

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**INFLUÊNCIA DE UM SIMBIÓTICO NA QUALIDADE DO LEITE E NO
INTERVALO DE PARTOS DE VACAS LEITEIRAS**

Evando Alves Filgueiras
Orientador: Cláudio de Ulhôa Magnabosco

GOIÂNIA
2013



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Evando Alves Filgueiras** E-mail: **evando@bioformula.ind.br**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo Empregatício do autor: **Super Premium Tecnologia em Produtos Biológicos**
Agência de fomento: CAPES

País: **BRASIL UF GOIÁS** CNPJ: 09.619.590/0001-00 Sigla: **BIOFÓRMULA**

Título: **Influencia de um simbiótico na qualidade do leite e no intervalo de partos de vacas leiteiras** Palavras-chave: **Contagem de Células Somáticas, enzimas digestivas, prebióticos, probióticos**

Título em outra língua: **Influence of a synbiotic feed additive on milk quality and calving interval in dairy cows**

Palavras-chave em outra língua: **somatic cell count, digestive enzymes, prebiotics, probiotics**

Área de concentração: **Produção Animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **07/11/2013**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): Prof. **Dr. Cláudio Ulhôa Magnabosco** E-mail: **claudio.magnabosco@embrapa.br**

Co-orientador(1): **Dr. Roberto Daniel Sainz Gonzales** E-mail: **rdsalns@gmail.com**

Co-orientador(2): **Dr. Carlos Frederico Martins** E-mail: **carlos.frederico@cpac.embrapa.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberção para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(a) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiania 11 de fevereiro de 2014

Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

EVANDO ALVES FILGUEIRAS

INFLUÊNCIA DE UM SIMBIÓTICO NA QUALIDADE DO LEITE E NO INTERVALO DE PARTOS DE VACAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada para
obtenção do grau de Mestre em
Ciência Animal junto à Escola de
Veterinária e Zootecnia da
Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:

Produção Animal

Linha de pesquisa:

Fatores genéticos e ambientais que influenciam o desempenho dos
animais

Orientador:

Dr. Cláudio de Uihôa Magnabosco - EMBRAPA

Comitê de orientação:

Dr. Roberto Daniel Sainz Gonzalez – EMBRAPA

Dr. Carlos Frederico Martins - EMBRAPA

GOIÂNIA

2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

F481i Filgueiras, Evando Alves.
Influência de um simbiótico na qualidade do leite e no intervalo de partos de vacas leiteiras [manuscrito] / Evando Alves Filgueiras. - 2013.
xiii, 49 f. : figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Ulhôa Magnabosco; Co-orientadores: Prof. Dr. Roberto Daniel Sainz Gonzales, Dr. Carlos Frederico Martins.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2013.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e tabelas.

1. Células somáticas, contagem de – Leite. 2. Enzimas digestivas – Bovino de leite. 3. Prebióticos – Bovino de leite. 4. Probióticos – Bovino de leite. I. Título.

CDU: 636.2.084.52

Evando Alves Filgueiras

Dissertação defendida e aprovada em **07/11/2013**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Cláudio Ulhoa Magnabosco
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Reginaldo Nassar Ferreira – ICB/UFG



Profa. Dra. Eliane Sayuri Myagi

A memória do amigo Marcelo Rezende, que recentemente nos deixou,
a você
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, por me conceder mais este desafio á minha vida e por sempre colocar as pessoas certas no meu caminho.

Agradeço a meu pai, Gercino Alves da Silva (Seu Fio) por ser meu herói, meu exemplo de otimismo, perseverança e coragem, e a minha mãe Luzandira Pereira Filgueiras Alves (Dona Fia), por seu exemplo de doação, humildade e afeto. Obrigado por todos os ensinamentos, carinho e compreensão, em vocês encontro forças para lutar e tudo que tenho devo a vocês.

A meus irmãos: Cilas, Joinvile, Wanderley, Joabe, João, Adélcio (in memoriam) e irmãs: Selma, Madalena, Divina, Radassa, Gercina, Tuany, Natany e Samara, tem um pouquinho de cada um de vocês em mim e a todos eu devo a grandeza e privilegio de pode chamá-los de irmãos e irmãs. Obrigado pelo apoio carinho, afeto, puxões de orelhas e ensinamentos, esta caminhada não valeria a pena sem vocês.

A minha namorada, Adriana Dias de Souza, pelo carinho, compreensão e puxões de orelha nos momentos em que pensei em desistir. Obrigado por caminhar junto comigo e segurar minha mão quando precisei.

Ao meu orientador, Dr. Cláudio Ulhôa Magnabosco, grande responsável por esse importante passo na minha vida, obrigado por acreditar em mim quando ninguém mais acreditou, nos momentos em que precisei o senhor foi um verdadeiro pai.

Ao meu co-orientador, Dr. Roberto Daniel Sainz, por todos os ensinamentos e apoio.

Aos amigos Serjão, Presunto, Paulão, Robertinho, Thiago Amorim e todos os outros que fazem parte do meu ciclo de amizade, a vocês devo a alegria desta caminhada.

A turma do PILP, pela amizade e apoio nesta tarefa.

Aos amigos e companheiros da Biofórmula, que possibilitou que este sonho se tornasse realidade.

A todas as pessoas e instituições que direta ou indiretamente contribuíram para a construção deste trabalho, em especial:

À Universidade Federal de Goiás, particularmente à Escola de Veterinária e Zootecnia, pela possibilidade de estudar e conduzir meus trabalhos em um ambiente agradável e muito construtivo.

Ao Professor Fernando Brito pela contribuição intelectual.

A todos os colegas acadêmicos pelo companheirismo e colaboração, sintam-se agradecidos nas pessoas de Flávia Martins de Souza e Bárbara Lemos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos membros da banca examinadora pela atenção dispensada na avaliação dessa dissertação.

Aos distribuidores Pedro Beilner, Silvio, Dione, Sergio, Marcelo, Daniel, Derli, Clovis, pela dedicação e apoio na coleta de dados.

A todos os produtores e técnicos que viabilizaram a coleta de dados, obrigado pela contribuição.

Muito obrigado!

PREFÁCIO

"Seja você quem for, seja qual for à posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá."

Ayrton Senna

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Prebióticos.....	4
2.1.1 Uso de prebióticos na alimentação de ruminantes.....	6
2.2 Probióticos.....	7
2.2.1 Exclusão competitiva.....	7
2.2.2 Síntese de bacteriocinas	8
2.2.3 Prevenção da acidose ruminal	9
2.2.4 Ativação do sistema imune.....	9
2.2.5 Mecanismos de ação das Leveduras	10
2.2.6 Uso de probióticos na alimentação de ruminantes	12
2.3 Aditivos Enzimáticos	14
2.3.1 Uso de enzimas digestivas na alimentação de ruminantes.....	15
2.4 Simbióticos	16
2.4.1 Uso de simbióticos na alimentação de ruminantes	16
2.5 Contagem de Células Somáticas – CCS.....	18
2.6 Metanálise	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Local e Período Experimental	23
3.2 Procedimentos de Campo	23
3.3 Variáveis Avaliadas	24
3.3.1 Contagem de células somáticas - CCS e sólidos do Leite	24
3.3.2 Produção de leite	25
3.3.3 Eficiência reprodutiva	25
3.4 Análises Estatísticas	26
3.4.1 Modelo utilizado para as informações de CCS e sólidos do leite	26
3.4.2 Modelo utilizado para as informações de Intervalo de Partos	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Qualidade do Leite	29

4.2 Intervalo de Partos (IP).....	32
5 CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Limites máximos para CCS no leite de acordo com a Instrução Normativa 62/2011, nas regiões Sul Sudeste e Centro-Oeste.....	19
TABELA 2	Mudanças na composição do leite conforme aumento nos níveis de CCS.....	20
TABELA 3	Composição e classificação dos componentes do simbiótico Biofórmula Leite [®]	24
TABELA 4	Descrição das fazendas cujos dados foram utilizados para a meta-análise.....	28
TABELA 5	Variáveis do leite ¹ nos períodos de 12 meses antes e durante a utilização do simbiótico.....	29
TABELA 6	Variáveis reprodutivas ¹ nos períodos de 12 meses antes e durante a utilização do simbiótico.....	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Aderência de mananoligossacarídeos às bactérias.....	5
FIGURA 2	Evolução da CCS antes e durante a utilização do simbiótico.....	31
FIGURA 3	Etapas reprodutivas nos períodos de um ano antes e durante a utilização do simbiótico.....	33

RESUMO

Os aditivos biológicos, como os probióticos, prebióticos e enzimas digestivas, ou mesmo, a combinação destes componentes, comumente denominada de simbióticos, têm se mostrado como uma alternativa para melhorar o desempenho dos animais. Com a finalidade de observar os benefícios advindos dos simbióticos com bactérias microencapsuladas em bovinos de leite, objetivou-se nessa pesquisa, realizar uma meta-análise dos resultados obtidos em nível de campo com a utilização de um produto simbiótico no desempenho produtivo, reprodutivo e na qualidade do leite de vacas leiteiras. Os dados foram coletados em 22 propriedades que utilizam o simbiótico comercial Biofórmula Leite[®], composto por probióticos, prebióticos e enzimas fibrolíticas. A dosagem utilizada em todas as propriedades seguiu a indicação do fabricante de 2 g/animal/dia. Foram coletadas informações de qualidade do leite (Contagem de Células Somáticas - CCS, teores de Gordura, Proteína e Sólidos Totais), foram registradas também as médias de produção dos animais ou quantidades entregues no laticínio, bem como os dados reprodutivos, como datas das inseminações e dos partos. Esses dados foram agrupados para realização de uma meta-análise, que foi realizada de acordo com os procedimentos de modelos mistos preconizados por St. Pierre. Foi realizada uma análise de variância usando o modelo misto, considerando a fazenda como variável aleatória e o tratamento como efeito fixo, e o período aninhado na fazenda. Para cada análise, foi utilizado o procedimento GLM do Minitab (Minitab, Inc., State College, PA, EUA). O nível de probabilidade de 0,05% foi utilizado para determinar a significância estatística de cada efeito. Foi observada uma redução significativa na média de CCS dos tanques (-41%), além de uma redução de 73 dias no IP. Não foi constatado efeito significativo nos teores de gordura, proteína, e sólidos totais do leite. O aditivo simbiótico utilizado neste estudo demonstrou ser uma ferramenta eficaz na redução de células somáticas no leite, bem como na melhoria da fertilidade dos animais.

Palavras chave: contagem de células somáticas, enzimas digestivas, prebióticos, probióticos.

ABSTRACT

Biological additives, such as probiotics, prebiotics and digestive enzymes, as well as the combination of these components - commonly called synbiotics - are an alternative to improve livestock performance. In order to evaluate the effects in dairy cattle of a synbiotic containing microencapsulated bacteria, a meta-analysis was conducted using results obtained on commercial farms. Variables included milk production and quality, and reproductive performance. Data were collected on 22 farms feeding a commercial synbiotic composed of microencapsulated probiotics, prebiotics and fibrolytic enzymes (Biofórmula Leite®). All herds followed the manufacturer's recommended dosage of 2 g / animal / day. Information was collected on bulk tank milk production and quality (Somatic Cell Count - SCC, and contents of milk fat, protein and total solids), as well as reproductive data, such as inseminations and calving dates. These data were pooled for meta-analysis, which was performed according to the mixed models procedures recommended by St. Pierre. An analysis of variance was performed, considering the farm as a random variable and treatment as a fixed effect, with time period nested within farm. For each analysis, we used the GLM procedure of Minitab (Minitab, Inc., State College, PA, USA). A probability level of 0.05% was used to determine the statistical significance of each effect. Treatment with the synbiotic produced significant reductions in bulk tank SCC(-41%) , and in calving interval (- 73 days). There was no significant effect on the contents of fat, protein, and total solids in milk. The synbiotic additive used in this study proved to be an effective tool in the reduction of somatic cells in milk, as well as improving the fertility of animals.

Keywords: digestive enzymes, prebiotics, probiotics, somatic cell count.

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento populacional e da renda média dos países em desenvolvimento, espera-se em 40 anos uma mudança nos hábitos alimentares da população mundial, onde os produtos de origem animal passarão a ser responsáveis por 29% das calorias consumidas pela população, contra cerca de 20% no ano de 2000 (PARKER, 2012).

Diante deste cenário, países como o Brasil, cuja base da economia é o setor agropecuário, é visto como grande responsável pela produção de alimentos para o mundo. Todavia diante das dificuldades da abertura de novas áreas, faz-se necessário que a pecuária brasileira busque formas mais eficientes de produção (SORIO, 2012).

Neste sentido, assume grande importância a utilização de aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho, principalmente antibióticos que têm capacidade de ampliar a resposta animal e a qualidade de seus produtos. Por isso, a utilização de substâncias antibióticas para manter a sanidade dos rebanhos e melhorar o desempenho animal tem sido imprescindível para garantir uma boa produtividade e lucratividade do sistema produtivo.

Essa constatação se deve ao fato de que alguns antibióticos possuem tanto função terapêutica e profilática, como de promotores de crescimento. Existem várias pesquisas voltadas para a aplicação destes compostos em animais de produção (SALLES & LUCCI et al. 2000; SALLES et al., 2001, ZANINE et al., 2006), demonstrando os benefícios advindos de seus empregos, e assim justificando a sua utilização em escala comercial em vários países, como por exemplo, Brasil e Estados Unidos.

