

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DE DIFERENTES DOSAGENS DO PREPARADO DE ANTICORPOS
POLICLONAIIS ESPECÍFICOS SOBRE AS VARIÁVEIS RUMINAIS,
DEGRADABILIDADE *IN SITU* E DIGESTIBILIDADE *IN VIVO* DE BOVINOS
ALIMENTADOS COM DIETA DE ALTO CONCENTRADO**

JOÃO PAULO SIGOLO TEIXEIRA BASTOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte das
exigências para a obtenção do Título de
Mestre

BOTUCATU / SP
Dezembro / 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DE DIFERENTES DOSAGENS DO PREPARADO DE ANTICORPOS
POLICLONAIS ESPECÍFICOS SOBRE AS VARIÁVEIS RUMINAIS,
DEGRADABILIDADE *IN SITU* E DIGESTIBILIDADE *IN VIVO* DE BOVINOS
ALIMENTADOS COM DIETA DE ALTO CONCENTRADO**

JOÃO PAULO SIGOLO TEIXEIRA BASTOS
Zootecnista

ORIENTADOR: Profº Drº MÁRIO DE BENI ARRIGONI

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte das
exigências para a obtenção do Título de
Mestre

BOTUCATU / SP
Dezembro / 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B327e Bastos, João Paulo Sigolo Teixeira, 1983-
Efeito de diferentes dosagens do Preparado de Anticorpos Policlonais específicos sobre as variáveis ruminais, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vivo* de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado / João Paulo Sigolo Teixeira Bastos. - Botucatu : [s.n.], 2009.
xiii, 111 f. : gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009

Orientador: Mário De Beni Arrigoni
Inclui bibliografia.

1. Preparado de Anticorpos Policlonais. 2. Fermentação ruminal. 3. Imunização passiva. 4. Ruminantes. 5. Alto concentrado. I. Arrigoni, Mário De Beni. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. V. Título.

“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.

Fernando Pessoa

Dedicatória

Dedico esse trabalho aos meus pais JANICE e PAULO SÉRGIO por tudo o que
representam para mim,
As minhas avós YONE e ARACY (*in memorium*) por assim como os meus pais, me
ensinarem valores morais e de vida,
Minha irmã CAMILA por me incentivar em todos os meus sonhos,
E principalmente ao meu avô JOÃO BAPTISTA por todo o apoio que deu e dá em minha
vida, que, juntamente com os meus pais, garantiu meus estudos, sonhos e conquistas!!
Amo todos vocês!!!!

Agradecimentos

Com todo amor, carinho, respeito e admiração eu agradeço...

Profº Drº Mário De Beni Arrigoni, por acreditar em mim, abrir as portas de sua Universidade e me deixar fazer parte de sua respeitosa equipe, por estar sempre disposto a me ouvir e com poucas palavras me mostrar o caminho certo, por acreditar e confiar em mim e pelo profissional e pessoa que foi, é e será.

Ao Profº Drº Paulo Henrique Mazza Rodrigues, pela orientação, incentivo, amizade, dedicação, confiança e participação com entusiasmo em todas as conquistas e dificuldades deste trabalho, por me ensinar o valor da pesquisa e por acreditar em mim.

À Profª. Drª. Cyntia Ludovico Martins, pelo incentivo, amizade e ensinamentos durante todo esse tempo. Por ser muitas vezes uma mãe e conselheira e por me incentivar e me fazer acreditar, com suas palavras, que eu era capaz de conseguir conquistar tudo aquilo que sonhei e sonho.

A minha grande amiga Paula Campos Sargi por tudo o que representa em minha vida, pelos momentos alegres e tristes, nas dificuldades e conquistas, por ser uma grande irmã. Por me ajudar em tudo o que precisei e preciso.

Ao meu amigo Fábio pela amizade e companheirismo durante todos esses anos, por me incentivar nos meus sonhos e realizações.

Ao meu amigo Nelson José Peres Jr por ser um grande companheiro de estrada, ao longo desses anos, vivendo comigo todas as alegrias e frustrações.

À minha namorada Caroline, por me dar apoio nos momentos finais desse trabalho, me incentivando.

A Gilmar E. Botteon, responsável pelo setor de fistulados do VNP (FMVZ-USP), pelo carinho com os alunos e com os animais, pela disposição a sempre me ensinar e pelos bons momentos compartilhados.

Aos funcionários do Confinamento de Bovinos Superprecoces (FMVZ-UNESP - Botucatu), Sydnei, Dinho, Claudemir, Boca e Cido por toda a ajuda durante meu estágio e mestrado.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia do VNP (FMVZ-USP), Ari Luiz de Castro, Everson J. Lázaro, Gilson L.A. de Godoy, Simi L.D.A. Robassini e Isabel G. Ramos, pela paciência, disponibilidade para ensinar e participar de todas as etapas das análises deste projeto.

Aos funcionários da Pós-Graduação da UNESP e da USP por todo apoio e ajuda.

Às vacas fistuladas 684, 656, 325, 627, 673, 639, 631, 640, 655, e Virginia que colaboraram muito durante todo experimento e me ensinaram ainda mais que os animais

precisam e merecem serem respeitados, por me ensinarem que nem tudo o que aprendemos nos livros é o correto.

Aos meus pais Paulo Sérgio e Janice pelo exemplo de vida, apoio, confiança e incentivo.

Ao meu tio José Luiz pelo apoio e incentivo creditado em mim.

A minha tia Walnice por tudo o que representa na minha vida (minha segunda mãe) e por ter sido tão presente no momento que eu mais precisei.

A minha madrasta Luci Sidaui por todo apoio durante a minha vida e à minha família.

Ao meu padrasto Antônio Guerra Júnior por todo o apoio que me deu em todas as fases da minha vida, garantindo o meu estudo em Londres e também por outras oportunidades que tive.

Aos meus avós Yone, João Baptista, Aracy (*In memorium*) e Antônio (*In memorium*) por todo o apoio e pelo exemplo de pessoas que são e foram.

As minhas irmãs Camila e Cinthia pelo companheirismo e amizade!!

Aos meus primos e primas por todos esses anos juntos.

Aos amigos queridos de São Paulo, André, Sara e Bruno por toda a amizade durante esses anos.

Aos meus amigos e “cumpanheiros” de Botucatu, Samira, Robson, Luís Marcelo, João Paulo, Pedro, Regina entre outros por toda a força, ajuda e incentivo durante essa fase e por representarem muito para mim.

Ao pessoal do ILC de Botucatu, Ana Maria, Magda, Sanae, Sol, Cris e Paty por toda a força, amizade e compreensão.

A Suzana (Susikil) e Luiza por terem cuidado tanto de mim e pela amizade.

A Tatiani C. Bula por tudo o que representou e representa, pelos ensinamentos e por tudo o que passamos, momentos bons e ruins, mas que ficarão guardados no coração.

Aos meus amigos de Pirassununga Priscila, Juliana, Daniella, Daniela, Paula, Camila, Esther, Walter, Diego, Patrícia, Iaçanã, Henry, Cris, Samuel e por todos aqueles que me ajudaram, me apoiaram e fazem parte dessa família que foi formada e independente da distância estaremos sempre juntos.

Aos amigos, companheiros e “irmãos” de moradia Juliane, Julianne, Elmeson e Renan por terem me acolhido no momento em que eu mais precisei e por terem se tornado uma família para mim, nos momentos bons e ruins, e por tudo o que significam.

Aos amigos Gaúcho e Joca por terem acreditado em mim me ajudando em momentos cruciais da minha vida e pelos amigos que se tornaram.

Ao meu amigo e professor Rúben Velazco, por todos os anos que convivemos, acreditando em mim, pelos ensinamentos e conselhos. Por ter confiado na minha capacidade durante esses anos e por tudo aquilo que representa e representou na minha formação profissional e como ser humano.

Aos amigos Danilo Millen e Rodrigo Pacheco por terem acreditado em mim, pela amizade e carinho em todos os momentos e pela oportunidade que me deram de crescer profissionalmente e como pessoa. Pela sinceridade, amizade e companheirismo.

Ao meu professor, orientador e amigo Rafael Cervieri, por todos esses anos de ensinamentos, não só ensinamentos técnicos, mas de humildade e capacidade. Por representar o profissional e ser humano que aprendi a admirar e a respeitar, servindo como referência nas minhas tomadas de decisões e atitudes. Por todos os valores que me ensinou conscientemente ou não, por toda a confiança e apoio depositado e por acreditar em minha capacidade. Obrigado pela amizade e tudo o que fez e faz por mim.

E a minha grande amiga e “irmã” Carolina Tobias Marino por tudo o que fez e representa na minha vida. Esse mestrado não teria saído sem a sua ajuda. Por ter dividido e participado ativamente das minhas conquistas e decepções. Por ter se tornado uma grande irmã, me ensinando, me acolhendo e me apoiando em tudo e em todos os momentos. Por ser a profissional e ser humana que é, pela amizade e, que não importando a distância, estará sempre comigo e eu sempre com você.

A todos, muito obrigado!!!!!!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA	15
2.0 INTRODUÇÃO.....	16
3.0 FERMENTAÇÃO RUMINAL	17
3.1 Dieta.....	18
3.2 ph ruminal	20
4.0 SAÚDE RUMINAL.....	21
4.1 Desordens fermentativas	22
4.1.1 Destruição de produtos benéficos	23
4.1.2 Aparecimento de patógenos oportunistas	23
4.1.3 Acúmulo excessivo de produtos normais da fermentação	24
4.1.4 Etiopatogenia da acidose ruminal	25
4.1.4.1 Efeitos colaterais da acidose ruminal	28
4.1.4.1.1 Rumenite.....	29
4.1.4.1.2 Abscessos hepáticos	29
4.1.5 Timpanismo	31
5.0 MANIPULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO RUMINAL	32
5.1 Manipulação dietética	32
5.2 Aditivos alimentares	35
5.2.1 Leveduras	36
5.2.2 Ionóforos	37

6.0 A QUESTÃO DOS ANTI BIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL	40
7.0 IMUNIZAÇÃO COMO POTENCIAL ADITIVO ALIMENTAR.....	42
7.1 Preparado de anticorpos policlonais	44
7.2 Respostas a utilização do preparado de anticorpos policlonais	45
7.2.1 Efeitos sobre os microrganismos ruminais	45
7.2.2 Efeito sobre a fermentação ruminal	46
7.2.3 Efeito sobre a digestibilidade	47
7.2.4 Efeitos em bovinos de corte	47
8.0 REFERÊNCIAS	51

CAPÍTULO 3: Efeito dos diferentes níveis do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar e parâmetros de fermentação ruminal em bovinos recebendo dieta de alto concentrado

Resumo.....	60
Abstract.....	61
Introdução.....	62
Material e Métodos	63
Resultados e Discussão	73
Conclusões.....	103
Referências.....	104
Implicações	111

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 01	Produções de AGCCs, CO ₂ , H ₂ e metano, expressas em moles para cada mol de glicose fermentado, conforme o tipo de dieta.....	18
Tabela 02	Desordens fermentativas em ruminantes alimentados com forragens ou cereais.....	22
Tabela 03	Efeito dos ionóforos no desempenho de bovinos confinados.....	39
Tabela 04	Melhora percentual no desempenho de bovinos suplementados em relação aos não suplementados com monensina.....	40
Tabela 05	Efeitos da alimentação de anticorpos de aves preparados contra <i>Streptococcus bovis</i> (PAPSb), monensina (300 mg/cab/d) e tilosina (100 mg/cab/d; FA) sobre a contagem de <i>S. bovis</i> e pH do rúmen.....	49
Tabela 06	Efeitos da alimentação de anticorpos de aves preparados contra <i>Fusobacterium necrophorum</i> (PAPFn) e monensina (300 mg/cab/d) e tilosina (100 mg/cab/d; FA) sobre a contagem de <i>F. necrophorum</i> e pH do rúmen.....	49
Tabela 07	Efeitos da alimentação com anticorpos preparados contra <i>Streptococcus bovis</i> (PAPSb), <i>Fusobacterium necrophorum</i> (PAPFn) ou ambos sobre a desempenho e características de carcaça de novilhos confinados.....	50

CAPÍTULO 3

Tabela 1A	Proporções de ingredientes e composição bromatológica da dieta experimental	66
Tabela 1B	Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca.....	67
Tabela 02	Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino 4 X 4 duplicado com tratamentos estruturados em doses.....	72
Tabela 03	Efeito das doses do PAP sobre os valores de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV) e consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) em bovinos recebendo dieta de alto concentrado.....	74
Tabela 04	Efeito das doses do PAP sobre os parâmetros de fermentação ruminal em bovinos recebendo dieta de alto concentrado.....	80
Tabela 05	Efeito dos diferentes níveis de PAP sobre as concentrações de lactato no rúmen de bovinos recebendo dieta de alto concentrado em diferentes horários de mensurações.....	87
Tabela 06	Efeito das dosagens de PAP sobre a degradabilidade <i>in situ</i> da FDN da cana-de-açúcar de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado.....	93
Tabela 07	Efeito de diferentes dosagens de PAP sobre os coeficientes de degradabilidade <i>in situ</i> da PB do farelo de soja de bovinos recebendo dieta de alto concentrado.....	95
Tabela 08	Efeito das dosagens de PAP sobre a degradabilidade <i>in situ</i> do amido do milho seco de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado.....	97
Tabela 09	Efeito das dosagens de PAP sobre os coeficientes de digestibilidade <i>in vivo</i> da matéria seca e suas frações, bem como de nutrientes digestíveis totais de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado.....	100

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

Figura 01	Valores de pH ruminal obtidos com os tratamentos compostos por diferentes níveis de administração do PAP (preparado de anticorpos policlonais) em função do tempo.....	79
Figura 02	Valores das concentrações totais dos ácidos graxos de cadeia curta em animais recebendo diferentes doses do PAP função do tempo.....	83
Figura 03	Valores das proporções molares (% molar) de acetato (a.), propionato (b.), butirato (c.) e relação acético:propiónico (d.) dos tratamentos compostos por diferentes níveis de PAP.....	84
Figura 04	Valores da concentração ruminal de lactato (mM) com diferentes níveis de PAP em função do tempo.....	88
Figura 05	Valores da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (mg/dL) com diferentes níveis de PAP em função do tempo.....	91
Figura 06	Efeito das dosagens de PAP sobre os coeficientes de digestibilidade <i>in vivo</i> da matéria seca e suas frações, bem como de nutrientes digestíveis totais de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado.....	101

**CAPÍTULO 1.
CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

1.0 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O sucesso dos ruminantes pode ser largamente explicado pela habilidade destes em digerir materiais fibrosos. O fato de estes animais possuírem microrganismos que produzem enzimas que degradam fibra dá a eles uma vantagem competitiva em relação aos outros animais na natureza (Russel e Richlik, 2001). No entanto, altos níveis de produtividade não podem ser sustentados apenas por forragens e freqüentemente grãos e seus subprodutos são utilizados na produção de ruminantes.

Em conseqüência disso, quando bovinos são submetidos a dietas de alto concentrado (grãos em geral), uma série de processos fermentativos são ativados, resultando num distúrbio metabólico conhecido como acidose ruminal (DiLorenzo, 2004).

Além disso, tais dietas, utilizadas principalmente em confinamentos, apresentam deficiências em seu manejo, como, má qualidade de mistura, maquinário inadequado e adaptação ineficiente dos animais, dentre outros problemas.

Nesta atual conjuntura, o uso de aditivos alimentares surge como uma ferramenta de correção dos problemas de manejo apresentados neste sistema, e não como uma ferramenta exclusiva para aumento de desempenho, o que por sua vez, torna cada vez mais crescente a sua utilização.

Com isso, há a necessidade de não só melhorar o manejo nutricional dentro desses sistemas, mas também, de se buscar cada vez mais novos aditivos que possam ser utilizados sem apresentar riscos à saúde humana e animal além de proporcionar desempenhos satisfatórios e custos reduzidos.

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar diferentes dosagens de um novo aditivo, o preparado de anticorpos policlonais (PAP), sobre as variáveis ruminais, a fim de identificar a dosagem na qual apresente melhores valores para as variáveis estudadas, e com isso estabelecer uma diretriz, em termos de dosagem, a ser trabalhada em futuros estudos e eventual utilização comercial deste produto.

**CAPÍTULO 2.
REVISÃO DA LITERATURA**

2.0. INTRODUÇÃO

Os gastos com alimentação dos ruminantes podem chegar a cerca de 80% de todo o custo dentro dos sistemas de produção de carne e de leite. Para tanto, a compreensão dos processos digestivos, e principalmente da fermentação ruminal, são de fundamental importância para o ajuste de dietas, escolha de ingredientes e manejo alimentar.

Nos últimos anos, conceitos relacionados à nutrição de ruminantes têm evoluído progressivamente com o desenvolvimento de modelos e simulações que avaliam não só as exigências nutricionais dos bovinos, mas também as exigências dos microrganismos ruminais, que, assim como o animal hospedeiro, necessitam de energia, proteína, vitaminas e minerais.

Nas décadas de 70 e 80 o rúmen foi considerado o “vilão” da nutrição de ruminantes, transformando proteína alimentar de qualidade em amônia e proteína microbiana, e carboidratos como o amido em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e metano.

Atualmente, a nutrição de ruminantes tem como principal objetivo maximizar a fermentação ruminal, visando a produção de grande quantidade de proteína microbiana e ácidos graxos de cadeia curta, sendo que a proteína microbiana é considerada uma fonte de aminoácidos de elevado valor biológico, superior a qualquer outro ingrediente protéico.

Além dos processos fisiológicos e do metabolismo ruminal, é de fundamental importância o conhecimento da composição e das características de degradação ruminal dos alimentos, indo além dos conceitos de proteína bruta e nutrientes digestíveis totais (NDT).

Para tal, é necessário o conhecimento acerca do tipo de carboidrato que está presente no alimento (açúcares, celulose, amido, pectina, etc) e sua cinética de degradação ruminal, bem como sobre a quantidade e taxa de degradação da proteína no rúmen. Este conhecimento mais detalhado possibilita que se formule dietas com melhores combinações de alimentos e com adequada relação energia:proteína,

permitindo que se faça pequenos ajustes na dieta com a finalidade de se produzir com melhor eficiência e melhor relação custo:benefício.

3.0 FERMENTAÇÃO RUMINAL

Durante essa fermentação, há formação de compostos de cadeias ramificadas, os ácidos graxos de cadeia curta, juntamente com pequenas quantidades de outros compostos orgânicos, tais como metano, dióxido de carbono, lactato e álcool, sendo que a concentração destes em diferentes locais no trato digestório é influenciada pela população microbiana, tempo de retenção e o tipo de dieta ingerida.

Tais compostos são de extrema importância tanto para o hospedeiro como para os microrganismos ruminais, por serem os substratos essenciais em processos metabólicos, como lipogênese, glicogênese e fornecimento de substrato para crescimento microbiano, aumentando assim, a síntese de proteína microbiana.

Os AGCCs mais predominantes são propiônico, acético e butírico, e a relação e a quantidade são diretamente dependentes do substrato fermentado, sendo a maior parte constituída por celulose, hemicelulose, pectina, amido, dextrinas e carboidratos solúveis (Bergman, 1990).

Dentre os AGCCs, o mais abundante é o acetato, geralmente em maior concentração que todos os outros, onde a relação molar de acetato, propionato e butirato pode variar de 75:15:10 a 40:40:20, de acordo com a dieta ofertada, taxa de produção, taxa de absorção pelo epitélio ruminal, de sua diluição pela saliva e de sua utilização pelos microrganismos para a geração de outros metabólitos (Tabela 01).

Esses AGCCs serão absorvidos pela parede ruminal e utilizados pelos tecidos em três grandes funções, como o fornecimento imediato de energia (oxidação), síntese de gordura e síntese de glicose. O propionato é utilizado pelo fígado para a síntese de glicose (gliconeogênese). O acetato não é utilizado pelo fígado, sendo aproveitado pelos tecidos musculares, mamário e adiposo como fonte de energia e precursor de gordura corporal e do leite. Boa parte do butirato é utilizada pelo epitélio ruminal, onde é convertido em β -hidroxibutirato e utilizado como fonte energética, sendo utilizado também para síntese de gordura em outros tecidos.

Tabela 01 Produções de AGCCs, CO₂, H₂ e metano, expressas em moles para cada mol de glicose fermentado, conforme o tipo de dieta

Produtos	Dieta rica em fibra	Dieta rica em concentrado
Acetato	1,34	0,90
Propionato	0,45	0,70
Butirato	0,11	0,20
Relação Ace:Prop	3:1	1,3:1
CO ₂	1,53	1,30
H ₂	2,44	1,50
Metano	0,61	0,38

Fonte: Bergman (1990)

Segundo Valadares Filho e Pina (2006), a fermentação microbiana ruminal deve ser considerada uma função independente das necessidades do hospedeiro mesmo que o animal exerça controle sobre certos fatores ruminais, como, ingestão de alimento, produção de saliva e taxa de passagem. Porém, o animal possui controle limitado sobre a população microbiana e, conseqüentemente, sobre a fermentação.

Tal controle inadequado é refletido pela incidência de timpanismo, toxidez por amônia, acidose e outros distúrbios de ordem nutricional. Dentre os fatores que alteram o processo de fermentação ruminal, os principais são:

3.1 Dieta

A composição da dieta é um fator determinante na fermentação ruminal. Os diferentes substratos determinarão as comunidades de microrganismos que os fermentarão, alterando a proporção molar entre os ácidos graxos de cadeia curta (Bergman, 1990).

Segundo Valadares Filho e Pina (2006), a mudança abrupta na dieta é o principal fator que determina o grau de perturbação da fermentação ruminal por alterar o balanço de fermentação pelas espécies microbianas. A quantidade e composição da dieta são variáveis externas que afetam a taxa de digestão e a de passagem, alterando assim os processos de renovação do conteúdo ruminal.

O fornecimento de dietas compostas por grande quantidade de carboidratos prontamente fermentescíveis provavelmente gera mudanças mais drásticas na população e na fermentação ruminal, por dar condições a microrganismos facultativos oportunistas que podem dominar a fermentação, conduzindo a quadros de acidose

aguda, promovida pelo *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* sp. Esse quadro deve-se ao aumento das concentrações de lactato no rúmen e a incapacidade do aumento na população das bactérias que utilizam esse composto, fazendo com que haja acúmulo desse ácido, resultando em redução do pH ruminal.

Além disso, se o acesso aos componentes do alimento limita a taxa de digestão, a redução do tamanho de partículas é vantajosa por aumentar a superfície de contato do alimento com os microrganismos, aumentando assim sua taxa de degradação. Um exemplo desse aumento é a diferença significativa entre valores das taxas de degradação ruminal, maiores para grãos submetidos à moagem fina ou floculação em relação aos grãos inteiros que são menos suscetíveis ao ataque microbiano.

De acordo com Galyean et al. (1976), Theurer (1986), o processamento dos grãos melhora a digestibilidade da MS e do amido, e aumenta a passagem dos grãos ao longo do trato digestivo.

Porém, a moagem fina e peletização dos alimentos aumentam a densidade da dieta e sua ingestão, promovendo rápida passagem do material insolúvel. Neste caso, a estratificação do conteúdo ruminal (normal em animais recebendo dietas com forragens) desaparece, permitindo aumento da passagem de partículas grosseiras, diminuindo a retenção seletiva de fibras pelo orifício retículo-omasal (Van Soest, 1994). Isso pode provocar quadros de distúrbios digestivos pelo menor efeito do estímulo de ruminação, o que gera menor fluxo salivar para o rúmen e, por consequência, menor tamponamento do ambiente ruminal.

Owens et al. (1998) sugerem que a redução do tamanho de partícula, tratamento com pressão e calor e a ensilagem em alta umidade aumentam a disponibilidade do amido e a propensão à acidose. Sendo assim, para prevenir a acidose é preferível taxas de fermentações mais lentas, onde a utilização de grãos inteiros se torna importante para equilibrar o processo de fermentação, trazendo resultados benéficos ao animal e à produtividade.

A saliva, além de fornecer água, contém uréia, propiciando a reciclagem de nitrogênio para crescimento microbiano e tampões de bicarbonato e fosfato que são responsáveis pelo tamponamento e manutenção do pH ruminal. Soma-se a isso, outro composto da saliva, a mucina, que age como um antiespumante, sendo eficaz em

casos de timpanismo espumoso. Desta maneira, certa quantidade de fibra é necessária para o estabelecimento da chamada zona sólida ou malha, caracterizada como camada de partículas grosseiras flutuando na região intermediária do rúmen, determinando a natureza bifásica do conteúdo ruminal. Esta desempenhará o importante papel de estimular os receptores de tensão localizados nessa região que promoverão o processo de ruminação e, conseqüentemente, a produção de saliva.

