

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE IODO EM VACAS LEITEIRAS NO RIO  
GRANDE DO SUL E FATORES ASSOCIADOS**

**Laura Victoria Quishpe Contreras**

**Porto Alegre**

**2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE IODO EM VACAS LEITEIRAS NO RIO  
GRANDE DO SUL E FATORES ASSOCIADOS**

**Autor:** Laura Victoria Quishpe Contreras

Dissertação apresentada como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Veterinárias

**Orientador:** Félix González

**Porto Alegre**

**2020**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e financiado pelo Fundo de incentivo à pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) Porto Alegre, Brasil.

#### CIP - Catalogação na Publicação

Contreras, Laura Victoria Quishpe  
Prevalência de deficiência de iodo em vacas  
leiteiras no Rio Grande do Sul e fatores associados /  
Laura Victoria Quishpe Contreras. -- 2020.  
58 f.  
Orientador: Félix Hilario Diaz González.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa  
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto  
Alegre, BR-RS, 2020.

1. Iodo. 2. Urina. 3. Bovinos. 4. Sandell-Kolthoff.  
5. Deficiência. I. González, Félix Hilario Diaz,  
orient. II. Título.

Laura Victoria Quishpe Contreras

PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE IODO EM VACAS LEITEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL E FATORES ASSOCIADOS

Aprovado em 28 de março de 2020

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Félix González

Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Carlos Bondan (Universidade de Passo Fundo)

Membro da Comissão

---

Prof. Dra. Marta Leal (Universidade Federal de Santa Maria)

Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Sérgio Ceroni da Silva (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Membro da Comissão

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, meu mais grande apoio, e em especial à minha mãe, exemplo de disciplina e perseverança.

Aos meus amigos, na Colômbia e no Brasil, que têm acreditado nas minhas capacidades e têm me motivado a perseguir os meus sonhos.

Ao professor Félix, meu mentor desde a graduação, quando abriu para mim as portas do mundo da bioquímica clínica veterinária, orientando os passos dessa aluna de graduação interessada pela endocrinologia e metabolismo que hoje aspira se tornar mestre.

À professora Tânia Weber Furlanetto pela imensurável ajuda no desenvolvimento da técnica e me ensinar a me puxar em direção à excelência para obter os melhores resultados.

Aos produtores Amantino, Rafael Felini e Felipe Secco, à colega e produtora Liliane Zanetta, e aos colegas da Universidade de Passo Fundo, que não mediram esforços em me auxiliar nas diferentes fases da pesquisa. Aos membros da Unidade de Pesquisa Laboratorial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), por disponibilizar sempre os equipamentos e instalações para a execução do meu projeto.

À equipe do LACVET, em cabeça da professora Stella, por tantos aprendizados e apoio ao longo destes anos.

À Alexandra Elbakyan. Obrigada por tornar o mundo acadêmico mais acessível.

À educação pública, acessível e de qualidade, para que cada vez esteja mais fortalecida e continue transformando as realidades das pessoas e os países.

**“All we have to decide is what to do with the time that is given us.”**

**— J.R.R. Tolkien. *The Fellowship of the Ring*.**

# **PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE IODO EM VACAS LEITEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL E FATORES ASSOCIADOS**

Autor: Laura Victoria Quishpe Contreras

Orientador: Félix González

## **RESUMO**

O iodo é um mineral essencial no metabolismo dos animais, e a sua deficiência em humanos tem sido amplamente estudada mundialmente, devido aos efeitos deletérios que produz no desenvolvimento físico e cognitivo dos indivíduos. Em contraste, os estudos sobre o status de iodo nos demais mamíferos são escassos, desconhecendo dados atualizados em relação à prevalência de deficiência ou possível excesso de suplementação. Uma das principais fontes de suplementação de iodo na dieta das pessoas é o leite, além de seus produtos derivados. O presente estudo tem como objetivo realizar uma avaliação transversal no status de suficiência de iodo nos bovinos leiteiros do estado de Rio Grande do Sul, além de identificar fatores que possam influenciar nesses valores, tais como o tempo após o parto, estação do ano e uso de produtos iodados na rotina da ordenha. Foram coletadas 268 amostras de urina, de vacas de raça Holandesa em produção, provenientes de quatro fazendas do estado, nos meses de março e agosto. A concentração média de iodo na urina em ambas as estações foi superior a 10 µg/dL, concentração mínima estabelecida pela Organização Mundial da Saúde para definir status de suficiência, sendo 12,17 µg/dL no verão e 14,06 µg/dL no inverno. No entanto, a proporção de animais com deficiência leve foi de 31,5% e 28,26%, enquanto 9,45% e 2,9% apresentaram deficiência moderada em cada estação, respectivamente. Nenhum animal apresentou deficiência severa. A iodúria apresentou correlação com a estação do ano, sendo em média 1.9 µg/dL superior no inverno, mas não significativamente com a idade, número de partos e dias pós-parto dos animais avaliados.

**Palavras chave:** Urina, iodúria, World Health Organization, reação de Sandell Kolthoff, vacas Holstein

# PREVALENCE OF IODINE DEFICIENCY IN DAIRY CATTLE IN RIO GRANDE DO SUL AND ASSOCIATED FACTORS

Author: Laura Victoria Quishpe Contreras

Advisor: Félix González

## **ABSTRACT**

*Iodine is an essential mineral in the metabolism of animals, and its deficiency in humans has been widely studied worldwide, due to the harmful effects it produces on the physical and cognitive development of individuals. In contrast, studies on the status of iodine in other mammals are scarce, ignoring updated data in relation to the prevalence of deficiency or possible excess of supplementation. One of the main sources of iodine supplementation in people's diets is milk, in addition to its derived products. The present study aims to carry out a cross-sectional assessment of iodine sufficiency status in dairy cattle in the state of Rio Grande do Sul, in addition to identifying factors that may influence these values, such as time after calving, season and use of iodized products in the milking routine. A total of 268 bovine urine samples were collected from Holstein cows in production, from four farms in the state, during March and August. The average concentration of urinary iodine at both seasons was over 10 µg/dL, minimum concentration established by the World Health Organization to define sufficiency status, being 12.17 µg/dL in summer and 14.06 µg/dL in winter. Nevertheless, the proportion of animals with mild deficiency was 31.5% and 28.26%, while 9.45% and 2.9% presented moderate deficiency in each season respectively. None of the animals had severe deficiency. Ioduria was correlated with seasonality, being an average of 1.9 µg/dL higher in winter, but not significantly with age, number of deliveries and postpartum days of evaluated animals.*

**Keywords:** *Urine, ioduria, World Health Organization, Sandell Kolthoff reaction, Holstein cows*



## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

CEUA	Comissão de Ética no uso de Animais
GS	Glucosinolatos
I-	Iodeto
NIS	Simporter sódio-iodeto
IU	Iodo urinário
UI	Urinary iodine
UPF	Universidade de Passo Fundo
WHO	World Health Organization

## LISTA DE FIGURAS

- Figure 1** – Urinary iodine concentration ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) distribution in summer and winter. Percentage corresponding to each range is shown above each column. .... 422
- Figure 2** – Comparison of urinary iodine concentration of each farm in summer. Deficiency is considered when UI is below  $10 \mu\text{g}/\text{dL}$  (thick line). .... 444
- Figure 3** – Comparison of urinary iodine concentration of each farm in winter. Deficiency is considered when UI is below  $10 \mu\text{g}/\text{dL}$  (thick line). .... 444

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

<b>Tabela 1-</b> Iodo urinário (IU) em bovinos de leite suplementados com iodeto de potássio (KI), e grãos secos ou farelo de colza como fonte proteica (Franke, 2009). .....	20
<b>Tabela 2-</b> Iodo urinário em bovinos de leite suplementados com iodato de cálcio [Ca(IO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ], e grãos secos ou farelo de colza como fonte proteica (Franke, 2009). Dados mostrados como média ± desvio padrão. ....	200
<b>Tabela 3-</b> Critérios estabelecidos pela WHO para avaliar o status nutricional de iodo de acordo à mediana da concentração de iodo urinário (IU). ....	254
<b>Tabela 4-</b> Iodo urinário (IU) em bovinos leiteiros de acordo ao grau de suplementação (HERZIG et al., 1999). Os dados são mostrados como média ± desvio padrão. ....	25

### TABELAS ARTIGO

<b>Table 1–</b> Iodine recovery test after addition of 40 µg/dL solution to a 12 µg/dL iodine sample. ....	40
<b>Table 2–</b> Intra-assay and inter-assay coefficient of variation for three different iodine concentration. ....	40
<b>Table 3 –</b> Iodine supplementation and use of iodized disinfectants on each farm. ....	41
<b>Table 4–</b> Urinary iodine values (mean ± SD) from each farm in both seasons. ....	43
<b>Table 5 –</b> Animals characteristics at both seasons .....	423

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	16
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
<b>3.1 Iodo</b> .....	17
<b>3.2 Metabolismo do iodo nos ruminantes</b> .....	18
<b>3.3 Deficiência de iodo</b> .....	19
<b>3.4 Intoxicação por iodo</b> .....	23
<b>3.5 Testes diagnósticos para avaliação da suficiência de iodo</b> .....	24
<b>3.6 Técnicas de dosagem da iodúria</b> .....	27
<b>3.7 Importância da suficiência de iodo nos bovinos leiteiros na saúde pública</b> .....	28
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
<b>4.1 Animais e período de estudo</b> .....	31
<b>4.2 Coleta e processamento das amostras</b> .....	32
<b>4.3 Determinações de iodo urinário</b> .....	32
<b>4.3.1 Equipamentos e local</b> .....	32
<b>4.3.2 Reagentes</b> .....	33
<b>4.3.3 Curva padrão e controle interno</b> .....	33
<b>4.3.4 Técnica experimental</b> .....	33
<b>4.4 Análise estatística</b> .....	34
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	50
<b>REFERENCIAS</b> .....	51
<b>ANEXO A</b> .....	58

## 1. INTRODUÇÃO

O iodo é um micronutriente essencial para os animais vertebrados, necessário para a biossíntese de hormônios tireoidianos. Na forma de iodeto (I<sup>-</sup>) é captado pela glândula tireoide para síntese da triiodotironina (T3) e tetraiodotironina ou tiroxina (T4). Estes hormônios, especialmente a T3, participam no desenvolvimento dos indivíduos jovens, e na reprodução e regulação dos processos metabólicos nos adultos, atuando em diferentes células do organismo, principalmente no cérebro, tecido adiposo, musculo esquelético, fígado e pâncreas (DE LA VIEJA & SANTIESTEBAN, 2018; BILEK & ZAMRAZIL, 2009; MULLUR et al., 2014).

A deficiência de iodo em ruminantes tem sido associada a problemas reprodutivos como natimortos e bezerros fracos, que apresentam evidente aumento no volume e peso da glândula tireoide, ultrapassando 30 g (CABELL, 2007). A deficiência ocorre por baixo conteúdo de iodo na dieta, podendo acontecer também de maneira secundária devido a dietas com altas concentrações de cálcio ou consumo de forragens da espécie *Brassica* (TRIPATHI & MISHRA, 2017).

Historicamente tem se teorizado que os bovinos apresentam menores requerimentos de iodo do que os humanos, ideia que tem sido reforçada pela aparente ausência de sinais clínicos associados a bócio clínico em bovinos enquanto eram evidentes em humanos que moravam na mesma área geográfica (TOKARNIA et al., 2000). A quantidade recomendada de iodo que deve ser consumida está bem estabelecida em humanos, e varia de acordo com o grupo etário. A Organização Mundial da Saúde (WHO) recomenda o consumo de 150 µg/dia de iodo em adultos e adolescentes acima de 12 anos, 120 µg/dia para crianças de 6 a 12 anos, 90 µg/dia para crianças menores de 59 meses, e 250 µg/dia para mulheres grávidas ou lactantes (WHO, 2007). Apesar que os requerimentos mínimos para ruminantes também tem sido estabelecidos, a ausência de normatividades em torno à suplementação podem levar a um excesso de consumo, bem como deficiência quando sal branco ou grosso não iodado é acrescentado ao sal mineral, diminuindo a quantidade final de iodo consumido pelos bovinos (MARTINS et al., 2018).

A deficiência de iodo nos bovinos leiteiros pode ter grandes implicações, além da saúde e desempenho dos rebanhos, influenciando na saúde pública e na nutrição humana. No início do século XXI, a deficiência de iodo em humanos foi observada em 118 países, principalmente na Europa (VITTI et al., 2001), o que demonstrou a importância da suplementação deste micronutriente na dieta das pessoas, principalmente mediante o uso do sal, e em menor medida, mediante os alimentos derivados do leite.

A ingestão excessiva de sal tem sido associada a diversas doenças cardiovasculares como hipertensão, hipertrofia ventricular esquerda, acidente cerebrovascular entre outros (BALDO et al., 2015), e nos últimos anos tem sido realizado um esforço significativo por parte de múltiplas organizações de saúde para diminuir o consumo de sal na população. Consequentemente, o leite e os seus produtos derivados tornaram-se uma fonte de suplementação de iodo cada dia mais importante. No entanto, os teores de iodo no leite apresentam variações significativas, de acordo com o status metabólico dos bovinos, o qual é dependente da quantidade do iodo no solo, sistema de produção, suplementação, estações do ano, substâncias desinfetantes a base de iodo na rotina de ordenho e o processamento do leite (CRNKIĆ et al., 2015; WALTHER et al., 2018).