Porém, alguns mercados, como o europeu já restringiram a utilização de antibióticos na alimentação animal, devido ao seu potencial de provocar resistência bacteriana (OJEU, 2013). Nesse contexto, foram lançados alguns desafios no intuito de viabilizar a implementação de estratégias de segurança alimentar efetivas e sustentáveis em todos os níveis da cadeia produtiva.

Estas preocupações com um produto final de qualidade, sem a necessidade de utilizar antibióticos têm sido notadas em todos os elos da cadeia

de lácteos, estimulando o uso de estratégias alternativas que proporcionem aumento de produção, melhoria da saúde dos animais e melhoria da qualidade do leite, sem oferecer, no entanto, risco à saúde humana ou animal. Atualmente essas estratégias representam uma tendência no mercado.

Dessa forma, surgiu então o interesse em se avaliar alternativas para a substituição dos melhoradores de desempenho, sendo que, uma dessas alternativas seria os aditivos biológicos, como os probióticos, prebióticos e enzimas digestivas, ou mesmo, a combinação destes componentes, comumente denominada de simbióticos.

Estes componentes têm sido considerados uma alternativa promissora aos antibióticos, pois além de obter resultados satisfatórios em pesquisas (BEAUCHEMIN et al., 2003; ELAM et al., 2003; NOCEK et al., 2003; SILVA et al., 2009) não deixam resíduos e não provocam uma possível resistência bacteriana.

Os probióticos são organismos vivos, que quando introduzidos no trato gastrointestinal (TGI) geram benefícios ao hospedeiro, devida à competição com microrganismos patogênicos ou não desejáveis no meio. Já os prebióticos, são substratos para o desenvolvimento de microrganismos benéficos no trato gastrointestinal. E a aplicação de enzimas digestivas, possui o objetivo de melhorar o aproveitamento dos nutrientes pelos animais, especialmente os alimentos fibrosos, que são de difícil degradação, (KREHBIEL et al., 2003).

São relatados na literatura científica resultados promissores relacionados ao uso de prebióticos, probióticos e enzimas na produção (STEIN et al., 2006; NOCEK & KAUTZ 2006; MAGNABOSCO et al., 2010) e na qualidade do leite (NOCEK & KAUTZ, 2006; STEIN et al., 2006). No entanto, as pesquisas que envolvem o uso conjunto destes aditivos (simbióticos) ainda são incipientes.

O intuito de combinar estes componentes biológicos é a complementação sinérgica dos efeitos de cada um, maximizando os ganhos observados e inferindo numa melhor resposta animal. Um melhor estado nutricional e imunológico pode ser obtido, por meio da utilização de simbióticos, o que pode justificar seu emprego na pecuária leiteira.

Outra técnica que pode potencializar o uso destes aditivos seria a microencapsulação das cepas de bactérias probióticas, aumentando assim sua resistência nas misturas com minerais ou concentrados, aumentando também sua

taxa de passagem pelo rumem, possibilitando sua ativação apenas no intestino, potencializando assim seus efeitos.

A microcápsula pode ser definida como uma tecnologia desenvolvida para recobrir partículas, microrganismos ou pequenas gotas de material líquido ou gasoso, formando cápsulas, que podem liberar seu conteúdo em taxas controladas ou sob condições específicas (MENEZES et al., 2013).

Estas podem ser projetadas para liberação gradual de ingredientes ativos, em que o material de revestimento da cápsula pode ser selecionado para liberar o material microencapsulado em áreas específicas do organismo. Um material de revestimento deve ser capaz de resistir a condições ácidas do trato digestivo superior, permitindo que os microrganismos ativos possam chegar no intestino de maneira intacta (CHAMPAGNE et al., 2011).

Existem hoje no mercado, produtos que reúnem todas essas características, com composição mista e microencapsulados, e que são usados por muitos produtores na busca de benefícios na atividade leiteira, gerando assim uma grande quantidade de observações, que por sua vez podem ser analisadas por meio de uma meta-análise.

A metodologia de meta-análise utiliza técnicas estatísticas para combinar em um único estudo os resultados de estudos independentes voltados a uma única questão. Apesar de haver relatos da união de estudos em uma única base desde 1932, às publicações de MANTEL & HAENSZEL (1959) e de ST. PIERRE (2001) são consideradas como as bases estatísticas da meta-análise moderna na área da biologia animal (LOVATTO et al., 2007).

O uso de dados individuais ou brutos em meta-análises foi relatado por RILEY et al., (2010) em sua revisão, reforçando que esta metodologia pode auxiliar não só no entendimento de resultados de vários estudos, mas também em observações de campo sobre um mesmo tema.

Objetivou-se nessa pesquisa, realizar uma meta-análise dos resultados obtidos em nível de campo com a utilização de um produto simbiótico comercial composto por probióticos microencapsulados, prebióticos e enzimas fibrolíticas no desempenho produtivo, reprodutivo e na qualidade do leite de vacas leiteiras.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Prebióticos

De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, os prebióticos são definidos como ingredientes que não são digeridos pelas enzimas digestivas do hospedeiro, mas que são fermentados pela microbiota do trato gastrointestinal (TGI), originando substâncias que estimulam seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas, inibindo a colonização de bactérias patogênicas ou indesejáveis (MAPA, 2004). Alguns açúcares e peptídeos não digeríveis, lipídeos, fibras, alcoóis de açúcares e oligossacarídeos se adéquam a este conceito de prebióticos.

Dentre estes compostos, os oligossacarídeos são os mais estudados. Nesta classe estão os frutoligossacarídeos (FOS), glucoligossacarídeos (GOS) e os mananoligossacarídeos (MOS).

Os FOS são polímeros de açúcar ricos em frutose, podem ser naturais derivados de plantas ou sintetizados. Estes compostos fornecem carboidratos fermentáveis para bactérias como *Bifidobacterium spp* e *Lactobacillus spp*, de forma a estimular o desenvolvimento de bactérias benéficas que habitam o trato gastrointestinal, minimizando as populações de bactérias patogênicas ou não desejáveis, como a *Escherichia coli* e *Salmonella*, por exclusão competitiva ou por inibição do crescimento de tais bactérias. Este último efeito ocorre através da acidificação do trato gastrointestinal, pela produção de ácido láctico, tornando o ambiente inadequado ao desenvolvimento de alguns microrganismos indesejáveis que vivem em pH neutro (SCAPINELLO et al., 2001; REHMAN et al., 2009).

Diferentemente dos FOS, os glucoligossacarídeos (GOS) e os mananoligossacarídeos (MOS) consistem de fragmentos da parede celular de leveduras como a *Saccharomyces cerevisiae*. Estes fragmentos são constituídos de estruturas complexas de glicose ou manose, GOS e MOS respectivamente, podendo conter proteína e N-acetilglucosamina (REHMAN et al., 2009).

Outros mecanismos de ação estão envolvidos na atuação dos GOS e MOS. As bactérias do trato digestivo precisam aderir à superfície epitelial para que consigam colonizar e criar uma condição patológica. Esta adesão ocorre através de glicoproteínas (lectina) ou fímbrias, e determinados açúcares

presentes na superfície do epitélio intestinal. Na presença de oligossacarídeos dietéticos, especialmente o MOS, as bactérias se ligam a eles, e não à mucosa intestinal, evitando desta forma, a adesão às vilosidades intestinais e a competição nos sítios de ligação do epitélio intestinal, o que faz com que estes microrganismos patogênicos sejam eliminados, passando pelo trato gastrointestinal sem causar problemas digestivos para os animais (OFEK et al., 1977) (FIGURA 1).

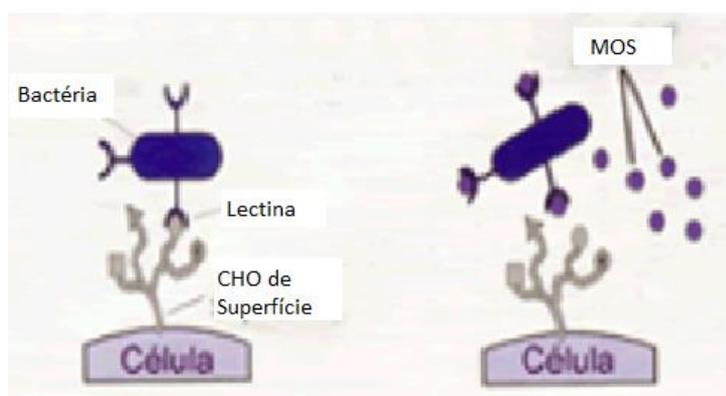


FIGURA 1: Aderência de mananoligossacarídeos às bactérias.

Fonte: GOMES (2013).

Os mecanismos de ação apresentados atuam ainda, de forma indireta sobre o sistema imune do animal, pois as bactérias produtoras de ácidos lácticos no intestino, que geralmente tem seu crescimento potencializado pelo prebióticos, produzem substâncias com propriedades imunoestimulatórias, como os lipopolissacarídeos, peptidoglicanas e ácidos lipoteicóicos. Tais substâncias interagem com o sistema imune estimulando a produção de citocinas, a proliferação de células mononucleares, a atividade macrófaga e a indução da síntese de imunoglobulinas (MACFARLANE & CUMMINGS, 1999). A utilização de MOS e GOS, podem também estimular o sistema imune do animal, por serem constituídos de fragmentos da parede celular de microrganismos (MACARI & MAIORKA, 2000).

Os prebióticos possuem também a capacidade de modificar as características anatômicas do TGI através do aumento na área de absorção de nutrientes pela mucosa intestinal (SILVA & NORBERG, 2003).

Desta forma, as melhorias proporcionadas pelo uso de prébióticos no ambiente, na mucosa intestinal e no sistema imune podem levar inevitavelmente a consequências positivas na produtividade do animal.

2.1.1 Uso de prebióticos na alimentação de ruminantes

No estudo de HASUNUMA et al., (2011) a aplicação de um tipo de oligossacarídeo (celuligossacarídeo) na alimentação de bezerros durante a fase de aleitamento resultou em melhor ganho de peso diário e eficiência alimentar no período pós-desmame. Por outro lado os relatos apresentados por UYENO et al., (2013) trabalhando com o mesmo prebiótico, não mostraram diferença significativa para o desempenho dos animais e a ecologia intestinal do grupo tratamento, em comparação ao grupo controle.

Estudos utilizando mananoligossacarídeos, também não mostraram efeitos sobre a contagem de bactérias patogênicas presente nas fezes, sobretudo no desempenho do animal (TERRE et al., 2007; HEINRICHS et al., 2009).

Embora a maioria dos estudos sejam focados em observar a ação dos prébióticos no intestino animal, na pesquisa de ZHONG et al., (2012) foi observado o efeito do polissacarídeo de *Astragalus* na fermentação ruminal de cordeiros. Houve aumento nas concentrações totais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e de propionato, com consequente redução na proporção acetato:propionato. O aumento na concentração total de AGCC pode ser justificado pelo aumento no consumo, o que se refletiu num melhor ganho médio diário.

São poucos os estudos desenvolvidos para avaliar os efeitos de prebióticos em ruminantes, sobre a fermentação ruminal ou performance produtiva e qualidade do leite, sendo a maioria destes, relacionados à fase inicial da vida destes animais. A variação de resultados pode estar ligada a grande quantidade de compostos que podem ser empregados como prebióticos refletindo

assim em mecanismos de ação diferentes. Além disso, as doses aplicadas apresentam grandes variações, implicando em diferentes respostas.

2.2 Probióticos

Os probióticos, assim como os prebióticos, têm a função de promover o equilíbrio da microbiota do TGI, mas se diferem por serem cepas de microrganismos vivos viáveis, que agem como auxiliares na recomposição da microbiota, diminuindo o número dos microrganismos patogênicos ou indesejáveis (MAPA, 2004).

Segundo FULLER & COLE (1989), os microrganismos classificados como probióticos devem atender alguns pré-requisitos: não devem ser patogênicos aos humanos e animais; devem ser resistentes aos ácidos e enzimas do TGI; devem ter capacidade de colonizar o TGI, ao menos temporariamente; devem fazer parte da microbiota intestinal do hospedeiro; devem ser cultiváveis em escala industrial; devem permanecer viáveis no alimento até o momento da ingestão; e devem gerar benefícios ao hospedeiro.

As bactérias *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* e algumas espécies de leveduras do gênero *Saccharomyces* são os microrganismos mais utilizados como probióticos em animais de produção (GUPTA & GARG, 2009).

Existem várias hipóteses que podem estar associadas ou não, para explicar a ação dos probióticos no trato gastrointestinal, dentre as quais, são destacadas:

- Exclusão competitiva
- Síntese de bacteriocinas
- Prevenção da acidose ruminal
- Ativação do sistema imune

2.2.1 Exclusão competitiva

SALMINEN et al. (1996) relataram que os microrganismos presentes no trato gastrointestinal (TGI) precisam aderir à mucosa intestinal para produzir

suas toxinas, uma vez que, a adesão evita que os mesmos sejam eliminados pelos movimentos peristálticos. FULLER & BROOKER (1974) afirmam que a aderência dos microrganismos no intestino depende da interação entre os mucopolissacarídeos da parede celular e da camada de mucopolissacarídeos semelhante na mucosa intestinal, sendo assim, os vários gêneros de microrganismos presentes no TGI possuem sítios de aderência específicos na mucosa intestinal.

