

ÓLEOS ESSENCIAIS E PROBIÓTICOS PARA BEZERROS LEITEIROS

Cristina Simões Cortinhas, Guilherme Vasconcellos, Tiago Sabella Acedo

Departamento de Inovação e Ciência Aplicada - DSM Produtos Nutricionais Brasil S.A.

INTRODUÇÃO

Na pecuária leiteira, a criação de bezerras na propriedade é a chave para elevar o mérito genético e o potencial de produção de leite do rebanho. No entanto, criar boas bezerras não é uma tarefa tão fácil e os cuidados devem ser iniciados logo após o nascimento, com o fornecimento do colostro. Por uma questão fisiológica, durante o período de gestação a placenta da vaca não permite a transmissão de anticorpos da mãe para o feto. Assim, os bezerros são totalmente dependentes do consumo de colostro para adquirir imunidade até que seu organismo comece a produzir seus próprios anticorpos. Quando a colostragem é inadequada, a imunidade das bezerras torna-se frágil. Nesta fase, outros desafios como o constante contato com os mais diversos microrganismos presentes no ambiente, o estresse ambiental, como as altas temperaturas, a desmama e a vacinação, tornam as bezerras mais susceptíveis a ocorrências de doenças, principalmente a diarreia, e o retardo do crescimento. Portanto, uma colostragem bem feita é fundamental para o bom desenvolvimento dos animais e está relacionado com sua produtividade em toda a vida.

Mas, o segredo de uma criação de bezerras bem sucedida não está somente baseado em melhorar a capacidade imunológica e em minimizar as fontes de estresses ambientais, entre outros, que eventualmente possam ocorrer. Não menos importante é assegurar o consumo de matéria seca e de nutrientes adequados que contribuem para o bom desenvolvimento ruminal. Na desmama, que é um período crítico para o desenvolvimento das



bezerras, o rúmen deve estar desenvolvido a ponto de ser capaz de digerir alimentos sólidos e manter um ganho de peso satisfatório. Neste contexto, a busca por alternativas, como antibióticos, eubióticos e probióticos, para a prevenção da diarreia, melhor desenvolvimento ruminal e desempenho dos animais tem se intensificado.

Atualmente, a monensina é o antibiótico mais utilizado e estudado em nutrição animal. Adicionada à dieta das vacas, a monensina restringe o crescimento de bactérias gram-positivas modulando a fermentação ruminal e disponibilizando mais energia para a produção de leite. Em bezerras em aleitamento, a monensina tem sido utilizada para prevenir a coccidiose. Seu mecanismo de ação consiste na formação de complexos lipossolúveis, com íons de sódio e potássio que aumentam a permeabilidade das membranas celulares dos microrganismos a tais íons, produzindo um desequilíbrio osmótico, aumento do gasto energético e posterior morte celular e, assim, reduzindo a incidência de diarreia. Além de atuar no controle de diarreias, outro possível benefício da utilização da monensina pode ser o aumento na produção de propionato que é estimulador do desenvolvimento das papilas ruminais de bezerros, embora haja concomitantemente redução de butirato, principal estimulador do desenvolvimento ruminal (Nussio et al 2003).

Apesar de promissora, a utilização dos ionóforos na dieta de bezerras em aleitamento pode causar redução no consumo de matéria seca, o que pode interferir no desempenho e atrasar a desmama de bezerras que são submetidas a um manejo de desmama por consumo. Os resultados de estudos com a utilização de monensina no desempenho de bezerras têm se mostrado variados. Em estudo realizado para avaliar os efeitos da adição de três coccidiostáticos (decoquinato, lasalocida e monensina) no concentrado de bezerros leiteiros, Nussio et. al (2002) observaram menor consumo e menor ganho de peso dos bezerros que consumiram o concentrado com monensina. Este estudo foi realizado no estado do Arizona, nos Estados Unidos,



onde o clima quente e seco, aliado a um bom manejo, reduziram as chances de aparecimento de coccidiose e, conseqüentemente, da necessidade de utilização dos coccidiostáticos. Em outro estudo realizado no Brasil, Nussio et. al (2003) avaliaram o processamento de milho (floculado vs. laminado a vapor), com e sem adição de monensina para bezerras leiteiras no pré e pós-desmama precoce. Neste estudo, não foi observada redução de consumo ou melhora no desempenho das bezerras que consumiram monensina. Assim, mesmo que a monensina seja reconhecidamente eficaz no controle da coccidiose, seu uso deve ser criterioso, levando-se em consideração se a coccidiose realmente é um desafio local.

Além disso, em âmbito mundial é crescente a preocupação com questões de sustentabilidade e, neste contexto, o uso de antibióticos em nutrição animal tem sido questionado. Na União Européia, por exemplo, a utilização de antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal foi proibida desde 2006. Outros países como o Canadá e os Estados Unidos já definiram planos para suprimir gradualmente o uso de antibióticos como promotores de crescimento, devido a crescente preocupação com o risco de desenvolvimento de resistência microbiana e com a segurança alimentar. Desta forma, novas alternativas aos antibióticos, como os óleos essenciais e os probióticos, têm sido estudadas para o controle da diarreia e melhor desenvolvimento das bezerras.

ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são compostos aromáticos, voláteis, extraídos de plantas por destilação a vapor ou por solventes, que podem ter efeito flavorizante, estimulante da secreção enzimática, além de ter atividade antioxidante e antimicrobiana. Estes compostos, apesar de também atuarem como antimicrobianos, não são classificados como antibióticos por uma série de fatores, dentre eles a forma de atuação no organismo. Os antibióticos são



moléculas produzidas por bactérias ou fungos e que tem um modo de ação específico de ação. Já os óleos essenciais atuam na maioria das vezes na membrana, por mecanismos variados, o que os tornam não susceptíveis à resistência bacteriana. Em aves e suínos, o uso de óleos essenciais tem demonstrado melhora no equilíbrio da microflora intestinal, aumentando a proporção de bactérias benéficas e reduzindo as quantidades de bactérias patogênicas (Li et al., 2012; Weber et al., 2012). Além disso, os óleos essenciais tem demonstrado estimular o animal a produzir mais enzimas digestivas, nestes animais (Weber et al., 2012).

