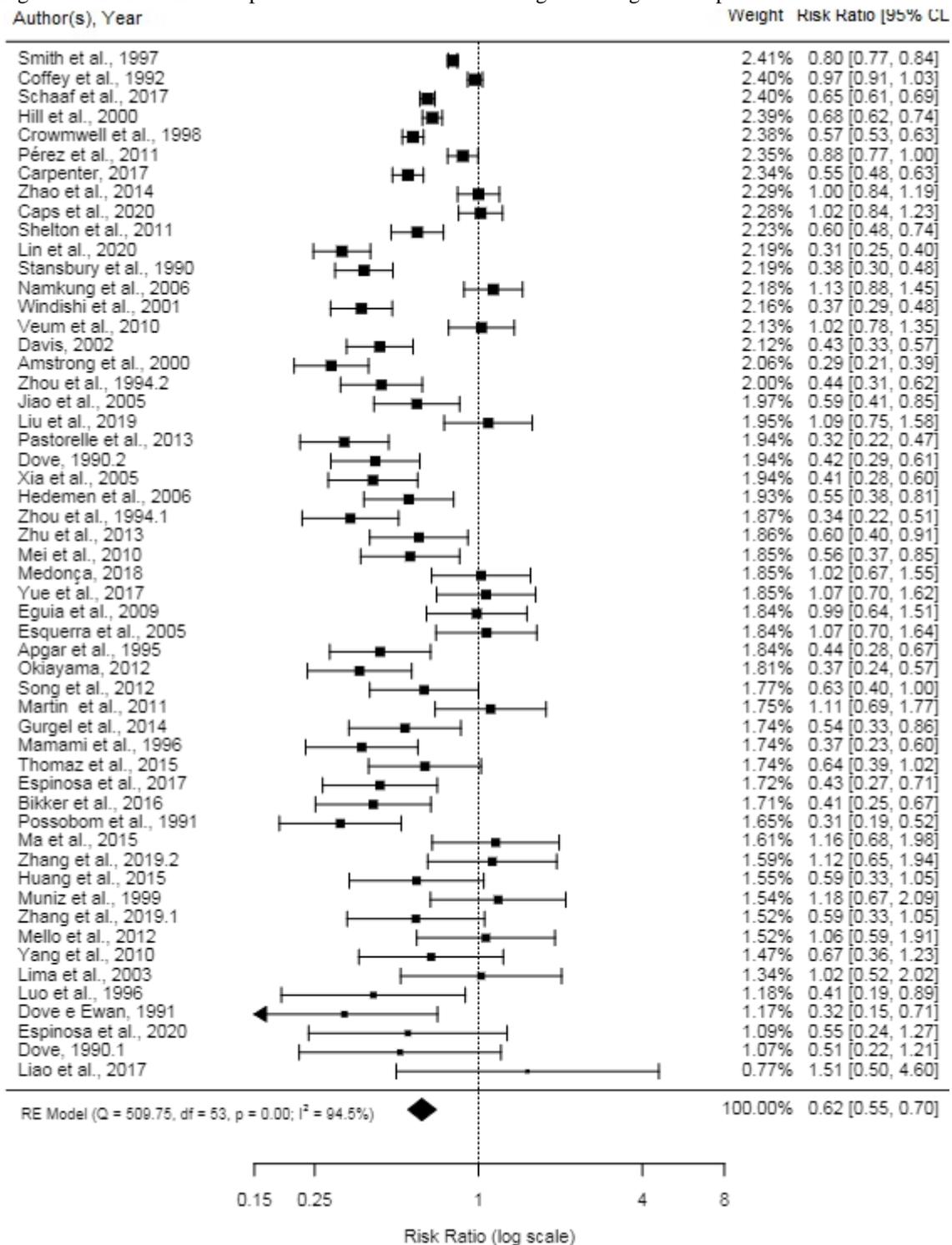
SONG, J.; LI, Y. LI; HU, C. HONG. Effects of copper-exchanged montmorillonite, as alternative to antibiotic, on diarrhea, intestinal permeability and proinflammatory cytokine of weanling pigs. **Applied Clay Science**, v. 77–78, p. 52–55, 2013.

XING, C. *et al.* A highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for copper(II) determination in drinking water. **Food and Agricultural Immunology**, v. 25, n. 3, p. 432–442, 3 jul. 2014.

YUE, X. *et al.* Dietary chitosan-Cu chelate affects growth performance and small intestinal morphology and apoptosis in weaned piglets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 62, n. 1, p. 15–21, 2017.

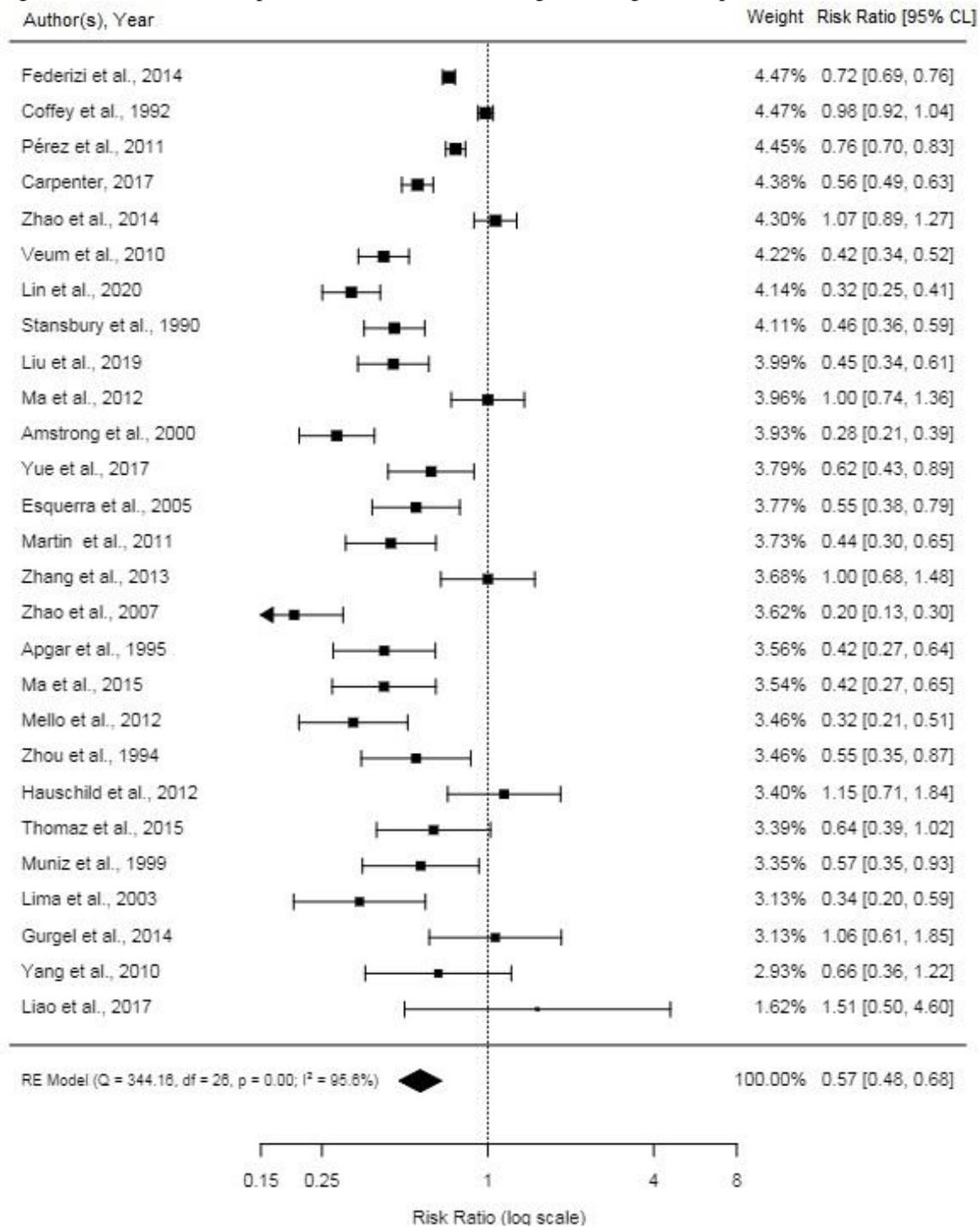
ZHAO, J. *et al.* Effects of a chelated copper as growth promoter on performance and carcass traits in pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 7, p. 965–973, 2014.