Pesquisas realizadas na Europa evidenciaram a importância do monitoramento do status do iodo nos bovinos, e revelaram que a excreção de iodo no leite apresenta uma grande variabilidade, com níveis de 33 até 534 µg/L (VAN DER REIJDEN et al., 2017). É importante que se reduza essa variabilidade para evitar deficiência e também o risco de consumo excessivo de iodo na população, o que poderia predispor a tireoidite autoimune (LUO et al., 2014).

A avaliação de suficiência de iodo em indivíduos e populações é realizada mediante aferição da fração excretada na urina, determinando assim a concentração de iodo urinário (IU). Nos estudos realizados em animais são utilizados os mesmos parâmetros de suficiência determinados para seres humanos pela WHO. De acordo com estes, considera-se suficiência quando a média de iodo urinário da população encontra-se entre 100 µg/L e 299 µg/L, com um máximo permitido de 20% da população abaixo de 50 µg/L. No caso das mulheres grávidas, concentrações entre 150 µg/L e 249 µg/L consideram-se adequadas (WHO, 2007).

Apesar da deficiência de iodo nos bovinos ter sido reconhecida como altamente prevalente em algumas regiões do planeta, atingindo até 35,9% das populações estudadas (RANDHAWA & RANDHAWA, 2001) não há trabalhos a esse respeito no Brasil, embora ainda existam populações humanas apresentando deficiência deste mineral (DORNELLES & SELBACH, 2018).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Determinar a prevalência de deficiência de iodo na população de bovinos leiteiros da Bacia do Planalto, no estado de Rio Grande do Sul.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Padronizar a técnica colorimétrica usando a reação de Sandell-Kolthoff e persulfato de amônio como agente digestor para determinação de iodúria em amostras de urina bovina.
- Avaliar se fatores como a idade, tempo pós-parto ou uso de produtos iodados na rotina de ordenha são influenciadores da concentração de iodo urinário.



### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Iodo

O iodo (I) é um microelemento essencial para a síntese dos hormônios tireoidianos em todos os mamíferos. No meio ambiente, a maioria do iodo encontra-se nos oceanos (concentração média de 50 µg/L). Mundialmente, a distribuição do iodo nos solos não é homogênea, havendo regiões geográficas nas quais as populações humanas e animais que as habitam possuem um maior risco de deficiência por causa do baixo conteúdo deste mineral nos alimentos. Regiões de formação montanhosa onde historicamente houve glaciação, como Himalaia, Andes e Alpes, com excessiva lixiviação de neve e chuvas fortes, ou frequente alagamento, como nas bacias hidrográficas do Mekong e do Ganges, produzem cultivos com baixo teor de iodo que influem negativamente na cadeia alimentar inteira (WHO 2007; ESTEVES et al., 2007).

Usando uma base de dados que continha 2.262 registros mundiais, Johnson (2003) identificou o conteúdo de iodo de acordo com o tipo de solo. O solo classificado como turfa apresentou a maior concentração média de iodo (7 µg/g) seguido de argila (4,37 µg/g), lodo (3,0 µg/g) e finalmente areia (2,2 µg/g). Tanto lodo como areia são solos com alto conteúdo de quartzo, que pela sua vez, é pobre em iodo. Os solos de argila são ricos em minerais secundários derivados de silicatos, que têm a capacidade de reter iodo por meio de adsorção e absorção, porém, a capacidade de retenção de iodo nos minerais argilosos é ainda debatida (JOHNSON, 2003). A grande capacidade de fixação de iodo que tem a matéria orgânica explica o alto conteúdo deste mineral no solo classificado como turfa.

Diferentes estudos têm demonstrado que o iodo é potencialmente fitotóxico, e as plantas volatilizam ele em formato de iodometano (CH<sub>3</sub>I) como um possível mecanismo de detoxificação (SAINI et al., 1995; REDEKER et al., 2004), da mesma maneira que os fungos (BAN-NAI et al., 2006). Em solos sem adição de iodo, as plantas podem ter valores muito baixos, inferiores a 1 ppm (FUGE & JOHNSON, 2015), e em termos produtivos, plantas crescendo em solos deficientes de iodo têm < 10 µg/kg de matéria seca (MS), enquanto plantas em solos ricos em iodo podem ter 100 vezes mais do elemento (1 mg/kg de MS).

Após a captação do iodo pela raiz, a distribuição do mineral pode variar de acordo com o tipo de planta. Em alguns casos, fica acumulado na raiz, encontrando-se em concentrações até três ou quatro vezes superiores do que nas partes superficiais (TSUKADA et al., 2008; KOROBOVA, 2010), em outros, a translocação do iodo aos talos e folhas pode atingir até o 80% (WENG et al., 2006). As plantas também podem fixar o iodo que se encontra volatilizado no ar e redistribuí-lo translocando-o a outras estruturas (COLLINS et al., 2004; TSCHIERSCH et al., 2009). É importante considerar que iodo fixado a partículas no ar, que não é fixado pelas plantas, pode ficar na sua superfície, tornando-se mais uma fonte de iodo para os animais herbívoros, como já foi demonstrado por Zvonova e colaboradores (2009) ao identificar  $^{131}\text{I}$  no leite de bovinos que pastejavam em áreas próximas de acidentes nucleares.

### **3.2 Metabolismo do iodo nos ruminantes**

O iodo é obtido a partir da dieta. Entre 70-80% do iodo ingerido é diretamente absorvido no rúmen, dependendo da solubilidade da forma química do iodo no líquido ruminal. Em torno de 10% é absorvido no omaso. O abomaso faz parte do mecanismo de “reciclagem” de iodo, mobilizando-o desde o espaço intravascular para o extravascular, diminuindo a quantidade filtrada pelos rins e suscetível a ser excretada pela urina. A taxa de secreção abomasal é até 18 vezes a taxa de absorção. Não obstante, o iodo excretado pelo abomaso é reabsorvido no intestino delgado. Diferente aos humanos, nos bovinos a fração de excreção urinária é de 40%, enquanto 30% é excretado nas fezes e ao redor do 8% no leite. Este último encontra-se influenciado também pelo estágio de lactação, função tireóidea da vaca, entre outros fatores (MILLER et al., 1975).

O transporte do iodeto ao interior da tireoide é possível pela ação do simporter sódio-iodeto, (NIS pelas suas siglas em inglês). O NIS é uma proteína transmembranar localizada na membrana basolateral das células foliculares. O iodeto ( $\text{I}^-$ ) é transportado até o lúmen do folículo pela ação de um transportador  $\text{Cl}/\text{I}$ , onde a oxidação para  $\text{I}_2$  é catalisada pela enzima tireoperoxidase, permitindo a iodação da tireoglobulina e consequente formação de mono e diiodotirosina (LUO et al., 2014).

O requerimento de iodo nos animais varia de 0,15 a 0,60 mg/kg MS, estimando-se que em vacas leiteiras a necessidade seja de 0,5 a 1,5 mg/kg MS (FLACHOWSKY, 2007; SCHÖNE et al., 2009). A quantidade de iodo incorporada nos hormônios tireoidianos varia de acordo com a idade e estado reprodutivo do animal. No caso dos bezerros é de 0,4 mg/dia, nas vacas gestantes 1,5 mg/dia, e nas vacas em lactação de 4 até 4,5 mg/dia. Isto, somado à elevada concentração de tiroxina livre nas vacas de alta produção (até o dobro do valor de referência para outros bovinos), justifica uma estrita suplementação e monitoramento dos níveis de iodo nesta população (NRC, 2001).

Nos humanos, o iodo é excretado principalmente pela urina (90%) e depois pelo leite (10%), sendo mínima a fração excretada pelas fezes. Mesmo que a fração excretada na urina seja inferior em ruminantes, o iodo urinário é o indicador decisivo do status de iodo (HERZIG et al., 2003). A concentração de iodo urinário é proporcional à concentração de iodo plasmático não ligado a proteínas. Pode ser reabsorvido nos túbulos e, em menor proporção, nas paredes da bexiga. Nos casos de perda excessiva pela urina, o abomaso atua como reservatório para normalizar os níveis de iodo no plasma (MILLER et al., 1975).

### **3.3 Deficiência de iodo**

Os principais sinais clínicos associados à deficiência de iodo nos ruminantes são principalmente reprodutivos, encontrando-se redução da libido, menor qualidade espermática nos machos, e diminuição da taxa de prenhez (*repeat breeder*) nas fêmeas. É também uma das principais causas nutricionais de abortos, natimortos e retenção de membranas fetais (CABELL, 2007). A deficiência de iodo nas vacas gestantes pode repercutir na saúde dos bezerros, que podem apresentar aumento do tamanho da tireoide, alopecia, cegueira, debilidade e dificuldade para mamar, podendo diminuir o consumo de colostro.

A presença de glicosinolatos (GS) é um fator que interfere negativamente com a obtenção de iodo na dieta, tanto em ruminantes como em outras espécies, como suínos e lagomorfos. Os GS são metabolitos secundários presentes nas plantas do gênero *Brassica*, inativas biologicamente, sendo os produtos de degradação aqueles que exercem a ação biológica nos animais. Consumo prolongado destes produzem aumento na concentração

plasmática de tiocianato e diminuição na concentração da tiroxina, além de promover alterações a nível histológico da glândula tireoide, motivo pelo qual recomenda-se que o consumo diário não exceda 11  $\mu\text{mol/g}$  (TRIPATHI & MISHRA, 2007).

O uso de farelos contendo GS como fonte proteica (por exemplo, o farelo de colza) incrementa a eliminação urinária de iodo em animais suplementados com iodeto de potássio ou iodato de cálcio, em comparação com outras fontes proteicas, como grãos secos, conforme observou-se no estudo de Franke et al. (2009; Tabelas 1 e 2). A deficiência de iodo em bovinos diminuiu a produção de leite e o crescimento dos animais e afetou negativamente a reprodução, principalmente causando bloqueio do ciclo estral, diminuindo a intensidade do estro e a taxa de concepção e aumentando a mortalidade perinatal (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999; MCDOWELL, 2003).

Tabela 1- Iodo urinário (IU) em bovinos de leite suplementados com iodeto de potássio (KI), e grãos secos ou farelo de colza como fonte proteica (Franke, 2009). Dados mostrados como média  $\pm$ desvio padrão.

KI (mg/kg MS)	Iodo urinário ( $\mu\text{g/L}$ )	
	Grãos secos	Farelo de colza
0	54 $\pm$ 12	97 $\pm$ 9
0,5	202 $\pm$ 39	249 $\pm$ 27
1	366 $\pm$ 30	606 $\pm$ 76
2	931 $\pm$ 178	1.017 $\pm$ 95
3	931 $\pm$ 178	1.608 $\pm$ 173
4	1.098 $\pm$ 146	1.551 $\pm$ 144
5	1.134 $\pm$ 283	2.341 $\pm$ 189

Tabela 2- Iodo urinário em bovinos de leite suplementados com iodato de cálcio [ $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2$ ], e grãos secos ou farelo de colza como fonte proteica (Franke, 2009). Dados mostrados como média  $\pm$ desvio padrão.

$\text{Ca}(\text{IO}_3)_2$ (mg/kg MS)	Iodo urinário ( $\mu\text{g/L}$ )	
	Grãos secos	Farelo de colza
0	117 $\pm$ 20	120 $\pm$ 13
0,5	188 $\pm$ 17	225 $\pm$ 33

1	270 ± 43	725 ± 205
2	448 ± 4	888 ± 46
3	1.124 ± 234	1.422 ± 112
4	1.542 ± 229	2.372 ± 306
5	1.020 ± 123	2.513 ± 172

Outro composto potencialmente bociogênico é o perclorato, que tem sido identificado em produtos de alfafa e, em menor proporção, na água de bebida. O perclorato é um ânion que exerce inibição competitiva no NIS, diminuindo o transporte de iodo ao interior da tireoide (LEUNG et al., 2010). A concentração de perclorato no leite está diretamente relacionada com a quantidade ingerida, porém, ao redor de 80% da quantidade consumida pelo bovino é metabolizada, principalmente no rúmen, diminuindo o risco ao consumidor (CAPUCO et al., 2005). Não obstante, os efeitos do perclorato na saúde das vacas leiteiras e os bezerros não têm sido estudados.

O tratamento para controlar a deficiência de iodo é a suplementação na dieta. Atualmente, recomenda-se a suplementação de 0,45 mg de iodo mg/kg MS para vacas em lactação e 0,33 mg/kg MS para vacas que não estão em lactação (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001). O efeito das dietas sem suplementação de iodo foi explorado em modelos experimentais. Vacas gestantes que receberam essas dietas durante um mês não apresentaram sinais clínicos evidentes e mantiveram concentrações de T4 dentro de valores de referência. Porém, tanto elas quanto os seus bezerros neonatos apresentaram diminuição na concentração de iodo na glândula tireoide e no plasma, além de menor concentração de iodo no leite das vacas adultas quando comparadas com bovinos alimentados com dietas suplementadas com  $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2$ . Além disso, houve um incremento de 10-12 vezes na atividade da iodotironina deiodase e incremento na atividade da glutathion peroxidase tireóidea, sendo de duas vezes nos adultos e quatro vezes nos neonatos (ZAGRODZKI et al., 1998). Em outro estudo de reprodução experimental da deficiência de iodo em vacas gestantes, demonstrou-se que, mesmo alimentando-as com dietas deficientes de iodo durante os últimos 4–5 meses de gestação, os bezerros nasceram clinicamente saudáveis, manifestando alterações clínico-patológicas unicamente na glândula tireoide (MCCOY et al., 1997).