3.2 pH ruminal

O pH ruminal exerce grande influência sobre o ambiente ruminal por permitir ou não a proliferação de determinadas espécies de microrganismos que habitam o rúmen, exercendo assim grande impacto sobre o perfil de fermentação ruminal, além de outras influências, como motilidade e absorção ruminal (Nagaraja e Titgemeyer, 2007).

Quando o pH é alterado, a concentração de íons e a permeabilidade celular desses microrganismos podem mudar, reduzindo o potencial de geração de ATP. Assim, o crescimento microbiano por unidade de energia fermentada é menor quando o pH é baixo, possivelmente em virtude da redução na geração de ATP por meio da força próton-motriz. Dessa forma, o perfil de fermentação é alterado pelo menor crescimento microbiano e pela redução da digestão da celulose, afetando a relação acetato:propionato.

As oscilações cíclicas que ocorrem no pH ruminal são reflexos das atividades metabólicas do rúmen ao longo do dia. Variações ocorridas no pH são consideradas resultantes de mudanças na concentração de ácidos graxos de cadeia curta, na quantidade de saliva produzida e na velocidade de absorção dos produtos finais da fermentação (Church, 1993).

Mackie e Glichrist (1978), ao trabalharem com ovinos, observaram que o pH ruminal diminuiu quando a quantidade de grãos na dieta aumentou em até 60,8%. Terry et al. (1969) encontraram que a degradação da celulose era marcadamente inibida em pH igual ou inferior a 6,0.

Com dietas a base de forragem, o pH mantém-se bastante estável devido à lenta digestão da fibra. As mudanças que a taxa de fermentação sofre com dietas ricas

em concentrado são mais fáceis de prever, pois a microbiota é menos variada que nas dietas à base de forragem (Church, 1993).

Segundo Ørskov (1986), a redução do pH ruminal ocorre, principalmente, após a ingestão rápida de alimento, por causa de rápida taxa de fermentação.

Tanto o tipo de carboidrato como o pH ruminal estão relacionados às alterações mostradas na tabela 01. Em dietas contendo maior teor de fibra ou carboidratos estruturais, o pH ruminal é mais alcalino e predominam bactérias celulolíticas. Ao se elevar o teor de concentrados energéticos ou carboidratos não estruturais, altamente fermentescíveis, o pH ruminal torna-se mais ácido e predominam bactérias amilolíticas ou fermentadoras de carboidratos não estruturais.

4.0. SAÚDE RUMINAL

Em bovinos de corte confinados nos Estados Unidos, a mortalidade associada a doenças digestivas perde apenas para aquela conseqüente de doenças respiratórias. Um estudo sobre mortalidade em confinamento conduzido em 59 confinamentos nos Estados Unidos com capacidade média de 28.108 animais, entre os anos de 1993 e 1994, registrou que as principais causas de mortes nesses locais eram de problemas digestivos (torção gástrica, acidose e coccidiose), respiratórios (pneumonia e doença respiratória bovina) e de outros tipos (Nagaraja, 2007). Os óbitos por causas digestivas representaram 26% do total das mortes. Na mesma pesquisa, as mortes por razões digestivas foram quase três vezes maiores em bovinos leiteiros com dieta para abate do que no gado de corte. Presumivelmente, maior número de dias sob dieta rica em concentrado associado com maior ingestão por parte desses animais de aptidão leiteira lhes deu pré-disposição a mais para apresentar problemas digestivos (Vogel e Parrott, 1994).

Outra pesquisa nos Estados Unidos indicou que a morte em bovinos de corte variou entre 1,5 e 2,7% do total de animais vendidos, com dois terços a três quartos dessas mortes atribuídas a doenças respiratórias bovinas e, a maior parte do restante, a problemas digestivos (USDA-APHIS, 1994). Portanto, as enfermidades digestivas representam, em geral, uma grande preocupação econômica, custando anualmente milhões de dólares à indústria pecuária.

Os problemas digestivos retículo-ruminais podem estar associados com problemas na motilidade e desordens fermentativas. O primeiro caracteriza-se em deficiência nas contrações ou ausência de contrações ruminoreticulares resultantes de causas mecânicas, metabólicas ou infecciosas. Já o segundo problema de ordem fermentativa envolve alterações nos microrganismos ruminais e em suas atividades que resultam na alteração dos padrões de fermentação, levando o animal a variações no consumo de alimento e até, em alguns casos mais sérios, à morte.

4.1. Desordens fermentativas

Os ruminantes desenvolveram um sistema digestivo próprio para a ingestão de forragens. Entretanto, nos sistemas de produção intensivos, eles recebem dietas compostas de forragens de alta qualidade e de cereais, de modo a suprir as exigências energéticas para ganhos de peso expressivos. Portanto, o aparecimento de desordens fermentativas aumenta conforme os níveis de produtividade aumentam. A prevalência e tipo dessas desordens são geralmente maiores nos ruminantes alimentados com cereais do que nos alimentados com forragem (Tabela 02).

Tabela 02 Desordens fermentativas em ruminantes alimentados com forragens ou cereais

Desordens	Forragem	Cereais
Edema pulmonar bovino agudo e enfisema	Sim	Sim
Timpanismo a pasto	Sim	Não
Toxicidade da uréia ou da amônia	Sim	Raro
Toxicidade dos Nitratos	Sim	Raro
Toxicose do feno amoniado	Sim	Não
Toxicose vegetal	Sim	Raro
Acidose	Não	Sim
Rumenite	Não	Sim
Laminite	Não	Sim
Abcesso hepático	Sim	Sim
Polioencefalomalacia	Não	Sim
Timpanismo de Cereais	Não	Sim
Síndrome da morte súbita	Não	Sim

Fonte: Nagaraja, 2007.

As doenças fermentativas nas quais os microrganismos ruminais têm papel principal podem ser agrupadas em quatro categorias amplas como o acúmulo excessivo de produtos normais da fermentação, produção de toxinas, destruição de produtos benéficos e aparecimento de patógenos oportunistas (Nagaraja, 2007).

4.1.1 Destruição de produtos benéficos

Certos produtos microbianos são essenciais para o animal hospedeiro e sua destruição poderia levar a níveis prejudiciais de deficiência, como por exemplo, a destruição da tiamina, que leva os animais a um quadro de polioencefalomalacia (PEM). Esse quadro refere-se ao amaciamento ou degeneração da massa cinzenta cerebral do animal, resultando em sinais neurológicos que podem levar a convulsão e posteriormente a morte (Brent, 1976).

Os microrganismos ruminais sintetizam vitaminas do complexo B e parte-se do princípio que os ruminantes não necessitam de tiamina em suas dietas. Como resultado da destruição da tiamina por tiaminase nos conteúdos ruminais, os níveis de tiamina do tecido são baixos na PEM de ovinos e bovinos.

4.1.2 Aparecimento de patógenos oportunistas

A população microbiana ruminal normalmente não inclui patógenos. Entretanto, quando as condições se tornam favoráveis, certos microrganismos, como o *Aspergillus* spp. ou o *Fusobacterium necrophorum* invadem o epitélio ruminal e podem causar rumenites. A partir desse quadro de rumenite o *F. necrophorum* consegue atravessar a parede ruminal e atingir a circulação portal, alcançando e se alojando no fígado, gerando abscessos hepáticos. Entre as bactérias ruminais, o *Fusobacterium necrophorum* é aquele mais freqüentemente encontrado nas rumenites e nos abscessos hepáticos. (Nagaraja, 2007)

A rumenite causada por fungos oportunistas, particularmente espécies do *Aspergillus*, é quase sempre secundária à acidose ruminal. A estrutura micelial dos fungos permite a invasão e o espalhamento do fungo na parede ruminal, resultando em lesões hemorrágicas no rúmen (Nagaraja, 2007).

4.1.3 Acúmulo excessivo de metabólitos normais

Segundo Nagaraja (2007) os metabólitos normais do rúmen incluem ácidos orgânicos, gases e amônia. O metabolismo microbiano e/ou sua remoção do rúmen por absorção ou eructação impedem o acúmulo de tais metabólitos em concentrações que possam ter um efeito negativo aos microrganismos ou ao animal. As condições associadas ao acúmulo excessivo de produtos de fermentação incluem a acidose (excesso de AGCCs e lactato), timpanismo (excesso de CO₂ e metano), toxicidade da amônia e poliencefalomalacia induzida por acúmulo de enxofre (sulfato de hidrogênio).

4.1.4 Etiopatogenia da acidose ruminal

No Brasil, o aumento da demanda por carne bovina no mercado internacional (European Commission, 2004; Fapri, 2005) tem estimulado o crescimento da produção no país. Este aumento tem ocorrido devido a diversos fatores, entre eles a melhoria no manejo das pastagens, suplementação protéica na época das secas e crescimentos do número de confinamentos e semi-confinamentos.

Além do mais, o surgimento de grandes unidades de confinamento no Brasil, assim como a maior disponibilidade de grãos e subprodutos, tem estimulado o uso de rações com altas proporções de concentrado.

Entretanto, quando bovinos são abruptamente submetidos a dietas de alto concentrado sem adaptação, uma série de processos fisiológicos é ativada, resultando num distúrbio metabólico conhecido como acidose (DiLorenzo, 2004), distúrbio no qual necessita de especial atenção por parte dos nutricionistas.

Segundo Nocek (1997), as perdas econômicas são mais acentuadas em quadros de acidose subaguda do que em acidose clínica, pois os sintomas na maioria dos casos não são evidentes como em casos clínicos. Pesquisadores da Universidade de Nebraska calcularam que as perdas econômicas devido à acidose subaguda resultando na redução do desempenho animal, causada pela redução da ingestão de matéria seca nos confinamentos, são entre US\$10 e US\$13 por cabeça. Se a esses valores fossem adicionadas perdas devido a abscessos de fígado, o qual é associado à acidose subaguda, as perdas atingiriam US\$16 por animal. Esse cálculo foi realizado considerando 15% de incidência de abscesso hepático (Stock e Britton, 1996).

Reduzidos consumo de matéria seca e desempenho são comumente observados como resultados de acidose subaguda (Koers et al., 1976; Owens et al., 1998).

Acidose pode ser definida como a redução do conteúdo alcalino do fluido corporal em relação ao conteúdo ácido (Owens et al., 1998). Quando o suprimento de carboidratos não fibrosos é aumentado abruptamente, ácidos graxos de cadeia curta produzidos pelos microrganismos no rúmen e a proporção de ácido láctico aumentam como resultado da maior taxa de fermentação. O lactato não está geralmente presente no rúmen em altas concentrações, no entanto, quando o rúmen é suprido com altas quantidades de carboidratos não fibrosos, o acúmulo desse ácido ocorrerá (Owens et al., 1998). Pelo fato do lactato apresentar maior poder de dissociação (pK) e, portanto, maior força que os ácidos graxos de cadeia curta comumente produzidos no rúmen (acetato, propionato, butirato), este consegue promover um maior efeito na redução do pH ruminal (Dawson et al., 1997).

O processo de acidose se inicia quando o ruminante consome grandes quantidades de amido ou outros carboidratos prontamente fermentescíveis. A hidrólise do amido leva ao aumento da concentração de glicose ruminal, a qual normalmente é muito baixa, até o ponto aonde esta excede a concentração de glicose sanguínea (Galyean e Rivera, 2003). O aumento da concentração de glicose ruminal causa várias conseqüências negativas no ambiente ruminal, como o crescimento de microrganismos produtores de lactato, principalmente *Streptococcus bovis* (Dawson et al., 1997); aumento da osmolaridade que representa a quantidade de moléculas dissolvidas no fluido ruminal, a qual colabora com a acidez ruminal, pois com o aumento da osmolaridade, o ácido láctico tem mais capacidade de liberar íons H⁺, inibindo assim, a absorção de ácidos graxos de cadeia curta do rúmen (Owens et al., 1998); e crescimento de microrganismos coliformes e da concentração de aminoácidos decarboxilantes, os quais produzem endotoxinas que contribuem para o desenvolvimento de laminites (Galyean e Rivera, 2003).

O ácido láctico é acumulado durante a acidose ruminal como resultado da proliferação de microrganismos ruminais que fermentam glicose a lactato, os quais são insensíveis a pH reduzido. Por outro lado, a maior parte das bactérias utilizadoras de lactato são sensíveis a baixos valores de pH (Owens et al., 1998). Essa situação favorece a produção e o acúmulo de ácido láctico no rúmen. O acúmulo de ácido láctico no rúmen é freqüentemente observado quando ruminantes têm sua dieta

abruptamente alterada para alta proporção de concentrados. Se bovinos são gradualmente adaptados a essas dietas, o acúmulo de ácido láctico é prevenido.

No entanto, o pH ruminal poderá ainda permanecer baixo devido a maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (Nagaraja, 2003). O pH de 5,5 é considerado por alguns autores (Slyter, 1976; Nagaraja, 2003) a barreira, abaixo da qual, bactérias produtoras de lactato, como *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* spp., proliferam. Simultaneamente, o crescimento de bactérias utilizadoras de lactato (*Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*) é inibido (Russel e Hino, 1985). Assim sendo, independentemente do tipo de dieta, quando o pH ruminal cai abaixo de 5,5, o acúmulo de ácido láctico é esperado.

Dois tipos de acidose podem afetar bovinos confinados: a clínica e a subaguda. Na acidose clínica, bovinos que consumiram grandes quantidades de carboidratos não fibrosos, como grãos, apresentam maiores produções de ácidos graxos de cadeia curta (Galyean e Rivera, 2003). A concentração de ácido láctico ruminal também é abruptamente aumentada com o aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta, resultando em drástica redução do pH ruminal. Concentrações de ácido láctico no rúmen maiores que 40mM (ambas as formas isômeras D e L) são consideradas reflexos de acidose clínica (Owens et al., 1998). O pH menor que 5,2 é considerado a barreira para acidose clínica (Owens et al., 1998; Galyean e Rivera, 2003). Acidose ruminal causa a migração de ácidos para a corrente sanguínea devido à diferença de osmolaridade entre o rúmen e o sangue, derrubando, desse modo, a capacidade do bicarbonato de tamponar o sangue (Galyean e Rivera, 2003).

A absorção de ácidos graxos de cadeia curta pela remoção de ácidos não ionizados e pela troca de ácidos graxos ionizados por bicarbonato, durante o processo de absorção (Stevens, 1970), ajuda a manter o pH ruminal próximo à neutralidade. Conseqüentemente, a redução da taxa de absorção de ácidos graxos de cadeia curta leva à queda do pH do rúmen por duas razões: acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen e redução da entrada de bicarbonato provindo do sangue para dentro do meio ruminal. Aproximadamente metade do bicarbonato que entra no rúmen vem da saliva, durante mastigação e ruminação, e a outra metade chega ao rúmen vindo da corrente sanguínea na troca com os ácidos ionizados enquanto estes estão sendo absorvidos. Com dietas de alto concentrado e reduzida contribuição de saliva, maior proporção de bicarbonato deve ser derivada do sangue. Isso reduz os excessos de

base no sangue e se o animal não conseguir restabelecer a homeostase, isso causa acidose metabólica (Owens et al., 1998).

Faverdin et al. (1999) relataram que as concentrações de bicarbonato e excessos de base no sangue foram negativamente correlacionados com a concentração ruminal de ácidos graxos de cadeia curta quando altas quantidades de grãos de trigo foram adicionadas ao rúmen de vacas leiteiras canuladas. Esses resultados foram acompanhados de transitória redução no consumo de matéria seca. Outros estudos também têm reportado reduções nas concentrações sanguíneas de bicarbonato e excessos de base durante acidose subaguda em novilhos confinados (Goad et al., 1998). Sob condições normais, o pH do sangue é altamente regulado e raramente flutua, porque este está saturado com bicarbonato. Durante acidose clínica, no entanto, a produção excessiva de ácidos pode exaurir a capacidade de o bicarbonato tamponar o sangue e, então, o pH sanguíneo pode diminuir (Owens et al., 1998).

Mudanças na osmolaridade sanguínea levam ao aparecimento de laminites (Nocek, 1997), assim como lesões na parede do rúmen que podem ser mais tarde colonizadas por microrganismos patogênicos, como *Fusobacterium necrophorum* ou *Actinomyces pyogenes*; ambos agentes etiológicos de abscessos de fígado (Nagaraja e Chengappa, 1998). Desse modo, a eficiência hepática é prejudicada, levando ao desempenho animal diminuído. Outros eventos que acontecem simultaneamente estão associados com a diminuição do volume extracelular, resultando em desidratação, taquicardia, diminuição da circulação sanguínea periférica, redução do fluxo de sangue para os rins, choque e morte (Huntington, 1988). Assim sendo, se o ruminante não for capaz de restabelecer a homeostase, o resultado pode ser a morte do animal.

O perfil de microrganismos no rúmen também sofre mudança. Há um aumento na população de bactérias da espécie *Streptococcus bovis* e das bactérias que produzem ácido láctico. Concomitantemente, há redução no número dos microrganismos consumidores de ácido láctico (*Megasphera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*), causando acúmulo ruminal deste (Strobel e Russel, 1986). A partir do momento que o pH ruminal cai abaixo de 5,2, o crescimento de bactérias *Streptococcus bovis* é inibido, mas bactérias do gênero *Lactobacillus* encontram

ambiente favorável para se proliferar, preenchem este nicho e continuam a produzir ácido láctico em pH menor que 5,2 (Russel e Hino, 1985).

O pH de 5,6 é considerado a barreira para acidose subaguda (Owens et al., 1998; Galyean e Rivera, 2003). Acidose subaguda ocorre mais freqüentemente e a identificação de um animal doente dentro da baia se torna mais difícil mesmo ocorrendo severa redução no consumo de matéria seca. De acordo com Stock e Britton (1996), todos os animais submetidos a dietas com alto teor de carboidrato prontamente fermentescíveis apresentarão um quadro de acidose subaguda por pelo menos uma vez durante o período de confinamento.

Várias ferramentas de manejo e aditivos alimentares podem ser utilizadas com o intuito de prevenir ou controlar acidose e a eficácia dessas ferramentas é dependente da extensão da doença e da natureza do produto. Tamponantes como o bicarbonato, óxido de magnésio e carbonato de cálcio foram adicionados à dietas para neutralizar ácidos nos anos 70 (Russell e Rychlik, 2001). No entanto, o efeito do bicarbonato sozinho, como agente tamponante, não é suficiente para conter acidose em confinamentos.

Carbonato de cálcio e óxido de magnésio são mais efetivos em pH reduzidos, mas seria necessário o fornecimento desses produtos várias vezes ao dia para se obter o efeito desejado de tamponamento ruminal, pois esses produtos agem no rúmen no mesmo momento em que são consumidos, não restando poder tampão suficiente no pico de produção de ácidos graxos de cadeia curta, que ocorre em geral quatro horas após a alimentação. Isso torna o uso desses produtos inviáveis.

Definitivamente, o uso de ionóforos é um dos métodos mais efetivos para controle e prevenção da acidose. Ionóforos modificam a composição da microbiota ruminal e reduzem a ingestão, aliviando assim a acidose. Stock et al. (1995) relataram menores flutuações no consumo de matéria seca em novilhos confinados alimentados com monensina sódica.

4.1.4.1 Efeitos colaterais da acidose ruminal

A acidose ruminal está associada a muitas outras doenças de gado de corte confinado que podem ter impacto significativo no desempenho animal. Rumenite, abscesso hepático, laminite e polioencefalomalacia foram bem documentados como

problemas relacionados com a acidose (Brent, 1976). Britton e Stock (1989) incluíram na relação a síndrome da morte súbita, o timpanismo de cereais e as infecções clostridiais. Destes problemas, a rumenite e o abscesso hepático receberam mais atenção devido à sua alta prevalência, sendo, portanto, de maior significado econômico para a pecuária de corte.

4.1.4.1.1 Rumenite

Seqüela comum em muitas doenças, a rumenite é uma condição com desenvolvimento de alterações inflamatórias no epitélio ruminal e nos tecidos subjacentes do gado alimentado com dietas ricas em cereais e com níveis de forragem inadequados. Na maioria dos casos, a infecção do epitélio ruminal ocorre após um dano mecânico ou químico. A causa mais comum de dano mecânico é a perfuração do retículo e do rúmen por objetos metálicos pontiagudos que ficam presos no retículo. Estes casos de reticulite e rumenite são esporádicos e têm pouca importância econômica. Já a causa química mais freqüente é a alta concentração dos ácidos produzidos no rúmen. A rumenite induzida por ácidos pode ser aguda – verificada após um episódio de acidose láctica – ou crônica ou subaguda, conseqüente de uma prolongada alimentação com dieta rica em cereais com forragem inadequada. Esta última condição é também chamada de paraqueratose ruminal, onde as papilas ruminais se tornam escuras, maiores, grossas, irregulares e comprimidas umas contra as outras devido à formação de uma camada anormal de queratina depositada nas superfícies papilares.

Na rumenite crônica ou aguda, o epitélio inflamado se torna susceptível a invasões de micróbios ruminais oportunistas, tais como o *Fusobacterium necrophorum*, o *Arcanobacterium pyogenes* e outras espécies fungais. A rumenite micótica pode ocorrer também em conseqüência do uso intenso de antibióticos orais ou da ingestão de alimentos com fungos ou estragados, sendo que seu grau de perturbação é dependente de sua extensão e localização da lesão no rúmen.

4.1.4.1.2 Abscessos hepáticos

Os abscessos hepáticos ocorrem esporadicamente na maior parte dos animais, mas são mais comuns nos ruminantes, especialmente no gado alimentado com dietas ricas em cereais. Pode ocorrer em todas as idades e em todos os tipos de gado, incluindo leiteiro, porém tem seu maior impacto econômico no gado de corte

confinado, no qual a incidência vai de um ou 2% até 90 ou 95%, apresentando médias de 20 a 30% na maior parte dos animais confinados nos EUA (Nagaraja et al., 1996), sendo a maior causa de condenação do fígado.

Entretanto, o principal efeito econômico dos abscessos hepáticos está relacionado com uma redução no desempenho animal e na produção de carcaça. Em geral, os abscessos hepáticos são resultados diretos das práticas alimentares, portanto, a dieta desempenha papel principal em sua incidência. Práticas, tais como brusca elevação energética da dieta ou a manejo nutricional errôneo, caracterizadas por refeições irregulares (em termos de volume ou frequência), podem promover acidose ruminal e rumenite, bem como levar a maior incidência de abscessos hepáticos (Nagaraja et al., 1996).

Quase todos os estudos bacteriológicos dos abscessos hepáticos concluíram que o *Fusobacterium necrophorum*, um habitante regular do rúmen, é o agente causador primário e o segundo patógeno isolado mais freqüente é o *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* (Nagaraja e Chengappa, 1998).

Os abscessos hepáticos são secundários aos focos primários de infecção na parede ruminal. A relação entre a patologia ruminal e os abscessos hepáticos em gado de corte confinado já foi bem documentada (Jensen et al., 1954). O termo “complexo rumenite – abscesso hepático” vem sendo muito utilizado devido à alta correlação entre os abscessos hepáticos e as lesões ruminais. A rumenite induzida por ácido e os danos à superfície protetora estão geralmente associados à alta ingestão de cereais. O dano ruminal é geralmente agravado por corpos estranhos na ração, partículas alimentares com lados cortantes, pêlos e outros materiais (Jensen et al., 1954; Fell et al., 1972).

Uma parede ruminal danificada por acidez ou por penetração de corpos estranhos se torna suscetível à invasão e colonização pelo *F. necrophorum*. Uma vez que a colonização ocorreu, o *F. necrophorum* pode chegar à corrente sangüínea ou causar abscessos na parede ruminal e, subseqüentemente, liberar êmbolos bacterianos na circulação portal. As bactérias na circulação portal são filtradas pelo fígado, levando a infecções e à formação de abscessos.

4.1.5 Timpanismo

O timpanismo ruminal é uma doença caracterizada pela distensão anormal do rúmen-retículo devido ao acúmulo excessivo de gases oriundos da fermentação ruminal, seja na forma livre ou presa no fluido ruminal, sendo o problema digestivo de mais fácil identificação em ruminantes.

O impacto econômico do timpanismo espumoso é devido à mortalidade e à redução do desempenho animal, conseqüente de menor ingestão alimentar devido à distensão ruminal.

Os fatores alimentares incluem a forma física da dieta, estágio de maturidade do alimento, tipo de grãos, métodos de processamento e tipo e quantidade de forragem. Os fatores microbianos incluem mudanças em número, tipo e composição das populações bacterianas e de protozoários e seus produtos de fermentação (Nagaraja, 2007).