Figura 4: Análise em forest plot sobre o efeito do cobre inorgânico no ganho de peso diário de leitões em creche.



Fonte: O autor

Figura 5: Análise em forest plot sobre o efeito do cobre orgânico no ganho de peso diário de leitões em creche



Fonte: O autor

CAPÍTULO 3 : FONTES E NÍVEIS DE COBRE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar por meio de uma meta-análise o impacto de diferentes níveis e fontes de cobre no desempenho de frangos de corte. A base de dados utilizada incluiu 57 artigos publicados entre os anos de 1991 e 2020, totalizando 96.606 aves em 717 tratamentos. Os critérios estabelecidos para a seleção dos artigos foram: uso de diferentes fontes e níveis de cobre, dietas para frangos de corte e resultados de desempenho. A análise dos dados foi explorada por forest plot, heterogeneidade, correlações, variância e covariância e modelos mistos. A análise de forest plot indica efeitos positivos ($P < 0,05$) da suplementação de fontes inorgânicas e orgânicas de cobre em relação à dieta basal. Entretanto, o índice I^2 foi de 95,7% e 99,8%, respectivamente, indicando alta heterogeneidade. O consumo de ração de frangos de corte diminuiu ($P < 0,05$) à medida que níveis superiores a 81 mg Cu/kg são adicionados à dieta. Entretanto, o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos de corte não é alterado com a adição de fontes e diferentes níveis de cobre às dietas. Os modelos mistos indicam que o peso das aves interfere sobre o desempenho. O consumo médio de zinco e cobre interferem no consumo de ração ($P < 0,05$) sem interferir sobre o ganho de peso e conversão alimentar. Em conclusão o consumo de ração de frangos de corte é influenciado pelo peso vivo e ingestão de cobre e zinco. Os níveis supra nutricionais ($>$ a 81 mg Cu/kg dieta) na dieta reduzem o consumo de ração de frangos de corte sem alterar o ganho de peso e conversão alimentar.

Palavras-chave: cobre quelatado, sulfato de cobre, biodisponibilidade.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate through a meta-analysis the impact of different levels and sources of copper on the performance of broiler chickens. The database used included 57 articles published between 1991 and 2020, totaling 96,606 birds in 717 treatments. The criteria established for selecting articles were use of different sources and levels of copper, diets for broilers, and performance results. Data analysis was explored by forest plot, heterogeneity, correlations, variance and covariance, and mixed models. The forest plot

analysis indicates positive effects ($P < 0.05$) of supplementation with inorganic and organic sources of copper to the basal diet. However, the I^2 index was 95,7% and 99,8%, respectively, indicating high heterogeneity. Broiler feed intake decreases ($P < 0.05$) as levels above 81 mg Cu/kg in the diet are added. However, the weight gain and feed conversion of broilers don't alter with sources and different levels of copper to the diets. Mixed models indicate that the weight of birds affects performance. The average intake of zinc and copper interfere with feed intake ($P < 0.05$) without interfering with weight gain and feed conversion. In conclusion the broiler feed intake is influenced by live weight and copper and zinc intake. Super nutritional levels (> 81 mg Cu/kg diet) reduce broiler feed intake without altering weight gain and feed conversion.

Keywords: chelated copper, copper sulfate, bioavailability.

3.1 INTRODUÇÃO

O cobre desempenha um papel vital no crescimento dos frangos de corte, importante na manutenção do desempenho animal e em diversos processos bioquímicos, como: metabolismo da glicose, síntese de hemoglobina, integridade estrutural cardiovascular e outras funções fisiológicas (KATCHA *et al.*, 2020). Atualmente, nas produções de frangos de corte a suplementação é feita em níveis muito elevados (acima de 125 mg/kg), especialmente com fontes inorgânicas.

O principal objetivo de adições tão elevadas é utilizar o elemento como promotor de crescimento e aproveitar as suas funções bactericidas e bacteriostáticas na microbiota do trato gastrointestinal (LIU *et al.*, 2012). Porém, as respostas dos frangos a níveis mais elevados de cobre são muito variáveis, e em alguns casos é observado um efeito supressor no crescimento dos animais (EL-KAZAZ; HAFEZ, 2020; EL-HUSSEINY *et al.*, 2012). Contudo, diversos países, especialmente a União Europeia vem limitando as suplementações do elemento nas dietas por conta de seu alto impacto poluente na cadeia avícola (FEEDAP *et al.*, 2016).

Portanto, outras fontes do mineral estão sendo adicionadas na dieta, entre elas fontes orgânicas. Tais fontes apresentam uma biodisponibilidade superior que as comumente utilizadas (A.A GHEISARI, A RAHIMI-FATHKOOHI, 2011), podendo ser uma alternativa para manutenção de resultados satisfatórios e causar um menor impacto ambiental. Com base no grande volume de informações já publicadas a respeito de ambas as fontes, a utilização de uma meta-análise torna-se uma ótima ferramenta para integrar os resultados já publicados de

ambas as fontes do cobre. Assim, o presente estudo tem como objetivo integrar informações das diferentes fontes e níveis de cobre presentes na literatura e avaliar seu impacto nas respostas de desempenho em frangos de corte, por meio de uma meta-análise.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Revisão Sistemática e Construção da Base de Dados

Uma análise sistemática criteriosa foi conduzida para selecionar os estudos que compuseram a base de dados. Os estudos foram selecionados de bases eletrônicas Periódicos Capes, *Scielo*, *Science Direct*, *Web of Science*, *Pub Med*, *Highwire Press* e *Scholar Google*, usando palavras-chave em português, inglês e espanhol. A estratégia de busca foi desenvolvida seguindo o método adaptado PICO, com a combinação e variação de termos para definir a população (frangos de corte, pintinhos), intervenção (cobre quelatado, cobre orgânico, cobre inorgânico, sulfato de cobre) e desfecho (desempenho, ganho de peso, consumo de ração). As buscas pelos estudos foram realizadas entre setembro de 2019 a agosto de 2020.