O mecanismo que parece melhor explicar a ação dos óleos essenciais é o de interação com a membrana celular e desestabilização da célula, incluindo uma alteração no transporte de elétrons, translocação de proteínas, fosforilação e outras reações dependentes de enzimas (Benchaar et al., 2008). Este mecanismo de ação faz com que os óleos essenciais sejam mais efetivos contra bactérias gram positivas, onde a membrana celular pode interagir diretamente com compostos hidrofóbicos dos óleos essenciais. No entanto, em contraste com a monensina e outros ionóforos, o pequeno peso molecular da maioria dos óleos essenciais permite que eles cruzem a parede celular de bactérias gram negativas, sendo também ativa contra estes microrganismos (Calsamiglia et al., 2007). Helander et al. (1998) testaram a capacidade inibitória do timol e o carvacrol em *E. Coli* e *Salmonella* e observam redução na quantidade de ATP intracelular e aumento no ATP extracelular, indicando que houve um rompimento na membrana plasmática da *E. coli*.

Outros mecanismos como a inibição da síntese de RNA, DNA e proteínas também têm sido sugeridos. De fato, a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais não está envolvida com apenas um modo específico de ação, mas sim com vários alvos celulares, devido a sua variedade de componentes (Benchaar et al., 2008). Os estudos com o uso dos óleos essenciais na nutrição dos ruminantes iniciaram-se na década de 60, no entanto, somente após a proibição do uso de antibióticos como



moduladores da fermentação ruminal, ganharam grande expressão. Desde então, os efeitos antimicrobianos dos diversos compostos naturais derivados de plantas têm se intensificado.

Entre os diversos óleos essenciais, os mais reportados e utilizados como aditivos nutricionais utilizados são: carvacrol, timol, cinamaldeído, eugenol, anetol, capsaicina, óleo de alho (Calsamiglia et al., 2007). O carvacrol e o timol são monoterpênicos com ação antimicrobiana, tanto em bactérias gram positivas quanto em negativas, encontrados no orégano (*Origanum spp.*) e tomilho (*Thymus vulgaris*). O cinamaldeído, eugenol e anetol são fenilpropanóides, derivados da canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus* ou *Syzygium aromaticum*), anis ou erva doce (*Pimpinella anisum*), com amplo espectro contra bactérias gram positivas e negativas. A Capsaicina é um tetraterpenoide encontrado em pimentas (*Capsicum annum*) com potencial ação na modulação da fermentação ruminal e aumento no consumo de matéria seca. O óleo de alho é uma mistura de diferentes moléculas encontradas no alho ou resultantes de sua extração não só com ação antimicrobiana, mas também antiparasitária, inseticida, anticancerígena, antioxidante, imunomoduladora e antiinflamatória (Calsamiglia et al., 2007). Cabe ressaltar que atualmente os produtos comerciais utilizados na nutrição de ruminantes são, em sua grande maioria, não extraídos diretamente das plantas, mas sim sintetizados quimicamente de forma a conferir características idênticas aos extraídos das plantas. Tal fato, além de permitir padronização do produto, garante que o mesmo esteja livre de antagonistas e permite produção em larga escala de forma mais sustentável. Além disso, a grande maioria dos óleos essenciais disponíveis comercialmente é composta não por um óleo essencial, mas por um blend de óleos essenciais, formulados em diversas concentrações e cuja atividade antimicrobiana está ligada com diversos alvos celulares.

Em bezerros, os óleos essenciais têm sido relacionados principalmente com a redução na ocorrência e duração de



diarreias, aumento no desempenho de bezerras pré e pós desmama e reduzidas taxas de mortalidade. No entanto, os resultados dos estudos com o uso dos óleos essenciais para bezerros têm sido bem variados. Isto se deve primeiramente ao fato da grande variedade de óleos essenciais utilizados e dose destes, segundo pela forma de suplementação. Utilizando um blend de óleos essenciais composto por óleo de eucalipto, cristal de menta e óleo de hortelã, adicionados ao sucedâneo lácteo durante as 8 semanas pré desmame e na água por 16 semanas pós desmama, Soltan (2009) observou como principais benefícios redução na incidência e duração de diarreia e maior ganho e de peso. No entanto, o consumo de alimentos foi reduzido no período pré desmama, o que resultou em maior eficiência alimentar com o uso dos óleos essenciais. Em outro estudo, bezerros com diarreia causada por *Escherichia coli* (colibacilose) foram tratados com um composto de folhas de orégano ou sulfato de neomicina e os pesquisadores concluíram que o tratamento com o orégano era tão eficaz quanto o com a neomicina (Bampids et al., 2006).

O consumo de concentrado por bezerras no início de sua vida (período pré desmama) é importante porque é um estímulo ao desenvolvimento de papilas ruminais pela produção de ácidos graxos voláteis. O melhor desenvolvimento ruminal pode resultar em desmama precoce, dependendo do manejo da fazenda, e apresentar melhor desempenho pós desmame. No entanto, os bezerros consomem apenas pequena quantidade de concentrado, em suas primeiras semanas de vida. Alguns óleos essenciais possuem efeito flavorizante e podem ser utilizados para estimular o consumo de alimentos por bezerros. O efeito flavorizante da vanilina no consumo e desempenho de bezerros foi avaliado por Fathi et al. (2009). Estes autores adicionaram a vanilina no concentrado de bezerros pré desmama até 3 semanas pós desmama e observaram maior consumo de concentrado pré desmame, mas não pós desmame. Os bezerros suplementados com vanilina foram desmamados mais pesados e apresentaram maior ganho de peso diário, além disso, estes bezerros foram



desmamados mais cedo, uma vez que a desmama era realizada pelo consumo de concentrado.

Os óleos essenciais também podem exercer potente atividade antioxidante. Desta forma, estes compostos poderiam ser utilizados para atenuar os efeitos do estresse pós desmama. Para avaliar esta hipótese, alguns pesquisadores (Jeshari et. al, 2016) avaliaram os efeitos de um blend de óleos essenciais (extraídos de *Rosmarinus officinalis L.*, *Zataria multiflora Boiss*, e *Mentha pulegium L.*) e de um blend de resíduo de hidrodestilação oriundo das mesmas plantas, adicionados no concentrado, em bezerros submetidos a dois tipos de desmame: abrupto e intermitente (4 dias). No quesito desempenho, a adição dos óleos essenciais e do resíduo de destilação aumentou o consumo e ganho de peso médio dos bezerros, além de diminuir o tempo para a desmama em três dias. O poder antioxidante dos óleos essenciais foi maior que o do resíduo de destilação.