O efeito da suplementação de iodo também tem sido explorado em bovinos de corte. De acordo com os lineamentos da União Europeia, o limite superior de suplementação para esses animais é de 10 mg/kg MS. Experimentalmente demonstrou-se que o nível de suplementação com Ca (IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> não teve correlação com o consumo de matéria seca, ganho de peso diário nem rendimento da carcaça, sendo inclusive, o grupo com a suplementação mais alta (10 mg/kg MS), aquele que teve o menor ganho de peso por dia (MEYER et al., 2008).

A deficiência de iodo em ruminantes é um fenômeno que tem sido relatado em diferentes países da América do Sul. No Brasil há relatos de bócio no estado de Mato Grosso, sendo relatados três surtos nos quais houve manifestação clínica da deficiência principalmente em bezerros (MARTINS et al., 2018). No estado de Rio Grande do Sul a concentração média de tiroxina total sérica mensurada em bovinos de corte foi de  $44,2 \pm 15,4$  nmol/L (VALLE et al., 2003), sendo inferior ao valor de referência reportado na literatura de 54 a 110 nmol/L (KANEKO et al., 2008), o que sugere possível deficiência marginal de iodo na população bovina do estado. No noroeste argentino, Micheloud e colaboradores (2019) relataram três surtos de deficiência de iodo em bovinos caracterizados por bezerros natimortos ou que morreram poucas horas após o parto. Na necropsia observaram-se achados compatíveis com bócio congênito, enquanto nenhuma das mães manifestou sinais clínicos associados à deficiência de iodo.

### 3.4 Intoxicação por iodo

Quando há um aumento súbito na ingestão de iodo, acontece um processo regulatório que diminui a produção de hormônios tireoidianos, conhecido como o fenômeno “Wolff-Chaikoff”. Este fenômeno involucra tanto o transporte de iodeto quanto as reações de iodação. Os mecanismos que têm sido propostos envolvem a síntese de substâncias inibitórias da atividade da tireoperoxidase (tais como iodoaldeídos, iodolipídeos ou iodolactonas intratireoidianas), a diminuição da atividade de deiodase ao interior da glândula tireoide e a inibição da expressão do NIS, esta última acontecendo 24 horas depois da sobre-exposição (NRC, 2005; LEUNG & BRAVERMAN, 2014).

A intoxicação por excesso de iodo é pouco frequente, já que a dose necessária para manifestação de sinais clínicos associados a toxicidade é bem mais alta em ruminantes do que em humanos (PAULÍKOVÁ et al., 2002). As causas que possibilitam a intoxicação têm sido identificadas, tanto em condições experimentais quanto em campo e incluem consumo de dieta com suplementação excessiva, suplementos minerais formulados inadequadamente e uso prolongado de produtos iodados no tratamento e prevenção de doenças respiratórias, pododermatite infecciosa, actinomicose, mastite e inclusive de infertilidade (PAULÍKOVÁ et al., 2002).

Em bovinos adultos, a intoxicação por iodo tem sido reportada após ingestão superior a 50 mg/kg MS, tendo como sinais clínicos tosse, lacrimejamento e secreção nasal em adultos, enquanto os neonatos nascidos de vacas deficientes apresentam hiperplasia da glândula tireoide (TROEDSSON & CHRISTENSEN, 2015). Bezerros são mais suscetíveis à intoxicação, apresentando sinais clínicos de marcados a moderados ao consumir diariamente 2,2 e 0,4 mg de iodo por kg de peso vivo respectivamente. Clinicamente, além dos sinais clínicos da intoxicação em adultos, os bezerros podem apresentar dermatite seborreica seca, principalmente na cabeça e no pescoço. Geralmente a redução do excesso de iodo leva à resolução dos sinais clínicos (BLOWEY & WEAVER, 2011). Alguns autores relatam que concentrações de iodo iguais ou superiores a 10 mg/kg de peso vivo administradas de maneira crônica levam a intoxicação fatal (PAULÍKOVÁ et al., 2002) enquanto o NRC (2005) indica que, mesmo que os bovinos conseguem tolerar níveis de até 50 mg/kg, a elevação de iodo no leite é um risco para os humanos. Devido à baixa

especificidade dos sinais clínicos da intoxicação, a literatura sugere considerar como diagnósticos diferenciais infestação por ectoparasitas (especialmente piolhos), dermatofitose por fungos do gênero *Dermatophitus* ou *Tricophyton*, e linfossarcoma cutâneo (BLOWEY & WEAVER, 2011).

### **3.5 Testes diagnósticos para avaliação da suficiência de iodo**

Diferentes testes têm sido propostos para avaliar o status de suficiência ou deficiência de iodo nas populações animais e humanas. Alguns destes pretendem avaliar a concentração de iodo nos tecidos e fluidos de maneira direta ou indireta, enquanto outros procuram associar outros parâmetros bioquímicos, anatômicos e histopatológicos.

O teor de iodo no soro não é tão bom indicador do status de iodo quanto o urinário. Portanto, o padrão-ouro estabelecido em humanos é a medição de iodo urinário (UI) excretado em 24 horas, prática que se torna pouco viável na medicina veterinária. Um estudo realizado em humanos adultos comparou os resultados obtidos em coletas de 24 horas e coletas nos intervalos alimentares, e demonstrou que a excreção de iodo à tarde refletia melhor a excreção em 24 h (VANACOR, 2007).

Em humanos, a WHO (2007) estabeleceu diferentes níveis de suficiência de acordo com a concentração de iodo presente na urina (Tabela 3). Em bovinos considera-se que uma concentração de iodo menor que 100 µg/L na urina e 20 µg/L no leite é indicativa de deficiência (HERZIG et al., 1999). Herzig e colaboradores (1996) determinaram a concentração de iodo urinário em 672 vacas leiteiras de 22 rebanhos da República Tcheca, tendo observado uma deficiência moderada de iodo em 69% das vacas amostradas, o que significa uma iodúria média inferior a 100 µg/dL, conforme a classificação do Conselho Internacional para o Controle de Deficiência de Iodo (ICCIDD) em humanos. A concentração média de iodo urinário foi de 94,8 µg/L, sem encontrar diferenças entre as fases da lactação nem entre as estações do ano. Não existem dados sobre estas informações em vacas leiteiras no Brasil.



Tabela 3 - Critérios estabelecidos pela WHO para avaliar o status nutricional de iodo em humanos de acordo com a mediana da concentração de iodo urinário (IU).

Mediana de IU ( $\mu\text{g/L}$ )	Ingestão de iodo	Status nutricional de iodo
< 20	Insuficiente	Deficiência severa de iodo
20 – 49	Insuficiente	Deficiência moderada de iodo
50 – 99	Insuficiente	Deficiência leve de iodo
100 – 199	Adequada	Ideal
200 – 299	Mais do que adequada	Risco de hipertireoidismo Risco de consequências adversas
> 300	Excessiva	(hipertireoidismo iodo-induzido, doenças autoimunes da tireoide)

Em outro trabalho realizado na República Tcheca, Herzig et al. (1999) encontraram concentrações de iodo na urina de  $44 \pm 8,3 \mu\text{g/L}$  em vacas sem suplementação de iodo na ração. Quando foi fornecida suplementação de iodo na forma de iodeto de K e de etilenodiamino-diiodeto (EDDI) numa proporção equivalente a 33% dos requerimentos diários, a iodúria aumentou para  $108 \pm 5,8$  e  $98 \pm 49,1 \mu\text{g/L}$ , respectivamente. Ao fornecer 66% do requerimento, a iodúria foi de  $154 \pm 6,3$  e  $157 \pm 2,5 \mu\text{g/L}$ , e finalmente, de  $321 \pm 88,3$  e  $346 \pm 78,2 \mu\text{g/L}$ , quando se forneceu 100% dos requerimentos diários de iodo (Tabela 4).

Tabela 4 - Iodo urinário (IU) em bovinos leiteiros de acordo ao grau de suplementação (HERZIG et al., 1999). Os dados são mostrados como média  $\pm$  desvio padrão.

IU ( $\mu\text{g/L}$ )	Suplementação	Consumo de iodo	Status de iodo
$44 \pm 83$	Sem suplementação	Inadequado	Deficiência
$108 \pm 5,8$	KI (33% RD)	Inadequado	Deficiência leve
$98 \pm 49,1$	EDDI (33% RD)	Inadequado	Deficiência leve
$154 \pm 6,3$	KI (66% RD)	Adequado	Adequado
$157 \pm 2,5$	EDDI (66% RD)	Adequado	Adequado
$321 \pm 88$	KI (100% RD)	Adequado	Adequado

346 ± 78,2	EDDI (100% RD)	Adequado	Adequado
------------	----------------	----------	----------

---

RD: Requerimento diário.

Norouzian (2010) encontrou em vacas leiteiras sem suplementação de iodo valores médios de iodo de 167 µg/L, 79,1 µg/L, 162 µg/L e 101 µg/L no plasma, na urina, no leite cru e no leite pasteurizado respectivamente. A pasteurização provocou uma queda de 27% na concentração de iodo em relação ao leite cru. Suplementando iodo com 2,5 a 7,5 ppm na dieta, os valores de iodo nos fluidos biológicos aumentaram em torno de 4 vezes, sendo maior o aumento na urina (7 vezes) do que no leite (3 vezes) e no plasma (2 vezes). A correlação direta entre a suplementação com blocos de sal iodados e concentração de iodo no leite também foi descrita por Śliwiński e colaboradores (2015), não obstante, neste estudo não houve diferença estatisticamente significativa no iodo plasmático dos bovinos que consumiram os blocos com diferentes concentrações de iodo.

A concentração de iodo no leite tem se tornado um tema de pesquisa importante na saúde pública em países onde a população tende a ser deficiente neste mineral. Na Alemanha, os derivados lácteos fornecem mais de 40% dos requerimentos de ingestão de iodo, enquanto em países como a Noruega esse número pode aumentar, cobrindo entre 50 a 60% dos requerimentos nos adultos e até 70% nas crianças (KÖHLER et al., 2012; ODLAND, 2016). A avaliação do iodo urinário pode ser uma excelente ferramenta para avaliar o status metabólico dos rebanhos para evitar deficiências que diminuam a excreção de iodo no leite. Porém, o alto consumo de substâncias bociogênicas (tiocianatos ou glucosinolatos) e a deficiência de selênio aumentam a eliminação de iodo pela urina e diminuem a excreção de iodo no leite, o que pode levar a falsas interpretações ao analisar esses fluidos (SCHMMEMAN, 2015).

A avaliação dos hormônios tireoidianos é fundamental no estudo do status metabólico dos bovinos leiteiros, especialmente no período de transição, que corresponde às últimas três semanas da gestação e três primeiras pós-parto, e caracteriza-se pelo balanço energético negativo derivado da produção de leite. Um estudo desenvolvido com bovinos mestiços (F1 *Bos taurus* x *Bos indicus*) não mostrou diferença significativa nos níveis de TSH entre machos e fêmeas não gestantes nem nos primeiros três meses de lactação, enquanto houve diferença significativa nos níveis de T4 livre, que era superior nas fêmeas de menos de 18 meses e machos de mais de 18 meses. Fatores como o grau de suplementação e a temperatura

ambiental podem influir nestes valores (OSORIO & VINASCO, 2016). Neste estudo, os hormônios foram dosados utilizando kits para humanos e validando-os para o seu uso em bovinos.

Num estudo desenvolvido por Djoković et al. (2010) observou-se que vacas com cetose apresentavam baixas concentrações de T3 e T4 total antes e depois do parto, quando comparadas com vacas sadias que também estavam no período de transição. Altas concentrações de ácidos graxos livres podem inibir a atividade da 5-deiodase hepática tipo 1, que também pode diminuir em estados deficitários de selênio. No início da lactação, os níveis de T4 e T3 tendem a diminuir, e existe uma correlação inversa estatisticamente significativa entre a deiodase hepática e a mamária, que aumenta sua atividade. Demonstrou-se também que existe uma correlação significativa entre a concentração de T4 e a produção de leite (PEZZI et al., 2003; FIORE et al., 2015).

### **3.6 Técnicas de dosagem da iodúria**

O avanço da tecnologia tem permitido o desenvolvimento de técnicas sofisticadas e de alta confiabilidade, capazes de processar um volume considerável de amostras em relativamente pouco tempo. Porém, algumas destas requerem aparelhos e reagentes caros, o que faz com que, nos países em desenvolvimento, prefiram-se técnicas mais baratas que, mesmo assim, ofereçam resultados confiáveis.

A estabilidade do iodo não tem sido estudada em animais. Não obstante, em amostras de urina humanas armazenadas a  $-22^{\circ}\text{C}$  demonstrou-se que a concentração de iodo permaneceu estável por até 15 anos (REMER et al., 2014). Caso uma única amostra de urina seja coletada e precise ser realizada urinálise em conjunto, sugere-se separar uma alíquota para aferição de iodo. Isto deve-se a que as fitas para avaliação bioquímica da urina são fontes de contaminação com iodo quando submergidas na amostra (PEARCE et al, 2009).