Os estudos encontrados foram criteriosamente avaliados quanto à qualidade e pertinência aos objetivos propostos, seguindo os critérios de seleção e, posteriormente, incluídos na base de dados. Os critérios avaliados foram: a) estudos com frangos de corte; b) suplementação de fontes orgânicas e/ou inorgânicas de cobre nas dietas; c) respostas de desempenho (ganho médio diário, consumo de ração, conversão alimentar). Diversos trabalhos foram excluídos da base, por não estarem adequados aos critérios de seleção. Estudos envolvendo frangos em outras fases ou com outros elementos foram descartados, sendo esse o primeiro critério de exclusão. Outros trabalhos também foram eliminados por não apresentarem resultados de desempenho, ou seus resultados foram expressos nas formas de gráficos ou figuras, impossibilitando a tabulação.

O espaço temporal do estudo foi definido em 30 anos (1990-2020). Considerando as palavras-chave e o espaço temporal cerca de 121 artigos foram previamente selecionados para compor a base de dados. Após análise, 57 estudos compuseram a base de dados, sendo 53 artigos científicos e quatro trabalhos foram provenientes da literatura cinza.

3.2.2 Gerenciamento de Banco de Dados, Codificação e Filtragem dos Dados

Após o final da seleção os estudos foram incluídos em uma planilha eletrônica, onde cada coluna representou uma variável e cada linha um tratamento. Os dados tabulados incluíram informações relativas aos aspectos bibliográficos (autores, ano, periódico, país e instituição de origem etc.), as características experimentais (linhagem genética, idade, peso inicial, tempo de experimentação, temperatura, composição da dieta, presença ou não de desafio sanitário, tipo de desafio, patógenos, troca da ração etc.), aos tratamentos (fontes e níveis de cobre nas dietas), e aos resultados de desempenho zootécnico.

Foram criadas codagens moderadoras para considerar a) efeito de estudo, onde cada artigo recebeu um número sequencial (COD 01, 02, 03...), b) codificação inter-estudo (COD artigo 01 + tratamento = 011) e c) codificação intraestudos, para considerar o efeito de medidas repetidas no tempo ou doses seriadas. Outras codificações foram aplicadas para caracterizar tratamentos e padronizar grupos na análise dos dados (SAUVANT et. al 2020). Assim, os estudos foram codificados em fonte de cobre orgânico (ORG), inorgânico (INO), dieta basal (DB) e classificados em níveis (independente da fonte) de 1 a 8 mg Cu/kg dieta para atender à exigência de frangos de corte (NRC, 1994); 9 a 80 mg Cu/kg dieta considerados níveis intermediários; 81 a 200 mg Cu/kg dieta e superior a 201 mg de Cu/kg dieta como doses supra nutricionais com base nas observações obtidas em (KARIMI; SADEGHI; VAZIRY, 2011; PERSIA; BAKER; PARSONS, 2004).

A composição das dietas foi determinada a partir dos níveis de inclusão de cada ingrediente incluídos nos estudos. Posteriormente, a composição nutricional foi recalculada usando o AVINESP (v. 1.0, São Paulo, Brasil). Este método foi considerado para minimizar a variação de composição entre experimentos (Tabela 4). O nível de cobre de cada dieta basal foi usado como referência para estimar a variação entre a composição nutricional de cada estudo sendo aceitas variações de até 5%.

3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados graficamente para verificar a coerência e distribuição biológica. A análise de correlações entre todas as colunas da base de dados foi aplicada para identificar a presença de colinearidade entre variáveis. A heterogeneidade (I^2) é descrita como a proporção da variação total de estudos cruzados. Os estudos foram avaliados quanto à

apresentação dos devidos efeitos do aditivo no estudo, bem como o tamanho da amostra, divididos em seu grupo experimental. Para isso, os dados foram integrados em um gráfico *forest plot*, seguindo a metodologia proposta por Balduzzi; Rücker; Schwarzer, (2019). Os gráficos foram elaborados pelo procedimento metafor do Rstudio 1.4.117. A definição das variáveis dependentes e independentes e a codificação dos dados, de maneira a permitir a análise dos efeitos inter e intraexperimentos, foram realizadas segundo Lovatto *et al.*,(2007) e Sauvant *et al.*, (2008); 2020. Na análise de heterogeneidade, o modelo de efeitos aleatórios foi utilizado para todas as codagens de fontes e níveis de cobre.

Tabela 4: Composição nutricional, médias ajustadas de dietas experimentais para frangos de corte suplementados com diferentes fontes e níveis de cobre.

Fontes ¹	Média	Mínima	Máximo
ED, kcal/kg	2617,8	2298,0	2960,8
EM, kcal/kg	3005,4	2803,0	3204,0
PB %	20,5	17,63	24,83
Ca %	0,93	0,21	2,84
Na %	0,18	0,05	0,29
Lis %	1,17	0,76	1,48
Met %	0,50	0,28	2,19
MCd %	0,82	0,24	2,53
Treo %	0,80	0,20	1,04
Trip %	0,25	0,09	0,30
Cobre, mg/kg	82,9	0,50	500
Zinco, mg/kg	73,2	0,00	350
Relação Zn/Cu	5,98	0,00	108

¹ED: Energia Digestível, EM: Energia metabolizável, PB: Proteína bruta, Ca: Cálcio, Na: Sódio, Lis: Lisina, Met: Metionina, MCd: Metionina e cistina, Treo: Treonina, Trip: Triptofano.

Fonte: O autor

A utilização de modelos lineares mistos permite a seleção da melhor estrutura da matriz de covariância, ou seja, a que represente melhor a variabilidade dos dados. Um modelo misto foi desenvolvido para consumo de ração diário, ganho de peso diário e conversão alimentar de frangos de corte. Foram submetidos os dados que apresentaram alta correlação, podendo ser incluídos vários efeitos no modelo, como a idade média, peso médio, consumo de zinco e cobre, relação Zn/Cu etc. Os estudos foram fixados como os efeitos aleatórios dos modelos.

No modelo estatístico da análise de variância foram considerados os efeitos aleatórios dos estudos, o efeito fixo das fontes de Cu e de níveis na dieta. As comparações entre os dados foram feitas ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. As análises estatísticas e gráficas foram realizadas através do programa estatístico Rstudio 1.4.117. Portanto, os desempenhos das fontes e níveis de cobre suplementares foi analisada usando o pacote lmer4. O pacote Performance foi usado para avaliar os modelos, e definir qual foi o

melhor modelo desenvolvido com base no critério de informação de Akaike (AIC), raiz quadrada média (RMSE), coeficiente de determinação (R²) para modelos mistos (Nakagawa et al., 2017).