A dieta final oferecida aos bovinos de corte confinados em geral contém de 80 a 85% de cereais e de 8 a 10% de forragem, o restante sendo gorduras, melação e suplementos com proteínas, minerais, vitaminas e aditivos. A relação de volumoso e concentrado nas dietas destes animais permanece mais ou menos constantes, porém seus componentes mudam e, portanto, algumas dietas são mais propensas a causar timpanismo do que outras (Bartley et al., 1975).

Os cereais diferem em suas taxas de fermentação de amido e na composição de outros componentes. Portanto, administrar certos cereais, como cevada ou trigo, aumentará a incidência de timpanismo. Soja, um ingrediente comum nas dietas do gado de corte, contém oligosacarídeos que contribuem para aumento da produção de gás (Bartley et al., 1975).

A forma física da dieta também está relacionada com a incidência do timpanismo, onde este distúrbio é mais provável com alimentos mais moídos, pois a redução do tamanho da partícula faz com que o alimento fique mais acessível ao ataque microbiano. Além do mais, feno moído pode causar menor fluxo salivar e com isso menor motilidade ruminal, o que causa maior acúmulo de gases no rúmen.

5.0 MANIPULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO RUMINAL

A manipulação da fermentação ruminal tem como principais objetivos aumentar a formação de ácido propiônico, diminuir a formação de metano (responsável pela perda de dois a 12% da energia do alimento), reduzir a proteólise e desaminação da proteína dietética no rúmen e evitar e/ou diminuir a incidência de distúrbios nutricionais.

Algumas ferramentas são utilizadas para tal propósito, entre elas a manipulação dietética, manipulação em nível do animal e a inclusão de aditivos alimentares que podem alcançar parte desses efeitos, aumentando assim a eficiência produtiva e melhorando a saúde ruminal.

5.1 Manipulação dietética

A manipulação dietética através da seleção dos ingredientes alimentares e de seu processamento químico e físico é um fator indispensável na nutrição de ruminantes.

Quando se altera a dieta animal de alta forragem para uma rica em grãos, o rúmen fica sujeito a alterações profundas na população microbiana e nos produtos de sua fermentação (Brown et al., 2006), com isso, é esperado que neste período possa ocorrer casos de desordens fermentativas. Protocolos corretos de adaptação dos animais a essas mudanças bruscas de dietas podem minimizar tais desordens. Porém, para um bom e eficiente protocolo de adaptação, fatores como tipo de cereal, tipo de processamento dos grãos, frequência alimentar, nível alimentar e tipo e nível de pastagem precisam ser compreendidos e aplicados.

Uma abordagem para se minimizar os problemas fermentativos ruminais é regular a ingestão alimentar sem comprometer o ganho de peso e a eficiência da alimentação. Alimentação restritiva reduz flutuações no volume ingerido, pelo menos no confinamento, embora não regule ingestões individuais.

Ruminantes em sistemas de produção intensiva obtêm a maior parte de sua energia dietética através do consumo de grãos de cereais. Pelo fato do amido ser o maior componente dos cereais (quase 80% de matéria seca da dieta em alguns casos), a eficiência produtiva depende da melhor conversão de amido em produtos

animais. Portanto, há necessidade de se otimizar a utilização do amido nos ruminantes visando melhora da eficiência produtiva. Tal otimização exige influenciar o local de sua digestão, ou seja, otimizar a sua digestão fermentativa diminuindo a digestão glandular, pois o amido pode ser digerido tanto por enzimas microbianas quanto por enzimas do animal.

Corroborado com tal afirmação Nocek e Tamminga (1991), em seus estudos de desempenho com vacas leiteiras e em bovinos de corte confinados, indicaram que o amido resulta em maior produtividade quando fermentado extensivamente no rúmen, sugerindo que a digestão e a utilização do amido intestinal são limitadas.

Com base em grande parte desses estudos, foram propostos limites quantitativos para a digestão e absorção de amido intestinal, sendo eles: 1) atividade limitada da amilase, maltase ou isomaltase devido à produção insuficiente, condições de atuação inadequada ou presença de enzimas inibidoras; 2) limitada absorção de glicose liberada para o intestino delgado; 3) tempo insuficiente para a completa hidrólise do amido e 4) acesso inadequado de enzimas aos grânulos de amido devido à insolubilidade ou impenetrabilidade nos grânulos.

Até que tais limitações sejam compreendidas e resolvidas, a maximização da digestão do amido no rúmen parece ser o meio mais benéfico de manipular sua fermentação (Huntington, 1997). Com base no que foi discutido acima, o processamento dos alimentos é a forma mais indicada para se otimizar a fermentação dos mesmos no rúmen. Pois, os fundamentos de todas as formas de processamentos são a melhoria da digestibilidade dos alimentos por meio da quebra das barreiras que impedem o acesso dos microrganismos ruminais e das enzimas aos componentes nutricionais desses alimentos (McAllister et al., 1990b). Na prática, os diferentes tipos de processamento aumentam a superfície de contato dos alimentos e, no caso dos grãos, reduzem a interação matriz protéica com os grânulos de amido e/ou aumentam a solubilidade dos grânulos de amido em água.

Com isso, as formas de processamento podem aumentar a disponibilidade do amido e da proteína dos grãos no rúmen e no intestino delgado, bem como alterar as características da fermentação ruminal e da taxa de passagem além do sítio de digestão (Theurer, 1986; Owens et al., 1986; Nocek e Tamminga, 1991). Entretanto, quando se aumenta a digestibilidade de um alimento no rúmen, principalmente de um

grânulo de amido, ocorre aumento na produção de ácidos orgânicos como os AGCCs e lactato. Tal aumento de concentração desses ácidos pode levar o animal a sofrer acidose ruminal e outros problemas associados a ela.

Dessa maneira, os nutricionistas precisam buscar um balanceamento nas formulações de dietas com tipos de cereais e de processamentos diferentes que venham a influenciar a taxa e a extensão da fermentação do amido no rúmen ou no pós-rúmen, de modo a prevenir ou controlar problemas digestivos ruminais. Além disso, tem-se demonstrado que misturas com dois tipos de grãos ou métodos de processamento, na qual um tipo geralmente é de fermentação mais rápida, enquanto que o outro é de fermentação mais lenta, otimizam a fermentação ruminal do amido e reduzem a incidência de acidose (Stock et al., 1987). Dessa forma, o objetivo é manter o máximo de digestão de amido no trato intestinal e ao mesmo tempo minimizar os problemas digestivos.

A taxa de fermentação e a extensão pela qual o amido é digerido no rúmen são influenciadas pelo tipo de grão de cereal e o grau pelos quais tais grãos são processados antes de serem fornecidos ao gado. Trigo e cevada têm maiores taxas de digestão do que milho e sorgo. Devido a altas taxas de fermentação do trigo e da cevada, a extensão da fermentação do amido no rúmen é muito maior (90 a 95%) do que no caso do milho (70 a 75%) ou do sorgo (55% a 65%). Portanto, desordens fermentativas ruminais são mais prováveis em dietas à base de trigo ou cevada do que à base de milho ou sorgo.

Em geral, cereais que sofrem processamento têm maior taxa e extensão de digestão ruminal de amido e, por tal motivo, diminuem a quantidade de amido disponível para digestão no intestino delgado ou grosso (Huntington, 1997). Os métodos de processamento de cereais, tais como moagem, rolagem ou craqueamento, quebram o invólucro da semente do cereal, reduzem o tamanho da partícula e aumentam a área superficial, tornando os grânulos de amido mais acessíveis à digestão microbiana.

Métodos, tais como laminação a vapor, envolvem alterações estruturais de grânulos de amido, que passam de estruturas cristalinas para amorfas. O processo chamado de gelatinização faz com que o amido se torne muito mais suscetível à atividade amilática microbiana, aumentando a taxa e a extensão da fermentação no

rúmen. Nestes casos, onde dietas são baseadas em grãos com intensidades de processamentos diferentes, há a necessidade de manter um mínimo de fibra na dieta, para que a mesma possa desempenhar um papel fundamental de estimular a motilidade ruminal.

A fibra representa a fração de carboidratos dos alimentos de digestão lenta ou indigestível e, dependendo de sua concentração e digestibilidade, impõe limitações sobre o consumo de matéria seca e energia. Por outro lado, a saúde dos ruminantes também depende de concentrações mínimas de fibra que permitam manter a atividade de mastigação e a motilidade do rúmen (Nussio et al., 2000).

Com isso, Pordomingo (2002) afirma que a principal função da fibra em dietas de alto concentrado, onde a participação da fibra é mínima, é a de promover a ruminação, salivação e a conseqüente manutenção de um rúmen seguro para que seja reduzido o risco de ocorrência de quadros de acidose sem afetar o desempenho produtivo.

Essa função é desempenhada, pois as fibras alimentares no rúmen, que geralmente não são muito digeridas, formam uma malha de fibra que estimula o rúmen mecanicamente, promovendo um “efeito coceira” à papila ruminal. A saúde da papila ruminal é crítica para a otimização da função ruminal e do desempenho do animal. Aumentar o nível de forragem na dieta de 15 para 20% reduziria a incidência de acidose, mas também reduziria o crescimento e a conversão alimentar (Zinn et al., 1994). Além do mais, essa fibra desempenharia um “efeito escova” no rúmen que diminuiria outros problemas nutricionais como a paraqueratose e, conseqüentemente, a rumenite (Kreikemeier et al., 1990).

5.2 Aditivos alimentares

Vários suplementos alimentares podem contribuir para o melhor desempenho dos animais em crescimento e terminação. O efeito primário dos aditivos é a melhoria da conversão alimentar e/ou ganho de peso, embora benefícios secundários possam ocorrer, tais como redução da incidência de acidose, coccidiose, timpanismo e abscessos hepáticos. Dentre os aditivos mais utilizados destacam-se:

5.2.1 Leveduras

Fungos unicelulares, especialmente do gênero *Saccharomyces*, são tradicionalmente utilizados na fermentação do açúcar de alimentos para consumo humano. O uso em alimentação de bovinos de corte foi ligado ao aumento na digestibilidade da matéria seca, especialmente da fibra, melhorando a eficiência alimentar e ganho de peso. Porém, existe variação na eficiência das diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* em promover melhoria no desempenho dos bovinos (Newbold et al., 1996).

O pH ótimo para crescimento de *Saccharomyces* é cerca de 4,5. No rúmen, em pH próximo de 6,5, a taxa de crescimento do fungo é menor, secretando compostos químicos como nucleotídeos, aminoácidos e enzimas, assim como enzimas hidrolíticas, mais profusamente (Nicodemo, 2001).

Tais compostos vão servir de fatores de crescimento para as bactérias do rúmen, além de contribuírem para a nutrição do animal. Se por um lado há disponibilização dos nutrientes armazenados nos fungos para os microrganismos do rúmen e para o animal, há também redução na taxa de crescimento de fungos. Assim, as leveduras devem ser suplementadas continuamente (Newbold et al., 1995; Kung et al., 1997; Rose, 1997).

O aumento no número de bactérias do rúmen (especialmente bactérias celulolíticas) é o efeito mais comum da suplementação de levedura (Dawson et al., 1990; Newbold et al., 1995). Alguns tipos de bactérias apresentam melhor desempenho na presença de leveduras e alguns dos fatores relacionados com essa resposta são o fornecimento de fatores de crescimento, como vitaminas, ácidos dicarboxílicos (fumarato, malato), remoção de O₂ por *Saccharomyces*, efeito tampão (bactérias celulolíticas preferem pH>6) e redução no número de protozoários (Callaway e Martin, 1997; Wu, 1997).

Saccharomyces cerevisiae tem grande afinidade por oxigênio, melhorando as condições do rúmen para os microrganismos anaeróbios. O conteúdo ruminal é essencialmente anaeróbio, mas pequenas concentrações de oxigênio dissolvido podem ser encontradas. O oxigênio entra no rúmen (60 mmol/min/L a 100 mmol/min/L) por meio dos alimentos, saliva e principalmente da ruminação. Ele é tóxico para as bactérias anaeróbias e reduz a adesão das bactérias celulolíticas à celulose. Os

carboidratos estruturais da planta, dos quais a celulose é o principal componente, são as principais fontes de energia para o ruminante. Como a atividade respiratória de *S. cerevisiae* (200 mmol/min/g a 300 mmol/min/g) é maior que a concentração de oxigênio no fluido ruminal, pequenas quantidades de levedura (1,33 g/L) incluídas nas dietas de ruminantes podem ser benéficas. Bactérias celulolíticas parecem ser especialmente sensíveis ao teor de oxigênio dissolvido e respondem mais favoravelmente à presença de levedura (Newbold et al., 1996).

Alguns dos efeitos benéficos das leveduras incluem o aumento da digestão de matéria seca e da fibra em detergente neutro (FDN) e da produção de leite (Williams et al., 1991; Carro et al., 1992; Kung et al., 1997). Tem sido mostrado que culturas de leveduras vivas estimulam a utilização de hidrogênio por bactérias ruminais acetogênicas (Chaucheyras et al., 1995). Wallace e Newbold (1992) relataram que as respostas às culturas de leveduras são altamente variáveis e aparentemente influenciadas pela composição da dieta.

Williams et al. (1991) observaram aumento na digestibilidade da matéria seca apenas no período inicial de digestão após exposição à levedura. Esse efeito poderia ser explicado pelo aumento da taxa inicial de digestão da celulose (menor "lag" time), sem aumento na extensão de digestão desta fração como relatado por Callaway e Martin (1997).

5.2.2 Ionóforos

A seletividade dos ionóforos aos microrganismos ruminais é dependente da permeabilidade de seus invólucros celulares. As bactérias gram-positivas, cujo invólucro celular é composto apenas de parede celular, são mais inibidas por monensina e outros ionóforos que as gram-negativas típicas, cujo invólucro celular é formado por parede celular e membrana externa (Nicodemo, 2001).

As bactérias gram-positivas são as principais responsáveis pela formação de ácido acético, butírico, fórmico e hidrogênio. As bactérias que produzem ácido succínico ou fermentam ácido láctico são geralmente resistentes aos ionóforos (Dennis et al., 1981; Bergen e Bates, 1984; Wallace, 1994). Os ionóforos podem afetar os processos que ocorrem na membrana celular de células eucarióticas e de organelas intracelulares (como a mitocôndria), especialmente os sistemas dependentes de gradiente elétrico, excitabilidade ou regulação osmótica.

Porém, ainda não são compreendidos os mecanismos bioquímicos que mediam os efeitos dos ionóforos sobre as bactérias. Os ionóforos desorganizam o transporte de cátions na membrana das bactérias gram-positivas, interferindo na absorção de solutos pela célula e promovendo maior gasto energético para a manutenção do balanço osmótico. Como essas bactérias dependem da fosforilação do substrato para formação de ATP, tendem a se romper e desaparecer.

As bactérias gram-negativas vão sofrer aumento nas exigências de energia para manutenção, por causa da sua capacidade de transporte de elétrons acoplada à expulsão de prótons e/ou síntese de ATP, mas podem se adaptar, continuando a crescer e/ou sobreviver. Os protozoários e fungos também são sensíveis aos ionóforos (Bergen e Bates, 1984; Nagaraja e Taylor, 1987; Wallace, 1994).

As ações dos ionóforos sobre o desempenho parecem resultar de uma série de efeitos sobre o metabolismo (Bergen e Bates, 1984; Spears, 1990).

Os ionóforos melhoram a eficiência do metabolismo de energia, alterando os tipos de ácidos graxos de cadeia curta produzidos no rúmen (aumento de propionato, redução de acetato e butirato) e diminuindo a energia perdida durante a fermentação do alimento. O melhor desempenho animal é resultante de maior retenção de energia durante a fermentação ruminal. Os ionóforos reduzem a degradação de proteína do alimento e podem diminuir a síntese de proteína microbiana, aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado, tal fato é explicado pela redução da deaminação da proteína devido à inibição pelos ionóforos de uma bactéria deaminadora, a *Peptostreptococcus*.

Embora essa atividade tenha poucas implicações para bovinos sob dietas com alto teor de carboidratos prontamente fermentescíveis, os efeitos podem ser significativos para bovinos em crescimento recebendo dieta à base de forragem, quando a proteína é suplementada abaixo das exigências. Além do mais, ionóforos podem reduzir a incidência de acidose, por meio de aumento no pH ruminal e inibição de bactérias produtoras de ácido láctico, além da ocorrência de timpanismo e coccidiose, onde a redução desses distúrbios melhoraria o desempenho (Nicodemo, 2001).

Em dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis, ionóforos geralmente reduzem a ingestão de alimento em cerca de 8% a 10% e

melhoram a conversão alimentar, mantendo ou aumentando o ganho de peso diário, sem afetar as características de carcaça (Tabela 3). Quando o ionóforo é incluído na dieta, o consumo pode cair inicialmente em torno de 15%, retornando a cerca de 90% do consumo original depois de alguns dias (Kunkle e Sand, 1998).

Tabela 3 Efeito dos ionóforos no desempenho de bovinos confinados

Ionóforo	Ganho Médio Diário	Conversão Alimentar
	% Controle	
Monensina	96 – 110	88 – 95
Lasalocida	99 – 107	90 – 96
Narasina	87 – 100	84 – 90
Salinomicina	102 – 106	93

Fonte: Owens (1980) citado por Bergen e Bates (1984).

Bovinos confinados recebendo dieta com altas proporções de volumoso melhoraram o ganho de peso e a conversão ao receberem ionóforos, enquanto a ingestão de alimento manteve-se inalterada (Potter et al., 1986).

Potter et al. (1986) observaram incrementos no ganho de peso de 0,03 kg a 0,20 kg/dia (média = 0,09 kg/dia) o que representa cerca de 15% a mais de ganho em relação aos bovinos que não receberam monensina. Além disso, os mesmos autores observaram melhor conversão alimentar para o grupo suplementado.

A monensina melhora a eficiência alimentar em bovinos confinados e aumenta o ganho de peso de bovinos em pasto e de novilhas de reposição (Tabela 4).

Tabela 4 Melhora percentual no desempenho de bovinos suplementados em relação aos não suplementados com monensina

Categoria Animal	Terminação¹	Crescimento¹	Vacas Adultas²
Ganho de peso	0,97	4,83	
Eficiência Alimentar	5,92	7,8	
Nível de uso	200-250 mg/cab/dia	Pasto: 100 -200 mg/cab/dia; ou 400 mg em dias alternados; Silagem de milho: 150-200 mg/cab/dia	
Nível de uso			50-200 mg/cab/dia

¹Fonte: Potter et al. (1986); Kunkle e Sand (1998)

²Fonte: ELANCO (1999).

Alguns estudos *in vivo* também parecem indicar a existência de adaptação dos microrganismos ruminais aos ionóforos. Há relato de vacas em dieta à base de forragem (65% da matéria seca) onde a adição de lasalocida (340 mg/dia) aumentou a eficiência de utilização da energia em 20% nas duas semanas iniciais do experimento, decrescendo progressivamente e tornando-se insignificante aos 28 dias (Weiss e Amiet, 1990).

6.0 A QUESTÃO DOS ANTIBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

Ionóforos, como a monensina e lasalocida, são classificados pela Food and Drug Administration (FDA), agência controladora dos Estados Unidos, como antibióticos. Em contrapartida, organizações como a National Cattlemen's Beef Association (NCBA) se esforçam para re-classificar os ionóforos, baseados no fato que os mesmos não funcionam como antibióticos terapêuticos ou subterapêuticos quando ofertados aos animais e porque também não são usados como agentes terapêuticos na medicina humana. Grupos científicos e a mídia vêm cada vez mais questionando o uso de antibiótico na alimentação animal por acharem que esses produtos poderiam contribuir para o desenvolvimento de organismos resistentes, criando risco à saúde humana.

Após estudar o surgimento de *Escherichia coli* resistentes à antibióticos em porcos na Europa, Docic e Bilkei (2003) concluíram que o uso profilático dos

antibióticos contribuíam na indução da resistência de *E. coli* à ampicilina, doxiciclina, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina e sulfametacina. Os autores sugeriram que a imposição de restrições no uso de antibióticos na produção animal está relacionada com a redução, mas não à eliminação da ocorrência de casos isolados de resistência.

São contínuas as controvérsias de que o aparecimento de cepas resistentes aos antibióticos é devido ao abuso do uso dessa substância na produção animal. Entretanto, dados estatísticos mostram que, de forma geral, aproximadamente um a cada três antibióticos produzidos são usados nos confinamentos, sendo que a maioria dos antibióticos produzidos é utilizada na medicina humana (Hardy, 2002).

A Suécia, por sua vez, banuiu todos os antibióticos promotores de crescimento em 1996, tornando este país o pioneiro na Europa a ter esta experiência. Observações feitas alguns anos após a proibição confirmaram o aumento de incidência de algumas doenças e levaram ao uso de altas doses ou ao emprego dos mais potentes produtos terapêuticos, levando a uma produção animal menos eficiente. Após a Suécia, mais algumas proibições específicas ocorreram na Europa, mas os resultados dessas proibições sobre a emergência de organismos resistentes a antibióticos ou sobre a eficiência da produção animal não são conhecidos ainda.

Hardy (2002), em sua revisão sobre a questão dos antibióticos utilizados em confinamentos, afirma que deve haver um balanço entre os prós e contras do uso de promotores de crescimento. Para que se permita a produção de carne de alta qualidade, com baixo custo, para atender à crescente demanda da população mundial, aceitando um pequeno risco de desenvolvimento de bactérias resistentes.

Outros autores, como McDermott et al. (2002), discordam dessa afirmação. Acreditam que a saúde humana e a segurança alimentar são mais importantes que a eficiência na produção animal. Salyers (2002) concluiu que a pressão em se regularizar o uso de antibióticos na alimentação animal seria muito maior com a percepção pública de que muitos destes produtos largamente utilizados na pecuária podem favorecer o aparecimento de bactérias resistentes a estes, nos quais muitos são freqüentemente utilizados em humanos.

Portanto, o uso ou não de antibióticos na produção animal poderia ser a principal causa do surgimento de bactérias resistentes, mas essa afirmação ainda é contraditória nos dias de hoje e não há pesquisas suficientes que confirmem essa

questão. Porém, a percepção negativa criada por antibióticos sendo ofertados aos animais pode ser suficiente em direcionar novas pesquisas de substituição desses agentes para o uso na alimentação animal.

7.0 IMUNIZAÇÃO COMO POTENCIAL ADITIVO ALIMENTAR

Segundo Millen (2008), uma das alternativas para substituir os ionóforos, e que não tem recebido muita atenção até recentemente, é a imunização. O conceito de imunização como ferramenta para atingir maior eficiência na fermentação ruminal e assim melhorar o desempenho animal é relativamente recente (Newbold et al., 2001; Hardy, 2002; Berghman et al., 2004).

Alguns autores (Hardy, 2002; Berghman e Waghela, 2004) tem citado a utilização do conceito de imunidade como potencial ferramenta na manipulação da fermentação ruminal. Lee et al. (2002) testaram *in vitro* anticorpos contra *Salmonella enteritidis* e *Salmonella thyphimurium* e observaram inibição de crescimento dos microrganismos em meio líquido e também a existência de reação cruzada entre os anticorpos das duas espécies testadas. Em análise microscópica, foi demonstrado que a imunoglobulina IgY, específica para *Salmonella*, se liga ao antígeno expressado na superfície da bactéria, levando a alterações estruturais que diminuem o crescimento destas.

Shu et al. (1999) observaram que a imunização de novilhos contra bactérias produtoras de ácido láctico, o *Streptococcus bovis* e o *Lactobacillus*, foi eficaz em manter o consumo alimentar, diminuir a concentração ruminal de lactato e a contagem de *S. bovis* e *Lactobacillus* após desafio, com dieta composta por 90% de grãos.

Resultados semelhantes foram observados por Gill et al. (2000) quando ovinos alimentados à base de forragem foram imunizados contra *Streptococcus bovis* Sb-5. Os animais foram desafiados com a introdução repentina de uma dieta com alta proporção de grãos. Os ovinos vacinados tiveram o consumo alimentar e o pH ruminal mantidos, assim como apresentaram menores concentrações ruminiais de lactato. Também foram observados menores escores de diarreia severa em relação aos animais do grupo controle. Concordando com esses dados, Shu et al. (2000) também observaram que ovinos imunizados contra *S. bovis* mantiveram o consumo alimentar e

o pH ruminal, com menores escores de diarreia severa, quando comparados aos animais controle, não-vacinados.

Em relação à imunização passiva, Sherman et al. (1983) observaram que a administração oral de anticorpos monoclonais de origem aviária contra o antígeno K99 da bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi eficaz em atenuar a severidade da enfermidade e o grau de desidratação dos animais acometidos por quadros de diarreia, reduzindo a taxa de mortalidade. Resultados semelhantes foram encontrados por Yokoyama et al. (1993), onde a imunização passiva em leitões neonatos contra a bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi alcançada com a administração oral de anticorpos de origem aviária fornecidos logo após a exposição induzida aos antígenos. Ikemori et al. (1992), ao trabalharem com bezerros neonatos, observaram que a administração de anticorpos monoclonais de origem aviária contra a bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi capaz de proteger os animais contra o principal sintoma da infecção por este agente, a diarreia severa e conseqüente morte. Já no grupo controle, a taxa de mortalidade foi 100%.