CROSS (2002) e KREHBIEL et al. (2003) relatam que um dos principais efeitos dos probióticos no intestino seria a exclusão competitiva dos microrganismos patogênicos, uma vez que os probióticos ocupariam os mesmo sítios de ativação de tais microrganismos. KREHBIEL et al. (2003) relatam ainda que outra forma de competição seria por alimentos, levando-se em conta que microrganismos benéficos colonizaram a mucosa intestinal, a disponibilidade de nutrientes para os microrganismos patogênicos, tende a ser menor.

Dessa forma, fica evidenciada a importância de se fornecer de forma contínua doses diárias de probióticos, para que se maximize seu efeito benéfico ao hospedeiro (COPPOLA & TURNES, 2004).

2.2.2 Síntese de bacteriocinas

Algumas cepas probióticas possuem ainda a capacidade de inibir a multiplicação de microrganismos patogênicos, através da síntese de bacteriocinas, influenciando diretamente a saúde do hospedeiro (JIN et al., 2000; OGAWA et al., 2001).

De acordo com RUSSEL & MANTOVANI (2002) bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos de baixo peso molecular, sendo produzidas por bactérias gram-positivas e gram-negativas, que apresentam espectro de ação variado. A atuação das bacteriocinas ocorre primariamente sobre a membrana plasmática bacteriana, formando poros que possibilitam a perda de componentes citoplasmáticos, ocasionando a morte celular (MOLL et al., 1999).

MANTOVANI et al. (2001) identificaram e caracterizaram algumas bacteriocinas em bactérias do rúmen, sendo estas substâncias mais efetivas

contra bactérias gram-positivas. A ação antimicrobiana desses peptídeos assemelha-se à dos ionóforos (RUSSEL & MANTOVANI, 2002).

LEE et al. (2002) demonstraram que a bacteriocina ruminal Bovicina HC5 produzida por *Streptococcus bovis* HC5 inibiu a produção de amônia por culturas puras de *Clostridium aminophilum* e a produção de metano *in vitro*, por culturas mistas de microrganismos do rúmen. CALLAWAY et al. (1997) verificaram que o *Lactococcus lactis* produzia uma bacteriocina conhecida como Nisina, que possuía efeito inibitório sobre a produção de amônia por algumas bactérias.

2.2.3 Prevenção da acidose ruminal

Existem trabalhos que demonstram que os probióticos bacterianos possuem efeitos benéficos no ambiente ruminal, principalmente na prevenção de acidose. Um dos mecanismos propostos seria de que a produção de lactato pelas cepas probióticas induziria a seleção de bactérias consumidoras deste produto (GHORBANI et al., 2002). Outro mecanismo seria que as próprias cepas probióticas utilizariam o lactato, reduzindo assim suas concentrações no ambiente ruminal, como por exemplo, as *Propionibacterium*, que utilizam o lactato para produzir propionato e outros ácidos graxos de cadeia curta (KREHBIEL et al., 2003).

Todavia, na maioria dos relatos sobre ação dos probióticos na prevenção de acidose ruminal, é atribuído às leveduras, que podem atuar controlando os níveis de oxigênio no ambiente ruminal e assim estimulando o crescimento de bactérias desejáveis no rúmen através de pequenos grupos de peptídeos não identificados ainda, e que, dessa forma estimulam o crescimento desses microrganismos (BARBOSA et al., 2004). O mecanismo de ação das leveduras será descrito mais adiante.

2.2.4 Ativação do sistema imune

Além de seu papel na digestão e absorção dos nutrientes, o TGI funciona como a primeira linha de defesa do organismo contra invasões

patogênicas, fornecendo ao animal proteção contra a presença de antígenos presentes nos alimentos e microrganismos patogênicos que colonizam o lúmen intestinal. Estas respostas podem ser inespecíficas (inatas) ou específicas (adaptativas) (KREHBIEL et al., 2003).

De acordo com SAXELIN et al. (2005) os probióticos podem atuar no intestino ativando o sistema imune, reforçando a barreira da mucosa e suprimindo as inflamações intestinais. Esses efeitos podem estar relacionados à capacidade de os microrganismos probióticos interagirem com as placas de Peyer e as células epiteliais intestinais, estimulando as células B produtoras de IgA e a migração de células T para a mucosa intestinal (PERDIGÓN et al. 2003). Também tem sido demonstrado que os probióticos favorecem a atividade fagocítica inespecífica dos macrófagos alveolares, sugerindo uma ação sistêmica por secreção de mediadores que estimulariam o sistema imune (CROSS, 2002).

ISOLARI et al. (2001) relatam que a administração oral de *Lactobacillus* spp. resultou em aumento da resposta imune inata, ou seja, aumento da fagocitose, bem como, uma elevada produção de imunoglobulina (IgA) e uma diminuição da produção de IgE em humanos e animais.

Outras ações descritas seriam: a neutralização das endotoxinas produzidas por bactérias patogênicas; o aumento da síntese de enzimas digestivas e vitaminas do complexo B; e a estimulação da imunidade através da produção de substâncias com propriedades imunoestimulatórias, como os lipopolissacarídeos, peptidoglicanas e ácidos lipoproteicos (FULLER, 1989).

2.2.5 Mecanismos de ação das Leveduras

Segundo KMET et al. (1993), as leveduras além de possuírem ação complementar às bactérias probióticas no intestino, podem estimular direta e indiretamente processos microbianos de degradação e fermentação no rúmen.

Logo, é importante ressaltar que, as leveduras diferentemente das bactérias, não conseguem se implantar no TGI, por isso a sua administração deve ser de maneira regular e repetida.

BLÉHAUT et al. (1989), em estudos com monogástricos observaram que dois a cinco dias após interromper seu uso, a levedura já não era mais

encontrada nas fezes. Em ovinos, observou-se que as células vivas dos fungos persistiram no rúmen por aproximadamente 30 horas, desaparecendo deste compartimento gradualmente. Sua excreção não foi mais detectada após 4 dias (DURAND-CHAUCHEYRAS et al., 1998).

De acordo com WALLACE (1994), a atuação das leveduras em ruminantes está relacionada principalmente à melhora na digestibilidade da fibra e no aumento do fluxo duodenal de nitrogênio. Este fato é decorrente da maior atividade bacteriana, corroborada pelo aumento da contagem de bactérias anaeróbicas, especialmente bactérias celulolíticas no fluido ruminal.

No entanto, os efeitos das leveduras sobre o crescimento ou atividades dos microrganismos ruminais não estão bem esclarecidos. Alguns mecanismos podem se basear no fornecimento de importantes nutrientes ou cofatores nutricionais como vitaminas e ácidos dicarboxílicos, que estimulam a atividade microbiana, enquanto outros sugerem a habilidade da levedura em controlar o nível de oxigênio no ambiente ruminal, ou mesmo a habilidade de controlar o pH (DAWSON, 2000).

O rúmen apesar de ser considerado um meio anaeróbico, pode apresentar de 0,5% a 1,0% de oxigênio (VALADARES FILHO & PINA, 2006), em decorrência da ingestão de alimentos, água, deglutição, etc. Este oxigênio é consumido por uma população de anaeróbios facultativos que habitam principalmente as paredes deste órgão (HUNGATE, 1969), entretanto, pode ser tóxico para os microrganismos anaeróbicos benéficos e prejudicar a adesão de bactérias celulolíticas às partículas fibrosas (ROGER et al., 1990). Sabendo que as leveduras são microrganismos anaeróbios facultativos, com alta capacidade respiratória (BARFORD & HALL, 1979), as leveduras podem estimular o crescimento dos microrganismos anaeróbios específicos pela remoção rápida e eficiente de oxigênio do ambiente ruminal, podendo melhorar desta forma, a digestibilidade das frações fibrosas dos alimentos.

Quanto à atuação das leveduras na estabilidade do pH ruminal, esta pode estar relacionada à estimulação do crescimento de bactérias consumidoras de lactato ou à limitação de substratos para o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido láctico. De acordo com CHAUCHEYRAS et al. (1996), as leveduras competem com o *Streptococcus bovis* (principal bactéria fermentadora

de carboidratos e produtora de lactato) por substrato rapidamente fermentável. Assim, o rápido consumo de carboidratos pelas leveduras poderia reduzir a disponibilidade de substrato para o crescimento de *S. bovis* e reduzir a incidência de acidose ruminal.

Além disso, as leveduras possuem a habilidade de estimular o crescimento de bactérias consumidoras de ácido láctico (*Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*) (AUCLAIR, 2001). Segundo MARTIN & NISBET (1992) os principais fatores estimulatórios parecem ser os ácidos dicarboxílicos fornecidos pelas culturas de leveduras, particularmente o ácido málico, que podem favorecer o crescimento e a atividade das bactérias utilizadoras de ácido láctico, e prevenir flutuações perigosas do pH ruminal pela redução no nível de lactato.

Este fato foi comprovado no estudo *in vitro* de CALLAWAY & MARTIN (1997) com o observado aumento do crescimento de *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* com a suplementação de leveduras.

Quanto a influencia das leveduras sobre a digestibilidade da fibra dietética, neste mesmo estudo foi notado aumento na degradação inicial da celulose por bactérias como *Fibrobacter succinogenes* S 85 e *R. flavefacies* FD1.

2.2.6 Uso de probióticos na alimentação de ruminantes

Vista à capacidade de influenciar a fermentação ruminal, as leveduras têm sido mais estudadas em ruminantes do que as bactérias probióticas, porém, vários autores vem conduzindo trabalhos no intuito de identificar os principais benefícios das bactérias probióticas.

Em estudos *in vitro* foram observados aumentos do crescimento de bactérias como *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* com a suplementação de leveduras do gênero *Saccharomyces*. Foi notado também aumento na degradação inicial da celulose por bactérias como *Fibrobacter succinogenes* S 85 e *R. flavefacies* FD1 (CALLAWAY & MARTIN, 1997).

Em avaliação *in situ* ZEOULA et al. (2008) e FERELI et al. (2010) observaram maior fermentação ruminal das frações fibrosas do alimento em bovinos suplementados com *Saccharomyces cerevisiae*.

Estes efeitos demonstrados pela ação das leveduras podem implicar num melhor desempenho dos animais, como observado nos estudos de KNORR et al. (2005), com a melhoria no desempenho de novilhos em pastagem nativa diferida e de SUÑÉ & MÜHLBACH (1998) com o aumento na produção de leite (16,44 kg/dia vs 19,32 kg/dia) de vacas holandesas em pastejo, suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae*.

No entanto, a suplementação com leveduras em animais recebendo considerável teor de concentrado ($\leq 50\%$) parece não surtir efeitos nos animais (MEDRONI et al., 2000; SANTOS et al., 2006; KUSS et al., 2009; GOMES et al., 2011).

Os estudos envolvendo a utilização de bactérias probióticas na alimentação de ruminantes estão mais direcionados à fase inicial de vida desses animais, devido a apresentarem maior sensibilidade a agentes patogênicos, por ainda não apresentarem imunidade ativa, decorrendo em grandes incidências de diarreias que podem variar de 14 a 18% (WEBSTER, 1990).

TIMMERMAN et al. (2005) utilizando um composto com cepas de *Lactobacillus*, *Lactococcus* e *Enterococcus* na alimentação de bezerros recém nascidos verificaram redução nos casos de diarreia, e também no número de dias que os animais permaneciam com diarreia no lote de animais que consumiam o probiótico ($P < 0,05$).

SIGINORINI et al. (2011) realizou uma meta-análise com trabalhos referentes ao uso de probióticos em bezerros e constatou que em 70% dos experimentos o uso destes aditivos reduziu a incidência de casos de diarreia ($P < 0,05$).

Já GARCIA (2008) avaliou o ganho em peso de 38 animais recém nascidos da raça holandesa recebendo sucedâneo do leite (controle) e sucedâneo do leite mais 1, 2 ou 3 gramas de um probiótico comercial a base de *Bacillus subtilis*, e verificou um maior ganho em peso diário nos animais que consumiam 4 gramas do probiótico ($P < 0,05$).

MEYER et al. (2001) utilizando um probiótico à base de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*, também verificaram um aumento no ganho em peso de 79 bezerros recém nascidos da raça holandesa.

Outros estudos demonstram ainda o efeito benéfico na produção e qualidade do leite. NOCEK & KAUTZ (2006) relatam um aumento de 6% ($P < 0,01$) na produção de leite de vacas da raça Holandesa quando utilizou um probiótico a base de *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*. Resultados semelhantes foram encontrados por NOCEK et al. (2003).

FRANCISCO et al. (2002) não observaram aumento nas concentrações de lactose e gordura quando adicionaram 17 gramas de *Propionibacterium* estirpe P169 na dieta de vacas da raça holandesa avaliadas desde 2 semanas pré parto até 12 semanas pós parto, porém os mesmos observaram aumento na proteína na primeira semana pós parto ($P < 0,05$).

As variações dos resultados encontrados podem estar condicionadas a quantidade e as características das cepas dos microrganismos empregados, bem como, na forma de fornecimento de tais produtos.

2.3 Aditivos Enzimáticos

Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta aos animais, mas auxiliam o processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes. Por isso, as enzimas produzidas industrialmente são cada vez mais utilizadas como aditivos para melhorar a eficiência nutricional dos animais.