3.4 RESULTADOS

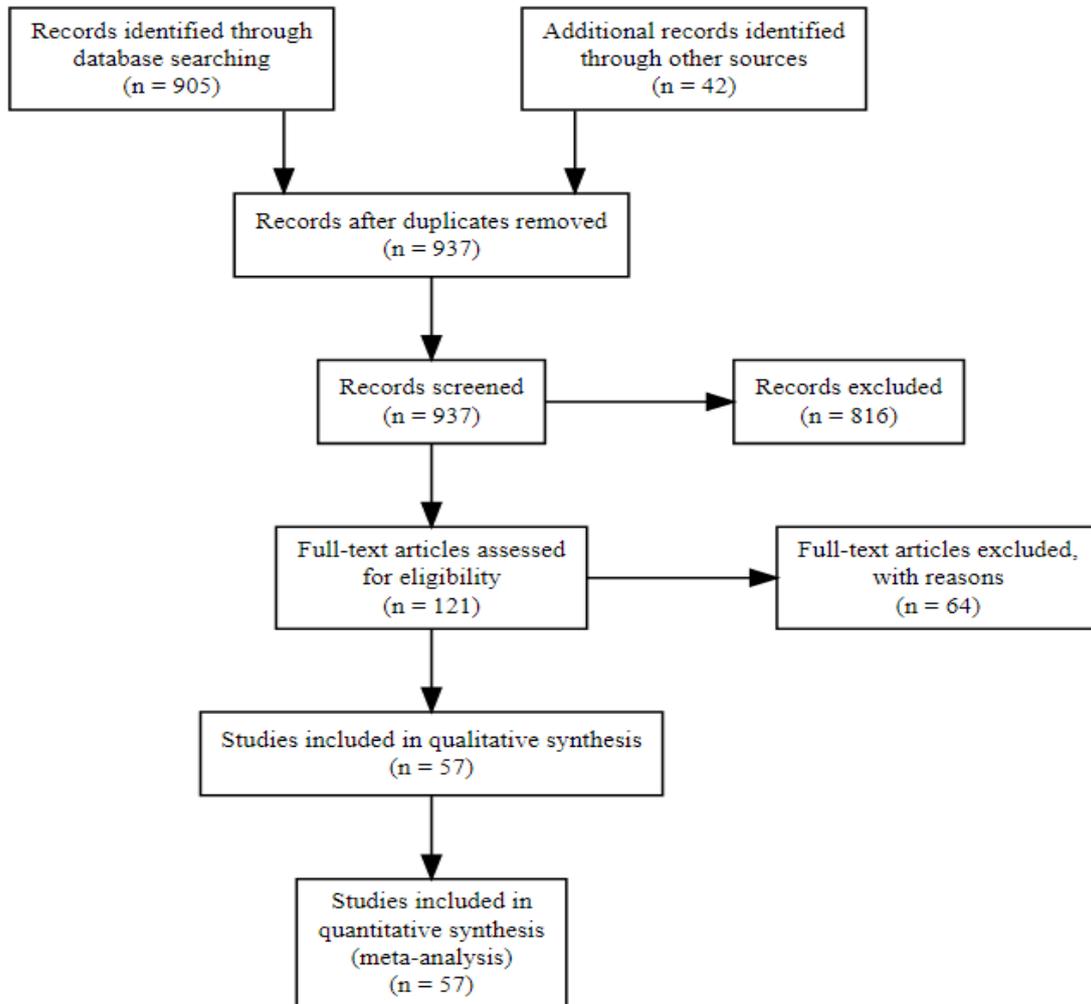
3.4.1 Resultados da Busca de Literatura

O fluxograma PRISMA proposto por Moher et al. (2020) descreve na figura 6 o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fontes orgânicas e inorgânicas de cobre em dietas de frangos de corte. Um total de 905 estudos foram encontrados nas principais bases eletrônicas e 42 trabalhos foram selecionados pelo *Scholar Google*. O gerenciador de referências Mendeley Desktop (Version 1.19.8; 2020) identificou 10 estudos duplicados os quais foram excluídos. Posteriormente, 816 estudos foram desclassificados por meio do título ou abstract por não contemplarem os critérios de seleção. Após a impressão e avaliação de 121 artigos completos, 64 foram retirados, por não atenderem aos critérios de seleção desta meta-análise. Finalmente, um total de 57 estudos foram incluídos no banco de dados.

3.4.2 Descrição da Base de Dados

A base de dados contemplou uma planilha de 718 linhas e 188 colunas. O espaço temporal da base foi de 30 anos, sendo o artigo mais antigo publicado em 1991 e o mais recente em 2020 (Moda 2011). A maioria dos estudos foi realizada em instituições americanas (21,81% dos artigos), chinesas (18,18%), brasileiras e indianas (9,09%) e, sul coreanas (5,45%). Demais instituições apresentaram poucos estudos na base (<3,6%). A base foi composta por 96.606 frangos (média de 1.420 animais por estudo) divididos em 717 tratamentos diferentes. Dos 717 tratamentos, 294 (41%) tratamentos continham fontes inorgânicas, 275 (38,35%) apresentavam fontes orgânicas, e 148 (20,65 %) tratamentos nutricionais, considerados como uma dieta basal. Ao analisar os níveis presentes dos 717 tratamentos, os níveis nutricionais de 1 à 8 mg/kg suplementados foi de 125 tratamentos (17,4%), os níveis intermediários de 9 à 80 mg/kg, foi de 345 tratamentos (48,1 %), as doses supra nutricionais, 81 à 200 mg/kg, foi de 153 tratamentos (21,3 %), e as concentrações acima de 201 mg/kg, foram 94 tratamentos (13,2 %).

Figura 6: Fluxograma PRISMA descrevendo o processo de seleção dos estudos para inclusão na base de dados focado no uso de fontes orgânicas e inorgânicas de cobre em dietas de frangos de corte.



Fonte: O autor

3.4.3 Meta-Análise por *Forest plot*

Nas figuras 7 e 8 são apresentados os resultados de meta-análise por meio do forest plot para o ganho de peso de frangos de corte alimentados com dietas contendo fontes inorgânicas e orgânicas de cobre. No gráfico, cada quadrado representa um estudo com uma linha horizontal que mostra o seu intervalo de confiança (95%), o tamanho do quadrado está associado ao tamanho da amostra. A intersecção do intervalo de confiança com a linha de tendência central (vertical) indica ausência de significância ($P > 0,05$) no resultado para o

determinado estudo. O resultado da meta-análise é indicado pelo losango na parte inferior do gráfico (MANCINI *et al.*, 2014).

Foram utilizados 45 e 40 estudos de fontes inorgânicas e orgânicas comparados com a dieta basal, respectivamente. Em ambos os gráficos identificamos que a suplementação de cobre para frangos de corte apresenta resultados positivos no ganho de peso diário ($P < 0,05$) em relação ao grupo que recebeu a dieta basal de cobre. Entretanto, o índice I^2 foi de 95,7 % (figura 7) e de 99,8 % (figura 8) o que indica uma alta heterogeneidade entre os estudos.