Ikemori et al. (1997) avaliaram a eficácia da imunização passiva contra coronavírus bovino, utilizando gema de ovo ou colostro em pó, preparados a partir de galinhas ou vacas vacinadas com o vírus inativado de coronavírus bovino. Após o nascimento, bezerros recebiam uma cepa virulenta do vírus nas 24 a 36 horas iniciais de vida. Após 6 horas de desafio, os animais receberam, via oral, a administração da gema de ovo ou colostro em pó, mantendo o tratamento por mais sete dias. Os animais do grupo controle apresentaram diarreia severa e todos morreram seis dias após a infecção. Já nos tratamentos com gema de ovo de título de 1:2560 e colostro de título de 1:10240, todos os animais sobreviveram e ganharam peso. O pó de gema de ovo foi mais eficaz que o colostro, pois foi necessária menor concentração de título de anticorpos para promover a proteção contra os antígenos.

Estes trabalhos de pesquisa mostram que o princípio da imunização tem potencial para originar novos aditivos alimentares. Dentro deste princípio, foram desenvolvidos os preparados de anticorpos policlonais (PAPs), específicos para as bactérias alvo presentes no ambiente ruminal e que podem ser adicionados à dieta animal.

7.1 Preparado de anticorpos policlonais

Segundo Hau e Coenraad (2005), os princípios da resposta imune específica ao antígeno são a ativação das células B, responsáveis pela produção de anticorpos; ativação das células T, responsáveis pela resposta citotóxica ao antígeno e ativação das células T_h (T helper), responsáveis pela estimulação das células B e T. A manutenção da resposta antígeno-anticorpo é realizada através de comunicação intercelular, pelo contato célula-célula (mediado pelas citosinas).

Para a produção dos anticorpos policlonais, galinhas são imunizadas via intramuscular contra antígenos inativados. Para cada antígeno, há um calendário de reforços. O sistema imune da ave reage, produzindo anticorpos específicos (IgY) para cada antígeno. Quando o ovo ainda está no ovário, a galinha transfere suas imunoglobulinas séricas Y para a gema do ovo. À medida que o ovo passa pelo oviduto, os anticorpos IgM e IgA são adicionados à albumina (Schade et al., 2001). Assim, as imunoglobulinas podem ser extraídas da gema do ovo por diversas técnicas, sendo que uma das mais utilizadas envolve a precipitação protéica com sulfato de amônio.

Este método de produção de anticorpos foi avaliado pelo Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos (Schade et al., 1996), órgão que promove a aceitação científica e regulamenta métodos laboratoriais alternativos, com fins de reduzir ou substituir a utilização de animais de laboratório. O uso desta técnica foi incentivado, pois reduz a necessidade de animais de laboratório, já que uma galinha produz em média 5 - 7 ovos por semana. Além disso, causa menor estresse aos animais por não haver sangria após a imunização, concordando com a tendência mundial de se promover o bem estar dos animais.

As imunoglobulinas Y, produzidas de ovos de galinhas, possuem características fundamentais para atuação no ambiente ruminal, como resistência a pH até 4,5, temperatura de 120°C, à proteólise e, mesmo após sua quebra, não perdem o sítio de ligação (Alfredo Di Constanzo, comunicação pessoal). Acredita-se que esta resistência à proteólise esteja relacionada à presença de ligações di-sulfeto na composição das imunoglobulinas, mais difíceis de serem rompidas pelas enzimas proteolíticas (Santos, 2006).

7.2 Respostas à utilização dos anticorpos policlonais

7.2.1 Efeito sobre os microrganismos ruminais

Cada preparado de anticorpos policlonais foi desenvolvido para agir contra microrganismos ruminais específicos. DiLorenzo et al. (2006 e 2008) observaram que a adição de preparados de anticorpos policlonais (PAP) contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn) foi eficaz na redução das concentrações ruminais das bactérias alvo. Ainda, a concentração de *F. necrophorum* não foi alterada pelo uso de PAP-Sb e a concentração de *S. bovis* não se alterou pela utilização de PAP-Fn, demonstrando a alta especificidade dos anticorpos policlonais (Tabelas 5 e 6).

Entretanto, Blanch et al. (2009) não observaram diferenças entre o grupo tratado com PAP-Sb e o grupo controle avaliado pela técnica de PCR em tempo real. Numericamente, a concentração de DNA da bactéria produtora de lactato (*S. bovis*) foi mais elevada no grupo controle em relação a PAP-Sb ($91,6 \pm 54$ e $49,5 \pm 11$ ng/mL no fluido ruminal, respectivamente), mas estas diferenças não foram significativas devido à grande variação de animal para animal.

A avaliação do perfil bacteriano pela técnica da eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE) não demonstrou diferença do grupo tratado com PAP e o controle (Otero, 2008; Blanch et al., 2009).

Em trabalho com vacas fistuladas no rúmen recebendo dieta de alto concentrado, Otero (2008) apontou aumento de 93,65% na contagem relativa de protozoários *Isotricha* em relação ao grupo controle. Neste experimento o anticorpo utilizado era contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas. O efeito do PAP no aumento de *Isotricha* pode demonstrar a ação deste produto na diminuição do número de bactérias responsáveis pela acidificação do ambiente, tornando este favorável à proliferação de bactérias (fonte de substrato dos protozoários) e também destes protozoários. Já Blanch et al. (2009) não observaram diferença na contagem de protozoários entre o grupo tratado com PAP-Sb e o grupo controle.

7.2.2 Efeitos sobre a fermentação ruminal

Ainda são variados e inconstantes os efeitos da utilização de anticorpos policlonais sobre o pH ruminal. Em diversas condições experimentais, o pH ruminal não foi influenciado pela sua utilização (Dahlen et al., 2003; DiLorenzo et al., 2008; Blanch et al., 2009). Bastos et al. (2009) observaram que diferentes níveis (0; 1,5; 3,0 e 4,5 g/anim/dia) de PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas não alteraram o pH ruminal de vacas fistuladas alimentadas com dietas de alto concentrado. Já em experimento com vacas leiteiras, o preparado de anticorpos policlonais foi efetivo em manter o pH ruminal em animais em início de lactação (DiLorenzo et al., 2007).

Marino (2008), ao trabalhar com vacas canuladas no rúmen e alimentadas com dietas com alta proporção de concentrado, sendo estas compostas por três fontes energéticas (milho seco moído, grão úmido de milho e polpa cítrica), observou que o PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas foi tão eficaz quanto a monensina em manter o pH ruminal às 0400 h após a alimentação. Ainda, o efeito dos modificadores foi aditivo à inclusão da polpa cítrica nas dietas em elevar o pH ruminal. Entretanto, ao longo do dia, a inclusão do PAP não alterou o tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0.

No tocante às concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, a concentração total bem como suas proporções molares não sofreram alterações com a inclusão dos PAPs nas dietas (Dahlen et al., 2003; DiLorenzo et al., 2008; Marino, 2008; Blanch et al., 2009). Com base nisso, pode-se inferir que a retirada de algumas espécies bacterianas do ambiente ruminal não é suficiente para alterar a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta. O mesmo foi observado para a concentração de ácido láctico. Nos experimentos citados, as concentrações de ácido láctico observadas foram baixas ou não detectadas, provavelmente relacionadas com as variações diárias de pH ruminal observadas (5,70 - 6,27). Somente quando o pH ruminal diminui abaixo de 5,5, as bactérias que utilizam lactato são inibidas e este ácido começa a se acumular (Nagaraja e Titgemeyer, 2007).

Apesar de alguns PAPs agirem contra bactérias proteolíticas, a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal não foi alterada com sua utilização (Dahlen et al., 2003; DiLorenzo et al., 2008; Marino, 2008; Blanch et al., 2009).

7.2.3 Efeitos sobre a digestibilidade

Otero (2008), ao avaliar os efeitos da administração de um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas em vacas fistuladas no rúmen, observou aumento da degradabilidade potencial da FDN da cana-de-açúcar em animais que receberam PAP em relação ao grupo tratado com monensina. Apesar do PAP ser produzido para agir contra bactérias proteolíticas, não foi observado nenhum efeito deste produto sobre a degradabilidade *in situ* da proteína bruta do farelo de soja. Em relação às fontes energéticas, o efeito do PAP foi limitado. O grupo tratado com PAP apresentou diminuição da fração solúvel (“a”) do amido do milho seco moído de 45,26% e 45,37% em relação ao grupo controle e monensina, respectivamente. Não foram observados efeitos do PAP em nenhum parâmetro de degradabilidade *in situ* do amido do grão úmido de milho ou da pectina da polpa cítrica.

Marino (2008) observou diminuição da digestibilidade da FDN, FDA e amido, além do NDT com a utilização do PAP. Não há relatos na literatura a respeito dos efeitos da administração de anticorpos policlonais na digestibilidade *in vivo*. Uma hipótese para a diminuição na digestibilidade das frações fibrosas da dieta com a utilização do PAP seria sua atuação contra as bactérias proteolíticas. Sabe-se que as bactérias celulolíticas necessitam de amônia para degradar a fibra e uma interferência na disponibilidade de nitrogênio amoniacal poderia estar relacionada com a diminuição da digestibilidade destas frações. Di Lorenzo et al. (2006) observaram que houve diminuição na contagem de *S. bovis* e *F. necrophorum* com a utilização do PAP específico para estas bactérias. Naquele estudo, porém, não foram realizados ensaios para a contagem dos microrganismos específicos aos quais este produto foi direcionado.

7.2.4 Efeitos sobre desempenho

Espera-se que animais em engorda em confinamento apresentem melhor desempenho se não forem acometidos por acidose subaguda que provoque flutuações no consumo, diminuindo o ganho de peso e aumentando os dias necessários para o abate. Acredita-se que o controle da *Streptococcus bovis*, bactéria produtora de ácido lático, pode contribuir para manter um ambiente ruminal mais estável, contribuindo assim para o desempenho animal.

Dahlen et al. (2004) observaram que novilhos que receberam um PAP contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn) tiveram maiores pesos finais ao abate. Os animais alimentados com a dieta PAP-Sb obtiveram maior eficiência alimentar do que os alimentados com as dietas controle ou PAP-Sb + PAP-Fn. As carcaças dos novilhos com a dieta PAP-Sb foram mais pesadas, com maior camada de gordura subcutânea e melhores classificações ao abate, quando comparadas às carcaças dos animais recebendo as dietas com ambos PAPs (Sb e Fn) ou controle.

Millen (2008) observou que bovinos jovens em confinamento alimentados com dieta de alto concentrado recebendo um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas apresentaram ganhos de peso médio diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar similares aos animais suplementados com monensina. O consumo de matéria seca, em porcentagem do peso vivo, foi superior nos animais do grupo PAP. Os animais suplementados com anticorpos apresentaram menor incidência de paraqueratose ruminal, quando comparado aos animais suplementados com monensina. A manutenção de condições saudáveis das papilas ruminais permite maior absorção de ácidos graxos de cadeia curta, promovendo, assim, a saúde e o desempenho do animal, com menores riscos de ocorrência de quadros de acidose e abscessos hepáticos (Millen, 2008).

A severidade dos abscessos hepáticos foi diminuída com a utilização de um PAP contra *F. necrophorum*, bactéria envolvida com o desenvolvimento destes abscessos (DiLorenzo et., 2008).

DiLorenzo et al. (2008) observaram que um PAP contra *S. bovis* (PAP-Sb) foi efetivo em elevar a eficiência alimentar. Porém, no grupo alimentado com um PAP contra *F. necrophorum* (PAP-Fn) houve diminuição no rendimento de carcaça (Tabela 7). As prováveis razões para estas observações são desconhecidas. Pacheco (2008) observou que a utilização do preparado de anticorpos policlonais não afetou as características de carcaça e qualidade de carne, com exceção de uma diminuição do rendimento de carcaça, demonstrando que não há possíveis perdas na qualidade da carne.

Tabela 5 Efeitos da alimentação de anticorpos de aves preparados contra *Streptococcus bovis* (PAPSb), monensina (300 mg/cab/d) e tilosina (100 mg/cab/d; FA) sobre a contagem de *S. bovis* e pH do rúmen

Item	Tratamento			
	Controle	FA	PAPSb	FA + PAPSb
<i>S. bovis</i> , x 10 ⁷ MPN ^a /ml fluído ruminal	16.44 ^{bc}	35.98 ^c	11.64 ^{bc}	5.38 ^b
pH ruminal	5.43 ^b	5.90 ^c	6.12 ^c	6.05 ^c

^aMais provável número.

^{b,c}Dentro das linhas, médias com letras diferentes diferem (P < 0.05).

Fonte: DiLorenzo et. al. (2006).

Tabela 6 Efeitos da alimentação de anticorpos de aves preparados contra *Fusobacterium necrophorum* (PAPFn) e monensina (300 mg/cab/d) e tilosina (100 mg/cab/d; FA) sobre a contagem de *F. necrophorum* e pH do rúmen

Item	Tratamento			
	Controle	FA	PAPFn	FA + PAPFn
<i>F. necrophorum</i> , x 10 ³ MPN ^a /ml fluído ruminal	113.74 ^d	4.30 ^b	20.78 ^c	15.45 ^c
<i>S. bovis</i> , x 10 ⁷ MPN/ml Fluído ruminal	9.72	7.98	11.73	13.54
pH ruminal	6.18	6.13	6.35	6.24

^aMais provável número.

^{b,c,d}Dentro das linhas, médias com letras diferentes diferem (P < 0.01).

Fonte: DiLorenzo et. al. (2006).

Tabela 7 Efeitos da alimentação com anticorpos preparados contra *Streptococcus bovis* (PAPSb), *Fusobacterium necrophorum* (PAPFn) ou ambos sobre o desempenho e características de carcaça de novilhos confinados

Item	Tratamento				SE
	Controle	PAPFn	PAPSb	PAPFn + PAPSb	
Peso Inicial, kg	271	274	273	274	1.28
Peso Final, kg	542 ^d	558 ^e	559 ^e	550 ^d	2.65
Peso final ajustado pela carcaça, kg	552 ^d	561 ^{de}	562 ^e	552 ^d	3.19
GPD, kg	1.78 ^d	1.84 ^e	1.85 ^e	1.79 ^d	0.02
GPD ajustado pela carcaça, kg	1.80 ^d	1.83 ^{de}	1.85 ^e	1.78 ^d	0.02
IMS, kg/d	9.54	9.76	9.61	9.68	0.13
Conversão alimentar	0.186 ^d	0.190 ^{de}	0.193 ^e	0.186 ^d	0.002
Conversão alimentar ajustada pela carcaça	0.188 ^x	0.191 ^{xy}	0.193 ^y	0.186 ^x	0.002
Peso da carcaça quente, kg	346 ^d	350 ^{de}	351 ^e	345 ^d	2.00
Rendimento de carcaça	63.8	62.8	62.8	62.7	0.003
Gordura Subcutânea, cm	1.52 ^d	1.68 ^{de}	1.83 ^e	1.55 ^d	0.08
AOL, cm ² ^a	79.35	80.77	80.12	81.67	0.77
Gordura Visceral, % ^b	2.42	2.41	2.42	2.44	0.03
Classificação Carcaça	3.54 ^d	3.67 ^{de}	3.78 ^e	3.55 ^d	0.06
Escore Marmorização ^c	431	431	435	434	12.23

^a AOL = Área de Olho de Lombo.

^b = porcentagem de gordura nos rins, coração e pélvica.

^c 300 = Traços; 400 = Pequena; 500 = Modesta.

^{d,e} Dentro da linha, médias com letras diferentes diferem ($p < 0.05$).

^{x,y} Dentro da linha, médias com letras diferentes diferem ($p < 0.10$).

Fonte: DiLorenzo et. al. (2006).

O capítulo 03 foi escrito seguindo as normas de publicação do *Journal of Animal Science*.

8.0 REFERÊNCIAS

- BARTLEY E. E., R. M. MEYER, and L. R. FINA. 1975. Feedlot or grain bloat. p. 55. *In*: I. W. McDonald and A. C. I. Warner (Ed) **Digestion and Metabolism in the Ruminant**. The Univ. of New England Pub. Unit, Armidale, Australia.
- BASTOS, J.P.S.T., C.T. MARINO, P.H.M. RODRIGUES, M.D.B. ARRIGONI, J.D. MAGALHÃES, R.D.L. PACHECO, D.D. MILLEN E J.C.F.D. CARVALHO. 2009. Efeito do preparado de anticorpos policlonais (PAP) sobre o pH ruminal de bovinos recebendo dieta de alto concentrado. **II Simpósio Internacional de Nutrição de Ruminantes FMVZ-UNESP**. Botucatu. CD-ROM.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. 2006. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal /SP: editora Funep, 583p.
- BERGEN, W. G. and BATES, D. B. 1984. Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.58, p.1465-1483.
- BERGMAN, E.N. 1990. Energy contributions of VFA from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological reviews**. v.70, n.2. p.567-590.
- BERGHMAN, L.R.; WAGHELA, S.D. 2004. Antibodies: an alternative for antibiotics? **Journal of Animal Science**, v.82 (Supl. 1), p.82.
- BLANCH, M., S. CALSAMIGLIA, N. DILORENZO, A. DICOSTANZO, S. MUETZEL and R.J. WALLACE. 2009. Physiological changes in rumen fermentation during acidosis induction and its control using a multivalent polyclonal antibody preparation in heifers. **Journal Animal Science**. 0:jas.2008-1184.
- BRENT B.E. 1976. Relationship of acidosis to other feedlot ailments. **Journal Animal Science**., v.43, p.930.
- BRITTON R. A. and R. STOCK. 1989. Acidosis: A continual problem in cattle fed high grain diets. p. 8, *In* : **Proceedings of Cornell Nutrition Conference for Feed Manufactures**, Ithaca, NY.
- BROWN, M. S., PONCE, C. H., and PULIKANTI, R. 2006. Adaptation of beef cattle to high-concentrate diets: performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v.84, p.E24-E33.
- CALLAWAY, E.S.; MARTIN, S.A. 1997. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**. v.0, p.2035–2044.
- CARRO, M.D.; LEBZIEN, P.; ROHR, K. 1992. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. **Livest. Prod. Sci**. v.32, p.219–229.
- CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G. et al. 1995. In vitro H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea

methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Appl. Environ. Microbiol.** v.61, p.3466–3469.

CHURCH, D.C. 1993. **The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition.** Prentice Hall, New Jersey. 564p.

DAHLEN, C.R.; DICONSTANZO, A.; MITTENESS, B.M.; NASH, P.; LARSON, J.E.; DILORENZO, N.; MARX, G.D. 2003. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. **Journal of Animal Science**, v.81 (Supl.1), p.58.

DAHLEN, C.R., N. DILORENZO, A. DICONSTANZO, G.C. LAMB and L.J. SMITH. 2004. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* or *Fusobacterium necrophorum* on performance and carcass characteristics of feedlot steers. **Journal of Animal Science**. v.82, Supl.1, p.270 (Abstract).

DAWSON, K.A.; NEWMAN, K.E.; BOLING, J.A. 1990. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.10, p.3392-3398.

DAWSON, K.A.; RASMUSSEN, M.A.; ALLISON, M.J. 1997. Digestive disorders and nutritional toxicity. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. p.633-660.

DENNIS, S. M.; NAGARAJA, T. G.; BARTLEY, E. E. 1981. Effects of lasalocida or monensin on lactate-producing or using-rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.52, n.2, p.418-26.

DILORENZO, N. 2004. **Effects of feeding polyclonal antibody preparations against rumen starch and lactic-fermenting bacteria on target bacteria populations and steer performance.** Saint Paul, Minnesota, USA: University of Minnesota, 2004, 101p. Master thesis submitted to the faculty of the graduate school of the University of Minnesota.

DILORENZO, N., F. DIEZ-GONZALEZ AND A. DICOSTANZO. 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. **Journal of Animal Science**. v.84, p.2178-2185.

DILORENZO, N., C.R. DAHLEN, J.E. LARSON, R.K. GILL and A. DICOSTANZO. 2007. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**. v.85 (Supl.2), p.135 (Abstract).

DILORENZO, N., C.R. DAHLEN, F. DIEZ-GONZALEZ, G.C. LAMB, J.E. LARSON and A. DICOSTANZO. 2008. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. **Journal of Animal Science**. v.86, p.3023-3032.

DOCIC, M.; BILKEI, G. 2003. Differences in antibiotic resistance in *Escherichia coli*, isolated from East-European swine herds with or without prophylactic use of antibiotics. **Journal of Veterinary Medicine B**. v.50, p.27-30.

ELANCO ANIMAL HEALTH (Indiana, EUA). [**Rumensin**]. Disponível: site Elanco Animal Health. URL: <http://www.elanco.com/products/rumensin/rumensin80pim.html>

EUROPEAN COMMISSION. 2004. **Prospects for agricultural markets and income 2004 – 2011**. Brussels.

FAPRI. 2005. **World agricultural outlook**. Iowa State University – University of Missouri – Columbia.

FAVERDIN, P; BAREILLE, N. 1999. Lipostatic regulation of feed intake in ruminants. In: HEIDE, D. et al. (Eds). **Regulation of feed intake**. CAB International. p.82–102.

FELL B. F., M. KAY, E. R. ORSKOV, et al. 1972. The role of ingested animal hairs and plant spicules in the pathogenesis of rumenitis. **Res. Vet. Sci.**, v.13, p.30.

GALYEAN, M.L., WAGNER, D.G., JONSON, R.R. 1976. Site and extent of starch digestion in steers fed processed corn rations. **Journal of Animal Science**, v.43, n.5, p.1088-1094.

GALYEAN, M.L.; RIVERA, J.D. 2003. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**. v.83, p.13-20.

GILL, H.S.; SHU, Q.; LENG, R.A. et al. 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. **Vaccine**, v.18, p.2541-2548.

GOAD, D.W.; GOAD, C.L.; NAGARAJA, T.G. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**. v.76, p.234–241.

HARDY, B. 2002. The issue of antibiotic use in the livestock industry: what have we learned? **Animal Biotechnology**. V.13, p.129-147.

HAU, J. AND F.M.H. COENRAAD. 2005. Refinement of polyclonal antibody production by combining oral immunization of chickens with harvest of antibodies from the egg yolk. **ILAR Journal**. v.46, p.294-299.

HUNTINGTON, G.B. 1988. Acidosis. Page 474 *in the Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. D. C. Church, ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs.

IKEMORI, Y.; KUROKI, M.; PERALTA, R.C.; YOKOYAMA, H.; KODAMA, Y. 1992. Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n.11, p.2005-2008.

IKEMORI, Y.; UMEDA, M.O.K.; ICATLO JR., F.C. et al. 1997 Passive protection of neonatal calves against coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody powder. **Veterinary Microbiology**. V.58, p.105-111.

JENSEN, R., H. M. DEANE, L. J. COOPER, et al. 1954. The rumenitis-liver abscess complex in beef cattle. **American Journal of Vet. Res.**, 15:202.

KREIKEMEIER, K. K., HARMON, D. L., BRANDT, JR., R. T., NAGARAJA, T. G., and R. C. COCHRAN. 1990. Steam-rolled wheat diets for finishing cattle: Effects of dietary

roughage and feed intake on finishing steer performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v.68, p.2130-2141.

KUNG, J.R.; KRECK, L.E.M.; TUNG, R.S. 1997. Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **J. Dairy Sci.** v.80, p.2045–2051.

KUNKLE, B; SAND, B. 1998. Beef cattle: feeding. RF-AA070. Disponível: site **Florida Agricultural Information Retrieval System, FAIRS**. URL: <http://hammock.ifas.ufl.edu/txt/fairs//aa/951.html>.

LEE, E.N.; SUNWOO, H.H.; MENNINEN, K. et al. 2002. In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. **Poultry Science**. v.81,p.632-641.

MACKIE, R.I., GILCHRIST, F.M.C., ROBERTS, A.M., HANNAH, P.E., SCHWART, H.M. 1978. Microbiological and chemical changes in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.39, n.2, p.241-254.

MARINO, C.T. 2008. **Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas**. 2008. Tese (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 121 p.

McALLISTER, T.A. et. al. 1990b. Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. **Canadian Journal of Animal Science**, 70:571, 1990b.

McDERMOTT, P.F.; ZHAO, S.; WAGNER, D.D. et al. 2002 The food safety perspective of antibiotic resistance. **Animal Biotech**. v.13, p.71-84.

