Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Avaliação de antimicrobianos como promotores de crescimento via mistura mineral para bovinos de corte em pastejo

Ricardo Cazerta Duarte Goulart

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2010

Ricardo Cazerta Duarte Goulart
Engenheiro Agrônomo

Avaliação de antimicrobianos como promotores de crescimento via mistura mineral para bovinos de corte em pastejo

Orientador:
Prof. Dr. **MOACYR CORSI**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Goulart, Ricardo Cazerta Duarte
Avaliação de antimicrobianos como promotores de crescimento via mistura mineral para bovinos de corte em pastejo / Ricardo Cazerta Duarte Goulart. - - Piracicaba, 2010.
128 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Aditivos alimentares para animal 2. Agentes antimicrobianos 3. Bovinos de corte 4. Pastagens 5. Pastejo 6. Suplementos minerais para animais I. Título

CDD 636.213
G694a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio e carinho.

À todos os integrantes do Projeto CAPIM, alunos de graduação e engenheiros agrônomos já graduados, por colaborarem em todas as etapas deste trabalho.

Ao professor Moacyr Corsi, por partilhar sua filosofia de vida. Pelo estimulo à busca constante de informações e atualização do conhecimento.

Aos funcionários e amigos da Fazenda Campanário, pelo espírito de colaboração, especialmente aos boiadeiros.

Ao Sr. Renato Eugênio de Rezende Barbosa, por possibilitar a utilização de animais, pastagens e estrutura da Fazenda Campanário com o objetivo de pesquisa.

Ao Eng. Agrônomo Rafael Canonenco de Araújo pela boa vontade para colaboração na realização de análises e condução de experimento *in vitro* em parceria.

Ao Méd. Veterinário Rafael Cedric Moller Meneghini pelo apoio em realização de análises e disposição para colaboração.

Aos amigos Ana Carolina Carvalho de Barros, Miguel Miiti Shiota e Pedro Castro de Almeida, pelo especial apoio nas tramitações à distância.

À colaboração dos funcionários da Fazenda Areão e do Departamento de Zootecnia.

À empresa Multimix Nutrição Animal Ltda., pelo apoio na fabricação de suplementos e discussões sobre a pesquisa; especialmente ao colega André Tuppy e ao Silas Primola Gomes.

À Mirtis Irene Ariza Malagutti pela colaboração na definição de metodologia adequada para a análise de lítio no Laboratório de Hidrogeologia e Hidrogeoquímica do Departamento de Geologia Aplicada do IGCE na UNESP de Rio Claro-SP.

Ao Dr. Rob Dixon, pesquisador de gado de corte em “Primary Industries & Fisheries Department” em Queensland, Austrália, pelas importantes discussões e dicas para a definição da metodologia de uso de lítio como marcador sanguíneo.

À Phibro Saúde Animal Internacional Ltda, pela colaboração nas análises de quantificação de salinomicina, especialmente à Mirella Moscardini.

À Fertilizantes Heringer, pela colaboração com os adubos utilizados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro para a condução da pesquisa.

EPÍGRAFE

Minha pena (esferográfica) é a enxada que vai cavando,
é o arado milenário que sulca.
Meus versos têm relances de enxada, gume de foice
e o peso do machado.
Cheiro de currais e gosto de terra.
(...)

Cora Coralina

SUMÁRIO

RESUMO....9
ABSTRACT....11
1 INTRODUÇÃO....13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA....17
2.1 Histórico dos antimicrobianos promotores de crescimento....17
2.2 Modo de ação dos antimicrobianos nos microorganismos....20
2.3 Conseqüências para a fermentação ruminal e outros benefícios para o ruminante....24
2.4 Efeito dos antimicrobianos no ganho de peso de animais em pastagens....31
2.5 Efeito dos antimicrobianos no consumo em dietas de forragem....34
2.6 Benefícios ambientais e segurança da aplicação de antimicrobianos para animais em pastagens....34
2.7 Fornecimento de antimicrobianos para bovinos em pastejo via mistura mineral ..37
2.8 Importância de delineamento estatístico robusto em pesquisas com antimicrobianos promotores de crescimento....41
3 MATERIAL E MÉTODOS....43
3.1 Pré-teste de consumo da mistura mineral com aditivos....43
3.2 Experimento 1: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Piracicaba-SP....46
3.2.1 Delineamento experimental....46
3.2.2 Amostragens de forragem....48
3.2.3 Fornecimento de mistura mineral e monitoramento de consumo....49
3.2.4 Estimativa do consumo individual de mistura mineral com a utilização do marcador sulfato de lítio....49
3.2.5 Ganho de peso....51
3.2.6 Monitoramento de ocorrência de coccidiose....51
3.2.7 Coletas de fluido ruminal para análises de AGV e amônia....52
3.2.8 Análises estatísticas....52
3.3 Experimento 2: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Caarapó-MS....53
3.3.1 Delineamento experimental....53

3.3.2 Análises estatísticas 54
3.4 Experimento 3: Validação da metodologia de estimativa de consumo individual de suplemento com o uso de lítio como marcador 55
3.5 Experimento 4: Avaliação da efetividade da salinomicina após mistura no sal mineral 57
3.5.1 Delineamento experimental 57
3.5.2 Condições de incubação 58
3.5.3 Descrição do substrato 59
3.5.4 Preparação do inóculo 59
3.5.5 Análises laboratoriais e cálculos 59
3.5.6 Análise estatística 60
3.6 Experimento 5: Mistura mineral com virginiamicina fornecida em cochos descobertos para novilhos de corte em pastejo 61
3.6.1 Delineamento experimental 61
3.6.2 Análise estatística 63
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES 65
4.1 Pré-teste de consumo da mistura mineral com aditivos 65
4.2 Experimento 1: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Piracicaba-SP 67
4.3 Experimento 2: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Caarapó-MS 75
4.4 Experimento 3: Ensaio para validação da metodologia de estimativa de consumo individual de suplemento com o uso de lítio como marcador 81
4.5 Experimento 4: Avaliação da efetividade da salinomicina após mistura no sal mineral 85
4.6 Experimento 5: Mistura mineral com virginiamicina fornecida em cochos descobertos para novilhos de corte em pastejo 89
4.7 Discussão integrada dos resultados 91
5 CONCLUSÕES 95
REFERÊNCIAS 97
APÊNDICES 109
ANEXOS 113