No Brasil, um blend de óleos essenciais comercial (carvacrol, cineol, cinamaldeído e pimenta) foi avaliado, sendo fornecido por duas vias: no concentrado e no sucedâneo lácteo (Santos et al., 2013). Os objetivos neste estudo foram avaliar os efeitos da suplementação dos óleos essenciais na saúde intestinal, desempenho dos bezerros, efeitos na população microbiana e fermentação ruminal. Apesar de não terem sido observados benefícios dos óleos essenciais nos parâmetros avaliados, os autores concluem que a utilização dos óleos essenciais pode ser benéfica, mas mais estudos são necessários para determinar dose e via de administração (Santos et al., 2013). Embora os óleos essenciais tenham sido reportados como eficazes na redução da diarreia de bezerros em alguns estudos (Bampids et al., 2006; Soltan, 2009), a grande variedade de óleos essenciais e o amplo espectro de ação destes componentes pode tornar difícil a generalização da utilização destes compostos na criação de bezerras. De certa forma, os óleos essenciais com alta atividade antimicrobiana contra bactérias ruminais (por exemplo, o carvacrol, timol e óleo de orégano) são também os mais potentes



contra patógenos (Benchaar et al., 2008). Desta forma, os blends de óleos essenciais com poder de modulação da microflora ruminal podem ter ação também nos patógenos intestinais.

Além dos efeitos em bactérias intestinais, alguns trabalhos têm descrito ação contra parasitas intestinais. Um blend de óleos essenciais (timol, eugenol, piperina) foi testado em frangos de corte infectados com Oocistos de *Eimeria spp.* Concluiu-se que o blend testado poderia ser utilizado como alternativa aos antibióticos e/ou ionóforos em frangos de corte não vacinados contra coccidia (Oviedo-Rondón et al., 2006). Em outro estudo, o extrato de Hortelã-pimenta (*Mentha x piperita*), composto principalmente pelo mentol, limoleno, cineol e linalol, apresentou atividade contra *Giardia*, parasita com alta prevalência em bovinos, em um teste realizado *in vitro* com cultura de células intestinais (Vidal et al., 2007). Os óleos essenciais parecem ter ação promissora no controle de parasitoses intestinais, no entanto, estudos com bezerros ainda precisam ser realizados.

Outro possível efeito dos óleos essenciais pode ser um melhor desenvolvimento das papilas ruminais dos bezerros, que é fundamental para o bom desempenho do bezerro no pós desmame. Além de alguns óleos essenciais terem efeito flavorizante e estimular o consumo de alimentos (Fathi et al., 2009), fundamental para a produção de ácidos graxos voláteis, especula-se que estes compostos possam alterar o perfil de fermentação ruminal e aumentar a produção de ácidos graxos voláteis melhorando o desenvolvimento das papilas ruminais. Em alguns estudos de fermentação *in vitro* (Castillejos et al., 2005) e em ovelhas (Newbold et al., 2006), foi observado aumento na produção de ácidos graxos voláteis. Em outro estudo *in vitro* (Kung et al., 2008), os autores relataram aumento na proporção molar de ácido propiônico e redução no acético e butírico, com o uso de um blend de óleos essenciais (timol, eugenol, limoleno e vanilina). No entanto, a alteração do perfil de fermentação depende de fatores como dose utilizada, tipo de alimento ingerido e, principalmente dos óleos essenciais utilizados. Não foram



encontrados estudos que comprovem um melhor desenvolvimento de papilas ruminais com o uso de óleos essenciais.

PROBIÓTICOS

Na busca por alternativas ao uso de antibióticos na produção de bezerras, surgem também os probióticos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (FAO/WHO 2001), probióticos são microrganismos vivos que podem conferir benefício à saúde do hospedeiro, no nosso caso, as bezerras. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2004) enquadram os probióticos como aditivos zootécnicos equilibradores da microbiota do trato digestório, utilizados nos produtos destinados à alimentação animal e em sua definição descritos como: cepas de microrganismos vivos (viáveis), que agem como auxiliares na recomposição da flora microbiana do trato digestivo dos animais, diminuindo o número dos microrganismos patogênicos ou indesejáveis. Nos Estados Unidos, o FDA (*Food and Drug Administration*) considerou o termo probiótico inconsistente e passou a exigir dos fabricantes a substituição nas embalagens pelo termo "direct fed microbials" (DFM), definindo-o como "uma fonte de microrganismos vivos encontrados na natureza", incluindo bactérias e fungos.

Independente da classificação, os probióticos são organismos vivos que podem auxiliar na promoção de melhor saúde e desempenho dos animais e também na recuperação das bezerras, que passam frequentemente por condições estressantes como a desmama, mudanças na alimentação, má colostragem, transporte e ocorrência de doenças. Nestas condições, o sistema gastrintestinal das bezerras pode entrar em desequilíbrio, possibilitando que microrganismos prejudiciais e potencialmente patogênicos prejudiquem as funções fisiológicas normais deste sistema, o que favorece o aparecimento de doenças. Desta forma, a suplementação dietética com probióticos auxilia a manter o equilíbrio apropriado da microbiota intestinal



atuando no campo da nutrição preventiva. Entre os principais microrganismos utilizados como probióticos estão as bactérias os gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* e leveduras (Figura 1). Em virtude do seu efeito benéfico na microflora intestinal, os probióticos são considerados alimentos funcionais, que são alimentos ou ingredientes que oferecem benefícios à saúde, além de suas funções nutricionais básicas.