MILLEN, D.D. 2008. **Desempenho, avaliação ruminal e perfil metabólico sanguíneo de bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais**. 2008. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 131 p.

NAGARAJA, T. G. and TAYLOR, M. B. 1987 Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, v.53, p.1620-1625.

NAGARAJA T. G., S. B. LAUDERT, and J. C. PARROTT. 1996. Liver abscesses in feedlot cattle. Part 1. Causes, pathogenesis, pathology, and diagnosis. **Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.**, v.18, p.S230-273.

NAGARAJA, T.G.; CHENGAPPA, M.M. 1998. Liver abscesses in feedlot cattle: A review. **Journal of Animal Science**. v.76, p.287-298.

NAGARAJA, T.G. 2003. Response of the Gut and Microbial Populations to Feedstuffs: The ruminant story. Pages 64-77 in **Proc. 64th Minnesota Nutrition Conference**. St. Paul, MN.

NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, v.90 (Supl. E), p.17-38.

NAGARAJA, T.G; 2007. Saúde Ruminant. **III Simpósio de Nutrição de Ruminantes – Saúde do Rúmen / Anais – First Brazilian Ruminant Nutrition Conference – Rumen Health / Proceedings**. UNESP – Botucatu – Brazil.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; MCINTOSH, F.M. 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**. v.73, p.1811–1818.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; McINTOSH, F.M. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition, Cambridge**, v.76, n.2, p.249-261.

NICODEMO, M.L.F. 2001. **Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. Documentos, ISSN 1517-3747; 106.

NOCEK, J. E. 1997. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.1005-1028.

NOCEK, J. E., AND S. TAMMINGA. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**. v.74, p.3598-3629.

NUSSIO, L.G. e LIMA, L.G. 2000. Volumosos para bovinos de corte em confinamento. In: **Confinamento de Bovinos de Corte**. Ed Peixoto, A M. et al, FEALQ, Piracicaba, SP, p 85-112.

ØRSKOV, E.R. 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1624.

OTERO, W.G. 2008. **Avaliação da diversidade microbiana e degradabilidade *in situ* em animais tratados com preparado de anticorpos policlonais contra bactérias produtoras de lactato e bactérias proteolíticas**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária), Universidade da São Paulo, USP. Pirassununga. 85 p.

OWENS, F.N.; SECRIST, D.S.; HILL, W.J. et al. 1998. Acidosis in cattle: A review. **Journal of Animal Science**. v.76, p.275-286.

PACHECO, R.D.L. 2008. **Características físicas e químicas da carcaça de bovinos jovens suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais aviários**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 82 p.

PORDOMINGO, A.J. et al., 2002. Evaluación de dietas basadas en grano entero, sin fibra larga para engorde de bovinos a corral.. *ISSN 0325 – 8718 RIA*, 31 (1):1 a 22, *Argentina*

- POTTER, E. L.; MULLER, R. D.; WRAY, M. I.; CARROLL, L. H.; MEYER, R. M. 1986. Effect of monensin on the performance of cattle on pastures or fed harvested forages in confinement. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.62, n.3, p.583-592.
- RUSSELL, J.B.; RYCHLIK, J.L. 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**. v.292, p.1119-1122.
- RUSSELL, J.B.; HINO, T. 1985. Regulation of lactate production in streptococcus bovis: a spiraling effect that contributes to rumen acidosis. **Journal of Dairy Science**. v.68, p.1712.
- ROSE, A.H. 1997. Yeast, a microorganism for all species: a theoretical look at its mode of action. In: LYONS, T. P., ed. *Biotechnology in the feed industry*. Nicholasville: **Alltech Technical Publications**, p.113-118.
- SALYERS, A.A. 2002. An overview of the genetic basis of antibiotic resistance in bacteria and its implications for agriculture. **Animal Biotechnology**. v.13, p.1-5.
- SANTOS, F.A.P., 2006. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) **Nutrição de Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.
- SCHADE, R.; STAAK, C.; HENDRIKSEN, C.; ERHARD, M.; HUGI, H.; KOCH, G.; LARSSON, A.; POLLMANN, W.; REGENMORTEL, M.V.; RIJKI, E.; SPIELMANN, H.; STEINBUSCH, H.; STRAUGHAN, D. 1996. The production of avian (Egg Yolk) antibodies: IgY. Disponível em: <http://altweb.jhsph.edu/publications/ECVAM/ecvam.21.htm> Acesso 10/06/2009.
- SCHADE, R.; BEHN, I.; ERHARD, M. 2001. **Chicken egg yolk antibodies production and application IgY-Technology**. 1.ed. Springer:Alemanha, 255p.
- SLYTER, L.L. 1976. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**. v.43, p.910-929.
- SHERMAN, D.M.; ACRES, S.D.; SADOWSKI, P.L.; SPRINGER, J.A.; BRAY, B.; RAYBOULD, T.J.G.; MUSCOPLAT, C.C. 1983. Protection of calves against fatal enteric colibacillosis by orally administered *Escherichia coli* K99-specific monoclonal antibody. **Infection and Immunity**, v.42, n.2, p.653-658.
- SHU, Q.; GILL, H.S.; HENNESSY, D.W. et al. 1999. Immunization against lactic acidosis in cattle. **Research of Veterinary Science**, v.67, p.65-71.
- SHU, Q.; GILL, H.S.; LENG, J.B. et al. 2000. Immunization with a *Streptococcus bovis* vaccine administered by different routes against lactic acidosis in sheep. **Veterinary Journal**. v.159, p.262-269.
- SPEARS, J. W. 1990. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.120, n.6, p.632-638.
- STEVENS, C.E. 1990. Fatty acid transport through the rumen epithelium. In: A. T. Phillipson (Ed.) **Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant**. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, U.K, p.101-112.

STROBEL, H.J.; RUSSELL, J.B. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**. v.69, p.2941.

STOCK, R.A.; LAUDERT, S.B.; STROUP, W.W. et al. 1995. Effects of monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. **Journal of Animal Science**. v.73, p.39-44.

STOCK, R.A.; BRITTON, R.A. 1996. Acidosis. University of Nebraska. NebGuide. On line. Disponível: <http://ianrpubs.unl.edu/animaldisease/g1047.htm>.

TERRY, R.A.; TILLEY, J.M.; OUTEN, G.A. Effect of pH on cellulose digestion under *in vitro* conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.20, n.5, p.317-320, 1969.

THEURER, C.B. 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1649.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S., 2006. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) **Nutrição de Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.

VOGEL G. J. and J. C. PARROTT. 1994. Mortality survey in feedyards: the incidence of death from digestive, respiratory, and other causes in feedyards on the Great Plains. **Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.**, v.16, p.227.

YOKOYAMA, H.; PERALTA, R.C.; DIAZ, R.; SENDO, S.; IKEMORI, Y.; KODAMA, Y. 1992. Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. **Infection and Immunity**, v.60, n.3, p.998-1007.

WALLACE, R.J.; NEWBOLD, C.J. 1992. Probiotics for ruminants. Page 317 in **Probiotics: The Scientific Basis**. R. Fuller, ed. Chapman and Hall, London, U.K.

WALLACE, R. J. 1994. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.11, p.2992-3003.

WEISS, W. P.; AMIET, B. A. 1990. Effect of lasalocida on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.1, p.153-162.

WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M. et al. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. **Journal of Animal Science**. v.69, p.3016–3026.

WU, J.S. 1997. **The microbiologist's function in developing action-specific microorganisms**. In: LYONS, T.P. (Ed.) **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, p.181-198.

ZINN, R. A., PLASCENCIA, A. AND BORAJES, R. 1994. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2209-2215.

**CAPÍTULO 3: EFEITO DE DIFERENTES DOSAGENS
DO PREPARADO DE ANTICORPOS
POLICLONAIS ESPECÍFICOS SOBRE
AS VARIÁVEIS RUMINAIS DE
BOVINOS EM DIETA DE ALTO
CONCENTRADO**

Efeito de diferentes dosagens do preparado de anticorpos policlonais específicos sobre as variáveis ruminais, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vivo* de bovinos em dieta de alto concentrado

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de diferentes doses do preparado de anticorpos policlonais (PAP) produzido contra diferentes cepas de bactérias ruminais sobre parâmetros de fermentação ruminal (pH, AGCC, nitrogênio amoniacal e lactato) em bovinos recebendo dieta de alto concentrado. Foram utilizadas oito fêmeas bovinas, canuladas no rúmen, alimentadas (*ad libitum*) duas vezes ao dia com dieta de alto concentrado. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4 x 4, replicado duas vezes. Os quatro tratamentos foram estruturados de acordo com as diferentes doses do produto (T1: 0,0 g/animal/dia, “controle”; T2: 1,5 g/animal/dia; T3: 3,0 g/animal/dia e T4: 4,5 g/animal/dia) e em diferentes períodos experimentais. Cada período experimental foi constituído de 21 dias, sendo que as colheitas de líquido ruminal foram realizadas a cada duas horas nos tempos de 0 a 12 horas, após a alimentação, no último dia de cada período e posteriormente analisadas. Não foi observado efeito de interação entre tempo e tratamento ($p > 0,05$) para os dados de pH. Independentemente do tempo de amostragem, não foi observado efeito linear ou quadrático dos níveis de administração do PAP sobre o pH ruminal. Não foram observados efeitos significativos ($p > 0,05$) sobre a concentração de AGCC total, nitrogênio amoniacal ou proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico e lactato. Também não foram observados efeitos nos parâmetros de degradabilidade *in situ* para as três diferentes fontes alimentares utilizadas e para os valores de digestibilidade *in vivo*. Com isso, pode-se concluir que as diferentes doses do PAP não foram suficientes para alterar o ambiente ruminal sendo necessária à realização de mais testes que refutem ou não essa resposta.

Palavras chave: Preparado de Anticorpos Policlonais; Fermentação ruminal; Imunização passiva; Ruminantes; Alto concentrado.

Effect of specific polyclonal antibody preparation levels on ruminal variables, *in situ* degradability and *in vivo* digestibility in cattle fed high concentrate diets

ABSTRACT: Due the prohibition of antibiotics in ruminants diets arouse the necessity to find new alternatives for ionophores utilization without hazard to human health. The objective of the present study was to evaluate the effects of different doses of polyclonal antibody preparation (PAP) on ruminal fermentation parameters (pH, short chain fatty acids, ammonia nitrogen and lactate) in cattle fed high concentrate diets. Eight rumen cannulated cows were used in a latin square 4x4, twice replicated. The treatments were T1: 0.0 g/animal/day, "control"; T2: 1.5 g/animal/day; T3: 3.0 g/animal/day; T4: 4.5 g/animal/day with four experimental periods with 21 days each. Sample collection was carried out at the last day of each period with two hours of interval between each collection. There was no interaction between time and treatment ($p > 0.05$) for pH data. Independently from time of sampling there was no linear or quadratic effect on total short chain fatty acids (tSCFA), ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) or molar proportion of acetate, propionate and butirate. There were no significant differences to degradability and digestibility values in this trial. Thus, it can be concluded that different levels of PAP were not sufficient to alter rumen environment with the necessity of more studies to validate or not this observation.

Key words: Polyclonal Antibodies Preparation; Ruminal fermentation; Passive imunization; Ruminants; High concentrate.

INTRODUÇÃO

Atualmente, com a intensificação dos sistemas de produção de bovinos decorrente tanto do aumento das exportações quanto da exigência do consumidor (Fapri, 2005; European Commission, 2004), se faz necessário recorrer a ferramentas que permitam pequenos ajustes no sistema para que se possa explorar o máximo potencial produtivo do animal.

Dessa forma, observa-se que o aumento no nível energético das dietas de confinamento para bovinos de corte tem demonstrado uma crescente aceitação e seu conceito tem sido difundido entre produtores e técnicos devido as suas respostas positivas em relação ao desempenho animal, qualidade de carcaça, facilidade de manejo e economicidade.

Porém, o uso de dietas de alto concentrado pode ocasionar problemas de ordem digestiva, como a acidose ruminal com prejuízo à parede do rúmen e aparecimento de abscessos hepáticos.

Surge, portanto, a necessidade de alternativas que visem melhorar o ambiente ruminal e, por conseqüência, o desempenho animal. Dentre essas alternativas, a manipulação dos microrganismos do rúmen é visto como uma nova linha de produção que vem sendo desenvolvida. Como exemplo, pode-se citar a crescente resistência da sociedade ao uso de antibióticos como promotores de crescimento, o que pode levar à descoberta de novas técnicas para melhorar os processos de fermentação ruminal (DiLorenzo, 2004). Como os ionóforos são classificados atualmente como antibióticos, sua restrição ao uso nos sistemas de produção de ruminantes pode tornar-se uma realidade (Newbold et al., 2001).

Assim, uma nova tecnologia de modificador de fermentação ruminal contra populações específicas de bactérias ruminais causadoras de distúrbios metabólicos, como a acidose, surge como alternativa. Os anticorpos são considerados de origem natural e com baixo risco de contribuir para resistência microbiana.

O objetivo deste experimento foi avaliar diferentes dosagens de um preparado de anticorpos policlonais contra bactérias ruminais específicas nos parâmetros de fermentação ruminal, como pH ruminal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta, concentração de lactato e de nitrogênio amoniacal, além da digestibilidade *in*

vivo, degradabilidade *in situ* da matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN) da cana-de-açúcar, MS e proteína bruta (PB) do farelo de soja, bem como MS e amido do milho seco moído em fêmeas bovinas alimentadas com dieta de alto concentrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais, Local Experimental e Arraçoamento

Este estudo foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), Campus de Pirassununga, e aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ – UNESP), Campus de Botucatu, sob o protocolo de número 135/2007 – CEEA.

Foram utilizadas oito fêmeas bovinas mestiças holandês X zebu, não gestantes e não lactantes, com peso vivo médio de $567,02 \pm 103,7$ kg, com escore de condição corporal (ECC) médio de 4 pontos (1 – 5) e portadoras de cânula ruminal com 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura. Os animais foram mantidos em galpão coberto, em baias individuais com cochos de cimento e bebedouros automáticos comuns a cada dois animais e piso emborrachado. O estábulo possuía ventiladores suspensos no teto que eram ligados nas horas mais quentes do dia, para amenizar os efeitos da temperatura ambiente.

Os alimentos foram oferecidos duas vezes ao dia, às 0800 e 1600 horas, na forma de ração completa, *ad libitum*. As dietas possuíam relação volumoso:concentrado de 27:73, nas quais a fonte de volumoso empregada foi a cana-de-açúcar fresca e picada com tamanho médio de partícula de 1,14 cm, sendo este determinado pela Penn State Particle Size Separator, conforme metodologia proposta por LAMMERS et al. (1996) e modificada por HEINRICHS e KONONOFF (2002).

Delineamento, Período Experimental, Produto e Tratamentos

O delineamento experimental foi o quadrado latino 4 X 4 replicado duas vezes. Os tratamentos foram em número de quatro e estruturados em níveis referentes às diferentes doses do preparado de anticorpos policlonais e em diferentes períodos experimentais, conforme detalhamento abaixo, onde cada período experimental foi

constituído de 21 dias, sendo quatro períodos experimentais, totalizando 84 dias de experimento.

- 1) T1: dose de 0,0 g/animal/dia do preparado de anticorpos policlonais CAMAS Inc[®].
- 2) T2: dose de 1,5 g/animal/dia do preparado de anticorpos policlonais CAMAS Inc[®].
- 3) T3: dose de 3,0 g/animal/dia do preparado de anticorpos policlonais CAMAS Inc[®].
- 4) T4: dose de 4,5 g/animal/dia do preparado de anticorpos policlonais CAMAS Inc[®].

A decisão sobre qual dosagem ofertar aos animais foi estipulada a partir da dosagem recomendada pelo fabricante que é de 3,0 g/animal/dia. A partir dessa dosagem foi estipulada uma dosagem intermediária entre a dosagem recomendada e o grupo controle e uma outra dosagem acima da recomendada pelo fabricante, a fim de se avaliar possíveis efeitos devido a superdosagem.

Antes de cada mudança do período experimental, cerca de 20 kg de conteúdo ruminal era retirado de cada animal e feita uma mistura de todas essas porções. Logo em seguida, esse conteúdo, já misturado, era devolvido para cada animal na mesma quantidade do que fora retirado anteriormente. Esse procedimento foi realizado para que os animais iniciassem o próximo período com condições de população microbiana ruminal teoricamente homogênea.

Como o preparado de anticorpos policlonais é fabricado sob patente e possui direitos particulares de produção, apenas alguns passos deste processo foram descritos a seguir. Imunógenos foram extraídos de culturas bacterianas modelo, cultivadas sob condições especiais para expressar os antígenos de superfície que o organismo utiliza para aderir às células. Além dos organismos modelos, foram utilizadas bactérias específicas colhidas diretamente do rúmen de animais saudáveis. Os antígenos foram então purificados da cultura e imunógenos isolados foram produzidos para administração em galinhas poedeiras sem adjuvante. Mais de 600 galinhas foram imunizadas para cada imunógeno. Seus ovos foram analisados semanalmente por teste de ELISA específico para monitorar a ligação dos anticorpos. Aproximadamente 200 galinhas imunizadas foram selecionadas aleatoriamente para a colheita de ovos. Os ovos foram colhidos por três dias e o PAP foi produzido a partir da mistura destas colheitas (DILorenzo, 2006; BLANCH et al., 2009)

No produto, aproximadamente 26% dos anticorpos agiam contra *S. bovis*, 12% contra *F. necrophorum* e 48% contra as bactérias proteolíticas *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*. O restante dos anticorpos (14%) agiam contra *E.coli* O157:H7, *Eimeria* e *Salmonella*. Os preparados continham imunoglobulina Y, imunoglobulina M e imunoglobulina A.

O PAP contava ainda, em sua composição, com uma mistura de proteína de ovo pasteurizada, melão, óleo de soja e solução tampão salina fosfato (PBS) com pH 7,4. Devido ao fato de que os ovos normalmente consumidos possuem anticorpos contra diversas bactérias, ovos comercialmente a venda foram testados para anticorpos contra os microrganismos específicos utilizando os mesmos protocolos para avaliação dos PAPs. Embora houvesse pequenas quantidades de anticorpos nestes ovos contra bactérias específicas, como *Streptococcus* spp. ou *Escherichia coli*, eles não se ligaram aos microrganismos específicos. Ainda, os títulos por ELISA não indicaram ligação aos fatores de adesão específicos, ou seja, houve falta de atividade dos anticorpos presentes nos ovos destinados ao consumo.

O produto inicialmente era apresentado na forma líquida, mas, para este experimento, o produto sofreu um processo de SPRAY-DRYER, onde passou para a forma em pó, sendo mantido durante todo seu período de utilização em embalagens hermeticamente fechadas, em local seco e protegidas da luz solar.

Alimentos e Composição Bromatológica

As proporções dos diversos ingredientes na dieta e a composição bromatológica estão descritas na Tabela 1A e 1B. Na Tabela 1B o ingrediente denominado “concentrado” é referente à mistura farelo de soja + milho seco fubá + suplemento mineral. O teor de carboidratos não-fibrosos foi estimado pela fórmula $CNF\% = 100\% - (PB\% + FDN\% + EE\% + cinzas\%)$, segundo HALL (2001). O teor de proteína degradável e não-degradável no rúmen (% PB), fibra em detergente neutro efetiva (% FDN), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia metabolizável, energia líquida de manutenção e lactação (Mcal/kg de MS) foram estimados pelo programa Cornell Net Carbohydrate and Protein System CNCPS versão 6.0 (FOX et al., 1992). A dieta foi formulada segundo as exigências do NRC (1996) e avaliada no programa CNCPS versão 6.0 (FOX et al., 1992).

As análises bromatológicas de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), energia bruta (EB), cálcio e fósforo foram realizadas segundo AOAC (1990) e as de fibra em detergente neutro (FDN) corrigidas para cinzas e fibra em detergente ácido (FDA) conforme VAN SOEST et al. (1994), sendo estas apresentadas na Tabela 9. Para a análise de FDN foi omitido o sulfito de sódio, mas adicionada a α -amilase e uréia. A concentração de amido foi avaliada segundo PEREIRA e ROSSI JR. (1995), fazendo prévia extração dos carboidratos segundo HENDRIX (1993).

As análises foram realizadas no laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ – USP) da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga.

Tabela 1A Proporções de ingredientes e composição bromatológica da dieta experimental

Ingredientes (% da MS)	Valores
Cana-de-açúcar fresca picada	26,80
Silagem de grão úmido de milho	29,90
Fubá de milho seco	20,62
Farelo de soja	20,62
Suplemento mineral ¹	2,06
Composição química	
Matéria seca (%)	51,86
Matéria mineral (% MS)	4,99
Proteína bruta (% MS)	15,93
Proteína degradável no rúmen (% PB) ²	70,07
Proteína não-degradável no rúmen (% PB) ²	29,93
Extrato etéreo (% MS)	2,83
Fibra em detergente neutro (% MS)	25,87
Fibra em detergente neutro efetiva (% FDN) ²	13,97
Fibra em detergente ácido (% MS)	13,68
Carboidratos não fibrosos (% MS)	51,47
Amido (% MS)	32,06
NDT (% MS) ²	78,0
Energia metabolizável (Mcal/kg MS) ²	2,74
E _{liq} manutenção (Mcal/kg MS) ²	1,82
Cálcio (% MS)	0,36
Fósforo (% MS)	0,19

¹ Mistura mineral e vitamínica em cada Kg: 15,5 g de cálcio, 8 g de fósforo, 0,6 g de enxofre, 0,6 g de magnésio, 11,5 g de sódio, 7 mg de cobalto, 130 mg de cobre, 350 mg de ferro, 7 mg de iodo, 290 mg de manganês, 1,4 mg de selênio, 350 mg de zinco.

² Valores estimados pelo programa CNCPS versão 6.0.

Tabela 1B. Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca¹

Ingredientes	MS	MM	PB	FDN	FDA	EE	AMIDO	Ca	P
Cana-de-açúcar fresca	30,47	2,37	1,73	35,47	29,52	2,65	4,04	0,18	0,03
Silagem Grão Úmido de Milho	68,70	1,10	7,65	10,04	11,09	6,01	67,2	0,02	0,27
Milho Seco Fubá	96,59	0,90	8,48	5,97	11,37	6,53	73,0	0,06	0,27
Farelo de Soja	97,48	6,09	46,17	15,98	14,33	3,05	2,39	0,35	0,61
Concentrado	97,40	7,33	25,39	13,79	12,97	3,89	69,3	0,56	0,36

¹Valores obtidos através de análise bromatológica no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), Campus de Pirassununga, SP.

A silagem de grão úmido de milho foi produzida pela Faculdade de Ciências Agrárias da UNESP, Campus Botucatu, e re-ensilada no Setor de Bovinos Superprecoces da FMVZ-UNESP (Campus Lageado). O milho foi colhido na fase de maturação fisiológica, caracterizada pela ocorrência da camada preta na base do grão, com teor de umidade médio de 30%. Os grãos foram triturados e armazenados em silos do tipo trincheira por 90 dias. Após abertura dos silos, a silagem foi novamente ensilada em tambores plásticos de 200 L e transportada até a FMVZ-USP (Campus de Pirassununga).

O tamanho de partícula médio dos alimentos utilizados no experimento foi 0,70 mm para o grão de milho seco e moído; 2,26 mm para a silagem de grão úmido de milho e 0,74 mm para ração concentrada da dieta. O tamanho de partícula médio foi determinado por granulometria de vibração (Marconi[®]), com peneiras de diâmetro de furo variando de 0,25 a 2,36 mm (Bertel[®]). Após a vibração das amostras por 15 min, as peneiras foram pesadas e o tamanho de partícula médio determinado.

A adição do PAP foi realizada duas vezes ao dia através da cânula ruminal, antes de cada refeição de acordo com a dose de cada tratamento.

Consumo de Matéria Seca

Para avaliação do consumo de matéria seca, os alimentos fornecidos e as sobras foram colhidos e pesados entre o 17^o e 21^o dia de cada o período experimental e, dessa forma, era feito o cálculo da matéria seca ingerida.

Determinação de pH ruminal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), nitrogênio amoniacal e Lactato.

As amostras de líquido ruminal foram colhidas via cânula, por intermédio de uma bomba de vácuo, às 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a refeição matinal do 21^o dia do período. Em cada horário, foram colhidos aproximadamente 500 mL de conteúdo ruminal, em três diferentes pontos do rúmen. A amostra referente a 0 h foi realizada logo antes da alimentação das 0800 h. Imediatamente após a colheita, 100 mL de fluido ruminal foram usados para a determinação do pH em potenciômetro digital portátil (HANNA instruments HI8424), calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

Logo em seguida, as amostras foram preparadas para a posterior determinação da concentração total e proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta, nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e lactato. As análises laboratoriais foram processadas no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VNP/FMVZ/USP), Campus de Pirassununga.