As enzimas são proteínas que catalisam reações químicas em sistemas biológicos. Estão envolvidas na degradação de moléculas complexas de alimentos em compostos químicos menores (ex. glicose e aminoácidos) e são caracterizadas pelo tipo de substrato ao qual reagem, podendo ser de origem bacteriana (*Bacillus* sp.) ou fúngica (*Trichoderma* e *Aspergillus*) (BEAUCHEMIN & RODE, 1996).

Diante a especificidade das enzimas, as suas funções podem ser restrita a determinados substratos, podendo apresentar atividade de celulase, xilanase, amilase, pectinase, fitases, carbohidrase, protease ou beta-glucanase (FAGUNDES 2008).

As enzimas podem ser resistentes à digestão no rúmen e abomaso, e também afetar eventualmente a utilização dos nutrientes no intestino. Este relato

foi observado no estudo de HIRSTOV et al. (1997) a partir do observado aumento da atividade enzimática no intestino, principalmente a xilanase.

Os aditivos enzimáticos podem atuar de forma direta, por hidrólise do alimento, ou indiretamente, "estimulando" a colonização dos microrganismos na fração do alimento. Naquelas situações em que as enzimas endógenas não são suficientes para maximizar a digestibilidade do alimento, especialmente as fibras, o tratamento enzimático pode contribuir para a diminuição das frações indisponíveis da proteína e carboidratos tornando a parede celular mais degradável (GWAYUMBA & CHRISTENSEN, 1996).

2.3.1 Uso de enzimas digestivas na alimentação de ruminantes

Sabe-se que os ruminantes, diferentemente dos monogástricos, possuem capacidade de obter energia a partir de alimentos fibrosos, tal fato se deve à presença de microrganismos ruminais que possuem a habilidade de degradar os polímeros de celulose, hemicelulose e β -glucanos através de suas enzimas e utilizar seus monômeros. No entanto, muitas vezes, essa habilidade dos ruminantes não é suficiente para expressão de seu máximo potencial para ganho em peso ou produção de leite (SAINZ et al., 2010).

Com o intuito de maximizar a utilização dos nutrientes, os aditivos enzimáticos podem melhorar a resposta animal, se considerarmos que as enzimas fibrolíticas (exógenas) podem potencializar a degradação dos polissacarídeos estruturais juntamente com as enzimas produzidas pelos microrganismos do rúmen, estimulando a taxa de degradação da fibra (BEAUCHEMIN et al., 2003).

No estudo de GIRALDO et al. (2008) observou-se que a suplementação de enzima fibrolítica tendeu a aumentar ($P = 0,06$) o número de bactérias celulolíticas, mas não influenciou a digestibilidade da dieta. Enquanto que, ARRIOLA et al. (2011) mostraram que a suplementação com enzimas fibrolíticas promoveu aumento na digestibilidade da MS, PB, FDN e FDA e da eficiência da produção de leite em vacas leiteiras.

Em bovinos de corte, um produto enzimático exógeno, a base de endoglucanase, xilanase, α -amilase, protease, aumentou a digestibilidade dos

nutrientes, e em decorrência melhorou o ganho de peso vivo em 16% (SALEM et al., 2013). Outros efeitos positivos das enzimas fibrolíticas foram reportados em vacas leiteiras (ZHENG et al., 2000; BEAUCHEMIN et al., 2003) e bovinos de corte (BEAUCHEMIN et al., 1995, 1997).

Embora haja muitos estudos favoráveis à aplicação de aditivos enzimáticos, outras pesquisas mostram que as enzimas não foram eficazes em melhorar o desempenho dos animais (REDDISH & KUNG JR, 2007; AWAWDEHA & OBEIDAT, 2011).

Estas variações podem ser atribuídas às atividades e as características das enzimas fornecidas, ou o método de fornecimento do produto enzimático aos animais.

2.4 Simbióticos

Alimentos simbióticos podem ser caracterizados como a combinação de aditivos moduladores da microbiota do TGI, podendo apresentar efeitos aditivos ou sinérgicos. Assim, os probióticos, prebióticos e as enzimas podem ser utilizados em conjunto, a fim de potencializar a resposta animal com a ação de cada um (RAIZEL et al., 2011).

Em ruminantes, a aplicação de simbióticos, pode favorecer a saúde intestinal dos animais, além de maximizar a utilização de nutrientes em nível de rúmen e intestino, e conseqüentemente melhorar o desempenho destes.

2.4.1 Uso de simbióticos na alimentação de ruminantes

Os relatos de uso da combinação estrita dos probióticos, prebióticos e enzimas na alimentação de ruminantes são mais recentes e com poucas descrições na literatura, já a utilização de pelo menos dois destes foi observada com maior frequência.

A ação conjunta de extratos da fermentação de *Aspergillus oryzae* e culturas de *Saccharomyces cerevisiae* promoveram efeitos benéficos aos animais, melhorando a eficiência digestiva e o ganho médio diário de bezerros bubalinos (FRANCIA et al., 2008). A combinação de enzimas hidrolisadas com

leveduras na alimentação de vacas multíparas também geraram efeitos favoráveis, melhorando a composição e produção de leite (41,6 vs 43,4 kg) (NOCEK et al., 2011).

Combinando enzimas hidrolisadas com leveduras na alimentação de vacas multíparas observou-se efeitos favoráveis na composição e produção leiteira (41,6 vs 43,4 kg) (NOCEK et al., 2011). A combinação de extratos da fermentação *Aspergillus oryzae* e culturas de *Saccharomyces cerevisiae* também geraram efeitos benéficos aos animais, melhorando a eficiência digestiva e o ganho médio diário de bezerros bubalinos (FRANCIA et al., 2008).

Enquanto que, a utilização de um produto comercial, contendo probióticos e enzimas, não promoveu melhorias na digestibilidade e desempenho de bovinos Guzerá terminados em confinamento (ROSA et al., 2011). O mesmo foi observado no estudo de SCHUZ NETO et al. (2013) trabalhando com bovinos da raça Nelore em pastejo como o mesmo produto comercial.

SILVA et al. (2009) também não notaram diferença significativa sobre o peso vivo médio de ovinos com a utilização de um produto simbiótico, mas foi observado aumento de 17,59% no ganho médio diário e redução de aproximadamente 70% na contagem de ovos por gramas nas fezes dos cordeiros confinados.

O emprego da combinação de aditivos moduladores da microbiota do TGI é recente em ruminantes, por isso, poucos estudos foram desenvolvidos avaliando os simbióticos no desempenho dos animais. Grupos de pesquisas em parceria com a Embrapa Cerrados vêm desenvolvendo estudos avaliando a combinação de probióticos, prebióticos e enzimas em bovinos (MAGNABOSCO et al., 2010; SAINZ et al., 2011; FILGUEIRAS et al., 2011; FILGUEIRAS et al., 2012; FILGUEIRAS et al., 2012b, RIBEIRO et al., 2013).

Resultados parciais de um produto simbiótico contendo probióticos, prebióticos e enzimas fibrolíticas demonstraram redução na contagem de células somáticas do leite de vacas leiteiras, constatando efeito protetor contra infecção e/ou inflamação da glândula mamária (FILGUEIRAS et al., 2011; FILGUEIRAS et al., 2012). Em bovinos de corte, este mesmo produto foi capaz de promover aumento no ganho em peso ($P < 0,05$) em relação ao controle (1,535 kg/dia e

1,483 kg/dia, respectivamente), demonstrando seu potencial como melhorador de desempenho (FILGUEIRAS et al., 2012b, RIBEIRO et al., 2013).

Os simbióticos podem ser uma boa ferramenta para melhorar o desempenho reprodutivo de fêmeas bovinas, por favorecer um melhor estado nutricional a esses animais. No entanto, ainda não se têm estudos que relacionem os simbióticos e a reprodução de bovinos.

2.5 Contagem de Células Somáticas – CCS

De acordo com LAGONI (2006) células somáticas são células de defesa do organismo, constituídas de macrófagos, linfócitos, neutrófilos e leucócitos, ou seja, glóbulos brancos do sangue, que são enviados pelo organismo para combater infecções na glândula mamaria, contendo ainda células epiteliais de escamação. Em animais saudáveis, 65 a 70% do total de células somáticas são de origem epitelial, porém em casos de mastite subclínica, este número pode variar de 10 a 50% (MARQUES et al., 2002).

Por ser um indicativo da saúde da glândula mamaria, a contagem de células somáticas (CCS) tem sido utilizada mundialmente por indústrias, produtores e entidades governamentais para monitoramento individual e/ou dos rebanhos quanto aos casos de mastite subclínica e para avaliação da qualidade do leite (SANTOS, 2006).

DOHOO & LESLIE (1991) relatam que a sua utilização como ferramenta para monitoramento da qualidade do leite teve início no final da década de 1970 na Europa. Em 1992 a União Europeia adotou os limites máximos de 400.000 CS/mL do leite destinado ao consumo humano, já no Canadá o limite máximo é de 500.000 CS/mL e nos EUA de 750.000 CS/ml.

No Brasil, com a necessidade de se melhorar a composição e a qualidade do leite, foi criada em 2002 a Instrução Normativa 51, que entrou em vigor em 2005 e vigorou até 2011, estabelecendo as características mínimas de um leite com qualidade, limitando entre outros a CCS e os períodos de prevalência de cada limite (BRASIL, 2002).

Em 2011, a Instrução Normativa 51 foi revogada e substituída pela Instrução Normativa 62, que manteve os mesmos critérios para qualidade do leite,

porém escalonando a redução de CCS e CBT com a máxima redução prevista para 2016, conforme tabela 01 (BRASIL, 2011)

TABELA 01 – Limites máximos para CCS no leite de acordo com a Instrução Normativa 62/2011, nas regiões Sul Sudeste e Centro-Oeste.

Índice	A partir de 01/01/2012	A partir de 01/07/2014	A partir de 01/07/2016
CCS	600.000 CS/mL	500.000 CS/mL	400.000 CS/mL

Nas regiões Norte e Nordeste a IN 62 passa a vigorar sempre um ano após as demais regiões

Fonte: MAPA (2011).

O aumento da CCS no leite pode ser decorrente de vários fatores, dentre os quais podemos citar o nível de infecção intramamária, idade, estágio de lactação, época do ano e frequência de ordenha (LAGONI, 2006).

De acordo com SANTOS (2003) a alta CCS interfere negativamente na produção e qualidade do leite, reduzindo sua secreção e diminuindo os teores de sólidos.

A redução ocorre devido aos danos físicos causados pelos microrganismos agressores nas células epiteliais secretoras da glândula mamária, assim como alterações na permeabilidade vascular no alvéolo secretor (SANTOS, 2003).

Já a redução dos sólidos ocorre basicamente por três motivos: lesão do epitélio secretor pela ação dos microrganismos, causando redução na síntese dos componentes do leite; aumento da permeabilidade vascular, aumentando assim a passagem de substâncias do sangue para o leite; e a ação de enzimas originária das células somáticas e dos microrganismos presentes no leite (BRITO & BRITO 2002).

TEIXEIRA et al. (2003) e ANDRADE et al. (2004) observaram redução significativa na produção de leite à medida que aumenta o ECS dos rebanhos avaliados. COLDEBELLA et al. (2004) relatam que as perdas de produção se iniciam a partir de 17.000 CS/mL, e para cada aumento de uma unidade na escala do logaritmo deste valor, estimam-se perdas de 238 e 868 ml/dia em primíparas e multíparas, respectivamente.

As mudanças na composição do leite associadas com a alta CCS e os principais motivos pela alteração são apresentados na tabela 02 por SCHAELLIBAUM (2000).

TABELA 02 – Mudanças na composição do leite conforme aumento nos níveis de CCS.

Componentes do Leite	CCS (CS x 1000/mL)				Motivo da Alteração
	<100	<250	500-1000	>1000	
Lactose	4,900	4,740	4,600	4,210	Redução da Síntese
Caseína Total	2,810	2,790	2,650	2,250	
Gordura	3,740	3,690	3,510	3,130	
Proteínas Séricas (total)	0,810	0,820	1,100	1,310	Aumento da Permeabilidade
Cloro	0,091	0,096	0,121	0,147	
Sódio	0,057	0,062	0,091	0,105	
Potássio	0,173	0,180	0,135	0,157	

Fonte: Adaptado de Schaellibaum (2000).

Como pode ser observado na tabela 02, conforme aumenta a CCS, reduz-se o percentual dos sólidos de grande importância para a indústria como gordura, caseína e lactose. Em contrapartida, todos os elementos indesejáveis em um leite de qualidade, como proteínas séricas, cloro e sódio tem suas concentrações aumentadas, potencializando assim a perda de qualidade do leite e dos derivados (MÜLLER, 2002).

2.6 Meta-análise

A produção científica mundial evoluiu de forma exponencial nas últimas décadas, este aumento é resultado do interesse contínuo para o desenvolvimento de novas tecnologias, que exigem cada vez mais detalhes dos mecanismos científicos. No entanto, esse aumento na produção científica, levou também ao aumento das publicações, gerando dificuldade na análise qualificada da literatura, a que pode dificultar a contextualização do problema com erros de interpretação ou análise (LOVATTO et al., 2007).