Não houve nenhuma alteração no desempenho dos frangos alimentados com diferentes fontes de cobre comparadas com as dietas basais (1 a 8 mg Cu/kg) (Tabela 5). O consumo de ração de frangos de corte diminuiu ($P < 0,05$) à medida que os níveis superiores a 81 mg Cu/kg são adicionados à dieta. Entretanto, fontes e diferentes níveis de cobre adicionados às dietas não alteram ($P > 0,05$) o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos de corte.

Tabela 5: Desempenho (médias e desvio padrão) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de cobre.

	N ¹	Consumo de ração g/d	Ganho médio diário g/d	Conversão alimentar
Fonte de Cobre				
Basal	148	85,6±2,79	53,2±3,29	1,76±0,06
Inorgânica	294	87,9±2,62	54,0±3,29	1,73±0,06
Orgânica	275	85,5±2,68	54,3±3,33	1,71±0,05
	p ³	0,02	0,36	0,31
Níveis de Cobre				
1 - 8 mg/kg	125	93,9±6,42 ^a	53,2±3,45	1,73±0,08
9 - 80 mg/kg	345	95,2±5,80 ^a	54,5±3,25	1,78±0,07
81 - 200 mg/kg	153	80,8±5,63 ^b	53,0±3,19	1,69±0,06
>201 mg/kg	94	64,0±7,88 ^c	49,1±3,71	1,62±0,11
	p ³	0,001	0,11	0,30

¹N: Número de observações, ²dpr: desvio padrão residual, ³P: nível de 5% de significância. Letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey.

Fonte: O autor

Diversos modelos mistos foram desenvolvidos, porém os que apresentaram em conjunto os melhores coeficientes AIC, BIC, R², RMSE e ICC ajustado foram apresentados na tabela 6. Os fatores que não indicaram quaisquer efeitos estatísticos, como por exemplo, gênero, linhagem, delineamento experimental, tamanho da amostra, entre outros, foram excluídos dos modelos. O peso médio das aves é a variável que mais influência sobre o desempenho de frangos de corte. O consumo médio de zinco e cobre interferem no consumo de ração ($P < 0,05$) sem interferir sobre o ganho de peso e conversão alimentar. Nos modelos desenvolvidos as variáveis linhagem genética, fontes de cobre e a relação Zn/Cu não interferem ($P > 0,05$) no desempenho de frangos de corte.

O coeficiente de determinação dos estudos foi elevado, sendo que no modelo desenvolvido para o consumo de ração explica 95,5% a variabilidade dos dados de resposta de sua média. Os modelos de ganho de peso diário e conversão alimentar, o coeficiente de determinação (R2 condicional) foi de 92,6% e 74,2% respectivamente. O AIC e o BIC do modelo 3 foi o menor entre os três modelos desenvolvidos. Quanto menor o valor de AIC e BIC mais ajustado é o modelo. A variância residual, também foi menor no modelo 3, assim como o RMSE (raiz quadrada média do erro), mostrando que o modelo foi o mais preciso por conta dos baixos valores encontrados nas variáveis citadas. O coeficiente de correlação entre as variáveis (ICC) indica o quanto da variação está sendo explicada pelos modelos desenvolvidos. Portanto quanto mais elevado o valor de ICC melhor é o modelo. Em nosso estudo o Modelo 1 apresenta o maior valor de ICC.

Tabela 6: Coeficientes dos modelos mistos utilizados para verificar a eficiência da suplementação cobre na dieta de frangos de corte, usando uma abordagem Bayesiana.

	Consumo Médio Diário	Ganho Médio Diário	Conversão Alimentar
	Modelo 1 (SE)	Modelo 2 (SE)	Modelo 3 (SE)
Intercepto ¹	22,606 (8,508) **	22,916 (4,602) **	1,439 (0,091) **
CM Cu, mg/d	0,015 (2,605) *	0,004 (0,004)	0,0002 (0,001)
CM Zn, mg/d	0,807 (0,00017) *	0,600 (1,677)	0,009 (0,003)
Relação Zn/Cu	0,009 (0,160)	-0,085 (0,103)	0,002 (0,002)
Fonte de Cobre	-1,409 (1,206)	0,150 (0,779)	-0,036 (0,019)
Peso Médio, g	0,087 (0,002) ***	0,041 (0,001) ***	0,0003 (0,000) ***
Linhagem Genética	-1,340 (1,242)	-1,166 (0,655)	0,004 (0,012)
AIC	1626,39	1443,90	-59,659
BIC	1656,08	1473,59	-29,974
Num Observações	200	200	200
Num Grupos: Estudos	21	21	21
Variância: Estudos	562,41	153,67	0,054
Variância Residual	124,87	52,34	0,030
R2 Condicional	0,955	0,926	0,742
R2 Marginal	0,755	0,710	0,274
RMSE	10,59	6,865	0,164
ICC ajustado	0,818	0,746	0,646

*P-value <0,05, ** P-value <0,01.

¹ CM Cu: Consumo médio de cobre, CM Zn: Consumo médio de zinco, AICC: Critério de informação de Akaike corrigido, BIC: Critério de Informação Bayesiana, ICC: Coeficiente de correlação entre as variáveis, RMSE: Raiz quadrada média do erro, R2: coeficiente de determinação.

Fonte: O autor

3.5 DISCUSSÃO

A diferença de resultados encontrados entre os resultados de GPD no nosso estudo pode ser explicada por conta do diferente método meta-analítico utilizado. Enquanto nos modelos mistos das análises de variância-covariância são utilizadas diversas variáveis que possam explicar os desempenhos das aves, como consumo médio de nutrientes (zinco e

cobre), a relação Zn/Cu, linhagem genética, fontes de cobre e peso médio das aves, no gráfico de *Forest plot* isso não acontece. Os dados obtidos pelos *forest plot* são dados sumarizados de todas as dispersões encontradas entre os estudos, ou seja uma relação média de um tratamento em relação ao outro, sem considerar outras variáveis que podem interferir na variância. Os dados de nossos *forest plot* indicaram que boa parte dos estudos de cobre inorgânico e orgânico, foram superiores à dieta basal (Figuras 7 e 8). Porém, o I^2 de ambas as figuras foi bastante elevado. Índices superiores a 50% indicam uma alta heterogeneidade entre os estudos. Devido ao desenho experimental, variabilidade no peso, idade e linhagem das aves, e propósitos avaliados em estudos contendo diferentes fontes e níveis de cobre nas dietas consideramos as análises dos dados por correlações, variância e covariância e de modelos mistos como os mais apropriados ao objetivo do presente estudo.