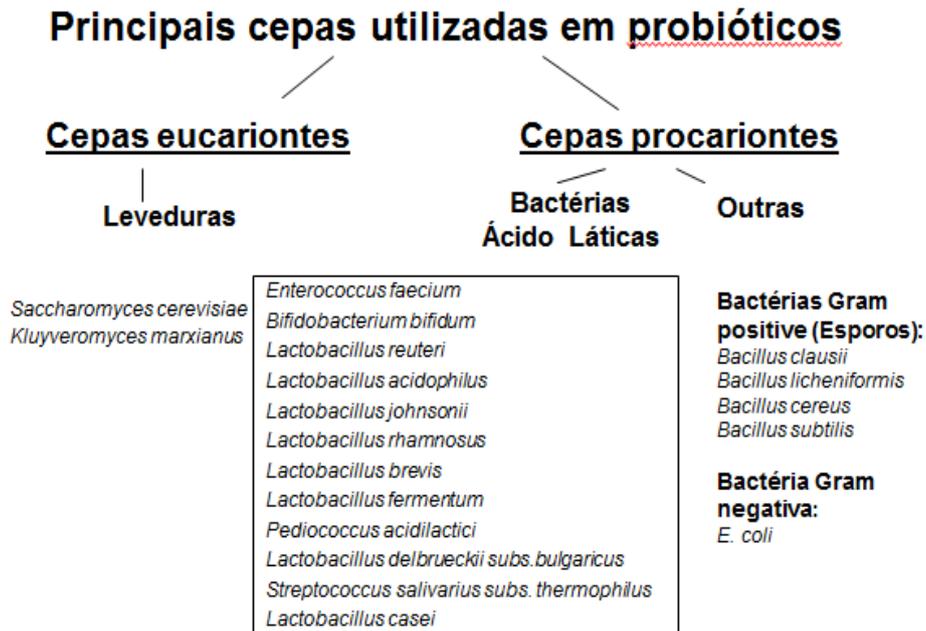


Figura 1 - Principais microrganismos utilizados como probióticos.

A ação dos probióticos sobre patógenos intestinais não está inteiramente elucidada, mas sua utilização em bezerros parece auxiliar no estabelecimento da microbiota nativa, melhorando o ganho de peso e reduzindo a ocorrência de diarreias. De forma geral, os probióticos atuam aumentando a resistência gastrointestinal à colonização por patógenos, estabilizando microbiota intestinal, diminuindo a população de



patógenos através da produção de ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos, estimulando o sistema imune e o aumento da absorção de minerais e vitaminas (Saad, 2006). Especificamente a ação compreende:

- **Modulação da microbiota intestinal**
 - competição por sítios de adesão
 - competição por nutrientes
 - produção de compostos antimicrobianos
- **Estímulo da imunidade do hospedeiro**
 - aumento dos níveis de anticorpos
 - aumento da atividade dos macrófagos
- **Maior absorção de nutrientes**

A modulação da microbiota intestinal se dá por exclusão competitiva. Os probióticos são capazes de fermentar carboidratos e produzir ácidos graxos de cadeia curta que reduzem o pH intestinal e inibem o crescimento de alguns agentes patogênicos, além de promover o crescimento das células intestinais melhorando a digestão e a absorção. Além disso, acredita-se que os probióticos possam estimular tanto a resposta imune específica quanto a não específica, mediados pela ativação de macrófagos, por um aumento nos níveis de citocinas, da atividade das células destruidoras naturais (NK - "natural killer") e/ou dos níveis de imunoglobulinas (Saad, 2006). A melhor absorção de nutrientes digeridos está ligada a uma maior integridade da mucosa intestinal dos bezerros (Garcia, 2008).

Originalmente, a microbiota intestinal de animais e humanos é composta predominantemente por bactérias ácido lácticas que são capazes de reduzir ou inibir o crescimento de bactérias patogênicas, causadoras de diarreias, como a *Salmonella spp* e a *Escherichia coli*. Em bezerros, os *Lactobacillus* é o gênero predominante e estabelece simbiose com o hospedeiro protegendo-o contra as bactérias patogênicas. No entanto, situações de estresse no início da vida dos bezerros



torna esta microbiota instável, podendo ocorrer redução das bactérias ácido lácticas e assim, favorecimento no crescimento das patogênicas com ocorrência de diarreia. Por este motivo, em bezerros, as bactérias ácido lácticas têm sido muito estudadas com o uma estratégia para controlar diarreia durante as primeiras semanas de vida.

Para ser selecionado como probiótico, o microrganismo deve incluir características relativas à segurança (*Generally Recognized as Safe*), ser resistente ao suco gástrico e aos sais biliares, capazes de sobreviver aos processos tecnológicos, possuir estabilidade em condições normais por um período não inferior a 30 dias, capacidade para colonizar o intestino e ter resultados de benefício comprovados a saúde dos animais (Alvim, 2011; Malveira, 2012). Atualmente, existem no mercado nacional probióticos comerciais compostos por uma ou mais espécies de microrganismos e por uma ou mais cepas. Cabe ressaltar que se trata de microrganismos vivos e que sua ação está relacionada com dose, frequência e forma de administração, condições de armazenamento, interação com outros aditivos presentes na dieta e diferentes espécies e cepas de microrganismos utilizados.

Diversos estudos têm sido realizados com diferentes probióticos objetivando melhorar o desenvolvimento de bezerros e os resultados têm sido variáveis. O fornecimento de uma cultura viável de *Lactobacillus acidophilus* (5×10^7 UFC) para bezerros holandeses, incorporado no sucedâneo lácteo, 2 vezes ao dia, do 2 dia até durante 6 semanas de vida, melhorou o ganho de peso na segunda semana em comparação ao controle sem probiótico, no entanto, não houve efeito sobre o consumo, a incidência de diarreias e o peso dos bezerros (Cruywagen, 1996). Quatro estudos para avaliar os efeitos da suplementação de um probiótico no crescimento e saúde de bezerros foram realizados na Holanda (Timmerman, 2005). Nestes estudos, utilizou-se um probiótico comercial composto por bactérias isoladas de humanos (5 cepas de *Lactobacillus* e *Enterococcus faecium*) e outro probiótico com 6 cepas de *Lactobacillus* isolado das fezes de



bezerros, fornecidos diariamente diluídos em um suplemento líquido com minerais, durante 15 dias nos experimentos 1 e 2 e 56 dias nos experimentos 3 e 4. Os resultados foram: maior ganho de peso diário e eficiência alimentar com o uso dos probióticos; tendência de menor mortalidade nos bezerros tratados com probióticos; menor incidência de diarreia com o uso do probiótico isolado das fezes de bezerros; e redução na necessidade do uso de tratamentos terapêuticos contra doenças dos trato digestivo e respiratório no grupo que recebeu probióticos (Timmerman, 2005). O *Enterococcus faecium* (cepa SF68) também foi testado em bezerros bubalinos, desde os 10 dias até 11 semanas de vida, adicionado no sucedâneo lácteo. A administração do probiótico resultou em maior ganho de peso, melhora na consistência fecal, e menor número de mortes por diarreia, indicando que este probiótico pode ser utilizado como medida profilática à ocorrência de diarreia em bezerros bubalinos, embora não tenham sido observadas diferenças nos parâmetros indicadores de imunidade avaliados.