De acordo com esse mesmo autor, no intuito de analisar e sistematizar essa gama de informações, surgiu a mais de três décadas a meta-análise, um procedimento que combina resultados de vários estudos para fazer uma síntese reproduzível e quantificável dos dados, melhorando a potência estatística na pesquisa dos efeitos dos tratamentos, sendo mais precisa na estimação e tamanho do efeito.

Na área animal, a quantidade de meta-análises publicadas tem aumentado nos últimos anos (LOVATTO & SAUVANT, 2002; MARTIN & SAUVANT, 2002; OFFNER et al., 2003; EUGÈNE et al., 2004; HAUPTLI et al., 2007), sinalizando que esse procedimento possa se tornar rotina nesse campo da ciência.

Os métodos tradicionais de revisão extraem informações de publicações com ou sem análise estatística. E, às vezes, os testes utilizados não são adequados por serem dependentes do tamanho da amostra. Esse fato faz com que resultados não significativos não tenham o mesmo peso que os significativos. Além disso, as revisões tradicionais ignoram as diferenças de condições experimentais entre os estudos (LOVATTO et al., 2007).

Dessa forma, sem o ajuste dessas diferenças através de ferramentas apropriadas, muitas vezes os resultados não serão compilados na base de dados de forma coerente e confiável (ANELLO & FLEISS, 1995), sendo ainda a variabilidade observada inter-experimentos é, normalmente, atribuída à variação aleatória (VICTOR, 1995).

Na meta-análise o enfoque é mudado, mudando a direção e a magnitude dos efeitos entre os estudos. A meta-análise possibilita uma estimativa imparcial do efeito de tratamento, com um aumento da precisão. Devido aos efeitos conflitantes, os estudos individualizados produzem estimativas de associações que divergem de abordagens mais sistêmicas. A consideração completa de heterogeneidade entre estudos, em particular de possíveis fontes de variação, permite um cálculo mecanicista de uma medida global de efeito (LOVATTO et al., 2007).

Ainda, de acordo com LOVATTO et al. (2007) os objetivos a meta-análise são: obter novos resultados a partir de uma vários outros estudos; sintetizar resultados contraditórios que tornam uma questão inconclusiva quando

avaliados individualmente; aumentar a precisão analítica, pois com o agrupamento dos dados aumenta se o número de observações; melhorar a representatividade da amostra, através do ajuste da média entre os vários trabalhos e; ajuda para a planificação e geração de uma nova hipótese, pois alguns efeitos que não podem ser observados em experimentos isolados, podem ser observados pelo agrupamento dos trabalhos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Período Experimental

A coleta de dados foi realizada em propriedades dos estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Goiás, que utilizaram ou utilizam o simbiótico Biofórmula Leite[®] por um período mínimo de 90 dias e que possuíam um histórico de análise de qualidade do leite, registros de dados produtivos e reprodutivos dos rebanhos, entre 2011 e 2013 e incluindo o período antes e depois do início do tratamento com o produto simbiótico Biofórmula Leite[®]. Esses dados foram agrupados para realização de uma meta-análise, que foi realizada de acordo com os procedimentos de modelos mistos preconizados por ST. PIERRE (2001), conforme descrito mais adiante.

3.2 Procedimentos de Campo

Os dados foram coletados em propriedades que utilizam o produto comercial Biofórmula Leite[®], um simbiótico composto por probióticos, prebióticos e enzimas digestivas, Tabela 01. A dosagem utilizada em todas as propriedades seguiu a indicação do fabricante de 2 g/animal/dia, porém em alguns rebanhos foi utilizada uma dosagem de 4 g/animal/dia nos primeiros 30 dias do tratamento, visando acelerar o efeito benéfico do produto.

Foram visitadas 22 propriedades entre os meses de agosto e setembro de 2013, nas quais foram coletadas informações de qualidade do leite (CCS, teores de Gordura, Proteína e Sólidos Totais). Essas informações vêm especificadas na nota fiscal do leite que é entregue no laticínio ou em laudos individuais dos animais. Também foram registradas as médias de produção dos animais ou quantidades entregues no laticínio, bem como os dados reprodutivos, como datas dos partos e datas de inseminações.

As propriedades possuíam informações referentes às análises realizadas nos tanques de resfriamento de cada propriedade. Essas são as informações de fato utilizadas pelos laticínios para determinar as bonificações que são pagas pelo leite de qualidade superior.

TABELA 03 - Composição e classificação dos componentes do simbiótico Biofórmula Leite®

Componente	Classificação	Níveis de garantia	Unidade
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Probiótico	2,20 x 10 ⁶	UFC/g
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Probiótico	9,00 x 10 ⁵	UFC/g
<i>Enterococcus faecium</i>	Probiótico	1,80 x 10 ⁶	UFC/g
<i>Bacillus subtilis</i>	Probiótico	2,20 x 10 ⁶	UFC/g
Celulase	Enzima	6	UC/g
Hemicelulase	Enzima	10	UH/g
Xilanase	Enzima	3	UX/g
Mananoligossacarídeo	Prebiótico	20	%
Levedura Inativa	Prebiótico	40	%
Carbonato de cálcio	Veículo	28,9	%
Dióxido de Silício	Antiaglomerante	0,05	%

3.3 Variáveis Avaliadas

3.3.1 Contagem de células somáticas - CCS e sólidos do Leite

Do total de 22 propriedades visitadas, sete possuíam histórico de qualidade do leite por um período igual ou superior a um ano antes do uso do produto e de pelo menos um ano depois do início da sua utilização. As demais propriedades ou possuíam histórico inferior a este período, ou não possuíam histórico de algum destes períodos. Foram utilizadas as análises de qualidade do leite enviadas pelo laticínio, que contemplam a CCS, Gordura, Proteína e Sólidos Totais do tanque resfriador das propriedades.

Com base nesses levantamentos, foi possível avaliar os valores anteriores à utilização do simbiótico em comparativo com o período de utilização do simbiótico.

Como as datas de início da utilização do simbiótico não coincidiram entre as propriedades, foi utilizada uma escala com números negativos e positivos, onde resultados dos meses anteriores ao uso do produto receberam escala negativa (-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -12) e os resultados no período de uso do produto receberam escala positiva (+1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12), totalizando 12 meses sem a utilização do simbiótico e 12 meses com a utilização do simbiótico.

Após essa adequação estatística, os dados foram agrupados de forma trimestral, obtendo-se as médias de cada período de utilização. Este procedimento foi necessário para eliminar o efeito temporal, pois de acordo com o fabricante, os efeitos do simbiótico começam a ser visualizados após 90 dias de utilização, além disso, algumas propriedades não tinham todas as observações, e o agrupamento possibilitou que todos tivessem pelo menos um valor em cada período.

Por não apresentarem uma distribuição normal, os dados de CCS foram submetidos a uma transformação logarítmica, seguindo o princípio de homogeneidade das variâncias entre os dados.

3.3.2 Produção de leite

Não foi possível avaliar a produção de leite individual dos animais, pois informações disponibilizadas nas notas fiscais expressam apenas a quantidade total de leite que foi entregue, não sendo possível calcular a média de produção de cada animal em cada período pela falta de informações sobre o plantel.

3.3.3 Eficiência reprodutiva

A eficiência reprodutiva foi avaliada pelo histórico reprodutivo dos animais, comparando o intervalo de partos no período anterior à utilização do simbiótico com o IP durante o período e utilização do simbiótico. Para o cálculo do intervalo de partos foram utilizadas observações disponibilizadas por três fazendas, que somaram no total 186 animais, com no mínimo três partos. As demais fazendas não possuíam informações suficientes para realizar os cálculos.

3.4 Análises Estatísticas

Após coletados, os dados foram agrupados para realização de uma meta-análise, que foi realizada de acordo com os procedimentos de modelos mistos preconizados por ST. PIERRE (2001). Foi realizada uma análise de variância aninhada usando o modelo misto, considerando a fazenda como variável aleatória e o tratamento como efeito fixo.

3.4.1 Modelo utilizado para as informações de CCS e sólidos do leite

O modelo pode ser descrito como:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{k(j)} + \varepsilon_{ijk}$$

onde:

Y_{ijk} é a resposta (i.e., leite, CCS, etc.) do rebanho i no período k dentro do tratamento j ;

μ é a média geral;

α_i é o efeito do rebanho i ;

$\beta_{j(i)}$ é o efeito do tratamento j ;

$\gamma_{k(j)}$ é o efeito do período k dentro do tratamento j ;

e ε_{ijk} é a variância residual (i.e., o erro não explicado pelo modelo)

3.4.2 Modelo utilizado para as informações de Intervalo de Partos

O modelo pode ser descrito como:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

onde:

Y_{ijk} é a resposta (i.e., IEP) da vaca k do rebanho i no do tratamento j ;

μ é a média geral;

α_i é o efeito do rebanho i ;

β_j é o efeito do tratamento j ;

e ε_{ijk} é a variância residual (i.e., o erro não explicado pelo modelo)

Para cada análise, foi utilizado o procedimento GLM do Minitab (Minitab, Inc., State College, PA, EUA). O nível de probabilidade de $P \leq 0,05$ foi utilizado para determinar a significância estatística de cada efeito.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, existem relativamente poucos estudos com produtos simbióticos na alimentação de bovinos leiteiros, os disponíveis, são geralmente estudados compostos de forma isolada, ou uma mistura de compostos da mesma classificação, ou seja, mistura de enzimas, mistura de probióticos ou mistura de prebióticos. O uso destes três compostos em um único produto tem sido adotado visando potencializar seus efeitos, porém o número de pesquisas ainda é limitado.

Nesse estudo foi realizada uma meta-análise com base nos dados de sete propriedades para verificar os índices de qualidade do leite antes e depois da utilização de um simbiótico comercial. Foi realizada também análise reprodutiva nos dados de três propriedades. As descrições dessas propriedades estão apresentadas na Tabela 04. Os dados foram obtidos a partir de informações contidas na nota fiscal de entrega do leite ao laticínio, complementado com um questionário feito ao produtor para coletar informações do rebanho.

TABELA 04 – Descrição das fazendas cujos dados foram utilizados para a meta-análise.

FAZENDA	ESTADO	VACAS EM LACTAÇÃO	RAÇA ¹	PRODUÇÃO DIÁRIA (L/dia)	INÍCIO DO USO SIMBIÓTICO	ANÁLISE DE QUALIDADE DO LEITE	ANÁLISE REPRODUTIVA
1	MG	43	MS	780	ago/12	SIM	NÃO
2	MG	16	H	416	ago/12	SIM	NÃO
3	MG	60	GH	1020	set/12	SIM	NÃO
4	PR	33	H	1100	jul/12	SIM	SIM
5	PR	50	H	1200	out/12	SIM	NÃO
6	RS	16	H	200	mai/12	SIM	NÃO
7	RS	31	H	775	dez/12	SIM	NÃO
8	MG	35	GH	455	ago/12	NÃO	SIM
9	RS	20	H	460	fev/12	NÃO	SIM

¹H = Holandesa, GH = Girolando, MS = Mestiço.

As variáveis estudadas foram: Contagem de Células Somáticas - CCS, teores de Gordura, Proteína e Sólidos Totais. Foi possível também calcular o Intervalo de Partos - IP de três propriedades que possuíam histórico reprodutivo.

4.1 Qualidade do Leite

Na Tabela 05 são apresentadas as médias das variáveis avaliadas antes e durante a utilização do simbiótico, onde foi observado que houve redução significativa na média de CCS dos tanques (41%).

TABELA 05 – Variáveis de qualidade do leite¹ nos períodos de 12 meses antes e durante a utilização do simbiótico.

Variável	Sem Simbiótico	Com Simbiótico	Desvio padrão	P
CCS (CS/ml)	654.963	386.473	265.804	0,001
logCCS	5,771	5,488	0,2499	0,001
Gordura (%)	3,75	3,79	0,201	0,576
Proteína (%)	3,24	3,20	0,104	0,232
Sólidos Totais (%)	12,00	12,32	0,705	0,450

¹Os valores são médias de quadrado mínimos, retransformados da forma logarítmica.

Resultados com redução de CCS já haviam sido relatados por SAINZ et al. (2011) que utilizaram o mesmo produto simbiótico em um experimento com vacas das raças Girolando e Holandesa, e verificaram uma redução média de 53% na CCS. SRETENOVÍĆ et al. (2008), também trabalhando com uma formulação composta por probióticos e enzimas relataram uma redução de 7,5% na CCS de vacas leiteiras. Já no experimento realizado por SOUZA (2011), que trabalhou com uma única cepa de *Bacillus subtilis*, não foi verificado efeito na CCS.

Verifica-se claramente que há um efeito sinérgico entre os aditivos utilizados, pois a melhor resposta veio quando se utilizaram probióticos, prebióticos e enzimas na mesma composição do simbiótico.

Esses resultados podem ser explicados principalmente pelo efeito dos probióticos e prebióticos no sistema imune do animal. Como o aumento da CCS geralmente é ocasionado pela presença de células de defesa do organismo para combater uma inflamação na glândula mamária, o efeito dos probióticos e prebióticos favorecendo a atividade fagocitária de forma sistêmica, conforme descrito por CROSS (2002) poderia prevenir o aumento destas células no leite. É importante destacar que a fagocitose é responsável pela ativação precoce da resposta inflamatória, que ocorre antes da produção de anticorpos, produzindo agentes tóxicos como reativos de oxigênio e enzimas líticas que atuam combatendo agentes invasores antes do envio de células de defesa conforme relatado por ISOULARI (2001).