A espectrometria de massa por plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é considerado o método de referência pelos Centros de Controle e Prevenção de Doença (CDC) mas requer destreza técnica avançada e a sua implementação é custosa (JOOSTE & STRYDOM, 2010; HAAP et al., 2017). A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é

um método caro, porém, tem a vantagem de permitir o processamento de um número grande de amostras com alta precisão nos resultados e pouca intervenção por parte do técnico (JOOSTE & STRYDOM, 2010).

Para estudos epidemiológicos, a WHO recomenda a técnica baseada na reação de Sandell-Kolthoff. Primeiramente descrita em 1937, é ainda utilizada em numerosos laboratórios para mensuração de iodo em diversas amostras, incluindo urina. A amostra precisa ser submetida primeiro a um processo de digestão que permita diminuir as substâncias interferentes. Historicamente, a digestão tem sido realizada com ácido perclórico, composto potencialmente explosivo que precisa de medidas de segurança para sua manipulação, como capela de exaustão, entre outros. Em 1996, Pino e colaboradores propuseram o persulfato de amônio como agente oxidante, sendo este mais seguro e tendo uma boa correlação com a técnica de digestão tradicional. A aplicação da técnica em microplaca permite analisar uma maior quantidade de amostras com confiabilidade (MILHORANSA et al., 2010). Porém, o persulfato de amônio tem sido validado apenas para análise de amostras de urina. Para avaliação indireta de iodo mediante a reação Sandell-Kolthoff em outras amostras biológicas, ainda deve ser usado o ácido perclórico.

Feita a digestão, a taxa de reação é mensurada pela redução dos íons  $Ce^{4+}$ , visualmente amarelados, a íons  $Ce^{3+}$ , transparentes, na presença de arsênico (SANDELL & KOLTHOFF, 1937).

### **3.7 Importância da suficiência de iodo nos bovinos leiteiros na saúde pública**

Considera-se que, nos humanos, a faixa entre a quantidade necessária para suprir os requerimentos de iodo e o excesso é relativamente pequena (1:2,5 – 3), sendo necessário conhecer os valores fornecidos deste microelemento nos alimentos consumidos pela população. Na Europa têm sido desenvolvidos estudos que pretendem regularizar o teor de iodo no leite, e identificar os múltiplos fatores no meio ambiente, na alimentação e manejo dos bovinos que podem levar a variações significativas no iodo fornecido aos consumidores. Como resultado, a *European Food Safety Authority* (EFSA) propôs a diminuição da suplementação de iodo nas vacas leiteiras em lactação, de 5 para 2 mg/kg total diário (FLACHOWSKY et al., 2014). De igual maneira comprovou-se que leite de origem vegetal

(soja, amêndoa, aveia entre outros) não fortificada, comercializada no Reino Unido, continha apenas 1,7% da concentração de iodo do leite de vaca (BATH et al., 2017), o que reforça a importância do leite bovino e seus derivados no aporte diário de iodo para os humanos.

Nas tabelas nutricionais de produtos alimentícios em diferentes países europeus indica-se que o conteúdo de iodo oscila entre 100 e 200 µg/L de leite (FLACHOWSKY, 2014), concordando com os resultados de um estudo interdisciplinar desenvolvido na Alemanha pelo Instituto de Nutrição Friedrich Schiller da Universidade de Jena, o Instituto de Agricultura Estadual de Turingia, e o Instituto de Nutrição Infantil Rheinische Friedrich Wilhelms da Universidade de Bonn (KÖHLER et al., 2012), onde foram realizadas amostragens nos mesmos mercados durante 4 anos, obtendo uma concentração média de iodo de  $122,0 \pm 36,8$  µg/L de leite. Porém, na República Tcheca têm se encontrado valores de até 489 µg/L, enquanto as tabelas nutricionais de alguns alimentos comercializados indicavam 20 - 60 µg/L de iodo no leite na sua composição.

É importante lembrar que a quantidade de iodo excretada no leite é um reflexo do status metabólico e nutricional do bovino, que pode apresentar variações fisiológicas pela fase de lactação ou pelas possíveis mudanças na alimentação ligadas à época do ano (quantidade de água, suplemento e qualidade da forragem). Outro dos fatores que influenciam a concentração de iodo no leite é a época do ano, fenômeno que tem sido identificado principalmente em países estacionais. Esta variação pode ser de discreta a significativa (SORIGUER et al., 2011; CRNKIĆ et al., 2015; O'KANE, 2018; STEVENSON, 2018; VAN DE KAMP, 2019).

Um estudo relacionado com essa possível variação foi desenvolvido pelo *Nutrition Innovation Center for Food and Health* da Universidade de Ulster e *The Dairy Council* da Irlanda do Norte, mostrou diferença significativa entre a concentração de iodo no leite produzido no verão e no outono, ressaltando a importância de identificar os fatores que podem levar às flutuações no consumo deste micronutriente nos humanos, sendo que o leite e seus derivados são a principal fonte nutricional de iodo no Reino Unido (O'KANE et al., 2018). Posteriormente Coneyworth e colaboradores (2020) observaram que o teor de iodo no leite era maior no inverno do que no verão, após amostrar 98 rebanhos em diferentes áreas do Reino Unido. Estes resultados são consistentes com vários estudos que têm sido

desenvolvidos desde a década de 1990 na Europa e nos Estados Unidos (LAMAND & TRESSOL, 1992; PENNINGTON, 1990; CRNKIĆ et al., 2015), embora os resultados tenham sido discrepantes em outros estudos (PAULIKOVA et al., 2008).

Além da suplementação, há outros fatores que contribuem à variabilidade na concentração de iodo no leite. Na primeira década dos anos 2000, na Austrália, observou-se diminuição de iodúria na população de determinadas áreas, quando comparada com níveis que demonstraram suficiência nos vinte anos precedentes. A concentração de iodo em amostras de leite coletadas nos anos 2001 e 2004 apresentaram valores extremamente flutuantes, de 60 até 412 µg/L. O uso de compostos iodados para antissepsia na rotina de ordenha era uma prática comum antigamente e, com o uso de substâncias não iodadas na atualidade, a consequente diminuição de iodo no leite poderia ser a causa da possível reaparição da deficiência na população humana (LI et al., 2006).

A associação entre suplementação, uso de desinfetantes iodados e concentração de iodo no leite também foi demonstrado por Flachowsky e colaboradores (2007), quando submeteram experimentalmente um grupo de bovinos a depleção de iodo na dieta após um período ingerindo a máxima concentração recomendada pela União Europeia. A concentração de iodo no leite diminuiu drasticamente, caindo desde 2.762 µg/kg para 90 µg/kg após duas semanas sem suplementação. Interessantemente, o uso de desinfetante iodado após a ordenha elevou a concentração de iodo no leite em 50 µg/kg aproximadamente.

Além do leite e seus derivados, os ovos também são outra fonte importante de iodo de origem animal. A carne de gado cobre uma quantidade mínima dos requerimentos nutricionais humanos diários, motivo pelo qual, a suplementação acima do nível recomendado pela União Europeia nos bovinos de corte não constitui um risco de ingestão excessiva de iodo por parte dos consumidores (MEYER, 2008).

É inquestionável a importância que tem o conhecimento e monitoramento do iodo consumido pela população, além de identificar os fatores que podem levar a ingestão irregular deste nutriente ao longo do ano. Não obstante, é essencial construir as bases, explorar o status metabólico do iodo nos bovinos leiteiros, identificar se existe deficiência ou heterogeneidade altamente significativa nos rebanhos, e os principais fatores que possam gerar variações no produto consumido pela população ao longo do ano.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais e período de estudo

O presente trabalho realizou-se em rebanhos leiteiros comerciais da bacia leiteira da região do Planalto do Rio Grande do Sul, que alberga mais do 50% das vacas leiteiras do estado, sendo a maioria da raça Holandesa. Os critérios de inclusão foram vacas em lactação, saudáveis e que não tivessem recebido tratamentos nos últimos 30 dias prévios à coleta. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob o número 35394 (Anexo A).

Foram coletados animais de quatro fazendas que têm entre 150 a 200 bovinos em lactação ao longo de ano, e participam ativamente do programa de controle leiteiro e de pesquisas do SARLE (Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiros, da Universidade de Passo Fundo). A fazenda 1 localiza-se na área periférica da cidade de Passo Fundo, (28°14'50.2"S 52°18'12.6"W). A fazenda 2 localiza-se em Santa Cecília do Sul (28°10'02.8"S 51°55'39.4"W). A fazenda 3 localiza-se em Água Santa (28°07'21.7"S 51°58'53.4"W) e a 4 em Vila Lângaro (28°10'05.7"S 52°07'36.8"W).

O estudo compreendeu duas épocas do ano: estação fria (maio a setembro) e estação quente (dezembro a março), sendo que as coletas foram realizadas nos meses de agosto e março. A temperatura média em agosto foi de 13°C e em março de 26°C, e a umidade média de 76% e 74% respectivamente. O N foi calculado baseando-se na prevalência da deficiência de iodo na Europa, tendo em vista que não encontramos publicações sobre o assunto no Brasil, e no número total de bovinos no estado, que foi de 1.309.259 no ano 2017, utilizando a fórmula:

$$N = [\text{prevalência} (1 - \text{prevalência}) * (1,96)^2] / (0,05)^2$$

Com valor de Z=1,96 e precisão absoluta de 5%.

## **4.2 Coleta e processamento das amostras**

Previamente à coleta das amostras, foram registrados os dados sobre suplementação e a composição dos produtos de desinfecção usados na rotina da ordenha de cada propriedade. De cada animal amostrado coletaram-se os dados: idade, número de partos e dias em lactação.

As amostras de urina foram coletadas por micção natural, realizando massagem na área perineal após limpeza prévia da área. A urina foi coletada em tubos falcon estéreis de 15 mL e armazenadas em caixas de isopor com gelo até a chegada ao laboratório. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 1.500 rpm durante 10 minutos (Metroterm MTD III Plus), e alíquotas de 1,5 mL e suas respectivas duplicatas foram confeccionadas e refrigeradas. Após quatro dias de coleta, as alíquotas foram transportadas em caixas com gelo de Passo Fundo até Porto Alegre, e finalmente, congeladas a  $-50^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. Adicionalmente, alíquotas de uma amostra humana padrão foram congeladas para servirem de controle, e foram descongeladas junto com as amostras bovinas no momento das análises.

## **4.3 Determinações de iodo urinário**

### **4.3.1 Equipamentos e local**

A mensuração da iodúria realizou-se na Unidade de Análises Moleculares e Proteínas (UAMP), no Centro de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre da UFRGS. Para isto, foi realizada a medição indireta da concentração de iodo mediante a reação de Sandell-Kolthoff, que se baseia na redução do sulfato cérico amoniacal. Para a digestão das amostras escolheu-se usar persulfato de amônio como agente oxidante, que não tem o potencial explosivo do ácido clórico (PINO et al., 1996). Os equipamentos usados foram banho seco (Thermolyne DB28125 Dri-Bath, Marshall Scientific), agitador de microplacas (NI1154, Nova Instruments), incubadora (Certomat BS-1, B. Braun Biotech International) e espectrofotômetro de placa (SpectraMax M3, Molecular Devices).



#### 4.3.2 Reagentes

Persulfato de amônio (PSA)  $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$  a 1 M, trióxido de arsênio ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) a 2,53 mM, ácido sulfúrico a 98%, cloreto de sódio PA, iodato de potássio ( $\text{KIO}_3$ ) e sulfato cérico amoniacal  $[(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$  a 0,2 M. As soluções utilizadas foram preparadas de acordo com o protocolo descrito por Pino et al. (1996) com água destilada tipo I. Devido a que o PSA pode diminuir o seu potencial de oxidação quando armazenado, sempre foi preparada uma solução nova antes de cada experimento. O ácido arsenioso e o sulfato cérico amoniacal foram armazenados a 4°C.

#### 4.3.3 Curva padrão e controle interno

Preparou-se uma solução mãe dissolvendo 168,6 mg de  $\text{KIO}_3$  em 1 L de água. A partir desta solução, prepararam-se soluções com 5, 10, 20, 30 e 40  $\mu\text{g}/\text{dL}$  de iodo. Para o controle interno, usou-se uma amostra de urina padrão com concentração de iodo conhecida, que foi aliqotada e armazenada junto com as amostras.

#### 4.3.4 Técnica experimental

A digestão foi realizada pipetando 200  $\mu\text{L}$  das soluções padrões, controle interno e amostras de urina em tubos de vidro de 5 mL, e adicionando 1 mL de PSA, agitando posteriormente no vórtex. Para a oxidação os tubos foram incubados no banho Maria a 92–95°C durante 60 minutos e depois resfriados 10 minutos a temperatura ambiente e 5 minutos em gelo picado.

Numa placa de microtitulação foram pipetados 35  $\mu\text{L}$  de cada amostra, incluindo a curva de calibração, controles e o branco, constituído por água destilada tipo I. Foram adicionados 70  $\mu\text{L}$  de ácido arsenioso em cada poço, e a placa foi agitada no agitador de placas durante 1 minuto. Posteriormente, foram pipetados rapidamente 35  $\mu\text{L}$  de sulfato cérico amoniacal em cada poço, a placa agitada novamente e coberta com uma borracha seladora de placa, para ser levada a incubação durante 16 minutos a 37°C. Passado esse tempo, a borracha era retirada e a placa lida no espectrofotômetro de placa, num comprimento de onda de 405 nm com filtro de referência de 620 nm.