RESUMO

Avaliação de antimicrobianos como promotores de crescimento via mistura mineral para bovinos de corte em pastejo

Os antimicrobianos modificadores da fermentação ruminal são capazes de melhorar a eficiência econômica dos sistemas de produção de bovinos em pastejo e reduzir a possibilidade de impacto da atividade pecuária no meio ambiente. Conduziu-se seqüência de experimentos com o objetivo de estudar o fornecimento de antimicrobianos em misturas minerais para animais em pastejo. No experimento 1, em Piracicaba-SP, utilizaram-se 121 garrotes nelore inteiros, divididos em quatro blocos. O experimento durou 108 dias, de janeiro a maio de 2009. Cada bloco continha quatro tratamentos: CON - controle, mistura mineral sem aditivo; SLN - 1950 mg salinomicina/kg de mistura mineral; SLNALTO - 780 mg salinomicina/kg de mistura mineral de alto consumo e VGN - 1950 mg virginiamicina/kg de mistura mineral. Os animais foram pesados a cada 30 dias. Registrou-se semanalmente as quantidades de suplementos fornecidos e sobras. Foram realizadas coletas de fezes para determinação laboratorial de oocistos de *Eimeria* sp (OoPG). Em duas datas amostrais não-consecutivas, forneceu-se mistura mineral contendo sulfato de lítio como marcador sanguíneo para estimativa do consumo individual de suplemento pelos animais. No final do experimento o conteúdo ruminal dos animais foi coletado via sonda esofágica. O experimento 2 foi conduzido com protocolo similar ao experimento 1, com 196 novilhos de cruzamento industrial em Caarapó-MS por 137 dias de maio a agosto de 2009. Os ganhos de peso foram de: 0,580; 0,620; 0,614 e 0,675 no experimento 1 e 0,487; 0,478; 0,466 e 0,518 kg/cab/dia no experimento 2, para os tratamentos CON, SLN, SLNALTO e VGN, respectivamente. Houve diferença ($p<0,05$) entre VGN E CON no experimento 1. No experimento 2, VGN diferiu de SLN E SLNALTO ($p<0,05$) e, na comparação de VGN com CON, o valor de p foi de 0,088. A salinomicina não reduziu a contagem de OoPG nos experimentos. As análises de fluido ruminal não permitiram detectar alterações na fermentação ruminal normalmente causadas por antimicrobianos. Os níveis de lítio no sangue indicaram alta variabilidade no consumo de suplemento e alto número de animais que não ingerem suplemento nas datas amostrais, o que pode ser apontado como causa da ausência de efeito da salinomicina. Em experimento de avaliação da confiabilidade da metodologia, demonstrou-se que o teor de lítio no sangue foi satisfatório para predizer o consumo de suplemento pelo animal no dia anterior ($r^2 \approx 0,94$) e muito acurado para identificar o número de indivíduos que não ingeriu mistura mineral. Em estudo *in vitro*, não se comprovou a hipótese de que a atividade da salinomicina teria sido reduzida após mistura ao suplemento mineral. A virginiamicina foi testada também em mistura mineral fornecida em cochos descobertos para 309 garrotes divididos em quatro blocos. Animais tratados ganharam 0,063 kg/cab/dia (10%) a mais do que os que não receberam virginiamicina ($p=0,019$). A virginiamicina é antimicrobiano com potencial para aplicação para animais em pastejo via misturas minerais. O consumo de mistura mineral parece ser reduzido em pequena intensidade com a inclusão de virginiamicina. Mais pesquisas são necessárias para aumentar o conhecimento sobre o emprego do aditivo para ruminantes em pastejo.

Palavras-chave: Virginiamicina; Salinomicina; Ionóforo; Pastagem

ABSTRACT

Antimicrobial growth promoters in mineral mixtures for grazing beef cattle

Antimicrobials which modifies rumen fermentation can improve economical efficiency of beef cattle grazing systems and reduce its possible impacts on the environment. It was conducted a series of experiments with the objective of evaluating free-choice mineral mixtures as an antimicrobial delivery system for grazing animals. On experiment 1, at Piracicaba-SP, 121 Nelore non-castrated male cattle were used, divided in four blocks. The experiment was conducted during 108 days from January through May, 2009. The blocks were subdivided in four treatments: CON – control, mineral mixture without additive; SLN –1950 mg of salinomycin/kg of mineral mixture; SLNALTO – 780 mg salinomycin/kg of high intake mineral mixture and VGN – 1950 mg virginiamycin/kg of mineral mixture. Animals were weighted every 30 days. Amount of supplement offered and refusals were recorded weekly. Feces were collected to count *Eimeria* sp. eggs (OoPG). At two non-consecutive sampling dates, lithium enriched mineral mixtures were offered to estimate individual supplement intake using lithium as a blood marker. At the end of the experiment, ruminal contents were collected from animals using a stomach tube. Experiment 2 was conducted with a similar protocol to experiment 1, using 196 crossbred non-castrated male cattle at Caarapó-MS, during 137 days from May through August. Average daily gains were: 0.580; 0.620; 0.614 and 0.675 kg/head/day on experiment 1 and 0.487; 0478; 0.466 e 0.518 kg/head/day on experiment 2 for CON, SLN, SLNALTO and VGN groups, respectively. Differences between VGN and CON were significant ($p<0.05$) on experiment 1. On experiment 2, VGN was different from SLN and SLNALTO ($p<0.05$), but when compared to CON, p value was equal to 0,088. Mineral intake tended to be reduced with the inclusion of virginiamycin at experiment 1. Salinomycin did not reduced OoPG on both experiments. Ruminal fluid analysis did not showed alteration patterns on ruminal fermentation as normally would be expected with the antimicrobials. Blood lithium levels indicated high variability on intake between individuals and large number of animals that does not lick supplement during the sampling dates, which may explain the absence of effect of salinomycin. Individual intake patterns were not different between treatments. It was also conducted an experiment to evaluate the adequacy of the lithium methodology. Blood lithium levels were adequate to predict individual supplement intake for the day before sampling ($r^2 \approx 0.94$), and very accurate to identify the number of animals that do not eat mineral mixture. On an *in vitro* study, it was rejected the hipotesis that salinomycin activity should have been reduced after supplement mixing. Virginiamycin was also tested on mineral mixtures provided in uncovered troughs. Treated animals gained 0.063 kg/head/day (10%) more weight than controls ($p=0.019$), and consumed 10% less supplement ($p=0,062$). Virginiamycin is an antimicrobial with potential for growth promotion on grazing animals using mineral mixtures as delivery system. More researches are needed to improve knowledge on using the additive for grazing animals.