Os resultados indicaram que diferentes níveis e fontes de cobre na dieta de frangos de corte não influenciam no desempenho das aves, apenas a variável de consumo de ração foi alterada. Sabe-se que as exigências nutricionais aproximadas de cobre na dieta de frangos de corte é de 8 mg/kg, sendo de extrema importância existir uma adição nutricional do cobre para suprir as exigências mínimas da ave. O mineral participa especialmente de atividades bioquímicas, como aumentar a atividade mitogênica e melhorar a expressão do hormônio hipofisiário, promovendo uma modificação pós-tradução de peptídeos reguladores além de atuar no sistema imune e nas defesas antioxidantes (STEFANELLO *et al.*, 2014). Porém, diversos países da América e da Ásia permitem a suplementação do elemento em doses muito elevadas (acima de 200 mg/kg) (FEEDAP *et al.*, 2016). Doses supra nutricionais buscam especialmente os efeitos benéficos do Cu como melhorador de desempenho zootécnico, e ainda como um agente microbiano, podendo promover reparos nos tecidos do trato gastrointestinal (SAMANTA; BISWAS; GHOSH, 2011; LIU *et al.*, 2012). Entretanto, vários pesquisadores não relataram efeitos positivos do cobre no ganho médio diário em adições supra nutricionais, corroborando com nossos dados (KARIMI; SADEGHI; VAZIRY, 2011; ELLEN, B *et al.*, 2012).

A ausência de efeito do elemento no presente estudo pode ser explicado pela falta de desafios impostos aos animais, ambientes com temperaturas controladas e com uma presença pequena de agentes microbianos pode mascarar os efeitos do elemento. Karimi; Sadeghi; Vaziry, (2011) sugeriram que a resposta dos pintinhos depende também do estágio de desenvolvimento do animal, salientando ainda que suplementações em níveis de até 155 mg/kg tiveram efeitos benéficos aos animais até a segunda semana de idade, sendo que após esse período, resultados positivos são menos evidentes. O que corrobora com nossos

resultados obtidos através dos modelos mistos (Tabela 6), em que única variável que apresentou significância nos três modelos, foi o peso médio das aves. É importante destacar que a conversão alimentar obteve uma variação de apenas 27 % explicada pelos componentes fixos do modelo (R2 Marginal). Mostrando que a conversão alimentar não é uma boa variável para determinar as exigências nutricionais de cobre em frangos de corte.

Outro ponto a ser abordado é o tipo da fonte do elemento adicionado à dieta. Embora tenhamos uma classificação geral das fontes de cobre, sabe-se que existe uma diferença entre os elementos de uma mesma classificação. No presente estudo cerca de 252 tratamentos (35,64%), das fontes de cobre foram provenientes de fontes sulfatadas (CuSO₄). Embora o CuSO₄ seja amplamente utilizado na cadeia avícola, o elemento possui uma biodisponibilidade muito baixa em relação a outras fontes de cobre inorgânicas. De acordo com Hamdi *et al.*, (2018) as fontes sulfatadas apresentam uma biodisponibilidade de aproximadamente 25%, enquanto fontes como o óxido cuproso (CuO₂) e o cloreto de cobre tribásico apresentam uma disponibilidade de cerca de 89% e 59% superior às formas sulfatadas (HUANG *et al.*, 2015).

Portanto, a baixa biodisponibilidade do CuSO₄ pode resultar em respostas menores do elemento nos animais, como descreveu FENG *et al.*, 2020, acrescentando ainda, que doses excessivas do sulfato de cobre (350 mg/kg), podem causar uma resposta tóxica ou corrosiva causando uma ulceração na moela dos animais. Embora não exista um consenso sobre os níveis máximos de suplementação do Cu, Persia; Baker; Parsons, (2004) observaram efeitos supressores do elemento com adições de Cu que variavam entre 500 a 700 mg/kg, apontando como um ponto de ruptura tóxico para o desempenho dos pintinhos. As altas concentrações de cobre na dieta podem prejudicar o armazenamento de cobre no fígado, principal regulador do mineral na corrente sanguínea (CANO-SANCHO *et al.*, 2014). A presença de cobre não ligado livre no sangue pode atuar como um forte agente oxidante e causa hemólise das células sanguíneas (REECE *et al.*, 2015).

Dessa maneira, as formas orgânicas do Cu são adicionadas às dietas buscando uma biodisponibilidade mais elevada. A principal fonte orgânica utilizado no presente estudo de acordo com classificação proposta pela AAFCO (2019), foi o cobre quelatado, complexo metal-aminoácido (CA) com 199 tratamentos, o que corresponde a 28,15 % dos tratamentos. Outras fontes como o proteinato de cobre e o quelato metal-ácido orgânico (QMA) estão presentes no estudo, porém em menor número que o CA, apenas 3,1% (n=22) e 5,2% (n=37) respectivamente. As formas orgânicas diferem das formas inorgânicas, por apresentarem um agente de ligação, conhecidos como agentes ligantes tornando o cobre mais biodisponível

para o animal (ASHMEAD, 2012). Estudos já sugeriram melhores desempenhos das formas orgânicas em relação às inorgânicas (EL HUSSEINY *et al.*, 2012). Shamsudeen; Shrivastava; Ramsingh; (2013) encontraram resultados positivos em aves suplementadas com 40 mg/kg de cobre quelatados em comparação com os inorgânicos. Nossos resultados não demonstraram diferenças estatísticas na variáveis estudadas ($P > 0,05$).

Contudo, o consumo diário de ração foi inferior em animais que consumiram níveis de Cu superiores a 81 mg/kg ($P < 0,05$). Doses mais elevadas de Cu podem elevar a retenção e absorção de proteínas, além de melhorar a metabolização da gordura, aumentando a absorção de ácidos graxos e vitaminas. Feng *et al.*, (2020), relata que uma adição de cobre entre os níveis de 150 a 217 mg/kg, pode apresentar efeitos benéficos a frangos de corte, especialmente pelos efeitos inibitórios que o elemento possui na reprodução de bactérias nocivas, além de aumentar a atividade de certas enzimas, como GSH-Pox, superóxido dismutase e lipase intestinal. As doses supranutricionais também pode melhorar a metabolizabilidade da gordura devido ao aumento da atividade da lipase e fosfolipase no intestino delgado das aves, sendo um mecanismo que controla o centro da fome modulado pelo aumento de gordura e energia no organismo da ave (DAS *et al.*, 2009).

Porém, embora doses elevadas do Cu na dieta possam causar efeitos positivos sobre o consumo de ração, o elemento pode aumentar o potencial poluente da cadeia produtiva. Quase todo o cobre não absorvido, é excretado via fezes e urina, levando a uma contaminação ambiental, podendo gerar impactos significativos no ecossistema, especialmente o agrícola (WESTPHALEN, 2019). Como consequência dos impactos poluentes, diversos países da União Europeia estão proibindo a utilização de doses muito elevadas de microelementos com altos potenciais poluentes, sugerindo reduções drásticas dos elementos nas dietas (FEEDAP *et al.*, 2016). Portanto, os dados obtidos nesta meta-análise indicaram que doses supra nutricionais de cobre podem apresentar efeitos de redução no consumo de ração, porém nenhum efeito foi encontrado nas demais variáveis.