A partir dos valores de absorvância construiu-se a curva padrão e o  $R^2$  foi calculado, usando o programa Excel. Dos valores da curva e das amostras foi subtraído o valor do branco. A concentração de iodo das amostras e controles foi calculada a partir dos valores da absorvância de cada uma, usando a respectiva equação da curva de calibração correspondente a cada experimento.

#### **4.4 Análise estatística**

A normalidade das variáveis foi comprovada mediante os testes Shapiro-Wilk ( $\leq 50$  dados/grupo) e Kolmogorov-Smirnov ( $> 50$  dados/grupo). Regressões univariáveis foram realizadas no software livre RStudio V 1.2.5033 para estabelecer se os níveis de iodo tinham associação com as variáveis independentes estação do ano, fazenda, idade, número de partos e dias em lactação. Para cada regressão os supostos de linearidade, homocedacidade, independência e normalidade dos resíduos foram testadas.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados e discussão estão apresentados como artigo científico, formatado de acordo com as normas técnicas da revista *Veterinarni Medicina*. As tabelas foram inseridas no texto para facilitar a leitura, e serão relocadas no momento da submissão à revista.

Original paper.

## **Study of the prevalence of iodine deficiency in dairy cattle from Southern Brazil**

**Laura Quishpe<sup>1\*</sup>, Jerbeson Hoffman<sup>2</sup>, Brayan Fonseca<sup>3</sup>, Ana Santín Bertoni<sup>4</sup>, Carlos Bondan<sup>2</sup>, Tânia Weber Furlanetto<sup>5</sup>, Félix Díaz González<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.*

<sup>2</sup>*College of Agronomy and Veterinary Medicine, University of Passo Fundo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil.*

<sup>3</sup>*Department of Veterinary Diagnostic & Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, Iowa, United States of America.*

<sup>4</sup>*Department of Basic Health Sciences and Laboratory of Cell Biology, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil*

<sup>5</sup>*Internal Medicine Division, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.*

*\*Corresponding author: lauravictoriaqc@gmail.com*

**Citation:** Quishpe L, Hoffman, J, Fonseca B, Bertoni AS, Bondan C, Furlanetto TW, González FD (2020): Study of the prevalence of iodine deficiency in dairy cattle from Southern Brazil. Vet Med-Czech.

**Abstract:** Iodine concentration in urine is considered the gold standard for establishing the nutritional status of iodine in human and animal populations. A cross-sectional study was carried out and urine samples were collected from lactating dairy cattle from southern Brazil in summer and winter. Urine samples were obtained by free catch after mild manual stimulation of the perineal area. A total of 268 samples were centrifuged and frozen until analysis. For ioduria determination, a colorimetric technique based on Sandell-Kolthoff reaction in 96-well microplate was performed. The average urinary iodine at both seasons

was over 10 µg/dL, 12.17 µg/dL in summer and 14.06 µg/dL in winter. Nevertheless, proportion of animals with mild deficiency in summer was 31.5% and 28.26% in winter, while 9.45% and 2.9% showed moderate deficiency in each season respectively. None of the animals had severe deficiency, with concentration under 5 µg/dL. Ioduria was correlated with seasonality, being an average of 1.9 µg/dL higher in winter, but not significantly with age, number of births and days of lactation of evaluated animals.

**Keywords:** Urine, ioduria, WHO, Sandell-Kolthoff, Holstein.

**Number of tables:** 5

**Number of figures:** 3

**Conflict of interest:** The authors declare that there are no conflicts of interest.

**Acknowledgement:** We thank to producers Mr. Amantino, Mr. Rafael, Mr. Felipe and especially to DVM Liliane Zanetta for their valuable help allowing sample and data collection on their properties.

**Funding acknowledgement statement:** Supported by the Clinical Hospital of Porto Alegre, Brazil, Project No. 20180275. Author (LQ) funded by CAPES, Ministry of Education, Brazil.

## INTRODUCTION

Iodine is an essential micronutrient for vertebrate animals, essential for thyroid hormones biosynthesis. In form of iodide, it is taken up by the thyroid gland for synthesis of triiodothyronine (T3) and tetraiodothyronine, or thyroxine (T4). These hormones, especially T3, have a determinant role in development of young animals, as well as in reproduction and regulation of metabolic processes in adults. (De la Vieja and Santiesteban 2018; Bilek and Zamrazil 2009; Mullur et. al. 2014). Iodine deficiency in ruminants may be difficult to identify in adult animals, which may appear apparently healthy (Zagrodzki et al. 1998). In some cases, it has been associated with reproductive problems such as stillbirths and weak calves. Clinical signs of iodine deficiency are most evident in calves (Martins et al. 2018), that can exhibit evident increase in thyroid gland volume, in some cases exceeding 30 g (Cabell 2007). In young animals, severe deficiency is potentially fatal (Micheloud et al. 2019).

Iodine deficiency in dairy cattle plays a major role in public health and human nutrition. At the beginning of 21st century, iodine deficiency in humans was identified in 118 countries, mainly European (Vitti et al. 2001), which demonstrated the importance of iodine supplementation, mainly through consumption of iodized table salt, and to a lesser extent, of dairy products. Notwithstanding, salt consumption has been associated with several cardiovascular complications such as hypertension or stroke (Baldo et al. 2015), for this reason reducing its consumption has been widely recommended.

The assessment of iodine nutritional status in individuals and populations is performed by measuring the fraction excreted in urine, thus determining the concentration of urinary iodine (UI). Despite the fact that urinary excretion is lower in ruminants (40%) than in humans (90%), UI is still the gold standard (Miller, 1975). Also, for iodine sufficiency evaluation in animal studies, classification established for human UI by the World Health Organization (2007) is used.

There is a lack of data about nutritional status of iodine in cattle population of Brazil. The aim of the study is to determine the prevalence of iodine deficiency in dairy cattle of Rio Grande do Sul, southern Brazil. In addition, it pretends to identify possible associated factors, such as age, number of births, days after calving or use of iodinated disinfectants in the milking routine.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animals and study period**

Urine samples were collected from four commercial dairy herds in the dairy basin of Rio Grande do Sul (southern Brazil), a region that hosts more than 50% of the state's dairy cows, mainly Holstein.

Healthy lactating cows that had not received any treatment in the last 30 days prior to sample collection were included in the study. All collections were performed after milking. Samples with apparent contamination with feces were discarded. Age, number of births and days in lactation were registered for each animal. For each farm, data such as iodine concentration in salt, times that salt was given to animals and use frequency of iodine disinfectants on

milking routine were registered. All procedures were approved by the Ethical Commission for the Use of Animals (CEUA, protocol #353940) of the Federal University of Rio Grande do Sul.

Urine samples were collected in March and August, which correspond to summer and winter season in southern Brazil.

### **Sample collection and processing**

Urine samples were collected by free catch, after mild manual stimulation of the perineal area that was previously cleaned with a dry paper towel, in order to avoid interfering liquid substances. The urine was collected in 15 mL sterile falcon tubes and stored in polystyrene boxes with ice until arrival at the laboratory. Subsequently, falcon tubes were centrifuged at 1.500 rpm for 10 minutes (Metroterm MTD III Plus), aliquoted in 1.5 mL plastic microtubes (Eppendorf) and refrigerated. Aliquots were transported in boxes with ice from Passo Fundo to Porto Alegre (186 miles distance), then stored at  $-50^{\circ}\text{C}$  until analysis. Aliquots of a human urine sample were stored at same temperature to serve as a control, and were thawed together with bovine samples.

### **Urinary iodine measurement**

Ioduria measurement was performed at the Molecular and Protein Analysis Unit (UAMP), at the Experimental Research Center of the University Hospital of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre. The indirect measurement of iodine concentration was performed using the Sandell-Kolthoff reaction, which consists of the reduction of the ammonium ceric sulfate. Ammonium persulfate was used as oxidizing agent for sample digestion process, as described by Pino et al. (1996). All solutions, excepting ammonium persulfate, were prepared with type I water, and were stored in dark glass bottles at room temperature, excepting arsenious acid and ceric ammonium sulphate, that were stored at  $4^{\circ}\text{C}$ . Freshly prepared ammonium persulfate was used for each batch, reducing possible stability bias.

Standard curves for each experiment were above  $R^2 = 0.98$ . Technique accuracy was assessed performing a recovery test that allows to compare two different oxidation times, 30 and 60 minutes, in three solutions with different iodine concentrations. Dilutions were made adding different proportions of 40  $\mu\text{g/dL}$  iodine solution into a bovine urine sample with a previously known iodine concentration. Because it's better performance (Table 1), samples were analyzed using 60 minutes oxidation. Intra-assay and inter-assay coefficients of variation were also tested, using three samples with different concentrations (Table 2).

Table 1– Iodine recovery test after addition of 40  $\mu\text{g/dL}$  solution to a 12  $\mu\text{g/dL}$  iodine sample.

Oxidation time	Sample/calibrator volume	Expected ( $\mu\text{g/dL}$ )	Measured ( $\mu\text{g/dL}$ )	Recovery (%)
30 min	180:20	16	13,74	85,90
	160:40	20	19,36	91,48
	140:60	24	23,62	96,50
60 min	180:20	16	16,18	103,4
	160:40	20	20,20	101,96
	140:60	24	25,02	106,14

Table 2– Intra-assay and inter-assay coefficient of variation for three different iodine concentration.

Coefficient	$\mu\text{g/dL}$	N	CV (%)
Intra-assay	6,27 $\pm$ 0,47	10	7,5
	12,45 $\pm$ 0,8	10	6,4
	20,56 $\pm$ 0,85	7	4,1
Inter-assay	6,12 $\pm$ 0,27	3	4,3
	12,56 $\pm$ 0,15	3	1,2
	20 $\pm$ 0,46	4	2,3

### Statistical analysis

Normality was tested using Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test. Univariable regressions were performed using the free software RStudio V 1.2.5033 to establish whether iodine levels were associated with the independent variables season, farm, age, number of



calving and postpartum days. For each regression, the assumptions of linearity, homoscedasticity, independence and normality of the residues were tested.

## RESULTS

A total of 273 samples were collected, 131 in summer and 142 in winter. On average, 33 samples were collected for each farm. 5 samples were discarded (two in the summer and three in the winter) because they were collected from the same animal or because they were visibly contaminated with feces after centrifugation. Thus, 268 samples were analyzed, 129 from summer and 139 from winter. Data provided for owners of farms 2, 3 and 4, related to iodine concentration in mineral salt of each farm, supplementation frequency and use of iodized disinfectant in milking routine are shown in Table 3.

Table 3 – Iodine supplementation and use of iodized disinfectants on each farm.

Farm ID	[I] in mineral salt (mg/kg)	Supplementation frequency	Use of iodized disinfectants
Farm 1	2,3	TID	Pós-dipping
Farm 2	80	BID	No
Farm 3	40	TID	Pre-dipping
Farm 4	60	BID	Pre-dipping

[I]: Iodine concentration.

All farms supplemented their animals with mineral salt, twice a day, except farm 3 that supplemented three times a day. Only farm number 2 reported to not use iodized disinfectant in milking routine, the other 3 farms used it, two in pre-dipping (farm 3 and 4) and one in post-dipping (farm 1).

After UI quantification, 3 outliers were excluded from the analysis, two had negative IU concentrations and one an extremely high value after numerous repetitions. Therefore, 265 samples were considered for statistical analysis (127 from summer and 138 from winter). Average UI concentration in summer was  $12.17 \pm 6.4 \mu\text{g/dL}$ , while in the winter it was  $14.06 \pm 6.43 \mu\text{g/dL}$ . The lowest values were 2.89 and 3.83, and the highest 37.85, and 34.59, respectively. The average UI of the population was above  $10 \mu\text{g/dL}$  in both seasons, reaching the sufficiency level established by WHO. Nevertheless, the proportion of population with

mild deficiency (5 - 9.9  $\mu\text{g/dL}$ ) was 32.79% in the summer and 29.32% in the winter, while prevalence of moderate deficiency (2 - 4.9  $\mu\text{g/dL}$ ) was 9.84% and 3% respectively. There were no animals with levels of UI that demonstrated severe deficiency, with values below 2  $\mu\text{g/dL}$ . UI concentration for each farm are showed in table 4.

Table 4 – Urinary iodine values (mean  $\pm$  SD) from each farm in both seasons.

	Farm 1	Farm 2	Farm 3	Farm 4
Summer	11.06 $\pm$ 4.54	10.54 $\pm$ 4.64	11.72 $\pm$ 6.12	15.62 $\pm$ 8.66
Winter	13.86 $\pm$ 5.82	14.45 $\pm$ 6.26	14.88 $\pm$ 6.79	13.08 $\pm$ 6.84

Characteristics of the sampled animals at both times of the year are shown in table 5. Groups having or not having normal distribution are presented as mean  $\pm$  SD or median (percentile 25/percentile 75) respectively. Correlation between UI and variables as age, days after calving and number of births were explored. UI concentration in winter was on average 1.9  $\mu\text{g/dL}$  higher than summer ( $p < 0.05$ ). Distribution of UI concentration of all sampled population in both seasons is presented in Figure 1. In relation to the farms, samples from farm 4 had an average of 1.9  $\mu\text{g/dL}$  of iodine above farm 1. Comparison of UI concentration for each farm in summer and winter are showed in figure 2 and 3 respectively. When observing the correlation between UI and age, number of births and days after calving there was an increase in iodine levels as these variables increased, but there was no statistically significant association between them.