Keywords: Virginiamycin; Salinomycin; Ionophore; Pasture

1 INTRODUÇÃO

Os estudos atuais de nutrição de bovinos de corte em pastejo buscam aprimorar o conhecimento, tanto no entendimento de parâmetros de produtividade e eficiência econômica como na busca de soluções para a produção sustentável.

Os principais parâmetros de aferição da produtividade que se busca melhorar são a taxa de lotação, o ganho de peso e a eficiência de conversão alimentar, enquanto que para os parâmetros de sustentabilidade, provavelmente os temas mais discutidos na nutrição de ruminantes são a emissão de metano - um dos gases de efeito estufa - e a concorrência dos animais por alimentos que outrora poderiam ser utilizados pela população.

Muitas estratégias que causam aumento de produtividade do sistema a pasto simultaneamente proporcionam benefícios na redução da produção de metano e na redução da demanda de insumos e de área por unidade de produto animal gerado (REID et al, 2004; CORSI; GOULART, 2006).

A administração de ionóforos e outros antimicrobianos promotores de crescimento[1] é um exemplo de estratégia que, ao mesmo tempo em que promove a produtividade, acrescenta em sustentabilidade. A implantação desta biotecnologia tem resultado em 12,07% de aumento em ganho de peso para animais tratados em pastejo (BRETSCHNEIDER et al., 2008), além de contribuir para a mitigação da emissão do metano e para a redução da perda de nitrogênio (TEDESCHI; FOX; TYLUTKI., 2003). O incremento em desempenho de bovinos tratados com aditivos antimicrobianos é atribuído à fermentação mais eficiente e, no caso dos ionóforos, também ao controle de coccidiose (Russel e Strobel, 1989).

Além dos benefícios ambientais já citados, o aumento de produtividade proporcionado pelos antimicrobianos utilizados como aditivos contribuem indiretamente para reduzir a necessidade de abertura de novas áreas para a produção de alimentos. A produtividade média de carne em pastagens no Brasil pode ser estimada em cerca de 100 kg/ha/ano, considerando taxa de lotação de 0,9 cab/ha (ZIMMER et al, 1998) e

[1] Os termos “aditivos antimicrobianos” e “antimicrobianos promotores de crescimento” são utilizados neste documento para se referir aos ionóforos e outros antibióticos de propriedades similares.

ganho médio de 0,300 kg/cab/dia. Como o uso de antimicrobianos pode incrementar o ganho diário de peso em aproximadamente 0,090 kg/cab/dia, com o uso de ionóforos a média de produtividade alcançada no Brasil seria de 130 kg/ha/ano, ou seja, um aumento de cerca de 30% em produtividade. Com este acréscimo em eficiência, seria possível atender à demanda de carne bovina com quantidade 30% menor de alimento, ou seja, 30% de economia na necessidade de área ou insumos para pastagens ou grãos para a alimentação bovina.

Considerando os efeitos positivos dos aditivos antimicrobianos na produtividade e sustentabilidade da produção de bovinos, fica claro, portanto, que validar um método de implantação de tal tecnologia para animais a pasto no Brasil é de grande importância econômica e ambiental.

Apesar de os antimicrobianos promotores de crescimento já serem técnica de efetividade consagrada, na maioria dos animais mantidos em pastagens no Brasil ainda não se aplica este recurso tecnológico. A principal razão para este fato é a dificuldade de se fornecer o aditivo para o animal em pasto. Os veículos mais avaliados para o fornecimento de ionóforos para bovinos em pastejo são os suplementos com grãos. No entanto, este tipo de suplemento implica em aumento de custos de produção, tanto pela necessidade de aquisição de grãos como pelo custo operacional de fornecimento de ração. Outra opção de veículo seriam os *bolus* intra-ruminais - dispositivos de liberação lenta capazes de fornecer doses adequadas de antimicrobianos no interior do rúmen do animal. No entanto, a aplicação deste material com o objetivo único de promover crescimento ainda é economicamente inviável frente aos preços de comercialização praticados na venda dos *bolus* (PERES[2], informação pessoal). Tal material é atualmente comercializado unicamente para prevenção de timpanismo em pastagens de clima temperado, situação na qual seu custo é justificado (PERES[3], informação pessoal).

O uso de suplementos minerais é alternativa interessante para o tratamento de animais em pastagens com antimicrobianos. A suplementação de minerais é feita na maioria das fazendas brasileiras e, portanto, validar o fornecimento de um promotor de

[2;3] PERES, J. R. Elanco Saúde Animal.

crescimento via mistura mineral poderia fazer com que a tecnologia fosse adotada com facilidade pelos produtores.