De acordo com SANTOS, (2006) a CCS tem sido utilizada mundialmente por indústrias, produtores e entidades governamentais para monitoramento individual e/ou dos rebanhos quanto aos casos de mastite subclínica e para avaliação da qualidade do leite. Pois seu aumento interfere negativamente na produção e qualidade do leite, reduzindo sua secreção e diminuindo os teores de sólidos.

Em contrapartida, todos os elementos indesejáveis em um leite de qualidade, como proteínas séricas, cloro e sódio tem suas concentrações aumentadas, potencializando assim a perda de qualidade do leite e dos derivados (MÜLLER, 2002).

Na Figura 02 pode ser visualizado de maneira mais evidente, que ocorreu de forma geral no período de uso do produto.

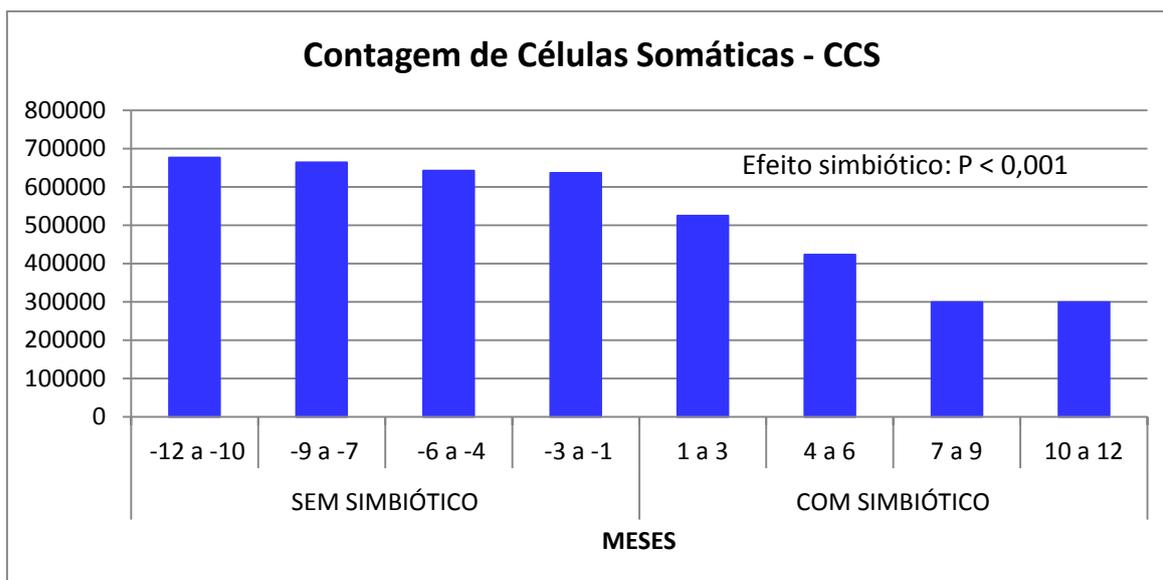


FIGURA 02 – Evolução da CCS antes e durante a utilização do simbiótico. Os valores são médias de quadrados mínimos trimestrais, retransformados da forma logarítmica.

Não foi constatado efeito significativo nos teores de gordura, proteína, e sólidos totais do leite, resultados estes que semelhantes aos encontrados por FRANCISCO et al. (2002) que não observaram aumento nas concentrações de lactose e gordura quando adicionaram 17 gramas de *Propionibacterium* estirpe P169 na dieta de vacas da raça holandesa avaliadas desde 2 semanas pré parto até 12 semanas pós parto,.

Já NOCEK & KAUTZ (2006) relatam um aumento na concentração de gordura do leite de vacas da raça Holandesa, 4,65 vs 4,59%, quando utilizaram um probiótico a base de *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* em comparação com o lote controle. Resultados semelhantes foram encontrados por NOCEK et al. (2003).

As variações de resultados observadas na literatura podem estar ligadas a fatores como produção de leite, que por sua vez pode ser influenciada negativamente pela alta CCS, conforme relatado por COLDEBELLA et al. (2004), e também pela dieta ofertada aos animais, pois o uso de probióticos podem causar mudanças na fermentação ruminal, resultando em mudanças nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato e propionato (STEIN et al., 2006, CHIQUETTE et al., 2008), estes ácidos são de grande

importância na síntese da gordura do leite, sendo ainda o propionato o principal precursor da glicose (ANTUNES et al., 2011) precursor da lactose no leite.

De acordo com RULQUIN et al. (2004) a síntese de propionato economiza aminoácidos glicogênicos na gliconeogênese, o que por sua vez pode resultar em aumento da disponibilidade de aminoácidos para síntese de proteína no leite, conforme relato de STEIN et al. (2006).

4.2 Intervalo de Partos (IP)

Não foi possível obter dados de inseminações e coberturas, nem de diagnósticos de prenhez. No entanto, foi verificada uma redução de 73 dias no intervalo de partos, reduzindo de 443 em média no período anterior à utilização do simbiótico, para 373 no período de utilização. Evidentemente, uma redução no IP implica numa redução nos dias abertos das vacas. Resultados promissores relacionados ao uso de prebióticos e probióticos na fertilidade foram encontrados em monogástricos (ALEXOPOULOS et al., 2004; O'DEA et al., 2006). No entanto, pesquisas que envolvem estes produtos em bovinos na reprodução ainda são escassas.

TABELA 06 – Variáveis reprodutivas¹ nos períodos de 12 meses antes e durante a utilização do simbiótico.

Variável	Sem Simbiótico	Com Simbiótico	Desvio padrão	P
Intervalo de Partos (dias)	446,3	373,4	124,8	0,002

¹Os valores são médias de quadrado mínimos.

De acordo com FERREIRA (2006), o intervalo de partos (IP) é um dos fatores mais importantes para se alcançar uma boa eficiência econômica e produtiva do rebanho, enfatizando que um intervalo entre parto ideal seria de 12 meses ou o mais próximo disso. No Figura 03 pode ser visualizado que o uso dos simbióticos possibilitou resultados bem próximo do considerado ideal.

Tratamento	Dias																
	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	373	390	420	446
Sem simbiótico	Parto	Dias aberta					Gestação										Parto
Com simbiótico	Parto	Dias aberta			Gestação									Parto			

FIGURA 03 – Etapas reprodutivas nos períodos de um ano antes e durante a utilização do simbiótico.

LOPES et al. (2009) realizaram uma simulação com três intervalos de partos diferentes (365, 510 e 657 dias) e constatou que o IP afetou diretamente a composição e a evolução do rebanho, além de influenciar a rentabilidade da atividade leiteira, sendo mais eficiente um IP de 12 meses.

De acordo com FRICKE (2001) o intervalo de partos pode ser dividido em quatro períodos, sendo eles: Período Voluntário de Espera – PVE, Intervalo do Final do PVE até a Primeira Cobertura, Intervalo entre a Primeira Cobertura e a Concepção e Período de Gestação.

O PVE como o nome já diz, depende de uma decisão de manejo, que pode variar de 40 a 70 dias, pois o período imediatamente após o parto pode apresentar riscos significativos à saúde e produção do animal, sendo que nesta fase poderá ocorrer retenção de placenta, metrite, cetoses, deslocamento de abomaso e cistos ovarianos, sendo este então o período de recuperação do animal. Já o Intervalo do Final do PVE até a Primeira Cobertura corresponde ao final do PVE, quando o animal já está pronto para receber a primeira cobertura ou inseminação artificial - IA, este período depende em grande parte da capacidade de detecção do cio, sendo que quanto mais eficiente for a detecção de cio, menor será este período. Técnicas reprodutivas como IATF podem auxiliar na redução deste período. O terceiro período compreende o Intervalo entre a Primeira Cobertura e a Concepção, ou seja, a forma como os animais respondem à inseminação, este período depende de dois fatores, da taxa de concepção e da taxa de detecção de cio. O último período corresponde à gestação que dura em torno de 282 dias para a vaca holandesa, lembrando que de todos esses períodos, apenas a gestação não pode ser alterada. Os demais dependem diretamente do manejo nutricional e reprodutivos e da qualidade da mão de obra (FRICKE, 2001).

GOFF (2006) relata que no período pré e pós-parto o consumo de matéria seca é reduzido, ao mesmo tempo em que a necessidade de nutrientes aumenta, devido à formação do colostro e dos eventos causados pelo parto. Este fato deixa o animal em balanço energético negativo – BEN, que interfere de forma negativa na recuperação do animal e conseqüentemente no retorno ao cio.

DANN et al. (1999) trabalhando com um produto a base de *Saccharomyces cerevisiae* relatou que o consumo de matéria seca foi aumentada pela utilização do produto durante a última semana pré-parto (9,8 vs 7,7 kg) e durante os primeiros 42 dias de lactação (13,7 vs 11,9 kg). Este fato pode explicar a melhoria na eficiência reprodutiva dos animais que consumiram o produto, pois tanto a ação da levedura, como das enzimas presentes na formulação podem influenciar de forma positiva o consumo e a digestibilidade da dieta dos animais, diminuindo os efeitos negativos do BEN e conseqüentemente melhorando o retorno ao cio, diminuindo o PVE e o Intervalo do Final do PVE até a Primeira Cobertura, resultando em um menor intervalo de partos.

Há poucos trabalhos na literatura relacionando a saúde intestinal à fertilidade, principalmente em ruminantes. Em um estudo com macacas, BAILEY et al. (2002) observaram uma correlação entre a microbiota intestinal, o estado inflamatório do intestino e a incidência de endometriose. Já HALLER-KIKKATALO et al. (2012), em uma revisão da literatura em humanos, mostraram que o sistema imune interfere na fertilidade em vários pontos, desde a proteção contra infecções no trato reprodutivo, até a resposta autoimune contra o hormônio folículo-estimulante (FSH) da mãe. Evidentemente, faltam estudos destas relações com animais de produção, especificamente em ruminantes.

5 CONCLUSÕES

O aditivo simbiótico utilizado nas propriedades estudadas demonstrou ser uma ferramenta eficaz na redução de células somáticas no leite, bem como na melhoria da fertilidade dos animais. Este estudo demonstra que os resultados encontrados em centros de pesquisas estão sendo observados também no campo.

REFERÊNCIAS

1. ALEXOPOULOS, C.; GEORGOULAKIS, I.E.; TZIVARA, A.; KRITAS, S.C.; SIOCHU, A.; KYRIAKIS S.C. Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters. **Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition**, Berlin, v.88, p.381-392, 2004.
2. ANDRADE, L. M.; FARO, L. E.; ALBUQUERQUE, V. L.; MACHADO, P. F. Influência da contagem de células somáticas sobre a produção de leite em diferentes fases da lactação. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5, 2004, Pirassununga, **Anais...** Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, Pirassununga, 2004. 3 p.
3. ANELLO, C.; FLEISS, J.L. Exploratory or analytic metaanalysis: Should we distinguish between them? **Journal of Clinical Epidemiology**, New York, v.48, n.1, p.109-116, 1995.
4. ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. 2. Ed. Jaboticabal; Funep, 2011. cap. 8, p. 239–260.
5. ARRIOLA, K.G.; KIM, S.C.; STAPLES, C.R.; ADESOGAN, A.T. Effect of fibrolytic enzyme application to low- and high-concentrate diets on the performance of lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 94, n. 2, p. 832–841, 2011.
6. AUCLAIR, E. **Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species**. In Brufau J. (ed.). Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: From feed to food . Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 2001. p. 45-53 : 1 graph; 1 table; Bibliography p. 51-53. (Cahiers Options Méditerranéennes; v.54), 3. Conference of Feed Manufacturers of the Mediterranean, 2000/03/22-24, Reus (Spain).
7. AWAWDEHA, M.S.; OBEIDAT, B.S. Effect of supplemental exogenous enzymes on performance of finishing Awassi lambs fed olive cake-containing diets. **Livestock Science**, Foulum, v.138, p. 20–24, 2011.
8. BAILEY, M.T.; COE C.L..Endometriosis is associated with an altered profile of intestinal microflora in female rhesus monkeys. **Human Reproduction**, Oxford, v. 17, pp. 1704-1708, 2002.

9. BARBOSA, F. A.; FARIA, G. A.; VILELA, H. Leveduras vivas na nutrição de bovinos – Uma revisão. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 20, n. 1, p. 143-150, 2004.
10. BARFORD, J. P., HALL, R. J. Investigation of the significance of a carbon and redox balanced to the measurement of gaseous metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineeringm**, v.21, n.4, p. 609–626, 1979.
11. BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. The potential use of feed enzymes for ruminants. In: **Proceeding..** 1996 Cornell nutrition conference for feed manufacturers. New York: Rochester Marriott Thruway Hotel, p.131-141, 1996.
12. BEAUCHEMIN, K., RODE, L. M., SEWALT, V. J. H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v.75, p.641–644, 1995.
13. BEAUCHEMIN, K.; JONES, S. D. M.; RODE, L. M.; V. SEWALT, J. H. Effects of fibrolytic enzymes in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v.77, p.645–653, 1997.
14. BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGANI, D.P.; YANG, W.Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, suplemento 2, p. E37-E47, 2003.
15. BLÉHAUT, H.; MASSOT, J.; ELMER, G.W.; LEVY, R.H. Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. Biopharm. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, Chichester, v. 10, p. 353-364, 1989.
16. BRASIL. Instrução Normativa n.51 de 18 de setembro de 2002. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado** – Anexo IV. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2002. 5p.
17. BRASIL. Instrução Normativa n.62 de 29 de dezembro de 2011. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado** – Anexo II. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2011. 6p.
18. BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Prevenção e Controle de mastite**. Manual n. 364. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 2002. 120p.
19. CALLAWAY, E.S., MARTIN, S.A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactato and digest cellulose. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.80, p. 2035-2044, 1997.