Figure 1 – Urinary iodine concentration ( $\mu\text{g/dL}$ ) distribution in summer and winter. Percentage corresponding to each range is shown above each column.

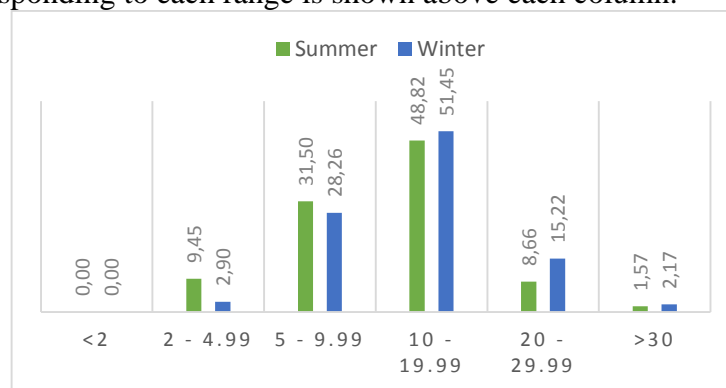


Table 5– Animals characteristics at both seasons.

Farm ID	Age (months)		Number of births		Days after calving	
	Summer	Winter	Summer	Winter	Summer	Winter
Farm 1	50.84 ± 18.71(32)	51.19 ± 17.84 (31)	2 (1/3; 32)	2 (1/3; 31)	100.94 ± 55.56; 32)	219 (190/240; 31)
Farm 2	55.5 (44.75/73; 40)	55 (48/78; 35)	2.5 (2/3;40)	3 (2/4;35)	242.5 (85.25/289;40)	104 (74/181;35)
Farm 3	62.52±25,88(23)	46 (36/61;35)	2 (1/4;23)	2 (1/3;35)	259 (16/374;23)	140.51±70.15(35)
Farm 4	51(37.25/74;32)	47 (35/71;37)	3 (1/3;32)	3 (1/3;37)	282 (165/301.75;32)	130 (81.5/282;37)

Data shown as mean ± SD (n) or median (p25/p75; n).

Figure 2– Comparison of urinary iodine concentration of each farm in summer. Deficiency is considered when UI is below 10 µg/dL (thick line).

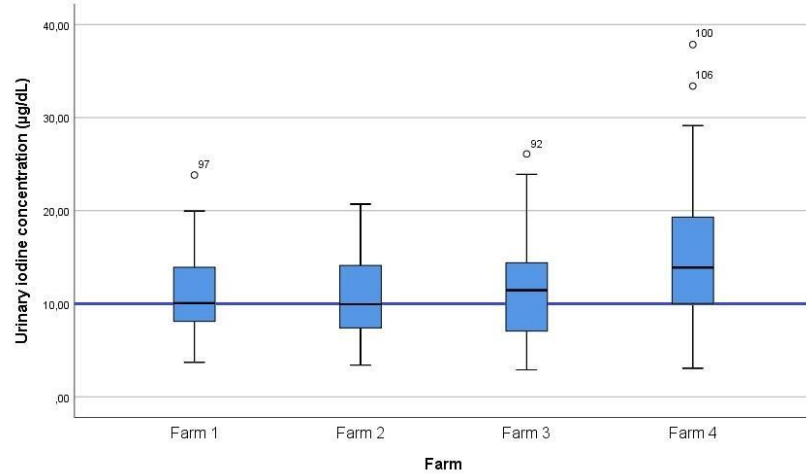
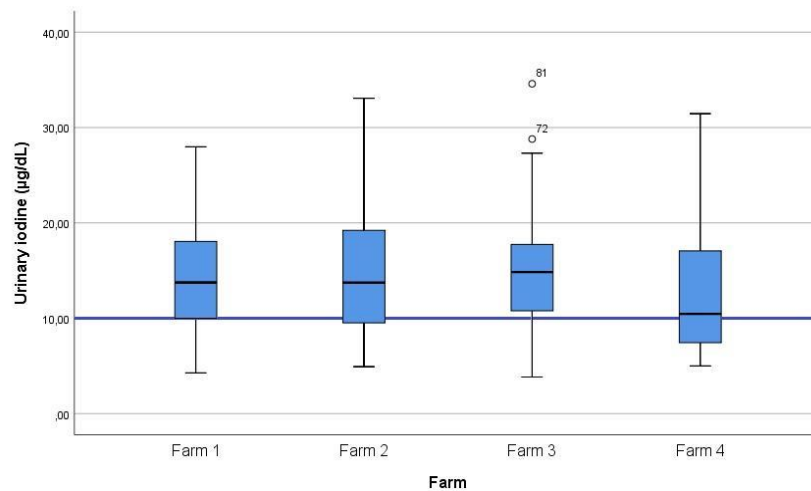


Figure 3 – Comparison of urinary iodine concentration of each farm in winter. Deficiency is considered when UI is below 10 µg/dL (thick line).



## DISCUSSION

Ioduria quantification using Sandell-Kolthoff reaction is the recommended technique by WHO for epidemiological studies, and is also used in several human medicine studies. The reliability of its results has been previously demonstrated when compared to ICP-MS (Haap et al., 2017). However, the modified technique using ammonium persulfate as an oxidizing reagent has not yet been validated in animals.

In human medicine there is a discrepancy in terms of the oxidation time used in the different studies, varying between 30 and 60 minutes (Pino et al., 1996; Ohashi et al., 2000; Gelal et

al., 2009). Recovery test was performed to assess the technique accuracy using two different oxidation times, allowing to interpret results and compare them according to the method validation guidelines described in the literature (Quam & Westgard, 2008). Using 60 minutes digestion demonstrated greater accuracy, having recovery rates closer to 100%, especially in samples with low concentration of iodine. The coefficients of variation within and between assays were comparable with others described in literature (Ohashi, 2000; Haap et al., 2017; Hussain & Selamat, 2018).

Prevalence of iodine deficiency in dairy, meat and dual-purpose cattle has been studied in several countries, using different parameters and techniques. In the Punjab region of India, the concentration of plasma inorganic iodine in a population of 48 crossbreed cows belonging to 31 different properties was assessed, with a prevalence of deficiency of 35.9%, including the population with a marginally low concentration (16.7%) and low (18.7%). In addition, an important variation was observed according to the geographical location of the properties, however, the levels of T3 and T4 were not correlated with iodine sufficiency status of the animals (Randhawa & Randhawa, 2001).

This study brings information about iodine nutritional status of dairy cattle of Rio Grande do Sul state that were not known nor explored previously. Mean UI concentration of sampled population falls into adequate/ideal classification according with WHO guidelines (2007) in both seasons, actually none of the animals had UI below 5 µg/dL, considering that WHO allows a maximum of 20% of the population with UI in this range of values to still consider sufficient status. However, gestation and lactation are metabolically demanding processes and iodine supplementation must be higher than for non-pregnant, not-lactating animals. Iodine deficiency risk has been observed in pregnant women even when consuming iodine-containing dietary supplements (Hynes et al., 2019).

The vast majority of studies focus on milk iodine concentration, which is directly related with human diet. Nevertheless, iodine excretion in milk is directly related to its intake, which in turn is reflected in urinary excretion, as demonstrated by Herzig et al. (1996) in a study that evaluates ioduria of dairy cattle.

Reduction thyroid hormones concentration has been proposed as an indirect paraclinic manifestation of herds with iodine deficiency. In a study carried out in Australia, samples

were collected from 44 calves born from cows from a herd that had records of low T4 concentration in addition to problems such as stillbirth, irregularity in cyclicity and calves with goiter (Anderson et al., 2007). Histopathological findings in calves' thyroid, compatible with goiter were identified in 15.8% of the samples. It was observed that 80.5% of the calves had a thyroid:body weight ratio above reference values. A similar proportion of calves showed low levels of T4 (82.4%), below 80 nmol/L, however, there was no statistically significant difference in the T4 concentrations of adult animals from herds of calves with thyroid hyperplasia when compared with those that did not have. Iodine deficiency has also been identified in buffalo populations in India, with a prevalence of 38.4% however, there was no correlation between thyroid hormones concentration and nutritional iodine status (Randhawa et al., 2014). This reinforces the recommendation made by WHO about using iodúria measurement to correct diagnosis of iodine deficiency.

The great variability of iodine excretion in herds worldwide can be explained by the different mineral concentrations in plants, which is directly dependent on geographic location and iodine content in soils. In Europe, a maximum iodine supplementation of 2.3 mg iodine/kg DM has been recommended, however supplementation is highly heterogeneous between farms (Coneyworth et al., 2020). Finally, there are cases in which mineral salt with non-iodized common salt are mixed, reducing significantly iodine supplementation.

Seasonality has been demonstrated as an influent factor of milk iodine excretion, as has been demonstrated by many authors (Crnkić et al., 2015, O'Kane et al., 2018, Coneyworth et al., 2020), however Paulikova et al. (2008) did not find significant difference. Use of iodized solutions in milking routine can affect iodine concentration in milk and dairy products (Flachowsky et al., 2014), however in our study there was no significant difference among the farms that use them and the one that does not. Likewise, no direct correlation was observed between iodine content on mineral salt of each farm and iodúria. This could be explained because salt intake may vary from animal to animal. This factor could be controlled in experimental conditions where salt consumption is carefully monitored.

A limitation of this study was that sampling was done for convenience and not randomized. This happened because it was prioritized to maintain free catch as only collection method, to reduce animals stress and to generate minimum alteration in the milking routine of the farms.

Some of the animals did not respond to manual stimulation in perineum and consequently did not urinate. This was one of the reasons why it was not possible to collect exactly the same animals at both times of the year. Another factor that influenced the selection of animals was that many had been discarded at the time of second sampling.

This study approach a diagnostic test commonly used in human medicine to veterinary application, allowing diagnosis of iodine nutritional status with a relatively lower cost when compared with more expensive techniques like ICP-MS or HPLC. Is also relevant considering that iodine deficiency in humans has become re-emergent, especially in pregnant women and children, in some cases exceeding 50% of the population studied in areas with iodine sufficiency such as Brazil (Mito et al., 2018). At the same time, reduction of table salt intake may promote milk and dairy products consumption, becoming an important alternative for iodine supplementation. Prospectively, it would be interesting to validate the technique used in this study by comparing it with the gold standard test, ICP-MS, to verify the reliability of obtained results using ammonium persulfate for digestion of bovine urine samples. It would also be extremely important to assess the amount of iodine in milk and dairy products commercialized in Rio Grande do Sul and Brazil, as well as its contribution to iodine supplementation in Brazilian population diet.

## REFERENCES

- Anderson, P.D., Dalir-Naghadeh, B., Parkinson, T.J. **Iodine deficiency in dairy cattle.** Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production. 2007; 67: 248-254.
- Baldo, M.P., Rodrigues, S.L., MILL, J. G. **High salt intake as a multifaceted cardiovascular disease: new support from cellular and molecular evidence.** Heart Failure Reviews. 2015; 20: 461–474.
- Bílek, R.; Zamrazil, V. **Cap. 6: Thyroglobulin as an indicator of iodine intake.** Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and therapeutic aspects. ELSEVIER Inc. 2009: 55-64.
- Cabell, E. **Bovine abortion: aetiology and investigations.** In Practice. 2007; 29: 455–463.
- Coneyworth, L. J., Coulthard, L. C. H. A., Bailey, E. H., Young, S. D., Stubberfield, J., Parsons, L., ... Welham, S. J. M. **Geographical and seasonal variation in Iodine content of cow's milk in the UK and consequences for the consumer's supply.** Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2020; 126453.

- Crnkić, C., Haldimann, M., Hodžić, A., Tahirović, H. **Seasonal and regional variations of the iodine content in milk from Federation of Bosnia and Herzegovina.** *Mljekarstvo*. 2015; 65: 32-38.
- De La Vieja, A., Santiesteban, P. **Role of iodide metabolism in physiology and cancer.** *Endocrine-related cancer*. 2018; 25: R225-R245.
- Flachowsky, G., Franke, K., Meyer, U.; Leiterer, M.; Schöne, F. **Influencing factors on iodine content of cow milk.** *European Journal of Nutrition*. 2014; 2: 351-365.
- Gelal, B., Aryal, M., Lal Das, B.K., Bhatta, B., Lamsal, M., Baral, N. **Assessment of iodine nutrition status among school age children of Nepal by urinary iodine assay.** *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*. 2009; 40: 538-543.
- Haap, M., Roth, H., Huber, T., Dittmann, H., Wahl, R. **Urinary iodine: comparison of a simple method for its determination in microplates with measurement by inductively-coupled plasma mass spectrometry.** *Scientific Reports*. 2017; 7: 39835.
- Herzig, I., Riha, J.; Pisarikova, B. **Urinary iodine level as an intake indicator in dairy cows.** *Veterinarni Medicina*. 1996; 41: 97-101.
- Hussain, H., Selamat, R. **Chapter 6: Understanding Quality Control with Urinary Iodine Estimation.** *Quality Control in Laboratory*. 2018: 67-88.
- Hynes, K., Seal, J., Otahal, P., Oddy, W., Burgess, J. **Women Remain at Risk of Iodine Deficiency during Pregnancy: The Importance of Iodine Supplementation before Conception and Throughout Gestation.** *Nutrients*. 2019; 11: 172.
- Martins, K.P.F., Fonseca, T.R.S., Silva, E.S., Munhoz, T.C.P., Dias, G.H.S., Galiza, G.J.N., Oliveira, L.G.S., Boabaid, F.M. **Bócio em bovinos.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2018; 38: 1030-1037.
- Micheloud, J.F.; Olmos, L.H.; Garcia, J.A., Mattioli, G.A.; Uzal, F.A. **Perinatal mortality in cattle associated with goitre.** *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 2019; 12: 48-52.
- Miller, J.K., Swanson, E.W., Spalding, G.E. **Iodine absorption, excretion, recycling, and tissue distribution in the dairy cow.** *Journal of Dairy Science*. 1975; 58: 1578 - 1593.
- Mioto, V., Monteiro, A., De Camargo, R., Borel, A.R., Catarino, R.M., Kobayashi, S., Chammas, M.C., Marui, S. **High prevalence of iodine deficiency in pregnant women living in adequate iodine area.** *Endocrine connections*. 2018; 7: 762–767.
- Mullur, R., Liu, Y.Y., Brent, G.A. **Thyroid hormone regulation of metabolism.** *Physiological reviews*. 2014; 94: 355-382.
- Ohashi, T., Yamaki, M., Pandav, C. S., Karmarkar, M. G., Irie, M. **Simple microplate method for determination of urinary iodine.** *Clinical chemistry*. 2000; 46: 529-536.