São poucos os estudos que avaliaram a inclusão de antimicrobianos em suplementos minerais. Os resultados são variáveis. Limitações como redução de consumo da mistura, alta variação da dosagem diária e possível perda de atividade da molécula misturada ao sal mineral são citadas como possíveis causas da ausência de resultados positivos. Outro ponto importante é que muitos experimentos não têm delineamento robusto o suficiente para detectar as diferenças causadas pelos antimicrobianos, que podem ser consideradas de pequena magnitude em termos estatísticos, mas significantes do ponto de vista econômico. Mesmo assim, em alguns estudos observa-se efeito positivo de aditivos no desempenho de animais a pasto quando fornecidos via sal mineral. Daí a importância de se realizarem experimentos com delineamento apropriado para avaliar o fornecimento de aditivos antimicrobianos via mistura mineral para bovinos em pastejo.

É importante que sejam testados antimicrobianos alternativos que têm se consagrado mais recentemente como promotores de crescimento eficientes para ruminantes. A salinomicina e a virginiamicina são produtos que têm demonstrado potencial como promotores de crescimento para bovinos em dietas à base de forragem (BAGLEY et al, 1988; SARAN NETTO, 2004; FIEMS et al, 2006; LUCAS, 1989 e LUCAS; SOBRINHO, 1989, apud NICODEMO, 2001). Contudo, o efeito do uso dessas substâncias no consumo de misturas minerais e a reposta em ganho de peso quando a mistura mineral é utilizada como veículo para o fornecimento do antimicrobiano não estão documentados na literatura.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o ionóforo salinomicina sódica e o antibiótico da classe das estroptograminas - virginiamicina - como promotores de crescimento via suplemento mineral para bovinos em pastejo de gramíneas tropicais. Procurou-se também testar a hipótese de que formulações de suplemento mineral com maior potencial de consumo poderiam reduzir a variabilidade diária na dosagem do antimicrobiano, observada no caso de misturas minerais e, conseqüentemente, melhorar o efeito do aditivo. Além de se quantificar o efeito dos aditivos no desempenho dos animais, outras variáveis foram monitoradas para possibilitar a discussão das

causas dos resultados observados no ganho de peso. Coletou-se dados de consumo individual diário de suplemento, proporção molar de ácidos graxos voláteis no conteúdo ruminal e contagem de oocistos de *Eimeria* sp. nas fezes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico dos antimicrobianos promotores de crescimento

Os primeiros relatos de identificação de melhoria de ganho de peso de animais causada por antibióticos remontam à década de 1940 (MARTIN, 1942 apud PAGE, 2003; MOORE et al, 1946; HARNED et al, 1946).

É curioso que muitas das pesquisas que originaram as descobertas dos antimicrobianos promotores de crescimento não tinham o objetivo principal de detectar efeito das substâncias no desempenho dos animais, e as descobertas foram feitas por acaso. A pesquisa de HARNED et al (1946) demonstrou que a clortetraciclina causava aumento no ganho de peso de frangos, embora o objetivo inicial do trabalho não fosse demonstrar melhora em desempenho, mas estudar as características farmacológicas do antibiótico (absorção, excreção, níveis sanguíneos, toxicidade e efeito em diversas funções do organismo) em diversos tipos de animais cobaia. A seguir é transcrito trecho do trabalho:

> No chick in this group (duomycin treated) died. Two were lost from the control group. It is interesting to note that, although the average weight of the chicks in the two groups was the same at the start, at the end the birds on duomycin had an average weight of 99 grams as compared with 81 grams for the controls. Furthermore, the dosed chicks appeared to be more healthy than the controls and after 6 weeks this superiority was maintained. Apparently, the duomycin had eliminated some infection[4] (HARNED et al, 1946, p. 193).

De maneira similar, MOORE et al (1946) também descobriram, sem pretensão, efeito promotor de crescimento de antibióticos ao conduzir estudo farmacológico com o intuito de avaliar três drogas quanto à capacidade de esterilização do trato intestinal de aves. O objetivo principal foi de identificar drogas que inativassem as bactérias do trato intestinal e possibilitasse obter animal “esterilizado”, o qual seria útil para a ciência, pois

[4] Nenhum dos pintos tratados com duomicina (clortetraciclina) morreu. Foram perdidos dois animais do grupo controle. É interessante notar que, apesar do peso médio inicial dos pintos ser o mesmo no início, no final as aves tratadas com duomicina tinham peso médio de 99 g em comparação com 81 g para para o grupo controle. Além disso, os pintos tratados aparentavam-se mais saudáveis do que os do grupo controle e depois de 6 semanas essa superioridade foi mantida. Aparentemente, a duomicina eliminou alguma infecção.

as exigências de vitamina poderiam ser estudadas sem a interferência de “vitaminas intestinais” ou “substancias tóxicas”. Ainda que essa não fosse a intenção precípua do estudo, detectaram que sulfasuxidina em combinação com a estreptomicina causavam aumento de ganho de peso em frangos – resultado descrito como inesperado.

Logo depois, o trabalho de STOKSTAD et al (1949) demonstrou promoção de crescimento em frangos suplementados com caldo de fermentação de *Streptomyces aureofaciens*. O estudo tinha o objetivo inicial de avaliar tal caldo de fermentação, subproduto da fabricação de oxitetraciclina, como fonte de vitamina B12. Observou-se que esse material proporcionou resultado superior em ganho de peso quando comparado ao tratamento que fornecia vitamina B12 via fonte cristalina. Os autores sugeriram que haviam evidências da ocorrência de um “fator de crescimento auxiliar” no material de fermentação de *Streptomyces aureofaciens*. Em trabalho contínuo na mesma linha de pesquisa, STOKSTAD E JUKES (1950a) apud CUTHBERTSON (1952) demonstraram que o efeito promotor de crescimento do caldo de fermentação de *Streptomyces aureofaciens* estava relacionado à presença de resíduos de clortetraciclina neste material, e que a suplementação de vitamina B12 cristalina associada à clortetraciclina purificada gerava os mesmos resultados em ganho observados para a suplementação com o caldo de fermentação.