Ávila et al. 2000 estudaram os efeitos de um probiótico composto por *Ruminobacter amylophilum*, *Ruminobacter succinogenes*, *Succinovibrio dextrinosolvens*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus faecium*, isoladas de rúmen e de trato intestinal de bovinos adultos, em bezerros filhos de vacas vacinadas e não vacinadas com *E. coli* inativada. Neste estudo (Ávila et al., 2000), os tratamentos com a associação da vacina e o uso do probiótico diluído no leite durante 15 e 30 dias foram eficientes no controle da diarreia e melhoraram o ganho de peso.

No Brasil, Meyer et al. (2001) avaliaram um probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* adicionado em sucedâneo lácteo ou leite *in natura* e como resultados foram observados melhor ganho de peso pré desmama e melhor conversão alimentar pré e pós desmama com o uso do probiótico.



Bittar et al. (2016) observou melhora no desempenho e no metabolismo de bezerros leiteiros com o uso de probiótico produzido com bactérias originadas do rúmem de animais adultos (*Bacillus cereus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Ruminobacter amylophilum*, *Ruminobacter succinogenes* e *Succinovibrio dextrinosolven*).

Além das bactérias, o uso de leveduras vivas na nutrição de bezerros com o objetivo de melhorar seu desenvolvimento tem sido estudado. A parede celular de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* tem em sua composição os oligossacarídeos, que tem demonstrado efeito benéfico no sistema imunológico de seres humanos. Outro efeito das culturas vivas de leveduras pode ser a produção de compostos solúveis capazes de inibir crescimento microbiano (Jensen et al., 2008).

Magalhães et al. (2008) realizaram um estudo com a suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* adicionada (2% da matéria seca) a uma mistura de grãos fornecida diariamente à bezerros holandeses, durante os primeiros 70 dias de vida. Neste estudo, a suplementação com levedura melhorou o escore fecal, a incidência de diarreia e o risco ocorrência de outras doenças e diminuiu a taxa de mortalidade dos bezerros. Outros autores (Lesmeister et al., 2004) descreveram que o uso de leveduras (2% da MS) na ração inicial de bezerros holandeses melhorou o consumo de matéria seca, o ganho de peso diário em 15,6% e melhorou discretamente o desenvolvimento do rúmen dos bezerros.

Teoricamente, as leveduras podem proporcionar um aumento no pH ruminal, por reduzir a produção de lactato, melhorar a produção de propionato e, conseqüentemente, melhorar o desenvolvimento do rúmen dos bezerros, mesmo que este esteja em desenvolvimento.

Objetivando sistematizar os resultados de estudos com probióticos compostos por bactérias ácido lácticas na saúde intestinal de bezerros, Signorini et al., 2012 fizeram uma avaliação por metanálise de vários estudos, seguindo os critérios de:



estudos controlados ou aleatórios que utilizaram bezerros jovens (menos de 10 dias), saudáveis e que utilizaram bactérias ácido lácticas adicionadas no leite integral *in natura*, leite integral pasteurizado, no sucedâneo lácteo ou na ração inicial. No total foram encontrados 66 artigos com uso de probióticos em bezerros, mas somente 9 descreviam todos os critérios pré estabelecidos para avaliação da incidência de diarreia e 6 os critérios para a consistência fecal. Como resultados, nos estudos avaliados de 1980 a 2010, a suplementação com bactérias ácido-láticas demonstrou efeito de proteção contra a diarreia reduzindo sua incidência e este efeito foi mais observado nos estudos que utilizaram o probiótico no leite integral *in natura*. Desta forma, os autores descrevem como sendo possível que haja um efeito sinérgico entre o probiótico e os componentes do leite integral. A redução na incidência de diarreia ocorreu também quando foram utilizadas várias cepas de bactérias em um mesmo probiótico. Com relação ao perfil da microbiota intestinal, a relação entre bactérias ácido-láticas e coliformes foi maior com a utilização de probióticos, compostos por vários ou apenas um tipo de bactéria, adicionados no leite integral. Nos estudos com probióticos é muito importante que se avalie a viabilidade dos probióticos, pois a uma redução na viabilidade e estabilidade pode afetar diretamente sua eficiência. Na maioria dos estudos não existem dados sobre condições de estocagem dos probióticos (tempo e temperatura) e da viabilidade das bactérias.

De forma geral, o uso de probióticos tem demonstrado efeito benéfico na saúde intestinal de bezerros em aleitamento. No entanto, tratam-se de bactérias vivas e seus resultados podem variar de acordo o número e o tipo de cepas utilizadas e com a viabilidade destas, que pode sofrer interferência principalmente da dose administrada, das condições de armazenamento destes aditivos e do tipo de alimento no qual será incluído (leite integral, sucedâneo ou ração inicial).



EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE MONENSINA, PROBIÓTICO E ÓLEOS ESSENCIAIS EM BEZERROS LACTENTES

Recentemente, realizou-se um estudo na Universidade Federal de Viçosa com objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de monensina, probiótico ou óleos essenciais sobre a saúde e crescimento de bezerros lactentes. Inicialmente, um total de cinquenta bezerros da raça Holandesa (25 machos e 25 fêmeas) receberam uma dieta concentrada *ad libitum* com 60% de milho moído, 20% de farelo de soja e 20% de premix mineral-vitamínico contendo um de cinco tratamentos: controle (CON) – sem aditivo; monensina (MON; 30 mg/kg de concentrado), probiótico *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 (PROB; 70mg/kg de concentrado – CFU/kg $1,4 \times 10^9$), óleos essenciais (OE; 300 mg/kg de concentrado – composto por timol, eugenol, limoneno e vanilina) e a combinação de OE com PROB (OEPROB). Os animais foram suplementados com os tratamentos dos 6 aos 60 dias de vida – período pré desmama.