- O’Kane, S., Pourshahidi, L., Mulhern, M., Weir, R., Hill, S., O’Reilly, J., Deitrich, C., Mackle, E., Fitzgerald, E., Lowis, C., Johnston, M., Strain, J., Yeates, A. **The effect of processing and seasonality on the iodine and selenium concentration of cow’s milk produced in Northern Ireland (NI): Implications for population dietary intake.** *Nutrients*. 2018; 10: 287-301.
- Paulikova, I., Seidel, H., Nagy, O., Kovac, G. **Milk iodine content in Slovakia.** *Acta Veterinaria Brunensis*. 2008; 77: 533–538.
- Pino, S. Fang S. L.; Braveman, L. E. **Ammonium persulfate: a safe alternative oxidizing reagent for measuring urinary iodine.** *Clinical Chemistry*, 1996; 422: 239-243.
- Quam, E., Westgard, J. **Interference and recovery experiments.** In: Westgard, J. *Basic Method Validation*. 3 ed. 2008.
- Randhawa, C., Randhawa, S.S. **Epidemiology and diagnosis of subclinical iodine deficiency in crossbred cattle of Punjab.** *Australian Veterinary Journal*. 2001; 79: 349–351.
- Randhawa, C.S., Randhawa, S.S.; Randhawa, S.S.; Dua, K. **Studies on the prevalence and diagnosis of subclinical iodine deficiency in buffaloes (*Bubalus bubalis*).** *Buffalo Bulletin*. 2014; 33: 192-198.
- Vitti, P., Rago, T., Aghini-Lombardi, F., Pinchera, A. **Iodine deficiency disorders in Europe.** *Public Health Nutrition*. 2001; 4: 529-535.
- World Health Organization. **Chapter 4: Indicators of impact. In: Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination.** A guide for program managers, 3 ed. 2007: 28-34.
- Zagrodzki, P., Nicol, F., McCoy, M.A., Smyth, J.A., Kennedy, D.G., Beckett, G.J., Arthur, J.R. **Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes.** *Research in Veterinary Science*. 1998; 64: 209–211.

## 6. CONCLUSÕES

A padronização da técnica colorimétrica baseada na reação de Sandell-Kolthoff permitiu a avaliação da concentração de iodo em amostras de urina bovina, o que pode se tornar uma ferramenta diagnóstica de alta utilidade para identificação e monitoramento do status de suficiência nutricional de iodo em populações animais usando materiais e equipamentos de relativo baixo custo, quando comparados com outras técnicas. De maneira prospectiva, devem ser realizados estudos adicionais para comparar a técnica com o teste padrão (ICP-MS) para avaliar a exatidão dos resultados.

Os resultados do presente estudo oferecem indícios de que há uma parte da população bovina do estado que se encontra em estado de deficiência leve e moderada de iodo. Não houve amostras com concentrações correspondentes a deficiência severa. De acordo com os critérios estabelecidos pela WHO, considera-se que os resultados obtidos denotam status geral de suficiência no status nutricional de iodo nos bovinos leiteiros do estado de Rio Grande do Sul, com uma parte da população apresentando discreta deficiência.

A estacionalidade influi no teor de iodo urinário, sendo mais alto no inverno. Futuros estudos devem ser conduzidos para conhecer a relação direta que tem este achado com o conteúdo de iodo e a variação deste no leite e produtos derivados que são consumidos pela população.

## REFERENCIAS

- ANDERSON, P. D.; DALIR-NAGHADEH, B., PARKINSON, T. J. Iodine deficiency in dairy cattle. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, 2007. v. 67, p. 248-254.
- BALDO, M. P.; RODRIGUES, S. L.; MILL, J. G. High salt intake as a multifaceted cardiovascular disease: new support from cellular and molecular evidence. **Heart Failure Reviews**, 2015; v.20, n.4, p. 461–474.
- BAN-NAI TADAAKI, M. Y.; AMACHI, S. Rate of iodine volatilization and accumulation by filamentous fungi through laboratory cultures. **Chemosphere**, 2006. v. 65, n. 11, p. 2216-2222.
- BATH, S. C.; HILL, S.; INFANTE, H. G.; ELGHUL, S.; NEZIANYA, C. J.; RAYMAN, M. P. Iodine concentration of milk-alternative drinks available in the UK in comparison with cows' milk. **The British journal of nutrition**, 2017. v. 118, n. 7, p. 525–532.
- BÍLEK, R.; ZAMRAZIL, V. Cap. 6: Thyroglobulin as an indicator of iodine intake. **Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and therapeutic aspects**, 2009. ELSEVIER Inc. p. 55-64.
- BLOWEY, R.; WEAVER A. D. Cap 13: Toxicological disorders. *In: \_\_\_\_\_*. **Color atlas of diseases and disorders of cattle, 3<sup>rd</sup> edition**. China: ELSEVIER Inc. 2011. p. 256.
- CABELL, E. Bovine abortion: aetiology and investigations. **In Practice**, 2007. v. 29, n.8, p. 455–463.
- CAPUCO, A. V.; RICE, C. P.; BALDWIN, R. L.6th; BANNERMAN, D. D.; PAAPE, M. J.; HARE, W. R.; KAUF, A. C.; MCCARTY, G. W.; HAPEMAN, C. J.; SADEGHI, A. M.; STARR, J. L.; MCCONNELL, L. L.; VAN TASSELL, C. P. Fate of dietary perchlorate in lactating dairy cows: Relevance to animal health and levels in the milk supply. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2005. v. 102, p. 16152–16157.
- COLLINS, C. D.; GRAVETT, A. E. ; BELL, J. N. B. The deposition and translocation of methyl iodide by crops. **Health Physics**, 2004. v. 87, n. 5, p. 512–516.
- CRNKIĆ, C.; HALDIMANN, M.; HODŽIĆ, A.; TAHIROVIĆ, H. Seasonal and regional variations of the iodine content in milk from Federation of Bosnia and Herzegovina. **Mljekarstvo**, 2015. v. 65, p. 32-38.
- DE LA VIEJA, A.; SANTIESTEBAN, P. Role of iodide metabolism in physiology and cancer. **Endocrine-related cancer**, 2018. v. 25, n.4, p. R225-R245.
- DJOKOVIĆ, R.; ŠAMANC, H.; BOJKOVSKI, J.; FRATRIĆ, N. Blood concentrations of thyroid hormones and lipids of dairy cows in transitional period. **Lucrări Stiintifice Medicină Veterinară**, 2010. v. 43, p. 34-40,
- DORNELLES, M.; SELBACH, R. Do Brazilian pregnant women need iodine supplementation? A commentary on the latest American Thyroid Association guideline. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2018. v. 40, p. 1-3.

- ESTEVEES, R. Z.; KASAMATSU, T. S.; KUNII, I. S.; FURUZAWA, G. K.; VIEIRA, J. G. H.; MACIEL, R. M. B. Desenvolvimento de um método para a determinação da iodúria e sua aplicação na excreção urinária de iodo em escolares brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 2007. v. 51, n. 9, p. 1477-1484.
- FIGLIORE, E.; PICCIONE, G.; GIANESELLA, M.; PRATICÒ, V.; VAZZANA, I.; DARA, S.; MORGANTE, M. Serum thyroid hormone evaluation during transition periods in dairy cows. **Archives Animal Breeding**, 2015. v. 58, p. 403-406.
- FLACHOWSKY, G. Iodine in animal nutrition and iodine transfer from feed into food of animal origin. **Lohmann Information**, 2007. v. 42, p. 47-59.
- FLACHOWSKY, G.; FRANKE, K.; MEYER, U.; LEITERER, M.; SCHÖNE, F. Influencing factors on iodine content of cow milk. **European Journal of Nutrition**, 2014. v. 2, p. 351-365.
- FLACHOWSKY, G.; SCHÖNE, F.; LEITERER, M.; BEMMANN, D.; SPOLDERS, M.; LEBZIEN, P. Influence of an iodine depletion period and teat dipping on the iodine concentration in serum and milk of cows. **Journal of Animal and Feed Sciences**, 2007. 16, 18-25.
- FRANKE, K.; MEYER, U.; WAGNER, H.; HOPPEN, H. O.; FLACHOWSKY, G. Effect of various iodine supplementations, rapeseed meal application and two different iodine species on the iodine status and iodine excretion of dairy cows. **Livestock Science**, 2009. v. 125, p. 223-231.
- FUGE, R.; JOHNSON, C. Iodine and human health, the role of environmental geochemistry and diet, a review. **Applied Geochemistry**, 2015. v. 63, p. 282-302
- HAAP, M.; ROTH, H.; HUBER, T.; DITTMANN, H.; WAHL, R. Urinary iodine: comparison of a simple method for its determination in microplates with measurement by inductively-coupled plasma mass spectrometry. **Scientific Reports**, 2017. v. 7, n. 39835.
- HEJTMÁNKOVÁ, A.; KUKLÍK, L.; TRNKOVÁ, E.; DRAGONOVÁ, H. Iodine concentrations in cow's milk in Central and Northern Bohemia. **Czech Journal of Animal Science**, 2006. v. 51, p. 189-195.
- HERZIG I.; RIHA, J.; PISARIKOVA, B. Urinary iodine level as an intake indicator in dairy cows. **Veterinarni Medicina**, 1996. v. 41, p. 97-101.
- HERZIG I.; PISARIKOVA, B.; KURSA, J.; RIHA J. Defined iodine intake and changes of its concentration in urine and milk of dairy cows. **Veterinarni Medicina**, 1999. v. 44, p. 35-40.
- HERZIG, I.; POUL, J.; PISARIKOVA, B.; GÖPFERT, E. Milk iodine concentration in cows treated orally or intramuscularly with a single dose of iodinated fatty acid esters. **Veterinarni Medicina**, 2003. v. 48, p.155-162,
- JOHNSON, C.C. Database of the iodine content of soils populated with data from published literature, Commissioned Report, CR/03/004N. **British Geological Survey**, 2003. p. 38.

JOHNSON, C.C. The geochemistry of iodine and its application to environmental strategies for reducing the risks from iodine deficiency disorders, Commissioned Report, CR/03/057N. **British Geological Survey, 2003.** 54 pp.

JOPKE, P.; BAHADIR, M.; FLECKENSTEIN, J.; SCHUG, E. Iodine determination in plant materials. **Communications in soil science and plant analysis**, 1996. v. 27, p. 741-751.

JOOSTE, P. L.; STRYDOM, E. Methods for determination of iodine in urine and salt. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2010. v. 24, n. 1, p.77–88.

KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals 6<sup>th</sup> edition.** London: ELSEVIER Inc, 2008.

KÖHLER, M.; FECHNER, A.; LEITERER, M.; SPÖRL, K.; REMER, T.; SCHÄFER, U.; JAHREIS, G. Iodine content in milk from German cows and in human milk: new monitoring study. **Trace Elements and Electrolytes**, 2012. v. 29, n. 2, p. 119-126.

KOROBOVA, E. Soil and landscape geochemical factors which contribute to iodine spatial distribution in the main environmental components and food chain in the central Russian plain. **Journal of Geochemical Exploration**, 2010. v. 107, n. 2, p. 180–192.

LAMAND, M.; TRESSOL, J. Contribution of milk to iodine intake in France. **Biological Trace Elements Research**, 1992. v. 32, p. 245–251.

LEUNG, A. M.; PEARCE, E. N.; BRAVERMAN, L. E. Perchlorate, iodine and the thyroid. Best practice & research. **Clinical endocrinology & metabolism**, 2010. v. 24, n. 1, p. 133–141.

LEUNG, A. M.; BRAVERMAN, L. E. Consequences of excess iodine. **Nature reviews Endocrinology**, 2014. v. 10, n. 3, p. 136–142.

LI, M.; WAITE, K. V.; MA, G.; & EASTMAN, C. J. Declining iodine content of milk and re-emergence of iodine deficiency in Australia. **Medical Journal of Australia**, 2006. v. 184, n. 6, p. 307–307.