Subsequentemente, foram demonstrados efeitos da clortetraciclina na promoção de crescimento de outras espécies como perus (STOKSTAD E JUKES, 1950b apud PAGE, 2003), suínos (JUKES et al, 1950 apud PAGE, 2003) e bezerros (RUSOFF, 1951 e RUSOFF, DAVIS E ALFORD, 1951).

A descoberta teve grande impacto, como é demonstrado pela reportagem de capa da revista “The New York Times” (Laurence, 1950), com o seguinte título: “Droga milagrosa é capaz de aumentar o crescimento em 50%” (Apêndice A). A reportagem enfatizou a importância da descoberta para a humanidade em um mundo de recursos cada vez mais escassos e população em crescimento, e acenava com a possibilidade de aumentar o suprimento mundial de carne e reduzir seu custo.

Os antimicrobianos mais extensivamente utilizados em ruminantes são os ionóforos. O primeiro relato de identificação de um ionóforo aconteceu em 1951, quando se isolou o X-537A (posteriormente chamado de lasalocida) de uma bactéria

Streptomyces sp., na ocasião ainda não identificada, encontrada no solo do Hyde Park, Boston, MA, EUA (BERGER et al, 1951). Em estudo in vitro, a atividade desta substância se caracterizou por inibir bactérias Gram-positivas e micobactérias, enquanto bactérias Gram-negativas mantinham sua atividade.

Dezesseis anos depois, foi descoberta a monensina (HANEY E HOEHN, 1967 apud PAGE, 2003), e sua estrutura foi descrita por AGTARAP (1967) apud PAGE (2003). Em seguida, sua atividade coccidiostática em aves foi descrita por SHUMARD e CALLENDER (1968) apud PAGE (2003), o que despertou interesse no uso desta classe de substâncias em animais. As primeiras demonstrações de melhora de desempenho com o uso de monensina em bovinos confinados e em pastagens ocorreram no início da década de 70 (RAUN et al, 1974a; RAUN et al, 1974b; BROWN, 1974, POTTER et al, 1974).

A salinomicina[5] foi descrita pela primeira vez em 1972, produzida por um organismo isolado de amostra de solo da cidade de Fuji, Japão, conforme reportado por PAGE (2003). A atividade inibitória da salinomicina em bactérias Gram-positivas e no controle da coccidiose em aves foi demonstrada em seguida por MIYAZAKI et al (1974). A utilidade da salinomicina como promotora de crescimento em bovinos começou a ser demonstrada na década de 80 (OWENS et al, 1982; BAGLEY et al, 1984; FONTENOT et al, 1985, 1986 apud PAGE, 2003).

A virginiamicina foi encontrada originalmente em um solo na Bélgica (DESOMER; VAN DIJCK, 1955 apud PAGE, 2003). O início da aplicação desta substância na nutrição de animais aconteceu em aves (YATES, SCHAIBLE, 1961 apud CUNNIGHAM, 1976; YATES, SCHAIBLE, 1962). As primeiras indicações da utilidade deste antimicrobiano como promotor de crescimento em bovinos encontradas na literatura são de Parigi-Bini (1979) apud Page (2003) e Hedde et al (1982) apud Gottschall, Wang, Kingston (1988). Em 1994 a virginiamicina foi aprovada para uso como aditivo alimentar para bovinos nos Estados Unidos pelo órgão regulador responsável deste país FDA (U. S. Food and Drug Administration). O relatório de aprovação (FDA, 1994) divulgou diversos resultados de eficácia da substância como melhoradora de desempenho para

[5] O termo salinomicina é utilizado como sinônimo de salinomicina sódica ao longo deste documento.

bovinos confinados, além de divulgar estudos de segurança ambiental com o uso da molécula.

No Brasil, iniciou-se o uso dos antimicrobianos promotores de crescimento em ruminantes com a aprovação da monensina em abril de 1981, com o nome comercial de Rumensin, pela empresa Elanco Saúde Animal (PERES, comunicação pessoal)[6]. A salinomicina foi aprovada para uso em bovinos no Brasil em abril de 2005, enquanto a virginiamicina recebeu aprovação em maio de 2002 (MOSCARDINI; comunicação pessoal)[7]. Além das substâncias citadas, outros antimicrobianos menos importantes em intensidade de uso também são atualmente autorizados no Brasil para utilização em bovinos (Anexo A).

2.2 Modo de ação dos antimicrobianos nos microorganismos

Esta revisão bibliográfica terá como foco a salinomicina sódica, um ionóforo, e a virginiamicina, antibiótico da classe das estreptograminas, ambos objetos do experimento conduzido. Inicialmente será feita discussão sobre o modo de ação dos ionóforos. No final desta seção, será feita discussão separada sobre o conhecimento em mecanismo de ação da virginiamicina, que apesar de apresentar respostas similares à dos ionóforos nos ruminantes, é antimicrobiano com mecanismo de ação diferente.

A maior parte da literatura que aborda o modo de ação dos ionóforos na nutrição de ruminantes é sobre monensina sódica. Similaridades entre o modo de ação dos diferentes ionóforos em nutrição de ruminantes têm permitido generalização do conhecimento. No entanto, existem peculiaridades nos modo de ação dessas substâncias, que serão discutidas com base nas informações disponíveis.

A seguir será descrito o mecanismo de ação para monensina e citadas as peculiaridades da salinomicina. O termo ionóforo é utilizado para se referir a moléculas com estruturas químicas diversas, mas com propriedades antimicrobianas causadas por um mecanismo de ação em comum. Os ionóforos autorizados para utilização em bovinos no Brasil são a monensina, lasalocida e salinomicina (Anexo A), produzidos pela fermentação de *Streptomyces lasaliensis*, Streptomyces *cinnamonensis* e

[6] PERES, J. R. Elanco Saúde Animal.
[7] MOSCARDINI, M. Phibro Animal Health.