20. CALLAWAY, T.R.; CARNEIRO DE MELLO, A.M. S.; RUSSEL, J.B. The effect of Nisin and Monensin on ruminal fermentations in vitro. **Current Microbiology**, New York, v. 35, p. 90 - 96, 1997.
21. CHAMPAGNE C. P.; FUSTIER P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v.18, p.184-190, 2007.
22. CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; SALMON, J. M.; GOUET, P. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. **Canadian Journal of Microbiology**, Saskatchewan, v. 42, p. 927-933, 1996.
23. CHIQUETTE, J.; ALLISON, M. J.; RASMUSSEN, M. A. *Prevotella bryantii* 25A used as a probiotic in early-lactation dairy cows: effect on ruminal fermentation characteristics, milk production, and milk composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3536 - 3543, 2008.
24. COLDEBELLA, A.; MACHADO, P. F.; DEMETRIO, P. C. G. B.; RIBEIRO JUNIOR, P. J.; MEYER, P. M.; CORASSIN, C. H.; CASSOLI, L. D. Contagem de Células Somáticas e Produção de Leite em Vacas Holandesas Confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 623 - 634, 2004.
25. COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e a resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1297 - 1303, 2004.
26. CROSS, M. L. Microbes vs. Microbes: immune signals generated by probiótico lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 34, n. 4, p. 545 - 553, 2002.
27. DANN, H. M.; DRACKLEY, J. K.; MCCOY, G. C. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, 123–127, 2000.
28. DAWSON, K.A. Some limestone in our understanding of yeast culture supplementation in ruminants and their implications in animal productions systems. In: PROCEEDINGS OF the 16th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry, 16, Nottingham, 2000. **Anais ...** (Nottingham: Nottingham University, 2000. p.473-486.
29. DOHOO, I. R.; LESLIE, K. E. Evaluation Of Changes In Somatic-Cell Counts As Indicators Of New Intramammary Infections. **Preventive Veterinary Medicine**. Elsevier, v. 10, n. 3, p. 225-237, 1991.
30. DURAND-CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; THÉVENIOT, M.; GOUET, P. Fate of Levucell® SC I-1077 yeast additive during digestive

transit in lambs. **Reproduction Nutrition Development**, Stanford, v. 38, p. 275-280, 1998.

31. ELAM, N. A.; GLEGHORN, J.F.; RIVERA, J.D.; GALYEAN, M.L.; DEFOOR, P.J.; BRASHEARS, M.M.; YOUNTS-DAHL, S.M. Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains NP45 and NP51) and *Propionibacterium freudenreichii* on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* strain O157 shedding of finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 2686–2698. 2003.
32. EUGÈNE, M.; ARCHIMÈDE, H.; SAUVANT, D. Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. **Livestock Production Science**, Oxford, v. 85, p.81-97, 2004.
33. FAGUNDES, N.S.; CAIRES, C. M.; FAGUNDES, N. S.; BENEDETTI, E. Enzimas na nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutitime**. Viçosa, v.5, n.1, p.498-503, 2008.
34. FERELI, F.; BRANCO, A. F.; JOBIM, C. C.; CONEGLIAN, S. M.; GRANZOTTO, F.; BARRETO, J.C. Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.1, p.183-190, 2010.
35. FERREIRA, A. M. **Instrução Técnica n 13: Mais leite e mais bezerro com menor intervalo de partos**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, 2 ed. 2 p. 2006.
36. FILGUEIRAS, E. A.; MAGNABOSCO, C. U.; ARAÚJO, F. R. C.; FARJALLA, Y. B.; CAETANO, V. B. SAINZ, R. D. Eficácia de um simbiótico comercial no desempenho de bovinos de corte confinados. In: ANAIS DA REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49, 2012, Brasília. **Anais...**Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012b.
37. FILGUEIRAS, E. A.; MAGNABOSCO, C. U.; SAINZ, R. D.; CARNEVALLI, R. A.; FREITAS, F. M. C.; ESTEVÃO, J. M. Eficiência do uso de um simbiótico comercial na qualidade do leite de vacas Girolando no Bioma Cerrado. In: ANAIS DA REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 48, 2011, Belém. **Anais...**Belém: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2011.
38. FILGUEIRAS, E. A.; MAGNABOSCO, C. U.; SAINZ, R. D.; CARNEVALLI, R. A.; FERREIRA, L. G.; COSTA, A. P. B. Eficiência do uso de um simbiótico comercial na qualidade do leite de vacas holandesas no Bioma Cerrado. In: ANAIS DA REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49, 2012, Brasília. **Anais...**Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012a.

39. FRANCIA, A. D.; MASUCCI, F.; ROSA, G.; VARRICCHIO, M.L.; PROTO, V. Effects of *Aspergillus oryzae* extract and a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intake, body weight gain and digestibility in buffalo calves. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.140, p.67–77, 2008.
40. FRANCISCO, C. C.; CHAMBERLAIN, C. S.; WALDNER, D. N.; WETTEMANN, R. P.; SPICER, L. J. Propionibacteria fed to dairy cows: effects on energy balance, plasma metabolites and hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 7, p. 1738 - 1751, 2002.
41. FRICKE, P. M. Aggressive Management Strategies for Improving Reproductive Efficiency. **Reproduction and Genetics**, Winsconsin, n. 604, 10 p. 2001.
42. FULLER, R. E C. B. COLE. **The scientific basis of the probiotic concept in probiotics. Theory and Applications**. Ed. B. A Starkand J. M. Wilkinson. Chalcombe. p. 1-14 (1989).
43. FULLER, R. Probiotics in man and animals: a review. **Journal of Applied Acteriology**, v.66, n.3, p.365-78, 1989.
44. FULLER, R.; BROOKER, B. E. Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 27, p. 1305 – 1312, 1974.
45. GARCIA, G. R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de *Bacillus subtilis* no desempenho de bezerras da raça holandesa**. 2008. 68f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Jaboticabal.
46. GHORBANI, G.R.; MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; LEEDLE, J. A. Z. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p.1977-1985, 2002.
47. GIRALDO, L. A.; TEJIDO, M. L.; RANILLA, M. J.; RAMOS, S.; CARRO, M. D. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet. **Journal Animal Science**, Champaign, v.86, p.1617-1623, 2008.
48. GOFF, J. P. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v 89, p. **1292–1301**, 2006.
49. GOMES, Marco Antônio Bensimon. **Aditivos Probióticos, Prebióticos e Simbióticos a Alimentação Animal**. Disponível em

http://www.mariboi.com.br/_assets/artigos/13_artigo.pdf. Acesso em 22 de julho de 2013.

50. GOMES, R.C.; ANTUNES, M.T.; SILVA, S.L.; LEME, P.R. Desempenho e digestibilidade de novilhos zebuínos confinados recebendo leveduras vivas e monensina. **ARCHIVOS DE ZOOTECNIA**, Cordoba, v.60, n.232, p. 1077-1086, 2011.
51. GUPTA V.; GARG R. Probiotics. **Indian Journal of Medical Microbiology**, New Delhi, v.27, p. 202-209, 2009.
52. GWAYUMBA, W.; CHRISTENSEN, D.A. The effect of fibrolytic enzymes on protein and carbohydrate degradation fractions in forages. **Annual Meeting of Canadian Society of Animal Science**. p.541. 1996, (Abstr.).
53. HALLER-KIKKATALO, K; SALUMETS, A; UIBO,R. Review on Autoimmune Reactions in Female Infertility: Antibodies to Follicle Stimulating Hormone. **Clinical and Developmental Immunology**, New York, v. 2012, pp. 1-15, 2012.
54. HAUPTLI, L.; HAUSCHILD, L.; LOVATTO, P. A. Adição de extratos vegetais e antimicrobianos de síntese para leitões na creche: Estudo meta-analítico. **Ciência Rural**, Santa Maria v.7, 2007.
55. HASUNUMA, T.; KAWASHIMA, K.; NAKAYAMA, H.; MURAKAMI, T.; KANAGAWA, H.; ISHII, T.; AKIYAMA, K.; YASUDA, K.; TERADA, F.; KUSHIBIKI, S. Effect of cellooligosaccharide or synbiotic feeding on growth performance, fecal condition and hormone concentrations in Holstein calves. **Journal Animal Science**, Champaign v.82, p.543–548, 2011.
56. HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; ELIZONDO-SALAZAR, J.A.; TERRILL, S.J. Effects of a prebiotic supplement on health of neonatal dairy calves. **Livestock Science**, Foulum, v.125, p.149–154, 2009.
57. HIRSTOV, A. N.; McALLISTER, T. A; TREACHER, R. J. e CHENG, K. J.. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzymes in the rumen. **Journal Animal Science**, Champaign , v.75, p.120, 1997, (Abstr.).
58. HUNGATE, R. E. **A roll tube method for cultivation of strict anaerobes**. In: J. R. Norris, D. W. Ribbons (ed.); ed. New York City, NY , Academic Press, Inc.,1969. p.117 - 132.
59. ISOLAURI, E.; SÜTAS, Y.; KANKAANPÄÄ, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity, **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73 (suppl), p. 444S-450S, 2001.
60. JIN, L. Z.; MARQUARDT, R. R.; BAIDOO, S. K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from

porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, n.5, p.619-624, 2000.

61. KMET, V.; FLINT, J.; WALLACE, R.J. Probiotics and manipulation of rumen development and function. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v.44, n.1, p.1-10, 1993.
62. KNORR, M.; PATINO, H. O.; SILVEIRA, A. L. F.; MÜHLBACH, P. R. F.; MALLMANN, G. M.; MEDEIRO, F. S. Desempenho de novilhos suplementados com sais proteínados em pastagem nativa. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v. 9, n. 3, p. 535-542, 2008.
63. KREHBIEL, C.R.; RUST, S.R.; ZHANG, G.; GILLILAND, S.E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81 (supplement 2), p.E120-E132, 2003.
64. KUSS, F.; PAULA, J. L. M. I. M. C.; MOURA, I. C. F.; ANDRADE, S. J. T.; SILVA, A. G. M. Desempenho e características da carcaça e da carne de novilhos não-castrados alimentados com ou sem adição de monensina e/ou probiótico à dieta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.4, p.1180-1186, 2009.
65. LAGONI, H. Estudo Sobre Contagem de Células Somáticas (CCS) no Brasil – Uma Revisão. In: MESQUITA, A. J.; DÜRR, J. W.; COELHO, K. O. **Perspectivas e Avanços da Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. p. 199-208.
66. LOPES, M. A.; DEMEU, F. A.; SANTOS, G.; CARDOSO, M. G. Impacto econômico do intervalo de partos em rebanhos bovinos leiteiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1908-1914, 2009.
67. LOVATTO, P.A.; SAUVANT, D. Méta-analyse et modélisation de l'ingestion volontaire chez le porc en croissance. **Journées Rech. Porcine en France**, Paris, v.34, p.129-134, 2002.
68. LOVATTO, P.A.; LEHNEN, C.R.; ANDRETTA, I.; CARVALHO, A.D.; HAUSCHILD, L. Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, *suplemento especial*, p.285-294, 2007.
69. MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO 2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. v. 2, p.161-174.
70. MACFARLANE, G.T.; CUMMINGS, J.H. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? **BMJ**, London, v.18, p. 999-1003, 1999.