Para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), aproximadamente 100 mL de conteúdo ruminal foi centrifugado a 3500 rpm por 30 minutos; 2 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio arrolhado, sendo acondicionado com 0,4 mL de ácido fórmico e mantido em congelador (-20 °C) até o momento da análise, realizada através de cromatografia gasosa, segundo método descrito por ERWIN et al. (1961). Para esta avaliação foi utilizado um cromatógrafo a gás (Finnigan[®], modelo 9001) equipado com coluna Megabore da Ohio Valley, modelo OV-351 de 1 Micron, possuindo 30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro. O número de leituras por amostra foi aquele necessário para que a diferença entre as leituras fosse inferior a 5 %.

Para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal, frações de 2 mL de líquido ruminal foram colocadas em tubos de ensaio contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico 1N e armazenadas sob refrigeração até a realização das análises por colorimetria, segundo método descrito por KULASEK (1972) e adaptado por FOLDAGER (1977).

Para a determinação da concentração de ácido lático total, frações de 2 mL de líquido ruminal foram colocadas em tubos de ensaio vazios e mensurados posteriormente pela técnica colorimétrica, segundo PRYCE (1969).

Degradabilidade *in situ*

A degradabilidade *in situ* da fibra em detergente neutro da cana-de-açúcar, da proteína bruta do farelo de soja e do amido do milho seco foram avaliadas pela técnica descrita por MEHREZ e ØRSKOV (1977). Um dia antes da preparação das amostras, os sacos de náilon medindo 10,0 X 19,0 cm, com porosidade de 50 µm, foram colocados em estufa a 55 °C, a fim de retirar umidade. Os sacos foram pesados em balança analítica de precisão. Aproximadamente sete gramas de amostra foram colocadas em cada saco de náilon, que foi novamente pesado. As amostras dos

alimentos foram previamente secas em estufa a 55 °C por 72 horas e moídas em peneira com furos de 2 mm. Os sacos foram presos à cânula ruminal através de fio de náilon com comprimento mínimo de 50 cm e incubados durante 0; 12; 24; 48; 72; 96 e 120 h para a fonte de fibra (cana-de-açúcar) e 0; 3; 6; 12; 24; 48 e 72 h para a fonte de energia (milho seco moído) e para a fonte protéica (farelo de soja). Imediatamente após a retirada do rúmen, os sacos foram colocados em balde com água gelada para cessar a fermentação. Foram então lavados a mão, em água corrente, até que o líquido da lavagem fluísse incolor e, então, foram colocados em estufa a 55 °C por 72 horas. Posteriormente, foram pesados e submetidos à análise bromatológica. A degradabilidade em tempo zero foi tomada mergulhando os sacos em recipiente contendo água a temperatura de 39 °C, durante 15 minutos (CUMMINS et al., 1983).

Para estimativa dos parâmetros de degradação foi utilizado o modelo proposto por ØRSKOV e McDONALD (1979): $p = a + b(1 - e^{-ct})$, em que “p” é a degradação obtida em cada tempo; “a” é a fração solúvel; “b” é a fração potencialmente degradável da fração insolúvel que seria degradada a uma taxa “c”; “c” é a taxa de degradação da fração “b” e “t” é o tempo de incubação em horas.

Os parâmetros “a”, “b” e “c” da equação exponencial gerados pelo PROC NLIN do SAS (SAS Institute Inc., 2001), foram utilizados para calcular a degradabilidade potencial ($D_p = a + b$), representada pela quantidade de alimento que pode se solubilizar ou degradar dentro do rúmen se o tempo não for um fator limitante. A degradabilidade ruminal efetiva (D_e), que representa a quantidade de alimento realmente degradado, é definida pelo tempo na qual o alimento está realmente no rúmen. Foi calculada segundo o modelo matemático proposto por ØRSKOV e McDONALD (1979): $D_e = a + [(b \times c) / (c + k)]$, em que k é a taxa de passagem de sólidos pelo rúmen. No presente estudo, utilizou-se taxa de passagem de MS de 2,0; 5,0 e 8,0 %/h. Recomenda-se o valor de 2%/h para animais recebendo ração completamente moída e/ou em baixo nível alimentar (uma vez a manutenção), 5%/h para vacas leiteiras de baixa produção (menos que 15 kg de leite /dia) ou gado de corte recebendo alto nível de dietas mistas (menos que duas vezes a manutenção) e 8%/h para vacas leiteiras de alta produção (mais que 15 kg de leite/dia) recebendo dietas mistas (mais que duas vezes a manutenção) (AFRC,1993).

Quando o parâmetro “a” foi negativo, como no caso da degradabilidade *in situ* da cana-de-açúcar, os dados foram ajustados em um modelo alternativo: $p = b(1 - e^{-c(t-L)})$, onde “L” representa o tempo de colonização (McDONALD, 1981). O cálculo da

degradabilidade ruminal efetiva e potencial foi realizado como descrito acima, apenas considerando o parâmetro “a” como valor zero.

Digestibilidade *In Vivo*

A digestibilidade *in vivo* da MS e suas frações foram estimadas por intermédio do indicador óxido crômico - Cr₂O₃ (Vetec[®]) (BATEMAN, 1970). Os animais receberam o óxido crômico, via cânula ruminal, na dosagem de 15,0 g por animal e por dia, sendo as administrações realizadas duas vezes ao dia (7,5 g de indicador/dose), no momento das refeições, e através de envelopes confeccionados em papel absorvente.

Cada subperíodo experimental foi constituído de 21 dias, onde o ensaio de digestibilidade teve duas fases. Uma fase de adaptação ao indicador, compreendida entre os dias 11 e 21, para assegurar a excreção homogênea do óxido crômico. Outra fase foi utilizada para colheita de fezes, compreendida entre os dias 17 e 21.

Para a composição das amostras de fezes, foram colhidas, duas vezes ao dia, aproximadamente 200 g por animal, próximo às refeições. As amostras foram colhidas diretamente do reto, armazenadas em sacos plásticos, identificados para cada animal e mantidas em congelador (-20 °C) até o momento do processamento e análise. Para isso, as amostras foram colocadas em bandejas de alumínio e secas em estufa a 55 °C, por aproximadamente 72 horas. Após a secagem, foram moídas em moinho equipado com peneira de furos de 1mm e homogeneizadas.

A concentração do óxido crômico foi determinada por colorimetria através de sua reação com s-difenilcarbazida, segundo GRANER (1972). As análises bromatológicas dos alimentos e fezes foram realizadas conforme metodologia descrita previamente nesta seção. O extrativo não-nitrogenado (ENN) dos alimentos e dietas foi calculado pela fórmula $\%ENN = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDN + \%MM)$ e o teor de nutrientes digestíveis totais pela fórmula $NDT = PBD + FDND + ENND + (2,25 \times EED)$, adaptado de SNIFFEN et al. (1992), em que, PBD = proteína bruta digestível, FDND = fibra em detergente neutro digestível, ENND = extrato não-nitrogenado digestível e EED = extrato etéreo digestível.

Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2001). As variáveis consumo, degradabilidade *in situ* e digestibilidade *in vivo* foram submetidos à análise de variância, que separou como causas de variação efeito de tratamentos, efeito de período, efeito de animal dentro de quadrado, bem

como efeito de quadrado. Para as variáveis pH ruminal, concentração ruminal de AGCC, ácido lático total e N-NH₃ foi adicionado ao modelo o fator medidas repetidas no tempo, referente às diferentes horas de amostragem e analisadas pelo PROC MIXED do SAS. A análise por tempo somente foi realizada quando as interações entre efeito de tempo e efeito de tratamentos foram significativas (Tabela 2). O efeito de tratamento (doses do PAP) foi avaliado pelo uso de regressão polinomial, separando-se os efeitos em linear, quadrática e desvio da quadrática.

Tabela 2. Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino 4 X 4 duplicado com tratamentos estruturados em doses

Causas de variação	Graus de liberdade
Tratamentos	3
Linear	[1]
Quadrática	[1]
Desvio da quadrática	[1]
Período	3
Animal dentro de quadrado	6
Quadrado	1
Resíduo	18
Total	31

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Consumo de Matéria Seca

Os dados de consumo encontram-se na Tabela 03.

Não foi observado efeito significativo ($p > 0,05$) de tratamento sobre o consumo de matéria seca, que apresentou a média de 13,49 kg/MS/animal durante o período experimental. De forma geral, o consumo de matéria seca (CMS) foi em média de 2,11% do peso vivo, independentemente do tratamento, apresentando-se dentro do esperado para a categoria animal utilizada e para a dieta proposta.

O CMS é um fator relevante na produção de bovinos de corte, seja a pasto ou em confinamento, e sua maximização é o principal objetivo dos nutricionistas, pois determina a quantidade de nutrientes ingeridos e disponíveis para o animal. Em diversas situações, trabalha-se com CMS estimado, que deve ser considerado com cautela, pois os programas utilizados para a formulação das dietas não consideram todos os fatores intrínsecos ao consumo pelo animal, sendo que tais estimativas podem gerar dados diferentes do apresentado pelo animal.

Tais fatores estão relacionados aos mecanismos que controlam o CMS em bovinos, mecanismos nos quais são complexos e ainda não totalmente compreendidos. Os mecanismos envolvidos no controle do consumo vão desde a apreensão do alimento pela boca, mastigação, odor e digestão até a absorção. No estômago, intestino e fígado há uma série de receptores que transmitem informações ao o sistema nervoso central (SNC) sobre volume, osmolaridade, pH e concentração de compostos específicos no trato gastrointestinal e no sangue. Estes fatores geram um efeito em cascata de retroalimentação (*feedback*), os quais são utilizados na seleção de alimentos ingeridos e no controle da ingestão voluntária.

Tabela 03 Efeito das doses do PAP sobre os valores de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV) e consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) em bovinos recebendo dieta de alto concentrado

Variável	Tratamentos					Probabilidade ²			
	0,0	1,5	3,0	4,5	Média	EPM ¹	Linear	Quad.	Desvio
CMS, kg/animal/dia	13,45	13,19	14,03	13,31	13,49	0,44	NS	NS	NS
CPV, %/ do PV	2,10	2,04	2,19	2,11	2,11	0,04	NS	NS	NS
CPM, g/kg de PV ^{0,75}	105,20	102,67	109,47	105,33	105,67	2,23	NS	NS	NS

¹EPM: erro padrão da média.

²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.
NS = Não significativo ao nível de 5% de significância.

Segundo o modelo proposto por Mertens (1992), os animais consomem o suficiente para atender as suas exigências nutricionais de energia (regulação metabólica do consumo) ou quando atingem limite máximo de ingestão pelo enchimento do trato digestivo (FDN) (regulação física do consumo).

Tem se observado que anticorpos policlonais podem aumentar a IMS em bovinos confinados devido à fermentação mais saudável, que leva a menor produção de ácido láctico e, conseqüentemente, melhor ambiente ruminal para ação dos microrganismos do rúmen.

Em experimento com bovinos jovens confinados comparando monensina *versus* PAP, Millen et al. (2007) observaram consumo de matéria seca do grupo recebendo PAP similar ao do grupo suplementado com monensina. Porém, em relação ao consumo em função do peso vivo, estes autores observaram que esta variável foi mais elevada no grupo PAP.

Alguns autores (Shu et al., 1999; Gill et al., 2000; Shu et al., 2000; Dahlen et al., 2003) têm relatado aumentos na ingestão de matéria seca quando anticorpos policlonais específicos contra bactérias ruminais são administrados a bovinos alimentados com dietas de alto concentrado.

Uma teoria vem sendo estudada por diversos pesquisadores que afirmam que os animais se alimentam com a intenção de minimizar seu desconforto através da ingestão de maiores ou menores quantidades de um determinado nutriente (Forbes, 2001).

Algumas considerações foram sendo incorporadas a um modelo de ingestão de alimentos, descrito por Forbes (1999) e Forbes e Provenza (2000) que se baseia em algumas premissas, dentre elas, a integração de todos os desconfortos gerados por todos os alimentos forma um sinal de desconforto total e a ingestão e/ou seleção de alimentos muda(m) de acordo com a necessidade de o animal minimizar seu desconforto. Além do mais, os animais aprendem a associar as propriedades organolépticas dos alimentos e das dietas com o desconforto gerado após a ingestão dos mesmos, como no caso de dietas que promovam quedas acentuadas no pH ruminal, gerando distúrbio nutricional conhecido como acidose ruminal, onde os

animais, ao se sentirem desconfortáveis, diminuem ou até mesmo cessam o consumo da mesma com o intuito de diminuir o desconforto por ela causado.

Esperava-se que animais recebendo PAP apresentassem consumo de matéria seca maior em relação ao grupo controle, pois, teoricamente, animais suplementados deveriam apresentar maiores valores de pH ruminal em relação aos animais não suplementados. Essa suposição é baseada no fato de que, com valores maiores de pH, o ambiente ruminal seria mais estável o que reduziria as flutuações de consumo pelo fato de o animal não ter a necessidade de diminuir a ingestão por conta de seu desconforto em relação à dieta.

Porém, tal suposição não foi sustentada no presente estudo, como foi observado pelos valores de consumo e pH ruminal que não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Talvez tal suposição poderia ser confirmada se fosse uma dieta com níveis mais elevados de carboidratos prontamente fermentescíveis.

pH ruminal

Os valores médios de pH ruminal se encontram na Tabela 04 e sua demonstração gráfica pode ser visualizada na Figura 01.

Não houve efeito de interação entre tempo e tratamento ($p = 0,3513$) para os valores de pH ruminal. Independentemente do tempo de amostragem também não foi observado efeito linear ou quadrático dos níveis de administração do PAP sobre o pH. Apenas foi observado efeito de desvio da quadrática.

O fornecimento de alimentos prontamente fermentescíveis gera excesso de produção de ácidos no interior do rúmen que leva à queda nos valores de pH ruminal. Tal queda é acentuada nas 3 - 4 horas após a alimentação, caracterizando o pico de fermentação ruminal. Neste período, o acúmulo excessivo de ácidos pode levar o animal a um quadro de distúrbio nutricional, como por exemplo, a acidose.

No presente trabalho tal queda acentuada nos valores de pH ruminal foi observada (Figura 01) com 0400 horas após a alimentação, apresentando o valor médio de 5,52 (Tabela 03), sendo que neste mesmo período um animal chegou a

apresentar valor de pH ruminal de 4,73, sendo este o valor mais baixo encontrado no presente experimento.

DiLorenzo et al. (2006), utilizando novilhos recebendo PAP contra *S. bovis* (PAPSb) em dieta de alto concentrado, o pH ruminal às 5,5 h após a alimentação foi mais elevado no grupo PAP (6,08) quando comparado ao controle (5,67). Além disso, a contagem de *S. bovis* foi menor no grupo suplementado com PAPSb. Blanch et al. (2009) observaram que o pH ruminal de novilhas que recebiam PAPSb foi maior quando comparado ao grupo controle nos dias 16 (6,70 vs. 6,11), 18 (6,54 vs. 5,95) e 19 (7,26 vs. 6,59) do período experimental. DiLorenzo et al. (2007) observaram que um PAP contra bactérias proteolíticas, amilolíticas e Gram negativas foi eficaz em modular o pH em vacas leiteiras em início de lactação. O pH médio diário (6,07 vs. 5,75) e o pH máximo diário (6,82 vs. 6,36) foi mais elevado nos animais suplementados com PAP quando comparados ao controle. Em ensaio *in vitro* com fluido ruminal de vacas leiteiras em início de lactação suplementadas com o mesmo PAP Dahlen et al. (2003) observaram maiores valores de pH ruminal às 4,5 h (6,04 vs. 5,85) e 6 h (5,20 vs. 5,08) neste grupo, quando comparado ao controle.

DiLorenzo et al. (2008), trabalhando com preparados de anticorpos policlonais contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) e *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn), em 16 animais fistulados alimentados com dietas de alto grão, encontraram dados de pH diferentes dos apresentados neste trabalho. A média diária de pH ruminal foi maior ($p < 0,05$) para os animais que receberam a mistura dos dois produtos quando comparados àqueles animais que receberam um PAP específico ou ao do grupo controle, contrariando os resultados obtidos no presente estudo.

Neste mesmo experimento, DiLorenzo et al. (2008) encontraram valores maiores de pH ruminal ($p < 0,05$) nas primeiras quatro horas após a alimentação para os animais que receberam tanto o PAP-Fn quanto a combinação dos dois em relação aos animais do grupo controle.

Marino (2008) em trabalho comparando diferentes fontes energéticas e três aditivos, PAP, monensina e controle encontrou valores de pH, com 0400 horas após a alimentação, mais elevados para os grupos monensina e PAP em relação ao grupo controle, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) entre esses dois

tratamentos, mostrando que o PAP foi eficaz em manter o pH durante o pico de fermentação após a alimentação.

Os valores médios observados de pH ruminal e a ausência de diferença significativa entre os tratamentos sugerem que a possível falta de atuação do produto pode ter sido devida ao fato da dieta não ter proporcionado condições de fermentação que levassem à maior concentração de ácidos no rúmen, gerando queda mais acentuada no pH ruminal, o que ocasionaria o aparecimento das bactérias do grupo *Streptococcus* spp e *Lactobacillus* sp.

Porém, o objetivo da dieta utilizada não era de causar acidose clínica e sim de manter níveis mais elevados de produção de ácidos no rúmen, com aumento na densidade energética, simulando as dietas atuais utilizadas nos confinamentos brasileiros. Millen et al. (2009), realizaram importante pesquisa com os nutricionistas brasileiros, em uma tentativa de caracterizar o tipo de dieta utilizada nos confinamentos do Brasil. Tal pesquisa demonstrou que, em relação à participação do volumoso, a inclusão média (em % da MS total da dieta) é de 28,8%, sendo a cana-de-açúcar a principal fonte de forragem utilizada (32,3% dos nutricionistas consultados). No presente experimento, o valor referente à participação da cana-de-açúcar em relação à porcentagem da MS da dieta foi de 26,80%.

O pH ruminal é uma variável correlacionada ao comportamento ingestivo do animal e que depende do tempo de mastigação e salivação, bem como da frequência de ingestão e ruminação, entre outros (Paziani, 2004), sendo que o valor de pH ruminal pode ser mantido pelo aumento do poder de neutralização pela saliva ou diminuído pela produção de ácidos (Church, 1993). Um ponto a ser questionado neste experimento é que o teor de FDN da dieta (23,7%) pode ter favorecido maior taxa de mastigação e, por consequência, de salivação, mantendo a estabilidade do ambiente ruminal, apesar de que a efetividade da fibra da cana-de-açúcar ser baixa. Como tais parâmetros, taxa de mastigação e salivação, não foram os objetivos desse trabalho, não é possível confirmar ou refutar essa hipótese.

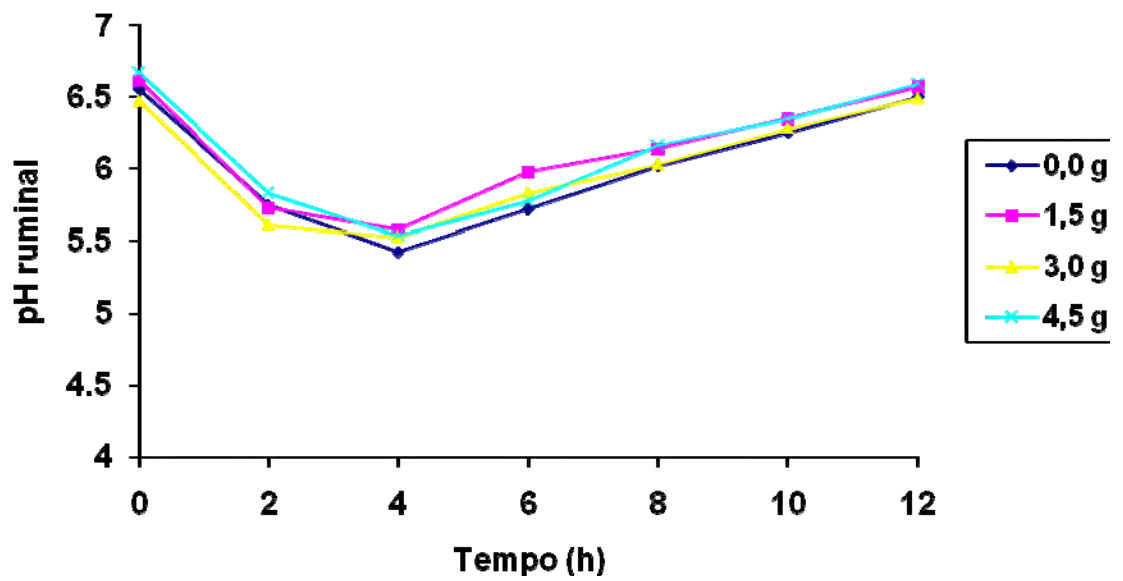


Figura 01 Valores de pH ruminal obtidos com os tratamentos compostos por diferentes níveis de administração do PAP (preparado de anticorpos policlonais) em função do tempo

Tabela 04 Efeito das doses do PAP sobre os parâmetros de fermentação ruminal em bovinos recebendo dieta de alto concentrado

Variável	Tratamentos					Probabilidade ²			
	0,0	1,5	3,0	4,5	EPM ¹	Linear	Quad.	Desvio	Int. T x T ³
pH médio total	6,03	6,14	6,04	6,13	0,03	NS	NS	NS	NS
pH médio às 4 horas	5,43	5,58	5,53	5,54	0,053	NS	NS	NS	-
AGCC total, mM	103,00	96,36	109,93	97,89	1,69	NS	NS	NS	NS
Acetato, % Molar	60,04	60,12	60,58	61,09	0,38	NS	NS	NS	NS
Propionato, % Molar	26,14	26,40	27,02	24,91	0,42	NS	NS	NS	NS
Butirato, % Molar	13,81	13,48	12,40	14,00	0,24	NS	NS	NS	NS
Relação Ac:Pr	2,47	2,58	2,39	2,58	0,05	NS	NS	NS	NS
N-NH ₃ , mg/dL	10,04	9,24	8,12	10,20	0,49	NS	NS	NS	NS

¹EPM: erro padrão da média.

²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.

³Interação Tempo x Tratamento. NS = Não significativo ao nível de 5% de significância.

AGCC = ácidos graxos de cadeia curta

Concentração total e proporções molares dos ácidos graxos de cadeia curta

Os valores da concentração total dos ácidos graxos de cadeia curta, bem como suas proporções molares estão demonstrados na Tabela 04 e podem ser visualizados nas Figuras 02 e 03 a, b, c e d. Para tais parâmetros, não foram observadas interações significativas entre tempo e tratamento ($p > 0,05$).

Não foi observado efeito de interação entre tempo e tratamento para a concentração de AGCC total ($p = 0,8964$) (Figura 02), porém houve efeito de desvio da quadrática para efeito de dosagem (tratamento) no tempo médio ($p = 0,0017$) e nos tempos oito e 10 horas após alimentação.

Além do mais, não foi observado efeito de interação tempo e tratamento para as proporções molares dos ácidos acético ($p = 0,0217$) (Figura 03a), propiônico ($P = 0,4209$) (Figura 03b) e butírico ($p = 0,0023$) (Figura 03c), bem como para a relação acético:propiônico ($p = 0,4646$) (Figura 03d), tampouco efeito de dose.

Corroborando com esses dados, Dahlen et al. (2003) não observaram diferença na concentração total de AGCC em vacas lactantes suplementadas com PAP produzido contra bactérias proteolíticas ruminais. Porém, Blanch et al. (2009) observaram maior concentração total de AGCC para o grupo PAPSb (147,1 mM), quando comparado ao grupo controle (132,9 mM), 6 h após a alimentação de novilhas com dietas de alto concentrado.

Segundo Marino (2008), a retirada de microrganismos específicos do ambiente ruminal com a administração do PAP pode não interferir de forma marcante nos processos fermentativos, a ponto de alterar a proporção molar dos AGCC. DiLorenzo et al. (2006) observaram que, em dietas onde o preparado de anticorpos policlonais contra *S. bovis* (PAPSb) ou *F. necrophorum* (PAPFn) foi utilizado, houve redução nas concentrações ruminais dos microrganismos específicos para os quais o produto foi desenvolvido. A concentração de *F. necrophorum* não foi alterada pelo uso de PAP contra *S. bovis* e a concentração de *S. bovis* não foi alterada pela utilização de um PAP contra *F. necrophorum*, comprovando a especificidade do produto. Marino (2008) sugere novos estudos com intuito de caracterizar e quantificar a microbiota ruminal, além de estimar a atividade metabólica dos microrganismos sob utilização do preparado de anticorpos policlonais, a fim de melhor compreender seu efeito nos processos de fermentação ruminal.