Streptomyces *albus*, respectivamente. O nome ionóforo, do grego “carregador de íon”, é remete à capacidade que tais substâncias têm para transportar cátions, em virtude das suas estruturas moleculares (Figura 1). Enquanto a parte exterior da molécula é rica em alcoóis e lipossolúvel, característica que possibilita a interação com as membranas celulares, os grupamentos éteres, carboxilas, hidroxilas e carbonilas têm o seu oxigênio orientado para a parte interna, formando cavidades para prender cátions (PRESSMAN, 1976). Por possuírem tanto regiões apolares como polares, estas substâncias têm duas características que garantem seu modo de ação: a capacidade de interagir com as membranas celulares e de prender cátions, respectivamente.

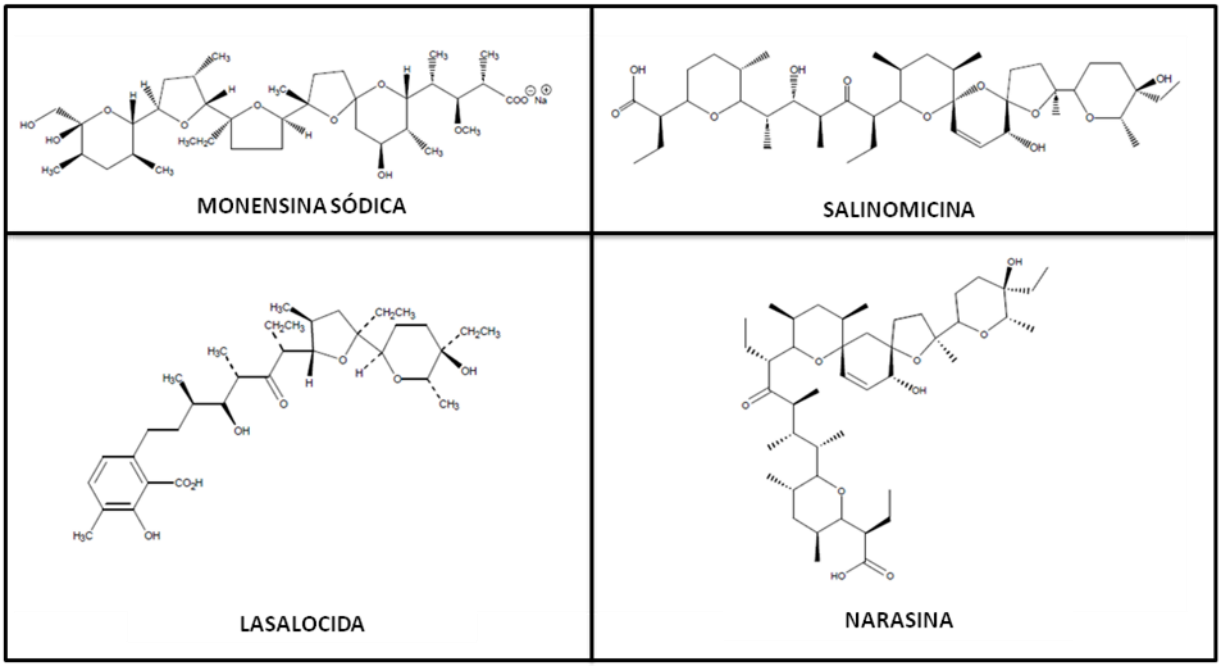

Figura 1 - Estruturas dos principais ionóforos poliéteres utilizados em nutrição de ruminantes

O resultado é que é os ionóforos formam complexos lipossolúveis com cátions polares K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} (Pressman, 1976) que atravessam as paredes celulares porosas compostas de peptidoglicanas dos microorganismos Gram-positivos. Os microorganismos Gram-negativos são geralmente resistentes aos ionóforos, pois possuem membrana externa impermeável a várias macromoléculas (RUSSEL; STROBEL; 1989).

O mecanismo de ação da monensina na bactéria é mais bem descrito (Russel e Strobel, 1989) em relação à outros ionóforos. O complexo ionóforo + cátion adere à bactéria, atravessa a parede celular e se solubiliza na membrana celular lipídica bilaminar. Uma vez solubilizado, o cátion é trocado por um próton (H^+). A concentração citoplasmática de K^+ é maior do que a concentração extracelular, o que favorece a saída do K^+ intracelular com concomitante entrada de H^+ extracelular, conforme ilustrado na figura 2.

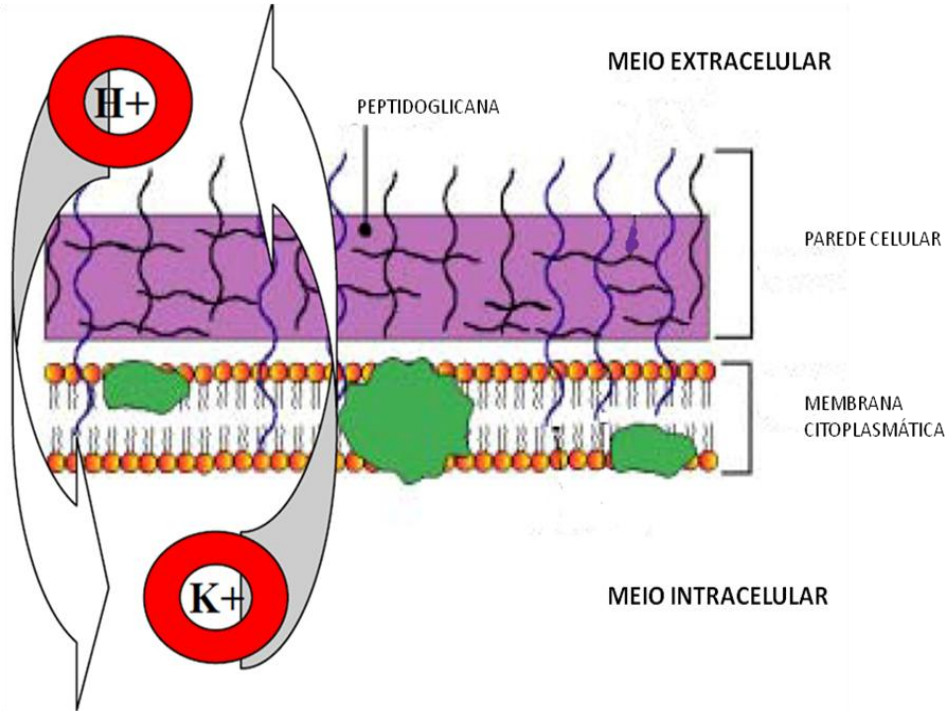

Figura 2 - Mecanismo de ação dos ionóforos poliéteres em microorganismos Gram-positivos