Após a desmama – período pós desmama – os bezerros receberam 2000 g/dia do tratamento controle (sem aditivos) com silagem de milho *ad libitum* separadamente por mais 15 dias, para avaliação do efeito residual dos tratamentos ofertados. O consumo de matéria seca e o escore fecal (escala de 1 a 4, onde 1 significa fezes com melhor consistência e 4 representa fezes aguadas) foram mensurados diariamente. Os bezerros foram pesados e medidos na altura da cernelha e largura da garupa, ao início do experimento e a cada 15 dias até o término do período pós desmama. Três animais de cada tratamento foram submetidos a dois ensaios de digestibilidade de 72 horas, sendo realizado por coleta total de fezes entre os dias 20-28 (período 1) e 50-56 (período 2). O índice de escore fecal (ICF) foi determinado de acordo com a seguinte equação de Passini et al. (2001), onde dS1, dS2, dS3 e dS4 representam o número de dias



com o escore fecal de 1, 2, 3 e 4 respectivamente; e Td representa o número total de dias da avaliação:

$$\text{ICF} = \frac{[(dS1 \times 1) + (dS2 \times 2) + (dS3 \times 3) + (dS4 \times 4)] \times 100}{Td \times 4}$$

No período pré desmama, o consumo de concentrado (matéria seca) dos bezerros suplementados com óleos essenciais foi maior (903 g/dia) que o dos animais suplementados com monensina (749 g/dia) e combinação óleo essencial+probiótico (783 g/dia), não diferindo dos grupos controle e probiótico (Figura 2). Este maior consumo de matéria seca pode ser decorrente do efeito flavorizante presente nos óleos essenciais, principalmente da vanilina. No período pós desmama, o CMS foi igual para todos os grupos, uma vez que os concentrados fornecidos não continham nenhum aditivo.

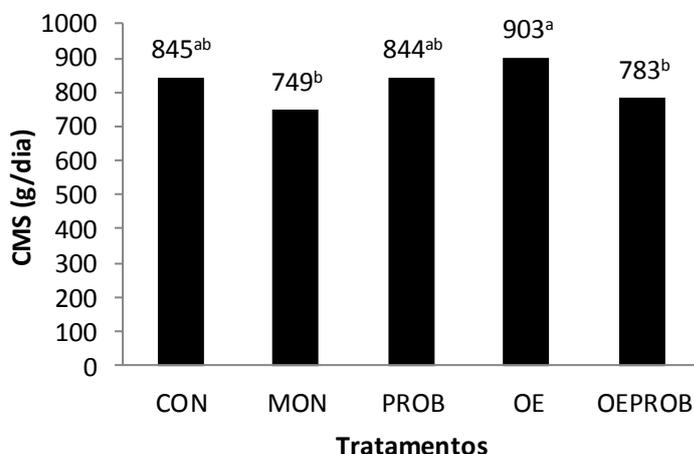


Figura 2 - Consumo de matéria seca (CMS, concentrado) durante a fase pré desmama dos bezerros suplementados com os tratamentos controle (sem aditivos), monensina, probiótico (PROB), óleos essenciais (OE) e probióticos+óleos essenciais (OEPROB). Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($P < 0,10$). Fonte: Adaptado de Salazar et al., 2017.



Em relação ao ganho de peso diário (GPD) dos bezerros, não houve diferença entre os tratamentos no período pré desmama, no entanto, no período pós desmama (efeito residual dos tratamentos fornecidos durante a fase pré desmama), os bezerros suplementados com óleos essenciais apresentaram maior ganho de peso (918 g/dia) em comparação aos animais do grupo controle (616 g/dia) e probióticos (593 g/dia) (Figura 3).

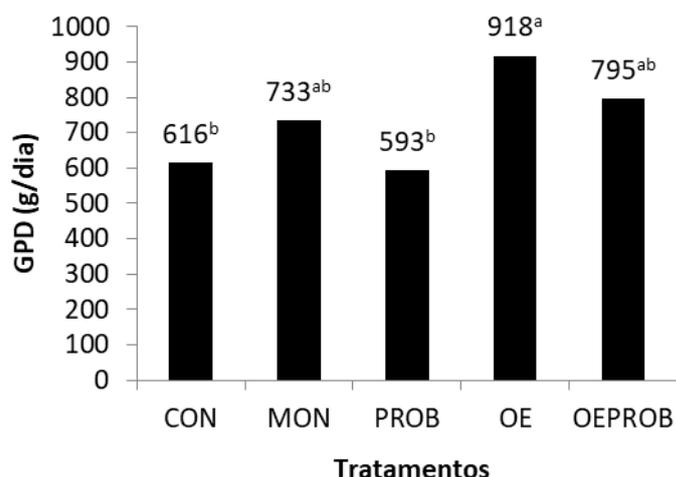


Figura 3 - Ganho de peso diário (GPD) pós desmama dos bezerros suplementados com os tratamentos controle (sem aditivos), monensina (MON), probiótico (PROB), óleos essenciais (OE) e probióticos+óleos essenciais (OEPROB). Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($P < 0,10$).

Fonte: Adaptado de Salazar et al., 2017.

A eficiência alimentar (EF) pós desmama foi maior para os animais suplementados com óleos essenciais (0,72 g/g), quando comparados ao grupo controle (0,36 g/g), monensina (0,49 g/g) e probiótico (0,36 g/g) – Figura 4. Os resultados encontrados para ganho de peso diário e eficiência alimentar no período pós



desmama para o grupo óleos essenciais são provenientes de um possível efeito residual 15 dias após o término da suplementação. Ainda, possivelmente, houve um melhor desenvolvimento ruminal na fase pré desmama em decorrência do maior consumo de concentrados também pode ter contribuído para estes resultados positivos.

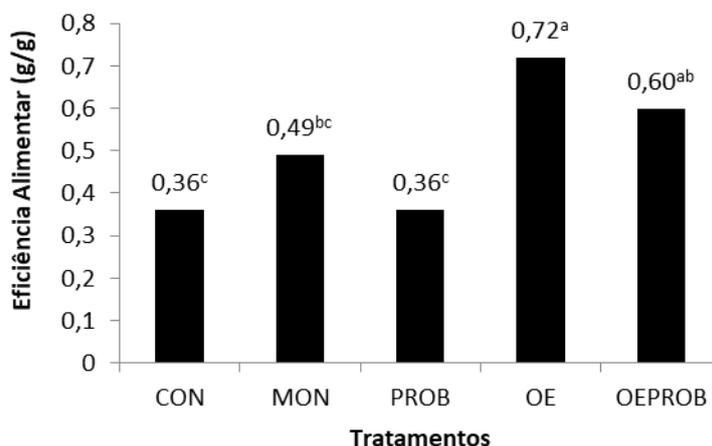


Figura 4 - Eficiência alimentar (pós desmama) dos bezerros suplementados com os tratamentos controle (sem aditivos), monensina (MON), probiótico (PROB), óleos essenciais (OE) e probióticos+óleos essenciais (OEPROB). Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($P < 0,10$).