Os valores das proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico, bem como a relação acético:propiônico, condizem com os valores esperados para a relação volumoso:concentrado utilizada nesta dieta (27:73), mostrando que a dieta apresentou padrão de fermentação esperado, como relatado por Annison e Armstrong (1970) e Sutton et al. (2003), quando utilizaram em seus experimentos cana-de-açúcar mais silagem de milho.

Valores mais baixos da relação Ac:Pr, como observados no presente experimento, são devidos, possivelmente, à inibição do crescimento de microrganismos celulolíticos e de protozoários (ambos produtores de acetato), associada à rápida taxa de fermentação dos carboidratos estruturais e à queda do pH ruminal.

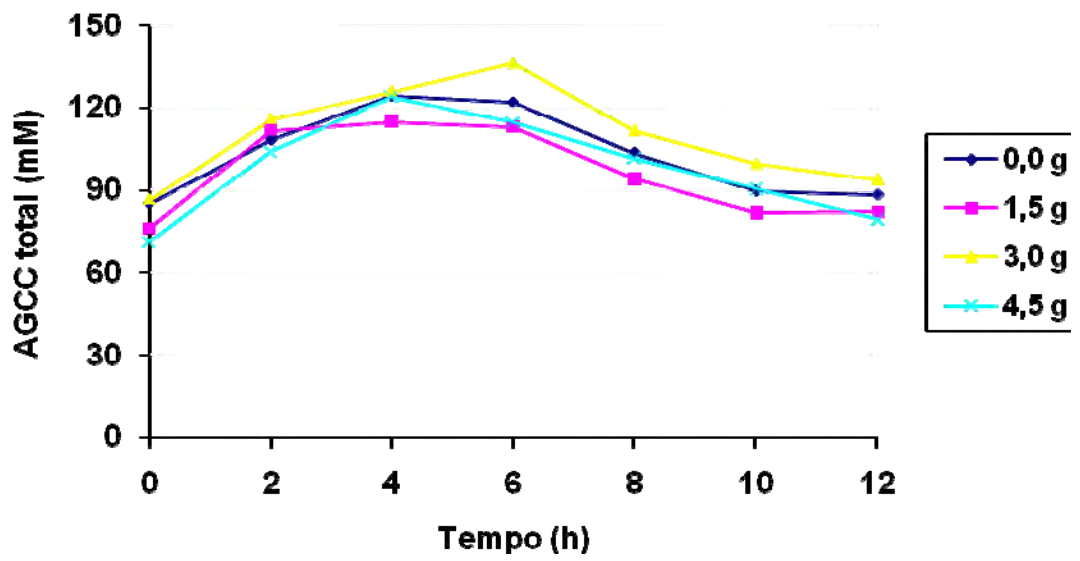


Figura 02 Valores das concentrações totais dos ácidos graxos de cadeia curta em animais recebendo diferentes doses do PAP função do tempo

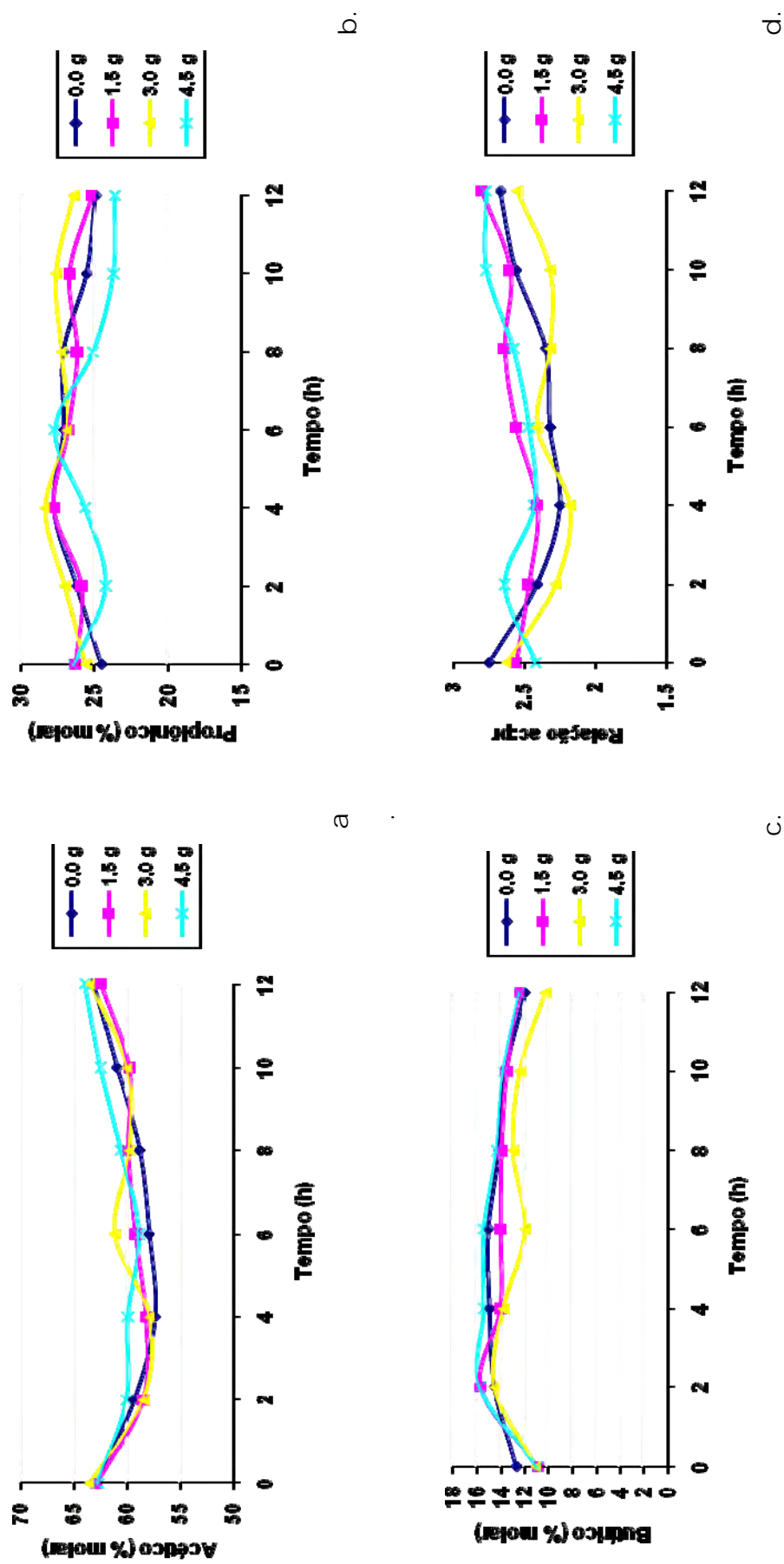


Figura 03 Valores das proporções molares (% molar) de acetato (a.), propionato (b.), butirato (c.) e relação acético:propiónico (d.) dos tratamentos compostos por diferentes níveis de PAP

Lactato

Os valores de lactato estão demonstrados na Tabela 05 e na Figura 04.

Mesmo não tendo sido observado efeito de interação entre tempo e tratamento ($p = 0,5756$) para a concentração do lactato, realizou-se a avaliação dos efeitos de tratamento dentro de cada tempo. Desta forma, foi observado efeito linear de doses do PAP às 4 horas após a alimentação ($p = 0,0426$).

Em pH 5,6, o lactato é produzido, porém não se acumula no meio, porque as bactérias fermentadoras de lactato estão ativas e o metabolizam a ácidos graxos de cadeia curta. Em pH próximo ou abaixo de 5,0, os microrganismos fermentadores de lactato são inibidos e o lactato começa a acumular (Nagaraja e Titgemeyer, 2007). Resultados de concentração de lactato total semelhantes, em média 0,27 mM, independentemente do tratamento, foram observados por Mendoza et al. (1998). Semelhantemente ao presente ensaio, o valor médio de pH observado por Mendoza et al. (1998) foi 6,2, independentemente do tratamento.

Já Maruta e Ortolani (2002) observaram concentrações de lactato total bem mais elevadas (116 mMol/L), quando comparados a este estudo. Contudo, o pH mais baixo observado, no experimento dos pesquisadores acima citados, foi de 4,2 às 4 h após a alimentação. Em modelos de indução de acidose revisados por Nagaraja e Titgemeyer (2007), quando o pH estava em torno de 5,5-5,7, as mensurações da concentração de lactato no líquido ruminal foram baixas (<5-22 mM). No entanto, quando os modelos utilizados conseguiram atingir valores de pH entre 4,0-4,8, as concentrações de lactato foram bem mais elevadas e variaram entre 58-140 mM.

Mesmo não tendo sido observado efeito de interação entre tempo e tratamento ($p = 0,5756$) para a concentração do lactato, realizou-se a avaliação dos efeitos de tratamento dentro de cada tempo. Desta forma, foi observado efeito linear de doses do PAP às 4 horas após a alimentação ($P = 0,0426$). Isso sugere que o produto atuou de alguma forma no momento de maior atividade fermentativa do rúmen, onde as concentrações de AGCCs são maiores, que leva a redução do pH ruminal e o possível aparecimento de microrganismos produtores do ácido láctico. O R^2 (coeficiente de determinação) de 0,1413, embora baixo, indica que os tratamentos explicaram 14,13% de toda variabilidade observada para as concentrações de lactato ruminal.

As concentrações de ácido láctico no momento 4 horas após a alimentação apresentaram valores decrescentes (0,21 mM, 0,22 mM, 0,16 mM e 0,09 mM) à medida que a dose de PAP administrada aumentava (0,0g, 1,5g, 3,0g e 4,5g, respectivamente). Como o PAP utilizado no presente estudo foi produzido contra *Streptococcus bovis*, e essa bactéria é produtora de lactato, tal efeito pode ser explicado pela maior seletividade do produto por esse microrganismo, diminuindo sua população no rúmen à medida que a dose do PAP aumentou.

Esse efeito, apesar de pouco representativo na média geral da variável lactato, sugere que o produto possa apresentar eficácia maior de atuação quando utilizado em animais alimentados com dietas que proporcionem maior instabilidade ruminal do que a utilizada neste estudo, como dietas que induzam os animais a apresentarem acidose aguda.

Todavia, os valores da concentração de lactato total, observados no presente estudo, encontram-se bem abaixo dos descritos na literatura quando animais apresentam acidose aguda. Provavelmente, estes valores estão relacionados ao pH médio (6,08) como apresentados neste estudo, independentemente do tratamento, o que confirma a hipótese de necessidade de dietas com maiores quantidades de carboidratos prontamente fermentescíveis que dêem condições do produto agir.

Tabela 05 Efeito dos diferentes níveis de PAP sobre as concentrações de lactato (em mM) no rúmen de bovinos recebendo dieta de alto concentrado em diferentes horários de mensurações

Tempo (h)	Tratamentos					EPM ¹	CV	Probabilidade ²				T x T
	0,0	1,5	3,0	4,5	63,18			Linear	Quad.	Desvio	R ²	
0	0,18	0,19	0,21	0,14	63,18	0,02	0,5574	0,2897	0,5939	-	NS	
2	0,27	0,36	0,16	0,13	115,26	0,05	0,2403	0,4680	0,5176	-	NS	
4	0,21	0,22	0,16	0,09	73,06	0,02	0,0426	0,3145	0,7448	0,1413	NS	
6	0,17	0,19	0,13	0,16	56,73	0,02	0,5386	0,8852	0,2036	-	NS	
8	0,18	0,18	0,13	0,17	60,15	0,02	0,6504	0,6410	0,3955	-	NS	
10	0,10	0,13	0,12	0,13	78,93	0,02	0,4539	0,6953	0,6490	-	NS	
12	0,17	0,17	0,14	0,15	53,60	0,02	0,5101	0,9271	0,6654	-	NS	
Média	0,18	0,21	0,15	0,14	81,78	0,009	0,2472	0,4662	0,5545	-	NS	

¹EPM: erro padrão da média.

²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.

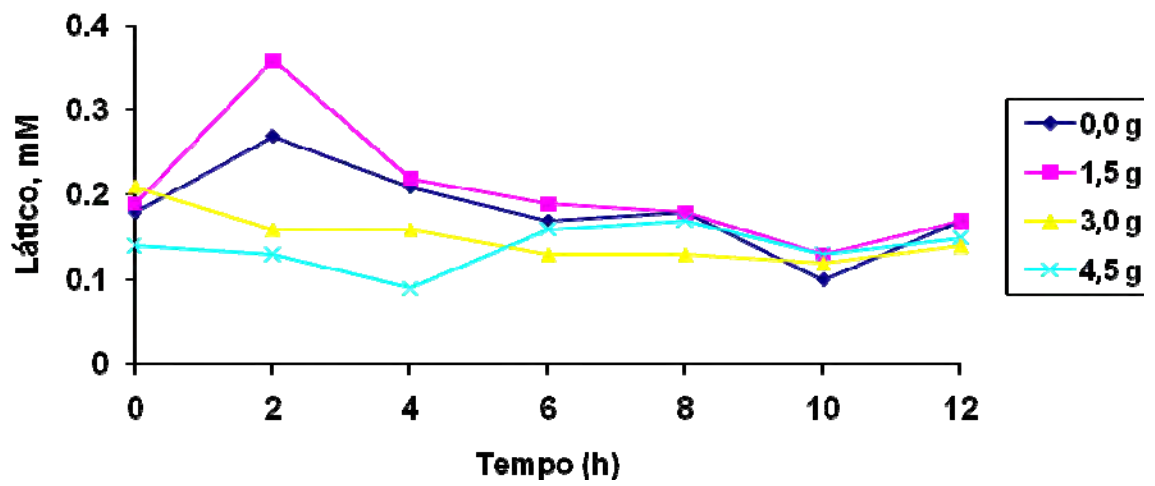


Figura 04 Valores da concentração ruminal de lactato (mM) com diferentes níveis de PAP em função do tempo

Nitrogênio amoniacal

Os dados referentes às concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen podem ser encontrados na Tabela 04 e visualizados na Figura 05.

A amônia ruminal é originária da degradação da proteína verdadeira da dieta, do NNP da dieta, da reciclagem do N para o rúmen na forma de uréia e da degradação das células microbianas mortas no rúmen. Seu pico é dependente da fonte de nitrogênio presente na dieta. No caso de fornecimento de uréia, o pico de amônia ocorre normalmente de 1 a 2 horas após a alimentação. Já no caso de fornecimento de fontes de proteína verdadeira, esse pico ocorre entre três a cinco horas após a alimentação, dependendo da degradabilidade ruminal dessa fonte (Santos, 2006).

Maiores concentrações do nitrogênio amoniacal ocorreram entre zero e duas horas após a alimentação, apesar da fonte protéica da dieta ter sido farelo de soja, que possui taxa de degradabilidade ruminal menor que fontes de NNP (Figura 04).

Observa-se também redução na concentração de N amoniacal às quatro horas após a alimentação, o que pode ser justificada pelo aumento na disponibilidade de energia ruminal, devida à fermentação dos ingredientes da dieta no rúmen, possibilitando maior utilização da amônia pelos microrganismos ruminais para o seu crescimento (Carvalho et al., 1997).

No presente estudo, não foi encontrado efeito de interação entre tempo e tratamento ($p = 0,4524$) para os valores de $N-NH_3$. Corroborando com esses resultados, Dahlen et al. (2003) não observaram efeito sobre a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em vacas lactantes alimentadas com PAP e Marino (2008) também não observou diferença na concentração de nitrogênio amoniacal em ensaio utilizando animais fistulados. Apesar de não haver efeito significativo de interação entre tempo e tratamento, houve efeito quadrático de tratamento ($p = 0,0142$) às duas horas após a alimentação.

A concentração média de nitrogênio amoniacal foi de 9,04 mg/dL. Tais valores estão acima da concentração mínima (5,0 mg/dL) para a produção máxima de proteína microbiana, como descrito por Satter e Slyter (1974).

Porém, existem controvérsias a respeito das concentrações mínimas de amônia no fluido ruminal em relação a maximização da síntese microbiana. Trabalhos, realizados *in situ*, têm sugerido valores muito superiores a cinco mg/dL. Tais valores sugeridos indicam que 22 mg/dL de nitrogênio amoniacal seriam necessários para maximizar a fermentação de fontes de carboidratos de alta degradabilidade. Quando analisados os valores médios de concentração ruminal as zero e duas horas após a alimentação (18,05 e 16,79, respectivamente), observa-se valores mais próximos ao referido acima (22 mg/dL) e, considerando que os alimentos utilizados na dieta apresentam taxas de fermentação ruminal altas (cana-de-açúcar, silagem de grão úmido de milho e milho fubá), pode-se inferir que houve disponibilidade de amônia e energia para que ocorra síntese de proteína microbiana e degradação dos alimentos, refletido na queda do pH nas horas seguintes e redução na concentração dos teores de nitrogênio amoniacal às quatro horas após alimentação, como referido anteriormente, que alcançou valores mínimos entre 3,27 mg/dL e 4,74 mg/dL às quatro e seis horas. Já na média geral, a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen foi de 9,4 mg/dL.

Considerando que o PAP utilizado neste estudo foi produzindo contra algumas bactérias proteolíticas, *Peptostreptococcus* sp., *Clostridium aminophilum* e *C. sticklandii*, era esperado que houvesse um efeito na redução da concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen conforme se aumentasse às doses do PAP. Isso porque haveria menores concentrações de tais populações proteolíticas no rúmen, com a maior seletividade dessas populações pelo produto, que diminuiriam a proteólise ruminal. Porém tal efeito não foi observado.

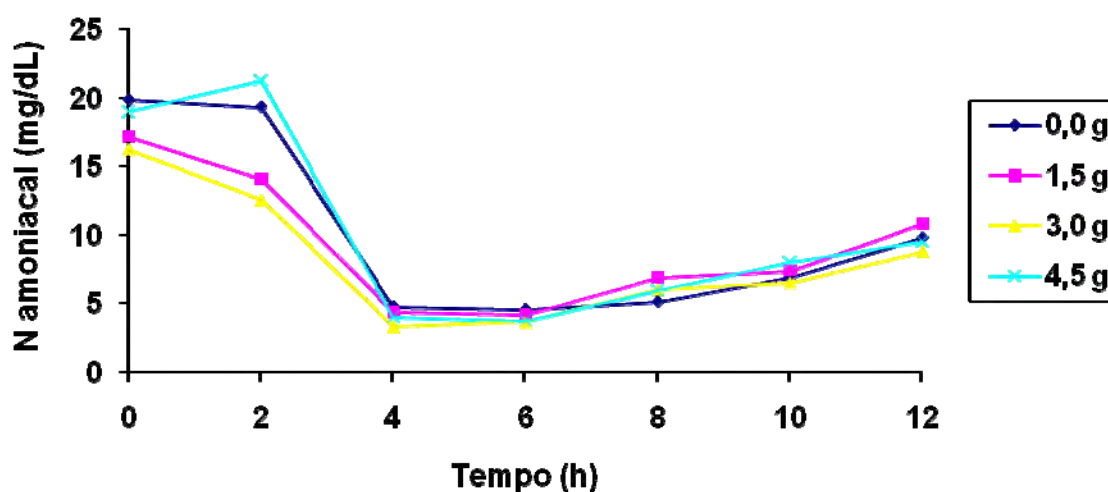


Figura 05 Valores da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (mg/dL) com diferentes níveis de PAP em função do tempo

Degradabilidade *in situ*

Os dados referentes aos resultados encontrados para a degradabilidade *in situ* da FDN da cana-de-açúcar encontram-se na Tabela 06.

Foi observado efeito quadrático das dosagens do PAP sobre as variáveis B, C e Dp da degradabilidade da FDN da cana-de-açúcar.

Para estimativa dos parâmetros de degradabilidade ruminal da FDN da cana-de-açúcar utilizou-se um modelo alternativo ao de Ørskov e McDonald (1979), proposto por McDonald (1981). Tal substituição foi realizada devido a valores negativos da variável A deste alimento. Esse fato pode estar relacionado a desvios na predição desta fração. Teoricamente, a proporção da fração A na FDN deveria ser próxima a zero, por ser esta uma fração prontamente solúvel. Estimativas ao redor de 6-8 % podem ocorrer devido à perda de pequenas partículas durante a lavagem dos sacos de náilon (Schmidt et al., 2007).

Os valores para a degradabilidade efetiva da FDN da cana-de-açúcar, independentemente dos tratamentos analisados, mostraram-se relativamente baixos. O valor observado neste experimento para degradabilidade efetiva de FDN da cana-de-açúcar a 0,02%/h foi igual a 15,12%, o que contraria o demonstrado por Franzolin e Franzolin (2000a) que observaram para De a 0,02%/h da FDN o valor de 42,4% em

bovinos alimentados com dietas de alto volumoso. Isto possivelmente ocorreu devido às diferenças na proporção volumoso:concentrado entre o atual experimento e os citados acima, ao estágio de maturação e/ou variedade de cana-de-açúcar utilizada. Isto é compreensivo, já que o ambiente ruminal de animais recebendo maior quantidade de carboidrato prontamente fermentescível, como é o caso do atual experimento, apresenta pH mais ácido que um ambiente com maior presença de fibras, diminuindo a população de bactérias celulolíticas e, por conseguinte, diminuindo a degradabilidade da fibra.

Esse efeito é provavelmente relacionado com uma preferência de espécies bacterianas como *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes* e *Prevotella ruminicola* pela utilização dos carboidratos prontamente fermentescíveis disponíveis, ao invés de despende sua energia para a produção de fatores de adesão e celulasas para a digestão da fibra (Miron et al., 1996).

Otero (2008) observou aumento da Dp da FDN da cana-de-açúcar, com a utilização do preparado de anticorpos policlonais em relação a monensina, mas não em relação ao grupo controle.

Tabela 06 Efeito das dosagens de PAP sobre a degradabilidade *in situ* da FDN da cana-de-açúcar de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado (em %)

Variável	Tratamento					Média	EPM ¹	Probabilidade ²			Equação	R ²
	0,0	1,5	3,0	4,5	3,0			Linear	Quad.	Desvio		
B	51,09	30,47	33,49	49,71	41,19	3,62	0,6204	0,0051	0,3409		$Y = 50,56 - 18,49x + 4,09x^2$	0,21
C	0,0120	0,0277	0,0207	0,0134	0,0184	0,002	0,8831	0,0102	0,1023		$Y = 0,013 + 0,011x - 0,0026x^2$	0,24
L	2,89	4,03	2,65	3,98	3,39	0,36	0,5442	0,8904	0,1023		-	-
De 2%	14,80	13,95	14,85	16,87	15,12	0,73	0,1162	0,1535	0,8871		-	-
De 5%	7,65	8,17	8,42	8,95	8,30	0,43	0,1921	0,9990	0,8581		-	-
De 8%	5,18	5,84	5,90	6,11	5,76	0,31	0,2404	0,6716	0,7613		-	-
Dp	51,09	30,47	33,49	49,71	41,19	3,62	0,6204	0,0051	0,3409		$Y = 50,56 - 18,49x + 4,09x^2$	0,21

¹EPM: erro padrão da média.

²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.

B = fração potencialmente degradável da fração insolúvel que seria degradada a uma taxa C.

C = taxa de degradação da fração B.

L = tempo de colonização.

De = degradabilidade efetiva.

Dp = degradabilidade potencial.

Os dados referentes a degradabilidade da proteína bruta do farelo de soja encontram-se na Tabela 07.

Em linhas gerais, os dados da degradabilidade da PB do farelo de soja apresentaram mais baixos que o citado, por exemplo, por Rodrigues (2000), que observou valores para a PB do farelo de soja de 8,92 para a fração A; 93,34 para a fração B; 0,1136 para taxa de degradação C; 86,65 para a De a 0,002%/h; 71,51 para a taxa de degradação a 0,005%/h; 61,52 para a taxa de degradação a 0,008%/h e 102,26 para a Dp.

Não foram observados efeitos da utilização de diferentes doses do PAP na degradabilidade *in situ* da PB do farelo de soja. Dados semelhantes foram observados por Otero (2008).

Esperava-se observar maior efeito do PAP sobre os parâmetros de degradabilidade, uma vez que o produto possui anticorpos contra bactérias proteolíticas (*Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium aminophilum* e *Clostridium sticklandii*). Onde tal seletividade do produto sobre tais bactérias alteraria a proteólise ruminal alterando a degradabilidade do farelo de soja.