A conseqüência é a redução da concentração de K^+ no interior da célula bacteriana e redução do pH, causada pelo influxo de H^+. O distúrbio do equilíbrio iônico

e de pH intracelulares ativa mecanismos homeostáticos que consomem energia, causando a morte da bactéria Gram-positiva ou fazendo com que a população deste tipo de bactéria seja severamente suprimida (RUSSEL; STROBEL, 1989).

Existem diferenças entre os ionóforos quanto à afinidade por cátions. De acordo com Pressman (1976), a ordem de seletividade para monensina é: $Na^{+}>>K^{+}>Rb^{+}>Li^{+}>Cs^{+}$, enquanto para a lasalocida a ordem preferencial de seletividade é $Cs^{+}>Rb^{+}\approx K^{+}>Na^{+}>Li^{+}$ para os íons monovalentes e $Ba^{++}>Sr^{++}>Ca^{++}>Mg^{++}$ para os cátions divalentes. Para a salinomicina, a ordem de afinidade foi descrita como: Rb^{+}, $Na^{+}>K^{+}>>Cs^{+}>Sr^{++}>Ca^{++}$, Mg^{++} (MITANI; TADASHI; MIYAZAKI; 1975).

Não é bem claro na literatura se os fluxos de íons descritos para a monensina podem ser extrapolados para outros ionóforos, principalmente para a lasalocida, que complexa cátions divalentes (PAGE, 2003). O que se sabe é que existem diferenças quanto à afinidade por íons, conforme citado acima. No entanto, o mecanismo de ação básico é compartilhado entre os ionóforos: suas ações sobre os organismos alvo decorrem da alteração dos sistemas de transporte natural dos íons através das membranas celulares dos parasitas, o que causa distúrbio do equilíbrio iônico e do pH intracelulares.

A atuação dos ionóforos no controle de protozoários do gênero *Eimeria sp*. (coccidiose) também ocorre pela perturbação do fluxo normal de íons na membrana celular. Esporozoítos de coccídia ficam inchados pelo excesso de água e estouram quando expostos aos ionóforos, devido às alterações no transporte de íons através das membranas (BERGEN; BATES, 1984).

A virginiamicina é antibiótico pertencente à classe das estreptograminas, produzido por uma cepa mutante de *Streptomyces virginiae* (DESOMER; VAN DIJCK; 1955 apud PAGE; 2003). Trata-se de mistura natural de dois componentes químicos distintos, denominados fator M e fator S, que combinados na proporção aproximada de 4:1 (M:S) proporcionam a melhor atividade antibacteriana (CHAMPNEY; TOBER, 2000). No meio intracelular, as duas moléculas da virginiamicina (fator M e S) estabelecem ligação específica e irreversível à unidades ribossomais (COCITO; 1979). Como resultado, tem-se a inibição do processo de síntese proteica nos microorganismos afetados. A interrupção dos processos metabólicos essenciais dependentes de proteína

causa a redução do crescimento ou a morte das bactérias afetadas. A virginiamicina atinge o local de ação facilmente em bactérias Gram-positivas, passando pela parede celular, enquanto que as bactérias Gram-negativas são menos susceptíveis ao antimicrobiano (COCITO, 1979; PAGE; 2003).

2.3 Conseqüências para a fermentação ruminal e outros benefícios para o ruminante

A inibição de bactérias Gram-positivas pelos antimicrobianos seletivos causa fermentação ruminal mais eficiente. O substrato (dieta) passa a ser fermentado por bactérias que favorecem o acúmulo do subproduto ácido propiônico em detrimento dos subprodutos de fermentação ácido acético e butírico.

Bagley et al (1988) conduziu estudo com novilhos em pastagem consumindo 0,9 kg de milho/cab/dia que provia diferentes níveis de salinomicina. O ganho de peso foi monitorado durante 161 dias e, ao final do estudo, foi coletado fluido ruminal com sonda esofágica. Os resultados são mostrados na Tabela 1.

Diversos trabalhos já demonstraram o efeito dos ionóforos na modificação do padrão de fermentação ruminal, com as mesmas tendências das alterações citadas acima (RICHARDSON et al, 1976; POTTER; COOLEY; RICHARDSON, 1976; RAUN et al, 1974a; ARMENTANO; YOUNG; 1983).

Tabela 1 - Parâmetros ruminais de novilhos suplementados com salinomicina em pastagem

	Nível de salinomicina (mg/cab/dia)			
	0	**55**	**105**	**150**
Ácidos graxos voláteis (AGV)				
(mol/100 moles)				
Ácido acético [Q]	69,70	72,00	70,60	70,10
Ácido propiônico [L]	16,10	17,20	18,50	19,80
Ácido butírico [LQ]	14,20	10,80	10,90	10,10
(micromol/ml)				
Ácido acético	70,20	68,70	66,30	63,90
Ácido propiônico	16,10	16,40	17,30	18,10
Ácido butírico [L]	13,90	10,60	10,40	9,20
Total AGV (micromol/ml)	101,20	95,70	94,00	91,10

[L] contraste linear significativo (P<0,01)
[Q] contraste quadrático significativo (P<0,01)

Entre os produtos da fermentação ruminal, o acetato e butirato são produtos mais oxidados do que o propionato, succinato ou lactato (KOZLOSKI; 2009), conforme pode ser observado pelo seguinte resumo das reações de fermentação de carboidrato no rúmen:

glicose → 2 piruvato + 4 H

piruvato + H_2O → acetato + CO_2 + 2H

2 piruvato → butirato + 2 CO_2

piruvato + 4H → propionato + H_2O

CO_2 + 8H → metano + 2 H_2O

Isso significa que no caso de propionato, succinato e lactato, mais energia fica retida nos produtos da fermentação, e menos energia é perdida pela liberação de H_2. Grande parte do H_2 gerado será capturado pelas bactérias metanógenas no rúmen e convertidos a metano, que é perdido por eructação, um mecanismo de dreno de H+ que permitirá a regeneração das enzimas NAD^+ e $NADP^+$ no rúmen (ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006).