71. MAGNABOSCO, C. U.; CARNEVALLI, R. A.; SAINZ, R. D.; FILGUEIRAS, E. A.; MAMEDE, M. M. S.; CASTRO, L. M. Probióticos melhoram a qualidade do leite de vacas Girolando. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. **Anais eletrônico...** [CD-ROM], Salvador: SBZ, 2010.
72. MANTEL, N.; HAENSZEL, W. M. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. **Journal of the National Cancer Institute**, Oxford, v. 22, p.719-748, 1959.
73. MANTOVANI, H. C.; KAM, D. K.; HA, J. K.; RUSSEL, J. B. The antibacterial activity and sensitivity of *Streptococcus bovis* strains isolated from the rumen of cattle. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v.37, p.223-239, 2001.
74. MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº13 de 30 de novembro de 2004**. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal segundo as boas práticas de fabricação, contendo os procedimentos sobre avaliação da segurança de uso, registro e comercialização, constante dos anexos desta Instrução Normativa. Brasília, 2004.
75. MARQUES, L. T.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V. Variações na Composição do Leite de Acordo com a Contagem de Células Somáticas. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2, 2002. Ribeirão Preto, **Anais...**, Instituto Fernando Costa, Pirassununga, 2002. 3p.
76. MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Symposium: direct-fed microbials and rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.6, p.1736-1744, 1992.
77. MARTIN, O.; SAUVANT, D. Meta-analysis of input/output kinetics in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 85, p.3363-3381, 2002.
78. MEDRONI, S.; PRADO, I. N.; NASCIMENTO, W. G.; VINOGRAD, K.; IWAYAMA, P. T.; MATSUSHITA, M. Efeito da combinação de dietas contendo milho ou triticale e farelo de soja ou levedura sobre o desempenho de novilhas nelore terminadas em confinamento. **Acta Scientiarum**, Maringa, v.22, n.3, p.787-791, 2000.
79. MENEZES, C. R.; BARIN, J. C.; CHICOSKII, A. J.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, online, 2013.
80. MEYER, P. M.; PIRES, A. V.; BAGALDO, A. R.; SIMAS, J. M. C.; SUSIN, I. Adição de probiótico ao leite integral ou sucedâneo e desempenho de

- bezerros da raça holandesa. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n. 2, p.215-221, 2001.
81. **MINITAB**, v. 15, State College, PA.
 82. MOLL, G. N.; KONINGS, W. N.; DRIESSEN, A. J. Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.76, p.185-198, 1999.
 83. MÜLLER, E. E. Qualidade do Leite, Células Somáticas e Prevenção da Mastite. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 2, 2002, Maringá, **Anais...** Universidade Estadual de Maringá, Maringá 2002. P. 206-217.
 84. NOCEK, J. E., KAUTZ, W. P., LEEDLE, J. A. Z., BLOCK, E. Direct-Fed Microbial Supplementation on the Performance of Dairy Cattle During the Transition Period, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 331–335, 2003.
 85. NOCEK, J. E.; HOLT, M. G.; OPPY, J. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 94, p.4046–4056, 2011.
 86. NOCEK, J.E.; KAUTZ, W. P. Direct-Fed Microbial Supplementation on Ruminal Digestion, Health, and Performance of Pre- and Postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 260–266, 2006.
 87. O´DEA, E.E.; FASENKO, G.M.; ALLISON, G.E.; KORVER, D.R.; TANNOCK, G.W.; GUAN, L.L. Investigating the effects of commercial probiotics on broiler chick quality and production efficiency. **Poultry Science**, Stanford, v. 85, n. 10, p. 1855-1863, 2006.
 88. OFEK I, MIRELMAN D, SHARON N. Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors. **Nature**, Londres, v.265, p.623–625, 1977.
 89. OFFNER, A.; BACH, A.; SAUVANT, D. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam v.106, n.1-4, p.81-93, 2003.
 90. OGAWA, M.; SHIMIZU, K.; NOMOTO, K.; TANAKA, R.; HAMABATA, T.; YAMASAKI, S.; TAKEDA, T.; TAKEDA, Y. Inhibition of *in vitro* growth of Shiga toxinproducing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.68, n.1-2, p.135-140, 2001.
 91. OJEU. Regulation (EC) N° 1831/2003 of the European parliament and the council of 22 september 2003 on additives for use in animal nutrition.

- Official Journal of the European Union**, L268, p. 29-43, 2003. Disponível em: <http://irmm.jrc.ec.europa.eu/SiteCollectionDocuments/EC-1831-2003.pdf>. Acesso em 25 de janeiro de 2013.
92. PARKER, J. Feeding the world. **The Economist**. 2011 in MDIC, 2012. Disponível em: http://www.mdic.gov.br/arquivos/dwnl_1347635101.pdf). Acesso em 03 de outubro de 2013.
93. PERDIGÓN G.; LOCASCIO, M.; MEDICI, M.; HOLGADO, A.P.R.; OLIVER, O. Interaction of bifidobacteria with the gut and their influence in the immune function. **Biocell**, Mendoza, v 27, p. 1-9, 2003.
94. RAIZEL, R.; SANTINI, E.; KOPPER, A. M.; REIS FILHO, A. D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.
95. REDDISH, M.A.; KUNG JR., L. The Effect of Feeding a Dry Enzyme Mixture with Fibrolytic Activity on the Performance of Lactating Cows and Digestibility of a Diet for Sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign ,v. 90, n.10, p. 4724–4729, 2007.
96. REHMAN, H.; VAHJEN, W.; KOHL-PARISINI, A.; IJAZ, A.; ZENTEK, J. Influence of fermentable carbohydrates on the intestinal bacteria and enteropathogens in broilers. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 65, 2009.
97. RIBEIRO, F. G.; COUTINHO, C. C.; RIVAROLI, D. C.; A. COMINOTTE, A.; RODRIGUES, E.; JORGE, A. M.; FILGUEIRAS, E. A.; SAINZ, R. D. Traditional and novel feed additives for beef cattle. In: JOINT ANUAL MEETING, 2013, Indianápolis. **Anais eletrônico...** [CD-ROM], Indianápolis: JAM, 2013.
98. RILEY, R.D.; LAMBERT, P.C.; ABO-ZAID, G. Meta-analysis of individual participant data: rationale, conduct, and reporting. **Journal Biomedical**, Londres, v. 340, p.221, 2010.
99. ROGER, V.; FONTY, G.; KOMISARCZUK, B. S.; GOUET, P. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the rumen bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 56, p.3081-3087, 1990.
100. ROSA, B. L.; ALVES, J.B.; BERGAMASCHINE, A. F.; MOTA, D. A.; CASTRO, C. S.; MARSANGO, F.J.; VALÉRIO FILHO, W. V. Teores de concentrado e inclusão de probiótico para bovinos da raça Guzerá em confinamento. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, Salvador, v.11, n.2, p. 440-451, 2010.

101. RULQUIN, H.; RIGHOUT, S.; LEMOSQUET, S.; BACH, A. Infusion of glucose directs circulating amino acids to the mammary gland in well fed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, p. 340–349, 2004.
102. RUSSEL, J. B.; MANTOVANI, H. C. The bacteriocins of ruminal bacteria and their potential as an alternative antibiotics. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, La Jolla, v. 4, p.347-355, 2002.
103. SAINZ, R. D.; MAGNABOSCO, C. U.; FILGUEIRAS, E. A.; GUIMARÃES, R.; FREITAS, F. M. C.; MATTOS, L. R. Effects of a direct-fed microbial and fibrolytic enzyme product on somatic cell counts in milk produced by crossbred dairy cows in the Brazilian Cerrado. **Journal of Dairy Science**, Champaign. v. 94, E-Suppl. 1: p. 126. 2011.
104. SAINZ, R.D. **Nota Técnica: Registro de Produto Biofórmula**, Goiânia, 13 p. 2010.
105. SALEM, A.Z.M.; GADO H.M.; COLOMBATTOC, D.; ELGHANDOUR, M.M.Y. Effects of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beef steers. **Livestock Science**, Foulum, v.154, p.69–73, 2013.
106. SALLES, M. S. V.; LUCCI, C. S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado: Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.2, p.573-581, 2000.
107. SALLES, M. S.V.; ZANETTI, M. A.; CONTI, R. M. C.; LIMA, C. G. Efeitos da Monensina no Desempenho de Bezerras Leiteiras em Crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.4, p.1293-1298, 2001.
108. SALMINEN, S.; ISOLAURI, E.; SALIMEN, E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 70, p. 347– 358. 1996.
109. SANTOS, M. V.; Influência da qualidade do leite na manufatura e vida útil de prateleira dos produtos lácteos. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. **Diagnostico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora, 2003, v, 1. p. 139-149.
110. SANTOS, M. V. O uso da CCS em diferentes países. In: MESQUITA, A. J.; DÜRR, J. W.; COELHO, K. O. **Perspectivas e Avanços da Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. p. 181-197.
111. SANTOS, F. A. P.; CARMO, C. A.; MARTINEZ, J. C.; PIRES, A. V.; BITTAR, C. M. M. Desempenho de vacas em lactação recebendo dietas com diferentes teores de amido total, acrescidas ou não de levedura

- (*Saccharomyces cerevisiae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.4, p.1568-1575, 2006.
112. SAXELIN, M.; TYNKKYNEN, S.; MATTILA-SANDHOLM, T.; VOS, W. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.16, p.1-8, 2005.
 113. SCAPINELLO C.; FARIA H.G.; FURLAN A.L.; MICHELAN A.C. Efeito da utilização de oligossacarídeo manose e acidificantes sobre o desempenho de coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, p.1272-1277, 2001.
 114. SCHAEFFELBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, 2000. p.21-26.
 115. SCHUZ NETO, C.; PACHECO, A. M.; MONTANHA, F. P.; PARDO, P. E.; PENHA, L.C.; BREMER NETO, H. Efeitos da suplementação com probióticos em relação à suplementação com mistura mineral no ganho de peso de garrotes nelore a pastejo extensivo de *Panicum maximum*. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, Ano XI, n. 20, 2013.
 116. SIGNORINI, M.L.; SOTO, L. P.; ZBRUM, M. V; SIQUEIRA, G. J.; ROSMINI, M. R.; FRIZZO, L. R. Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. **Research in Veterinary Science**, London, Online, 2011.
 117. SILVA, K. C. F.; SANTOS, G. M. G.; TARODA, A.; GIL, K. M.; MIZUBUTI, I. Y.; MOREIRA, F. B. Efeito de um simbiótico sobre o ganho de peso e número de ovos por grama de fezes de cordeiros confinados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 953-962, 2009.
 118. SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 983-990, 2003.
 119. SORIO, A. **Estudo de viabilidade técnica e econômica destinado à implantação do Parque produtivo nacional de aditivos da indústria de alimentação de animais de produção**. Passo Fundo, Ed Méritos, 2012, 300 p .
 120. SOUZA, V. L. **Desempenho e utilização de nutrientes por vacas leiteiras suplementadas com *Bacillus subtilis***. 2011. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Ciências Agrárias– Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

121. SRETENOVIĆ, L. J.; PETROVIĆ, M.P.; ALEKSIĆ, S.; PANTELIĆ, V.; KATIĆ, V.; BOGDANOVIĆ, V.; BESKOROVAJNI, R. Influence of yeast, probiotics and enzymes in rations on dairy cows performances during transition. **Biotechnology in Animal Husbandry**, Belgrado, v. 24, p. 33-43, 2008.
122. STEIN, D. R.; ALLEN, D. T.; PERRY, E. B.; BRUNER, J. C.; GATES, K. W.; REHBERGER, T. G.; MERTZ, K.; JONES, D.; SPICER L. J. Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 111 - 125, 2006.
123. ST-PIERRE, N.R. *Invited Review*: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 741–755, 2001.
124. SUÑÉ, R. W.; MÜHLBACH, P. R. F. Efeito da Adição da Cultura de Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Cepa 1026 na Produção e Qualidade do Leite de Vacas Holandês em Pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa v.27, n.6, p.1248-1252, 1998.
125. TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A.F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.55, n.4, p.491-499, 2003.
126. TERRE, M.; CALVO, M.A.; ADELANTADO, C.; KOCHER, A.; BACH A. Effects of mannan oligosaccharides on performance and microorganism fecal counts of calves a following an enhanced-growth feeding program. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.137, p.115–125, 2007.
127. TIMMERMAN, H.M.; MULDER, L.; EVERST, H. et al. Health and grow of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 88, n. 6, p. 2154 - 2165, 2005.
128. UYENO, Y.; KAWASHIMA, K.; HASUNUMA, T.; WAKIMOTO, W.; NODA, M.; NAGASHIMA, S.; AKIYAMA, K.; TABATA, M.; KUSHIBIKI, S. Effects of cellooligosaccharide or a combination of cellooligosaccharide and live *Clostridium butyricum* culture on performance and intestinal ecology in Holstein calves fed milk or milk replacer. **Livestock Science**, Foulum, v.153, p. 88–93, 2013.
129. VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação Ruminal. In: Telma Teresinha Berchielli; Alexandre Vaz Pires; Simone Gisele de Oliveira. (Org.). **Nutrição de Ruminantes**. 1ª Ed. Jaboticabal: Funep, v. 1, p. 151-182, 2006.

130. VICTOR, N. "the challenge of meta-analysis": Discussion. Indications and contra-indications for meta-analysis. **Journal of Clinical Epidemiology**, New York v.48, n.1, p.5-8, 1995.
131. WALLACE, R.J. Ruminant microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal Animal Science**, Champaign, v.72, p.2992-3003, 1994.
132. WEBSTER, A.J.F. Control of infectious disease in housed veal calves. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON VEAL CALF PRODUCTION: NEW TRENDS IN VEAL CALF PRODUCTION, 52, Wageningen, 1990. **Proceedings**. Wageningen : EAAP Publ ., 1990, p.103-12.
133. ZANINE, A. M.; OLIVEIRA, J. S.; SANTOS, E. M. Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na nutrição de ruminantes. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ANO III, n. 06, 2006.
134. ZEOULA, L. M.; BELEZE, J. R. F.; GERON, L. J. V.; MAEDA, E. M.; PRADO, I. N.; PAULA, M. C. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.3, p.563-571, 2008.
135. ZHENG, W.; SCHINGOETHE, D. J.; STEGEMAN G. A.; HIPPEN A. R.; TREACHER R. J. Determination of when during the lactation cycle to start feeding a cellulase and xylanase enzyme mixture to dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.83, p.2319–2325, 2000.
136. ZHONGA, R.Z.; YUB, M.; LIUA, H.W.; SUNA, H.X.; CAO, Y.; ZHOUA, D.W. Effects of dietary Astragalus polysaccharide and Astragalus membranaceus root supplementation on growth performance, rumen fermentation, immune responses, and antioxidant status of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam v.174, p.60– 67, 2012.