Tabela 07 Efeito de diferentes dosagens de PAP sobre a degradabilidade *in situ* da PB do farelo de soja de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado (em %)

Variável	Tratamento					Média	EPM ¹	Probabilidade ²			Equação	R ²
	0,0	1,5	3,0	4,5	6,92			Linear	Quad.	Desvio		
A	7,86	7,41	6,93	6,92	7,28	0,40	0,2622	0,7340	0,8628	-	-	
B	94,19	94,05	94,09	94,27	94,15	0,50	0,9452	0,8630	0,9932	-	-	
C	0,0451	0,0511	0,0462	0,0521	0,0486	0,002	0,1801	0,6600	0,1314	-	-	
De 2%	72,21	74,73	72,28	74,52	73,43	0,64	0,3706	0,8973	0,0621	-	-	
De 5%	51,79	54,72	51,85	54,55	53,23	0,80	0,3638	0,9281	0,0664	-	-	
De 8%	41,28	43,91	41,18	43,73	42,52	0,78	0,4010	0,9753	0,0650	-	-	
Dp	102,05	101,46	101,02	101,19	101,43	0,28	0,2130	0,4785	0,8446	-	-	

¹EPM: erro padrão da média.

²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.

A = fração solúvel.

B = fração potencialmente degradável da fração insolúvel que seria degradada a uma taxa C.

C = taxa de degradação da fração B.

De = degradabilidade efetiva.

Dp = degradabilidade potencial.

Os dados referentes à degradabilidade do amido do milho seco moído encontram-se na Tabela 08.

Foi observado um efeito quadrático para as frações A e B.

Otero (2008) observou que o grupo tratado com PAP apresentou diminuição da fração solúvel (A) do amido do milho seco moído de 45,26% e 45,37% em relação ao grupo controle e monensina, respectivamente.

Tabela 08 Efeito das dosagens de PAP sobre a degradabilidade *in situ* do amido do milho seco de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado (em %)

Variável	Tratamento				Média	EPM ¹	Probabilidade ²			Equação	R ²
	0,0	1,5	3,0	4,5			Linear	Quad.	Desvio		
A	8,00	8,62	8,90	7,01	8,13	0,32	0,3302	0,0527	0,5059	$Y = 7,91 + 1,07x - 0,28x^2$	0,15
B	90,31	89,51	88,98	92,34	90,29	0,50	0,2031	0,0399	0,4006	$Y = 90,43 - 1,71x + 0,46x^2$	0,19
C	0,0514	0,0509	0,0531	0,0491	0,0511	0,001	0,7071	0,5354	0,4815	-	-
De 2%	72,79	72,61	73,20	72,27	72,72	0,38	0,7492	0,5850	0,4499	-	-
De 5%	53,58	53,54	54,42	52,44	53,50	0,52	0,5757	0,3426	0,4061	-	-
De 8%	43,18	43,26	44,17	41,88	43,12	0,51	0,5167	0,2564	0,3836	-	-
Dp	98,31	98,13	97,88	99,35	98,42	0,33	0,3187	0,1988	0,5287	-	-

¹EPM: erro padrão da média.

²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.

A = fração solúvel.

B = fração potencialmente degradável da fração insolúvel que seria degradada a uma taxa C.

C = taxa de degradação da fração B.

De = degradabilidade efetiva.

Dp = degradabilidade potencial.

Digestibilidade *in vivo*

Os valores dos coeficientes de digestibilidade *in vivo* da matéria seca e suas frações, bem como os nutrientes digestíveis totais, estão demonstrados na Tabela 09 e podem ser visualizados na Figura 06.

De forma geral, independentemente de tratamento, os dados encontram-se dentro do esperado para dietas com relação volumoso:concentrado entre 40:60 e 25:75 com variações entre 65,0 – 74,0 % para a digestibilidade da MS e entre 58,0 – 74,0 % para a digestibilidade da PB (Borges et al., 2008; Cardoso et al., 2000). Os dados da digestibilidade da FDN observados no presente estudo (20,0 %) foram mais baixos do que o descrito na literatura, que se encontra entre 41-47,0% (Borges et al., 2008; Cardoso et al., 2000; Tibo et al., 2000).

No presente estudo, não foram observados efeitos ($p > 0,05$) de diferentes doses do PAP na digestibilidade da MS ou qualquer uma de suas frações, bem como NDT.

Em trabalho realizado por Marino (2008), foi observada diminuição da digestibilidade da FDN, FDA, ENN, AMI e NDT com a utilização do PAP, em relação ao controle ($p < 0,05$). Uma hipótese, sugerida pela autora, para a diminuição na digestibilidade das frações fibrosas da dieta com a utilização do preparado de anticorpos policlonais seria sua atuação contra as bactérias proteolíticas. Sabe-se que as bactérias celulolíticas necessitam de amônia para degradar a fibra e uma interferência na disponibilidade de amônia poderia estar relacionada com a diminuição da digestibilidade destas frações. Como o PAP possui anticorpos contra cepas de bactérias proteolíticas, a retirada destes microrganismos do ambiente ruminal poderia interferir na disponibilidade de amônia e conseqüentemente na digestibilidade da FDN. Di Lorenzo et al. (2006) observaram diminuição na contagem de *S. bovis* e *F. necrophorum* com a utilização do PAP específico para estas bactérias. Porém, não foram realizados ensaios para a contagem dos microrganismos específicos, aos quais o produto era direcionado. E ainda, a falta de efeito de modificador ruminal sobre a concentração de nitrogênio amoniacal, não sustentou a hipótese acima citada.

Além disso, variações na digestão da fibra podem ser atribuídas a quedas no pH ruminal, em função do acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta oriundos da fermentação de fontes rapidamente degradáveis (Russell e Wilson, 1996). Porém, tal efeito não pode ser observado no presente estudo, devido a não observação de

diferenças significativas nas concentrações ruminiais de ácidos graxos de cadeia curta e do pH ruminal.

Foi observado maior digestibilidade do FDA em relação ao FDN (39,02 vs 20,04), fato também relatado por Marino (2008). Porém, tal observação é de difícil explicação, visto que, o esperado seria o contrário. Rodrigues (Comunicação pessoal, 2009) relata que tem sido observado tal efeito em experimentos de natureza semelhante, dietas com alto concentrado, onde se pode inferir que há probabilidade de possível erro analítico em tais frações.

Tabela 09 Efeito das dosagens do PAP sobre os coeficientes de digestibilidade *in vivo* da matéria seca e suas frações, bem como de nutrientes digestíveis totais de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado (em %)

Variável	Tratamentos						Probabilidade ²		
	0,0	1,5	3,0	4,5	Média	EPM ¹	Linear	Quad.	Desvio
MS	65,99	67,73	67,14	66,71	66,87	0,97	0,6963	0,7526	0,9122
MO	68,33	70,28	69,84	69,03	69,35	0,94	0,6779	0,6276	0,8386
PB	62,48	65,02	66,10	63,57	64,29	1,25	0,2852	0,5939	0,4543
EE	72,82	71,65	73,18	75,08	73,18	2,31	0,5592	0,6272	0,8707
FDN	29,13	12,60	26,42	12,03	20,04	5,79	0,4445	0,9214	0,2373
FDA	35,12	38,97	40,24	42,14	39,02	1,73	0,1731	0,6670	0,9482
ENN	84,65	83,29	87,24	84,42	84,90	1,60	0,8181	0,8186	0,4001
AMI	81,91	85,58	83,15	79,37	82,40	1,37	0,3368	0,1597	0,9155
EB	68,56	70,31	70,12	68,78	69,43	0,96	0,6787	0,6521	0,6579
NDT	69,30	70,92	70,89	70,07	70,28	0,84	0,5996	0,6485	0,7577

¹EPM: erro padrão da média. ²Probabilidades estatísticas para efeito linear, quadrático e desvio da quadrática.
MS = Matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; ENN = extrativo não nitrogenado; AMI = amido; EB = energia bruta; NDT = nutrientes digestíveis totais.

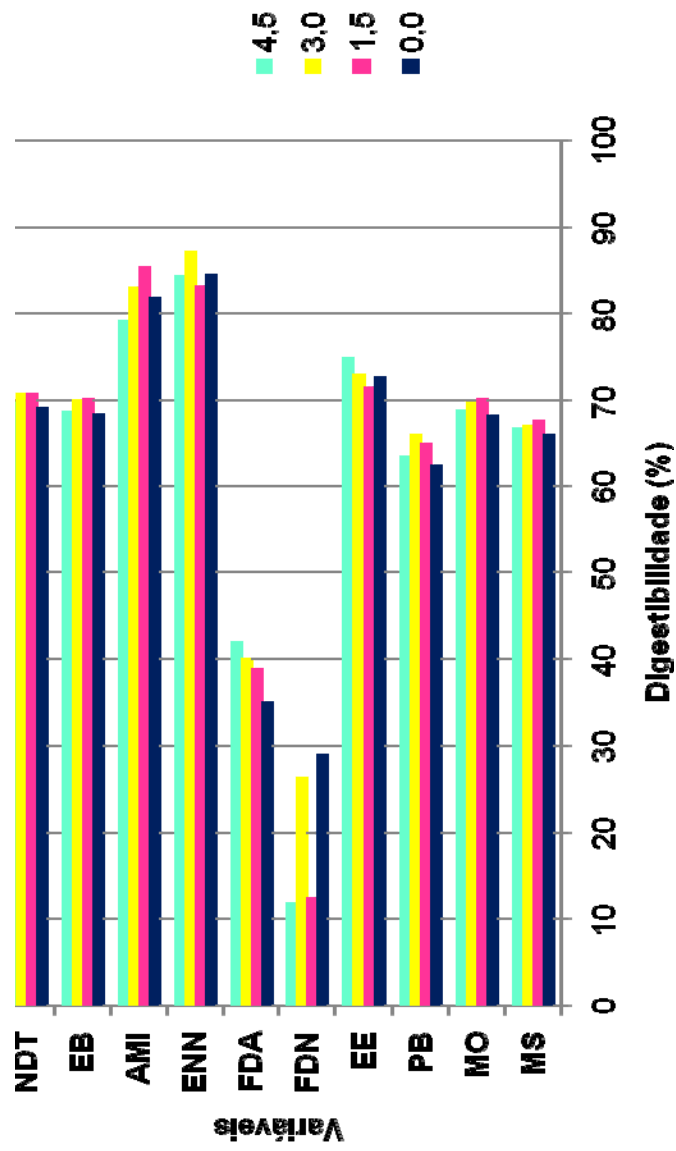


Figura 06 Efeito das dosagens de PAP sobre os coeficientes de digestibilidade *in vivo* da matéria seca e suas frações, bem como de nutrientes digestíveis totais de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado

No presente estudo, foi observado valor de digestibilidade média do amido de 82,40%, valor inferior ao encontrado por Marino (2008) que relata digestibilidade média do amido de 96,5%, sendo este, valor próximo ao estabelecido por Owens et al. (1986) que encontraram valor de digestibilidade total média do amido de $92,1 \pm 5,5\%$. Porém, uma possível explicação pode ser relacionada com os diferentes valores de consumo de matéria seca entre o atual experimento e o realizado por Marino (2008), 13,49 e 9,01 kg/MS dia, respectivamente. Possivelmente, um consumo mais elevado, resultou em aumento na taxa de passagem, que fez com que o amido, por efeito de maior velocidade no trato digestório, sofresse menor digestão.

O valor médio encontrado no presente experimento para o NDT foi de 70,28, valor no qual apresenta-se inferior ao valor estimado pelo CNCPS Cornell v.6.0, no qual estabeleceu NDT de 78,0%. Tal diferença pode ser explicada por efeito de superestimação pelo marcador empregado, óxido crômico, onde diferenças de até 15% são encontradas. Segundo Berchielli (2003), recuperações inferiores a 100% podem ser decorrentes de uma adsorção parcial do marcador no trato digestório ou sua transformação em outros compostos, causando superestimativa da produção fecal, e com isso, da ingestão.

CONCLUSÕES

O preparado de anticorpos policlonais não alterou o consumo de matéria seca, a concentração de ácidos graxos de cadeia curta total, bem como as proporções molares dos ácidos acético, propiônico e butírico, além do lactato total e nitrogênio amoniacal no conteúdo ruminal.

Além disso, o PAP não alterou os valores de degradabilidade ruminal, bem como os coeficientes de digestibilidade *in vivo*.

O PAP mostrou-se ineficaz, nas condições utilizadas, em modificar o ambiente ruminal em comparação ao grupo controle, que não recebeu suplementação nas presentes condições experimentais.

O PAP foi capaz de manter os valores de pH acima dos estabelecidos para os ruminantes serem considerados em acidose, porém, não foi eficaz em alterar os valores do pH em relação ao grupo controle.

Dessa forma, é necessária a realização de mais pesquisas que refutem ou não os resultados apresentados neste estudo.

REFERÊNCIAS

- AFRC – Agricultural and Food Research Council. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford, UK: CAB international. 159p.
- Annison, E.F., e D.G. Armstrong. 1970. Volatile fatty acid metabolism and energy supply. In PHILLIPSON, A.T. (Ed.). Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Cambridge. Proceedings of the Third International Symposium. Cambridge: Oriel Press, p.422-437.
- AOAC. 1990. Official methods of analyses. 15.ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, V.A.
- Bateman, J. 1970. Nutricion Animal – Manual de Métodos Analíticos. Herrero Hermanos., México.
- Berchielli, T.T. 2003. Uso de marcadores em estudos de ingestão, digestibilidade, composição da dieta, trânsito e fluxo digestivo. Tese (Livre Docência), Jaboticabal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP. 246p.
- Blanch, M., S. Calsamiglia, N. DiLorenzo, A. DiCostanzo, S. Muetzel e R.J. Wallace. 2009. Physiological changes in rumen fermentation during acidosis induction and its control using a multivalent polyclonal antibody preparation in heifers. J. Anim. Sci. 87:1722-1730.
- Borges, L.F.O., R. Passini, P.M. Meyer, P.H.M. Rodrigues. 2008. Efeitos da enramicina e monensina sódica sobre a digestão de nutrientes em bovinos alimentados com dietas contendo alto nível de concentrados. Rev. Bras. Zootec. 37: 674-680.
- Cardoso, R.C., S.C. Valadares Filho, J.F.C. Silva, M.F. Paulino, R.F.D. Valadares, P.R. Cecon, M.A.L. Costa e R.V. Oliveira. 2000. Consumo e digestibilidades aparentes totais e parciais de rações contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos F1 Limousin x Nelore. Rev. Bras. Zootec. 29: 1832-1843.

Carvalho, A.U., S.C. Valadares Filho, J.F. Coelho da Silva, et al. 1997. Níveis de concentrado em dietas de zebuínos. 4. Concentrações ruminais de amônia e pH, taxa de passagem da digesta ruminal e degradação *in situ* dos alimentos. Rev. Bras. Zootec. 26:1016-1024.

Church, D.C. The ruminant animal digestive physiology and nutrition. 2.ed. New Jersey: Waveland, 1993. 564p.

CNCPS - Cornell Net Carbohydrate and Protein System. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrients excretion. Version 6.0. Ithaca, NY. 2000. 237p.

Cummins, K.A., J.E. Nocek, C.E. Polan, e J.H. Herbein. 1983. Nitrogen degradability and microbial protein synthesis in calves fed diets of varying degradability by the bag technique. J. Dairy Sci. 66:2356 – 2364.

Dahlen, C.R., A. DiConstanzo, B.M. Mitteness, P. Nash, J.E. Larson, N. DiLorenzo, e G.D. Marx. 2003. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. J. Anim. Sci. 81 (Supl.1):58 (Res.).

DiLorenzo, N. Effects of polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* or *Fusobacterium necrophorum* on performance and carcass characteristics of feedlot steers. Thesis (Master of Science), University of Minnesota, MN, 2004.

DiLorenzo, N., F. Diez-Gonzalez, e A. DiCostanzo. 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. J. Anim. Sci. 84:2178-2185.

DiLorenzo, N., C.R. Dahlen, J.E. Larson, R.K. Gill, e A. DiCostanzo. 2007. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 85 (Supl.2):135 (Res.).

DiLorenzo, N., C.R. Dahlen, F. Diez-Gonzalez, G.C. Lamb, J.E. Larson e A. DiCostanzo. 2008. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen

fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. J. Anim. Sci. 86:3023-3032.

Erwin, E.S., G.J. Marco, e E.M. Emery. 1961. Volatile fatty acids analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. J. Dairy Sci. 44:1768-1771.

European Commission. 2004. Prospects for agricultural markets and income 2004 – 2011. Brussels.

Europa. Regulation EC N° 1831/2003 of the European Parliament and Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. Disponível em: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2003/l_268/l_26820031018en00290043.pdf
Acesso em 05 de fev. 2006.

Fapri. 2005. World agricultural outlook. Iowa State University – University of Missouri – Columbia.

Foldager, J. 1977. Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Michigan State University, East Lansing, MI.

Fox, D.G., C.J. Sniffen, J.D. O'Connor, J.B. Russell, e P.J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diets adequacy. J. Anim. Sci. 70:3578-3596.

Forbes, J.M. 1999. Minimal total discomfort as a concept for the control of food intake and selection. Appetite 33:371 (Res.).

Forbes, J.M. 2001. Consequences of feeding for future feeding. Comp. Biochem. Physiol. 128:461–468.

Forbes, J.M., e F.D. Provenza. 2000. Integration of learning and metabolic signals into a theory of dietary choice and food intake. Pag. 3–19 Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. P. Cronje, ed. CAB International, Wallingford, U.K.

- Franzolin, R.; Franzolin, M.H.T. 2000a. População de protozoários ciliados e degradabilidade ruminal em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Zootec.* 29:1853-1861.
- Gill, H.S., Q. Shu, e A. Leng. 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine.* 18:2541-2558.
- Graner, C.A.F. 1972. Determinação do crômio pelo método colorimétrico da s-difenil-carbazida. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.
- Hall, M.B. 2001. Recent advanced in non-NDF carbohydrates for the nutrition of lactating cows. In: Simpósio Internacional em Bovinos de Leite, Lavras, Brasil:139-148.
- Heinrichs, J. e P. Kononoff. 2002. Evaluating particle size of forages and TMRs using the new Penn State Forage Particle Separator. Department of Dairy and Animal Science. The Pennsylvania State University, Pennsylvania. 14 p.
- Hendrix, D.L. 1993. Rapid extraction and analyses of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Sci.* 33:1306-1311.
- Kulasek, G.A. 1972. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood cells using urease and phenol reagent. *Pol. Arch. Weter.* 15:801-810.
- Lammers, B.P., D.R. Buckmaster, e A.J. Heinrichs. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J.Dairy Sci.* 79:922-928.
- Marino, C.T. 2008. Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas. 2008. Tese (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 121 p.
- Maruta, C.A., e E.L. Ortolani. 2002. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: I- variáveis ruminais e fecais. *Ciência Rural.* 32:55-59.

McDonald, I, 1981. A revised model for estimation of protein degradability in the rumen. J. Agric. Sci. 96, 237-239.

Mehrez, A.Z., e E.R. Ørskov. 1977. A study of the fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. Agric. Sci. 88:645-650.

Mendoza, G.D., R.A. Britton, e R.A. Stock. 1998. Ruminal fermentation and *in situ* starch digestion with high moisture corn, dry rolled grain sorghum or a mixture of these grains. Ani. Feed Sci. Tech. 74:329-335.

Mertens, D. 1992. Nonstructural and structural carbohydrates. In: Van Horn, H.H., e C.J. Wilcox (Eds.). Large Dairy Herd Management. Am.Dairy Sci. Assoc., Champaign, IL. 1992. p.219-235.

Millen, D.D., R.D.L. Pacheco, M.D.B. Arrigoni, M. Parrili, S.A. Matsuhara, e T.M. Mariani. 2007. Desempenho e incidência de paraqueratose ruminal em bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos aviários. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 44, Anais...CD-ROM., Jaboticabal, Brasil.

Millen, D.D., R.D.L. Pacheco, M.D.B. Arrigoni, M.L. Galyean, e J.T. Vasconcelos. 2009. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. Comunicação pessoal.

Miron, J.; Solomon, R.; Bruckental, I.; Ben-Ghedalia, D. 1996. Effect of changing the proportion, wheat:sorghum in dairy cows rations on Carbohydrate digestibility and NAN flor to intestine. Anim. Feed Sci. Technol. 57:75-86.

Nagaraja, T.G., e E.C. Titgemeyer. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. J. Dairy Sci. 90 (Supl. E):E17-E38.

Newbold, C.J.; Stewart, C.S.; Wallace, R.J. 2001. Developments in rumen fermentation – The scientist's view. Pages 251-279 in Recent Advances in Animal Nutrition 2001. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman ed. Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom.

NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7 ed. National Academic Press, Washington, D.C.

Ørskov, E.R., e I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. 92:499-503.

Otero, W.G. 2008. Avaliação da diversidade microbiana e degradabilidade *in situ* em animais tratados com preparado de anticorpos policlonais contra bactérias produtoras de lactato e bactérias proteolíticas. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária), Universidade da São Paulo, USP. Pirassununga. 85 p.

Owens, F.N.; Zinn, R.A.; Kim, Y.K. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. Journal of Animal Science, 63:1634.

Paziani, S.F. Controle de perdas na ensilagem, desempenho e digestão de nutrientes em bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de capim Tanzânia. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2004. 208p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2004.

Pereira, J.R.A., e P. Rossi Jr. 1995. Manual prático de avaliação nutricional de alimentos. 1.ed. FEALQ., Piracicaba, SP.

Pryce, J.D. 1969. Modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. Analyst. 94:1151-1152.

Rodrigues, P.H.M. Efeito dos níveis de monensina e proporções volumoso/concentrado na ração sobre a utilização dos alimentos e parâmetros da fermentação ruminal em animais ruminantes. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiros” 2000. 169p, Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiros”, 2000.

Russell, J.B., e D.B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH ? J. Dairy Sci. 79:1503-1509.

Santos, F.A.P. 2006. Metabolismo de proteínas. BERCHIELLI et al., Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal : Funep 2006 p. 255 - 286.

SAS User's Guide. Statistics. Version 5 Edition. 2001. SAS Institute, Inc., Cary NC.

Satter, L.D., e L.L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. Braz. J. Nutr. 32:199-208.

Schmidt, P., L.G. Nussio, M. Zopollatto, J.L. Ribeiro, P. Santos, e A.V. Pires. 2007. Aditivos químicos ou biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 2. Parâmetros ruminais e degradabilidade da matéria seca e das frações fibrosas. Res. Bras. Zootec. 36: 1676-1684.

Shu, Q., H.S. Gill, D.W. Hennessy, R.A. Leng, S.H. Bird, e J.B. Rowe. 1999. Immunisation against lactic acidosis in cattle. Res. Vet. Sci. 67:65-71.

Shu, Q., H.S. Gill, R.A. Leng, e B. Rowe. 2000. Immunisation with a *Streptococcus bovis* vaccine administered by different routes against lactic acidosis in sheep. Vet. J. 159:262-269.

Sniffen, C.G.; Fox, D. G.; O'Connor, J. D.; Russell, J. B. And Van Soest, P.J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diets adequacy. J. Anim. Sci. 70:3578 – 3596.

Sutton, J.D., M.S. Dhanoa, S.V. Morant, J. France, D.J. Napper, e E. Schuller. 2003. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. J. Dairy Sci. 86:3620-3633.

Tibo, G.C., S.C.V. Filho, R.F.D. Valadares, J.F.C. Silva, P.R. Cecon, M.I. Leão, R.B. Silva. 2000. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore. Res. Bras. Zootec. 29:910-920.

Van Soest, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476p.

IMPLICAÇÕES

Diante dos resultados apresentados tanto da revisão da literatura como do próprio trabalho, é evidente a necessidade de se realizar novos estudos que permitam refutar ou aceitar os resultados obtidos até o presente momento.

A determinação de um método de processamento ideal para a transformação do produto líquido para o estado sólido pode ser a chave para o sucesso do mesmo, visto que, esse ponto parece ser hoje o fator mais limitante da eficácia do PAP.

E, a melhor compreensão de fatores como a microbiologia ruminal e os padrões de ingestão de alimentos dos animais, bem como suas interações, podem vir a elucidar algumas dúvidas fornecendo diretrizes para se estabelecer um correto manejo alimentar, tal como a melhoria na qualidade da mistura da dieta total e o correto manejo de cocho, manejo no qual visa aumentar a eficiência produtiva do animal e do próprio sistema produtivo, no caso, confinamento.

Alem do mais, devido às características das dietas brasileiras, tanto pela sua composição ou forma de processamento, a acidose ruminal que acomete nossos rebanhos se caracteriza de uma forma mais branda, ou seja, como acidose subclínica, para tanto, a produção e utilização de um anticorpo específico para bactérias exclusivamente produtoras de ácido láctico como *Lactobacillus* não se justifica, portanto, seria mais vantajoso aumentar as porcentagens de cepas contra bactérias presentes, em maiores concentrações, neste tipo de acidose (subclínica), como a *Streptococcus bovis*.