3.6 CONCLUSÃO

O consumo de ração de frangos de corte é influenciado pelo peso vivo e ingestão de cobre e zinco. Os níveis supra nutricionais ($>$ a 81 mg Cu/kg dieta) na dieta reduzem o consumo de ração de frangos de corte sem alterar o ganho de peso e conversão alimentar. As fontes inorgânicas e orgânicas de cobre não diferiram entre si, nem com relação à dieta basal.

REFERENCIAS

- A.A GHEISARI, A RAHIMI-FATHKOOHI, M. T. AND M. . G. Influence of Feeding Diets Supplemented with Different Levels and Sources of Zinc, Cooper and Manganese on the Mineral Concentrations in Tibia and Performance of Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 6, p. 166–174, 2011.
- AAFCO. Association of American Feed Control Officials 2019 AAFCO Midyear Meeting Agenda Book Hyatt Regency. **2019 AAFCO Midyear Meeting**, p. 8, 2019.
- AVINESP 2020; Modelo de Predição de Crescimento e Exigências Nutricionais.
- ASHMEAD, H. DeWayne. **Amino acid chelation in human and animal nutrition**. CRC Press, 2012.
- BALDUZZI, S.; RÜCKER, G.; SCHWARZER, G. How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. **Evidence Based Mental Health**, v. 22, n. 4, p. 153–160, nov. 2019.
- CANO-SANCHO, G. *et al.* Extensive Literature Search on the bioavailability of selected trace elements in animal nutrition: Incompatibilities and interactions. **EFSA Supporting Publications**, v. 11, n. 3, p. 1136, mar. 2014.
- DAS, T. K. *et al.* Influence of Level of Dietary Inorganic and Organic Copper and Energy Level on the Performance and Nutrient Utilization of Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 1, p. 82–89, 22 dez. 2009.
- DE MARCO, M. *et al.* Dietary administration of glycine complexed trace minerals can improve performance and slaughter yield in broilers and reduces mineral excretion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, n. June, p. 182–189, 2017.
- EL-HUSSEINY, O. M. *et al.* Effects of feeding organic zinc, manganese and copper on broiler growth, carcass characteristics, bone quality and mineral content in bone, liver and excreta. **International Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 6, p. 368–377, 2012.
- EL-KAZAZ, S. E.; HAFEZ, M. H. Evaluation of copper nanoparticles and copper sulfate effect on immune status, behavior, and productive performance of broilers. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 7, n. 1, p. 16–25, 2020.
- ELLEN, B. B. *et al.* Effects of supplementing diets with amino acid chelates of Copper, Zinc, Manganese and Iron on the performance of broilers. **Philipp J Vet Anim Sci**, v. 38, n. 1, p. 1–10, 2012.
- FEEDAP, A. F. *et al.* Revision of the currently authorised maximum copper content in complete feed. **EFSA Journal**, v. 14, n. 8, ago. 2016.
- FENG, C. *et al.* Meta-analysis of the correlation between dietary copper supply and broiler performance. **PloS one**, v. 15, n. 5, p. 232-244, 2020.
- HAMDI, M. *et al.* Including copper sulphate or dicopper oxide in the diet of broiler chickens

affects performance and copper content in the liver. **Animal Feed Science and Technology**, v. 237, n. 12, p. 89–97, 2018.

HUANG, Y. L. *et al.* Effect of dietary copper amount and source on copper metabolism and oxidative stress of weanling pigs in short-term feeding. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 6, p. 2948–2955, 2015.

KARIMI, A.; SADEGHI, G.; VAZIRY, A. The effect of copper in excess of the requirement during the starter period on subsequent performance of broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 20, n. 2, p. 203–209, jul. 2011.

KATCHA, M. *et al.* Growth and Immune Response of Broiler Chicks Fed on Oxidized Oil Containing Diets and Supplemented with Different Copper Sources and Levels. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, v. 66, n. 1, p. 15, 2020.

LIU, S. *et al.* Copper in Organic Proteinate or Inorganic Sulfate Form is Equally Bioavailable for Broiler Chicks Fed a Conventional Corn–Soybean Meal Diet. **Biological Trace Element Research**, v. 147, n. 1–3, p. 142–148, 27 jun. 2012.

LOVATTO, P. A. *et al.* Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. suppl, p. 285–294, jul. 2007.

MANCINI, M. C. *et al.* Tutorial for writing systematic reviews for the Brazilian Journal of Physical Therapy (BJPT). **Brazilian journal of physical therapy**, v. 18, n. 6, p. 471–80, dez. 2014.

MILES, R. D. *et al.* The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. **Poultry Science**, v. 77, n. 3, p. 416–425, mar. 1998.

MOHER D, LIBERATI A, TETZLAFF J, ALTMAN DG, The PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: **The PRISMA Statement**. Disponível em: www.prisma-statement.org.

NAKAGAWA, Shinichi; JOHNSON, Paul CD; SCHIELZETH, Holger. The coefficient of determination R^2 and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 14, n. 134, p. 20170213, 2017.

PERSIA, M. E.; BAKER, D. H.; PARSONS, C. M. Tolerance for excess basic zinc chloride and basic copper chloride in chicks. **British poultry science**, v. 45, n. 5, p. 672–6, 19 out. 2004.

SAMANTA, B.; BISWAS, A.; GHOSH, P. R. Effects of dietary copper supplementation on production performance and plasma biochemical parameters in broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 52, n. 5, p. 573–577, 2011.

SAUVANT, D. *et al.* Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. **Animal**, v. 2, n. 8, p. 1203–1214, 2008.