LUO, Y.; KAWASHIMA, A.; ISHIDO, Y.; YOSHIHARA, A.; ODA, K.; HIROI, N.; ITO, T.; ISHII, N.; SUZUKI, K. Iodine excess as an environmental risk factor for autoimmune thyroid disease. **International Journal of Molecular Sciences**, 2014. v. 15, p. 12895-12912.

MARTINS, K. P.F.; FONSECA, T. R.S.; SILVA, E. S.; MUNHOZ, T. C.P.; DIAS, G. H.S.; GALIZA, G. J.N.; OLIVEIRA, L. G. S.; BOABAID, F. M. Bócio em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2018. v. 38, n. 6, p. 1030-1037.

MCCOY, M. A.; SMYTH, J. A.; ELLIS, W. A.; & KENNEDY, D. G. Experimental reproduction of iodine deficiency in cattle. **Veterinary Record**, 1997. v. 141, n. 21, p. 544–547.

MCDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition. 2<sup>nd</sup> edition.** Amsterdam: ELSEVIER Science, 2003. p. 305-34.

MEYER, U.; WEIGEL, K.; SCHÖNE, F.; LEITERER, M.; FLACHOWSKY, G. Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. **Livestock Science**, 2008. v. 11, n. 2-3, p. 219–225.

MICHELOUD, J. F.; OLMOS, L. H.; GARCIA, J. A.; MATTIOLI, G. A.; UZAL, F. A. Perinatal mortality in cattle associated with goitre. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, 2019. v. 12, n. 2, p. 48-52.

MILHORANSA, P.; VANACOR, R.; FURLANETTO, T. Intra- and interindividual iodine excretion in 24 hours in individuals in Southern Brazil: a cross-sectional study. **Annals of Nutrition and Metabolism**, 2010. v. 57, p. 260-264.

MILLER, J. K.; SWANSON, E. W.; SPALDING, G. E. Iodine absorption, excretion, recycling, and tissue distribution in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, 1975. v. 58, p. 1578 - 1593.

MIOTO, V.; MONTEIRO, A.; DE CAMARGO, R.; BOREL, A. R.; CATARINO, R. M.; KOBAYASHI, S.; CHAMMAS, M. C.; MARUI, S. High prevalence of iodine deficiency in pregnant women living in adequate iodine area. **Endocrine connections**, 2018. v. 7, n. 5, p. 762–767.

MULLUR, R.; LIU, Y. Y.; BRENT, G. A. **Thyroid hormone regulation of metabolism**. *Physiological reviews*, 2014. v. 94, n. 2, p. 355-382.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Seventh Revised Edition 2001. **National Academy Press**, 2001. 136-138.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2 ed. Mineral Tolerance of Animals. 2005. **National Academy Press**, p 182-198.

NOROUZIAN, M.A. Iodine in raw and pasteurized milk of dairy cows fed different amounts of potassium iodide. **Biological Trace Element Research**, 2010. v. 139, p. 160-167.

ODLAND, M. Iodine status in Norwegian preschool children and significance of dietary sources of iodine and parental socio-economic factors – A cross-sectional study. 2016. Master Thesis in Clinical Nutrition. University of Bergen.

O’KANE, S.; POURSHAHIDI, L.; MULHERN, M.; WEIR, R.; HILL, S.; O’REILLY, J.; DEITRICH, C.; MACKLE, E.; FITZGERALD, E.; LOWIS, C.; JOHNSTON, M.; STRAIN, J.; YEATES, A. The effect of processing and seasonality on the iodine and selenium concentration of cow’s milk produced in Northern Ireland (NI): Implications for population dietary intake. **Nutrients**, 2018. v. 10, n. 3, p. 287-301.

OSORIO, J., H.; VINASCO, J. Comparación de los niveles séricos de TSH y t4 libre en bovinos. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**, 2016. v. 63, p. 87-94.

PAULÍKOVÁ, I.; KOVAC, G.; BIREŠ, J.; PAULÍK, Š.; SEIDEL, H.; NAGY, O. Iodine toxicity in ruminants. **Veterinarni Medicina**, 2002. v. 47, n. 12, p. 343 – 350.

PAULIKOVA, I.; SEIDEL, H.; NAGY, O.; KOVAC, G. Milk iodine content in Slovakia. **Acta Veterinaria Brunensis**, 2008. v. 77, n. 4, p. 533–538.

PEARCE, E.N.; LAZARUS, J.H.; SMYTH, P.P.; HE, X.; SMITH, D.F.; PINO, S.; BRAVERMAN, L.E. Urine Test Strips as a Source of Iodine Contamination. **Thyroid**, 2009. v. 19, p. 919–919.

PENNINGTON, J. Iodine concentrations in United-States milk—variation due to time, season, and region. **Journal of Dairy Science**, 1990. v. 73, n. 12, p. 3421–3427.

PEZZI, C.; ACCORSI, P. A.; VIGO D.; GOVONI, N.; GAIANI, R. 5'-Deiodinase activity and circulating thyronines in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, 2003. v. 86, p. 152-158.

PINO, S.; FANG S. L.; BRAVEMAN, L. E. Ammonium persulfate: a safe alternative oxidizing reagent for measuring urinary iodine. **Clinical Chemistry**, 1996. v. 422, p. 239-243.

RANDHAWA, C.; RANDHAWA, S. S. Epidemiology and diagnosis of subclinical iodine deficiency in crossbred cattle of Punjab. **Australian Veterinary Journal**, 2001. v. 79, n. 5, p. 349–351.

RANDHAWA, C. S.; RANDHAWA, S. S.; RANDHAWA, S. S.; DUA, K. Studies on the prevalence and diagnosis of subclinical iodine deficiency in buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Buffalo Bulletin**, 2014. v. 33, n. 2, p. 192-198.

REDEKER, K.R.; MANLEY, S.L.; WALSER, M.; CICERONE, R.J. Physiological and biochemical controls over methyl halide emissions from rice plants. **Global Biogeochemical Cycles**, 2004. v. 18, p. GB1007.

REMER, T.; MONTENEGRO-BETHANCOURT, G.; SHI, L. Long-term urine biobanking: Storage stability of clinical chemical parameters under moderate freezing conditions without use of preservatives. **Clinical Biochemistry**, 2014. v. 47, p. 307–311.

SANDELL, E. B.; KOLTHOFF, I. M. Micro determination of iodine by catalytic method. **Mikrochimica Acta**, 1937. v. 1, p. 9-25.

SAINI, H.S.; ATTIEH, J.M.; HANSON, A.D. Biosynthesis of halomethanes and methanethiol by higher plants via a novel methyltransferase reaction. **Plant, Cell & Environment**, 1995. v. 18, p.1027-1033.

SCHIMMERMAN, N. Untersuchungen zur Iodversorgung von milchkühen. **Doctoral thesis in Veterinary Medicine**. 2015. University of Berlin, Berlin.

SCHÖNE, F.; LEITERER, M.; LEBZIEN, P.; BEMMANN, D.; SPOLDERS, M.; FLACHOWSKY, G. Iodine concentration of milk in a dose-response study with dairy cows and implications for consumer iodine intake. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 2009. v. 23, p. 84–92.

ŚLIWIŃSKI, B.; BRZÓSKA, F.; WĘGLARZY, K.; SZYBIŃSKI, Z.; KŁOPOTEK, E. The effects of iodized salt licks and teat dipping on the iodine content of cow's milk and blood plasma. **Endokrynologia Polska**, 2015. v. 66, n. 3, p. 244-250.

SORIGUER, F.; GUTIERREZ-REPISO, C.; GONZALEZ-ROMERO, S.; OLVEIRA, G.; GARRIGA, M. J.; VELASCO, I.; SANTIAGO, P.; DE ESCOBAR, G.; GARCIA-

- FUENTES, E. Iodine concentration in cow's milk and its relation with urinary iodine concentrations in the population. **Clinical Nutrition**, 2011. v. 30, n. 1, p. 44–48.
- STEVENSON, M.; DRAKE, C.; GIVENS, D. I. Further studies on the iodine concentration of conventional, organic and UHT semi-skimmed milk at retail in the UK. **Food Chemistry**, 2018. v. 239, n. 15, p. 551-555.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2000. v. 20, n. 3, p. 127-138.
- TRIPATHI, M. K.; MISHRA, A. S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. **Animal Feed Science and Technology**, 2007. v. 132, n. 1-2, p. 1–27.
- TRIPATHI M. K.; MISHRA A. S. Prospects and problems of dietary glucosinolates in animal feeding. **Journal of Advances in Dairy Research**, 2017. v. 5, p. 180.
- TROEDSSON, M.; CHRISTENSEN, B, W. Chapter 12: Alterations in sexual function. *In*: SMITH, B. **Bradford Smith's Large Animal Internal Medicine**. 5 ed. St. Louis: ELSEVIER, 2015. p. 176–196.
- TSCHIRSCH, J.; SHINONAGA, T.; HEUBERGER, H. Dry deposition of gaseous radioiodine and particulate radiocaesium onto leafy vegetables. **Science of the Total Environment**, 2009. v. 407, n. 21, p. 5685–5693.
- TSUKADA, H.; TAKEDA, A.; TAGAMI, K.; UCHIDA, S. Uptake and Distribution of Iodine in Rice Plants. **Journal of Environment Quality**, 2008. v. 37, n.6, p. 2243.
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. Iodine. *In*: **The mineral nutrition of livestock**, 3 ed. Wallingford: CAB International, 1999. p. 343-373.
- VALLE, S.; GONZÁLEZ, F. D.; ROCHA, D.; SCALZILLI, H. B.; CAMPO, R.; LAROSA, V. L. Mineral deficiencies in beef cattle from southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 2003. v. 40, n. 1, p. 47-53.
- VANACOR, R. Variabilidade da excreção de iodo urinário em 24 horas e sua associação com a natriurese. 2007. Master Thesis in Medical Sciences. Universidade Federal de Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- VAN DE KAMP, M. E.; SARIDAKIS I.; VERKAIK-KLOOSTERMAN J. Iodine content of semi-skimmed milk available in the Netherlands depending on farming (organic versus conventional) and heat treatment (pasteurized versus UHT) and implications for the consumer. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 2019. v. 56, p. 178-183.
- VAN DER REIJDEN, O. L.; ZIMMERMAN, M.B.; GALETTI, V. Iodine in dairy milk: Sources, concentrations and importance to human health. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2017. v. 31, p. 385-395.
- VITTI, P.; RAGO, T.; AGHINI-LOMBARDI, F.; PINCHERA, A. Iodine deficiency disorders in Europe. **Public Health Nutrition**, 2001. v. 4, p. 529-535.
- WALTHER, B.; WECHSLER, D.; SCHLEGEL, P.; HALDIMANN, M. Iodine in Swiss milk depending on production (conventional versus organic) and on processing (raw versus UHT)



and the contribution of milk to the human iodine supply. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 2018. v. 46, p. 138-143.

WENG, H.; YAN, A.; HONG, C.; QIN, Y.; PAN, L.; XIE, L. Biogeochemical transfer and dynamics of iodine in a soil–plant system. **Environmental Geochemistry and Health**, 2009. v. 31, p. 401–411.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chapter 4: Indicators of impact. *In: Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination*. A guide for program managers, 2007. 3 ed. p. 28-34.

ZAGRODZKI, P.; NICOL, F.; MCCOY, M. A.; SMYTH, J. A.; KENNEDY, D. G.; BECKETT, G. J.; ARTHUR, J. R. Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes. **Research in Veterinary Science**, 1998. v. 64, n.3, p. 209–211.

ZIMMERMANN, M. B.; JOOSTE, P. L.; PANDAV, C. S. Iodine-deficiency disorders. **Lancet**, 2008. v. 372, p. 1251-1262.

ZVONOVA, I.; BRATILOVA, A.; JESKO, T.; SARYCHEVA, S.; FOMINTCEVA, M. Ecological half-life of I-131 in milk after dry and wet radionuclide deposition due to the Chernobyl accident. **Radioprotection**, 2009. v. 44, n. 5, p. 731–734.

## ANEXO A



**UFRGS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais



**CARTA DE APROVAÇÃO**

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 35394

Título: ESTUDO DA PREVALENCIA DE DEFICIENCIA DE IODO EM BOVINOS LEITEIROS NO RIO GRANDE DO SUL E FATORES ASSOCIADOS

Vigência: 30/09/2018 à 30/03/2020

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

FELIX HILARIO DIAZ GONZALEZ - coordenador desde 30/09/2018  
TANIA WEBER FURLANETTO - pesquisador desde 30/09/2018  
LAURA VICTORIA QUISHPE CONTRERAS - Aluno de Mestrado desde 30/09/2018

Equipe Externa:

Ana Paula Santin Bortoni - Farmacêutico desde 30/09/2018  
Carlos Bortoni - pesquisador desde 30/09/2018

*Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 08/10/2018 - SALA 330 DO PRÉDIO ANEXO I DA REITORIA, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 360 fêmeas bovinas multíparas produtoras de leite oriundas de rebanhos leiteiros comerciais da bacia leiteira da região do Planalto do Rio Grande do Sul; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.*

Porto Alegre, Quarta-Feira, 28 de Novembro de 2018

MARCELO MELLER ALIEVI  
Coordenador da comissão de ética