Fonte: Adaptado de Salazar et al., 2017.

A utilização dos tratamentos óleos essenciais e monensina no concentrado reduziram os casos de diarreia no período pré desmama, demonstrado pelo menor índice de consistência fecal (ICF) em comparação aos outros tratamentos (figura 5). Considerando a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e da monensina, é esperada uma redução na carga de bactérias patogênicas presentes no intestino e, conseqüentemente, uma



redução nos casos de diarreia nestes animais. Diferenças no ICF não foram encontradas no período pós desmama. As medidas biométricas, alturas de cernelha e largura da garupa, não diferiram entre os tratamentos nos períodos pré e pós desmama.

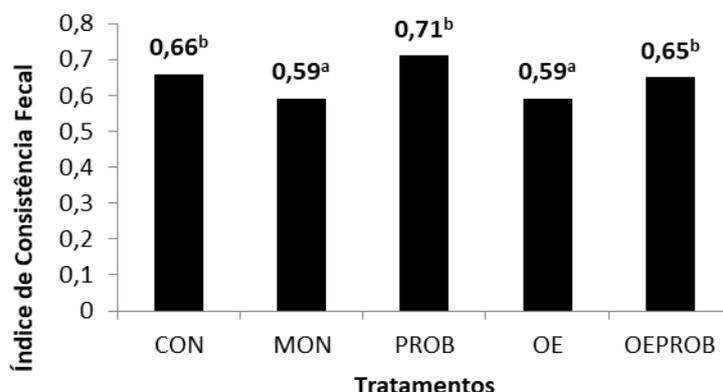


Figura 5 - Índice de consistência fecal (pré desmama) dos bezerros suplementados com os tratamentos controle (sem aditivos), monensina (MON), probiótico (PROB), óleos essenciais (OE) e probióticos+óleos essenciais (OEPROB). Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($P < 0,10$).

Fonte: Adaptado de Salazar et al., 2017.

Nos estudos de digestibilidade, observou-se que bezerros alimentados com probióticos tiveram maior consumo de MS ($P = 0,022$), PB ($P=0,022$) e FDN ($P=0,03$) quando comparados aos grupos controle e óleos essenciais+probióticos. Este maior consumo de nutrientes está em linha com o maior ICF encontrado nos bezerros tratados com probióticos, podendo ser um mecanismo de compensação do organismo à maior ocorrência de diarreia.

A digestibilidade da porção FDN foi maior para o grupo monensina do que nos grupos controle e óleos essenciais+probióticos, entretanto, não diferiu dos grupos que



receberam probióticos e óleos essenciais separadamente (Tabela 1). Este resultado era esperado para a monensina, uma vez que este aditivo reduz o consumo e estimula o efeito de saciedade, consequentemente aumentando a retenção de alimento no rúmen e favorecendo a digestão da porção fibrosa pela microflora ruminal.

Tabela 1 - Consumo e digestibilidade em dois estudos de digestibilidade – período 1 (20-28 dias) e 2 (50-56 dias) – realizados em bezerros lactentes alimentados com os diferentes tratamentos: controle (sem aditivos), monensina, probióticos, óleos essenciais e óleos essenciais+probióticos

Medidas	Tratamentos					EPM	P value
	CON	MON	PROB	OE	OEPROB		
<i>Consumo</i>							
MS ¹ , g/d	840 ab	892 ab	1185 a	1043 ab	804 b	118.08	0.022
PB g/d	193 ab	202 ab	255 a	227 ab	186 b	20.61	0.022
FDN, g/d	125 b	182 ab	320 a	218 ab	122 b	62.70	0.030
<i>Digestibilidade</i>							
MS, g/100g	0.919	0.928	0.931	0.950	0.929	0.01	0.648
PB g/100g	0.908	0.905	0.918	0.936	0.934	0.01	0.627
FDN, g/100g	0.786 bc	0.924 a	0.888 abc	0.903 ab	0.728 c	0.05	0.012

Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($P < 0,10$).

Fonte: Adaptado de Salazar et al., 2017.

Estes resultados demonstram que os óleos essenciais podem ser uma excelente alternativa para melhorar a saúde intestinal de bezerros e, mais além, para estimular o consumo de concentrado, melhorar o seu ganho de peso e eficiência alimentar pós desmama.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

É crescente a preocupação com o uso de antibióticos na produção de animais em todo o mundo. Os óleos essenciais e os probióticos são excelentes alternativas para o uso de antibióticos e estudos para a avaliação de sua eficácia na criação de bezerros estão sendo realizados. No entanto, os resultados variados devido a diferenças na composição, tanto dos óleos essenciais quanto dos probióticos, e a algumas particularidades, como forma de fornecimento e necessidade de cuidados com armazenagem, no caso dos probióticos.

Em um dos estudos mais recentes para avaliação com óleos essenciais, probiótico e monensina, concluiu-se que o blend de óleos essenciais (timol, eugenol, limoneno e vanilina) melhora a saúde intestinal de bezerros na mesma magnitude que a monensina e aumenta a eficiência alimentar pós desmama, em comparação com o este ionóforo.

REFERÊNCIAS

ALVIM, B. L. **Identificação molecular e seleção de bactérias lácticas com potencial probiótico isoladas de diferentes mucosas de suínos.** Dissertação (Mestrado em Genética). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2011.

ÁVILA, F.A.; PAULILLO, A.C.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; LUCAS, F. A.; ORGAZ, A.; QUINTANA, J.L. Avaliação da eficiência de um probiótico no controle de diarreia e no ganho de peso de bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.41-46, 2000.

BAMPIDIS V.A.; CHRISTODOULOU V.; FLOROU-PANERI P.; CHRISTAKI E. Effect of dried oregano leaves versus neomycin in treating newborn calves with colibacillosis. **Journal of Veterinary Medicine**, v.53, p.154–156, 2006.



BENCHAAR C.; CALSAMIGLIA S.; CHAVES A.V.; FRASER G.R.; COLOMBATTO D.; MCALLISTER T.A.; BEAUCHEMIN K.A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p.209–228, 2008.