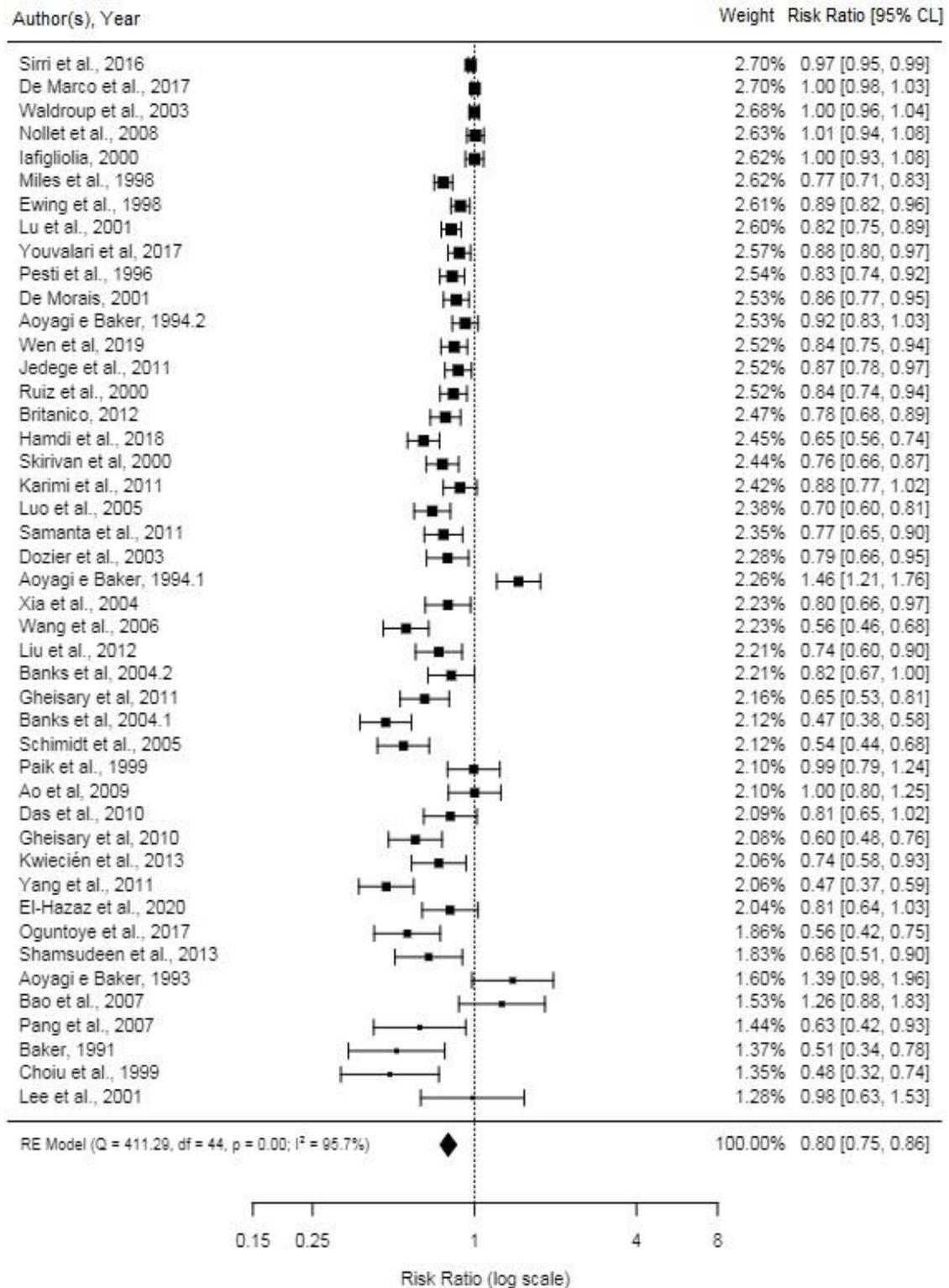
SAUVANT, D. *et al.* Review: Use and misuse of meta-analysis in Animal Science. **Animal**, v. 14, p. 207–222, 2020.

SHAMSUDEEN, P.; SHRIVASTAVA, H.; RAMSINGH. Biointeraction of Chelated and Inorganic Copper with Aflatoxin on Growth Performance of Broiler Chicken. **International Journal of Veterinary Science**, v. 2, n. 3, p. 106–110, 2013.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014.

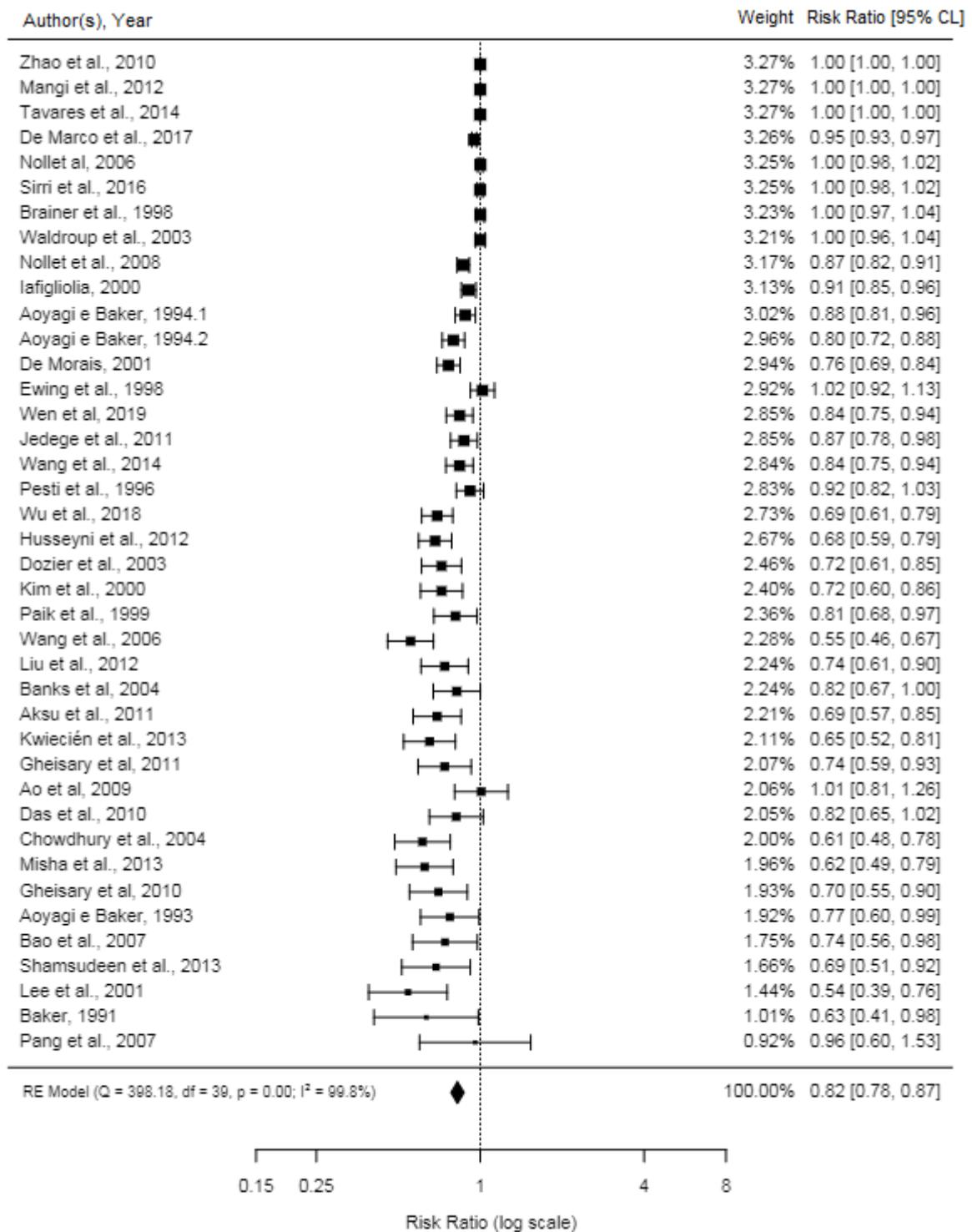
WESTPHALEN, F. **Ectomicorrização e composto de água residuária de suinocultura no crescimento de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. cultivada em solo contaminado com cobre.** 2019 . Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria; 2019.

Figura 7: Forest plot da comparação do efeito do cobre inorgânico em relação à dieta basal, sobre o ganho de peso, em frangos de corte.



Fonte: O autor

Figura 8: Forest plot da comparação do efeito do cobre orgânico em relação à dieta basal, sobre o ganho de peso, em frangos de corte.



Fonte: O autor