BITTAR, C.M.M.; SILVA, F.L.M.; PAULA, M.R.; SILVA, J.T.; GALLO, M.P.C.; OLTRAMARI, C.E.; NAPOLES, G.G.O.; SOARES, M.C. Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros em sistema de desaleitamento precoce suplementados com probiótico de bactérias ruminais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.17, p.249-261, 2016.

CALSAMIGLIA S.; BUSQUET M.; CARDOZO P.W.; CASTILLEJOS L.; FERRET A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2580–2595, 2007.

CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; LOSA, R.. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. **Animal Feed Science and Technology**, v.119, p.29–41, 2005.

CRUYWAGEN, C.W.; JORDAAN, I.; VENTER, L. Effect of Lactobacillus acidophilus Supplementation of Milk Replacer on Preweaning Performance of Calves. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.483-486, 1996.

FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba FAO/WHO; 2001.

FATHI M.H.; RIASI A.; ALLAHRESANI A. The effect of vanilla flavoured calf starter on performance of Holstein calves. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.18, p.412–419, 2009.



GARCIA, G. R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de *Bacillus subtilis* no desempenho de bezerros da raça holandesa.** Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Jaboticabal, SP, 2008.

HELANDER, I.M.; ALAKOMI, H.-L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, L.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M.; VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.46, p.3590–3595, 1998.

JENSEN, G. S.; PATTERSON, K. M.; YOON, I. Nutritional yeast culture has specific anti-microbial properties without affecting healthy flora. Preliminary results. **Journal of Animal Feed Science**, v. 17, p. 247-252, 2008.

JESHARI M.; RIASI A.; MAHDAVI A.H.; KHORVASH M.; AHMADI F. Effect of essential oils and distillation residues blends on growth performance and blood metabolites of Holstein calves weaned gradually or abruptly. **Livestock Science**, v.185, p.117–122, 2016.

KREHBIEL, C.R.; RUST, S.R.; ZHANG, Z.; GILLILAND S.E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.81(E. Suppl. 2), p.120–132, 2003.

KUNG JR.L; WILLIAMS, P.; SCHMIDT, R.J.; HU, W. A Blend of Essential Plant Oils Used as an Additive to Alter Silage Fermentation or Used as a Feed Additive for Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.4793–4800, 2008.

LESMEISTER, K.E.; HEINRICHS, A.J.; GABLER. M.T. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1832–1839, 2004.



LI P.; PIAO X.; RU Y.; HAN X.; XUE L.; ZHANG H. Effects of Adding Essential Oil to the Diet of Weaned Pigs on Performance, Nutrient Utilization, Immune Response and Intestinal Health. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p.1617-1626, 2012.

MALVEIRA, D.S. **Bactérias lácticas com potencial probiótico provenientes de bezerros nelore criados no norte de minas gerais**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, 2013.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 13, de 30 de novembro de 2004. Disponível em:<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-13-de-30-de-novembro-de-2004.pdf/view>

MASUCCI, F.G.; GRASSO, F.; NAPOLITANO, F.; ESPOSITO, G.; DI FRANZIA, A. Performance and immune response of buffalo calves supplemented with probiotic. **Livestock Science**, v.137, p.24–30, 2011.

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**, v.58, p.215-221, 2001.

NEWBOLD, C.J.; DUVAL, S.M.; MCEWAN, N.R.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; HART, K.J. New feed additives for ruminants—a European perspective. In: Proceedings of the Pacific Northwest Animal Nutrition Conference and Virtus Nutrition Pre-conference, Vancouver, BC, Canada, p. 81–90, 2006.

NUSSIO, C.M.B. Processamento de milho (Floculado vs. Laminado) e adição de monensina para bezerras leiteiras, pré e pós-desmama precoce. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.229-239, 2003.



NUSSIO, C.M.B; HUBER, J.T.; NUSSIO, L.G. Decoquinatone, lasalocid and monensin in starter feeds and the performance of holstein calves to 20 weeks of age. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.421-426, 2002.

OVIEDO-RONDON, E.O.; CLEMENTE-HERNANDEZ, S.; SALVADOR, F.; WILLIAMS, R.; LOSA, R. Essential oils on mixed coccidia vaccination and infection in broilers. **International Journal of Poultry Science**, v.5, p.723-30, 2006.

PASSINI, R.; SPERS, A.; LUCCI, C.S. Effects of partial replacement of corn in the diet by bakery waste on the steers performance Holstein. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.689–694, 2001.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, p. 1-16, 2006.

SALAZAR, L.; CORTINHAS, C.; ACEDO, T.; ROTTA, P.; FONTES, M.; MORAIS V.; MACHADO, A.; SQUIZZATO, A.; MARCONDES M. Effects of selected feed additives to improve growth and health of dairy calves. In: 2017 ADSA Annual Meeting, Pittsburgh, PA, p.115, 2017.

SANTOS F.H.R.; DE PAULA M.R.; LEZIER D.; SILVA J.T.; SANTOS G.; BITTAR C.M.M. Essential oils for dairy calves: effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. **Animal**, v. 9, n. 6 p. 958–965, 2015.

SIGNORINI, M.L.; SOTO, L.P.; ZBRUN, M.V.; SEQUEIRA, G.J.; ROSMINI, M.R.; FRIZZO, L.S. Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, v.169, p.147– 156, 2011

SOLTAN, M.A. Effect of Essential Oils Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Health Condition of Holstein Male Calves During Pre- and Post-Weaning Periods. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, n.5, p.642-652, 2009.



TIMMERMAN, H.M.; MULDER, L.; EVERTS, H.; VAN ESPEN, D.C.; VAN DER WAL, E.; KLAASSEN, G.; ROUWERS, S.M.G.; HARTEMINK, R.; ROMBOUITS, F.M.; BEYNEN, A.C. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2154–2165, 2005.

VIDAL, F.; VIDAL, J.C.; GADELHA, A.P.R.; LOPES, C.S.; COELHO, M.G.P.; MONTEIRO-LEAL, L.H.. Giardia lamblia: the effects of extracts and fractions from Menthapiperita Lin. (Lamiaceae) on trophozoites. **Experimental Parasitology**, v.115, p.25–31, 2007.

WEBER, G.M.; MICHALCZUK, M.; HUYGHEBAERT, G.; JUIN, H., KWAKERNAAK, C., GRACIA, M.I. Effects of a blend of essential oil compounds and benzoic acid on performance of broiler chickens as revealed by a meta-analysis of 4 growth trials in various locations. **Poultry Science**, v.91, p.2820–2828, 2012.