Por cálculos estequiométricos, se forem considerados os seguintes valores teóricos de calor de combustão (kcal/mol): acetato = 209, propionato = 367, butirato =

524 e glicose = 673 (CHURCH; 1988); demonstra-se de maneira resumida o balanço das trocas energéticas que ocorrem na formação dos diferentes ácidos graxos voláteis:

ACETATO:

1 Hexose (673 kcal/mol) $\longrightarrow$ 2 CH_3COOH + CO_2 + 4 H_2 (418 kcal/2 moles de acetato)

418 – 673 = - 252 kcal perdidas na fermentação de 1 mol de hexose para formação de acetato

BUTIRATO

1 Hexose (673 kcal/mol) $\longrightarrow$ $CH_3CH_2CH_2COOH$ + 2 CO_2 + 2 H_2 (524 kcal/mol de butirato)

524 – 673 = - 146 kcal perdidas na fermentação de 1 mol de hexose para formação de butirato

PROPIONATO

1 Hexose (673 kcal/mol) + 2 H_2 $\longrightarrow$ $2CH_3CH_2COOH$ + $2H_2O$ (734 kcal/2 moles de propionato)

734 – 673 = + 61 kcal ganhas na fermentação de 1 mol de hexose para formação de propionato

Portanto, em nutrição de ruminantes, a alteração da rota de fermentação para a produção de ácido propiônico tem potencial para causar melhora na eficiência de uso da energia. Em dietas de forragem, os ácidos graxos voláteis (AGVs) contribuem com 50 a 85% da energia metabolizável pelo ruminante (CHURCH; 1988). O aumento líquido na eficiência ruminal devido à alteração da proporção dos ácidos graxos voláteis com o uso de monensina foi estimado em 6% por Armentano e Young (1983). Este aumento na energia metabolizável não é capaz de explicar toda a magnitude dos incrementos observados em ganho de peso e eficiência alimentar, que muitas vezes superam 10% (PAGE; 2003). Russel e Strobel (1989) ressaltaram que, em muitos casos, a produção de AGVs não é capaz de explicar toda a diferença em crescimento causada por ionóforos. No experimento de Thornton e Owens (1981), a alteração da produção de AGVs não foi capaz de explicar nem 50% da melhora no crescimento animal. Wedergaertner e Johnson (1983) em estudo de calorimetria mostraram que dois terços da melhora no uso da energia foram devidos à redução das perdas fecais (melhor digestibilidade) e apenas um terço devido à redução da produção de metano (melhor padrão de produção de AGVs).

Apesar da ênfase normalmente atribuída à produção de AGVs, a literatura revisada indica que o efeito observado em produtividade é fruto de um conjunto de fatores nutricionais alterados pelos ionóforos, assim como foi proposto por Bergen e Bates (1984). Os pincipais fatores conhecidos são:

1) melhora no perfil de AGVs;
2) aumento em digestibilidade, embora a detecção de diferença estatística para este ágio varie consideravelmente entre experimentos;
3) redução da deaminação pelas bactérias ruminais, causando economia de proteína e
4) controle de coccidiose.

Os resultados observados em digestibilidade são variáveis, conforme pode ser observado pela compilação de dados na revisão de Page (2003; p. 10-10). Nessa revisão, 7 trabalhos apontam aumento da digestibilidade da matéria seca e/ou fibra em resposta à monensina; 5 indicam redução e em 3 trabalhos não se detectou efeito da monensina na digestibilidade. No entanto, quando se observa os valores médios da literatura para avaliar a possibilidade de que o aumento na digestibilidade possa ser um dos fatores que explicam o aumento no ganho de peso de animais em pastejo, os resultados são sugestivos.

Em análise conjunta de diversos estudos *in vivo*, a digestibilidade da matéria orgânica foi de 70,33 para 72,4% (amplitude de -0,9 para +9,2%; 17 experimentos) quando se tratou os animais com monensina e de 75,7 para 77,7 (amplitude de +1,9 para +2,2%; 3 experimentos) quando os animais foram tratados com lasalocida (SPEARS; 1990).

São poucos os estudos de digestibilidade com dietas de animais em pastagem tropicais. Os dados de Pond e Ellis (1981) citados por PAGE (2003) demonstram aumento da digestibilidade da matéria orgânica de 46,4 para 48,2% com o uso de monensina em dieta de capim-bermuda (*Cynodon dactylon*). Trabalhando com 80 a 84,5% de colmo de milho na dieta, Faulkner et al (1985) reportaram aumento de

digestibilidade da matéria seca de 52,5 para 55,8% em um experimento e de 64,5 para 66,5% em um segundo experimento.

Avaliando a salinomicina, Zinn (1986) trabalhou com novilhos recebendo dietas de 10, 15 a 20% de forragem, e reportou aumento de digestibilidade da matéria orgânica de 2,8% devido ao uso do ionóforo apenas para o tratamento com 10% de forragem. Merchen e Berger (1985) não encontraram diferença na digestibilidade aparente da matéria seca ou matéria orgânica em ovinos recebendo dieta com 60% de concentrado com ou sem salinomicina. Em contraste, Ferrel (1982) apud Page (2003) encontrou aumento em digestibilidade quando a salinomicina foi oferecida a novilhos. Os resultados em digestibilidade são variáveis.

Um aspecto importante é que alguns estudos não tem delineamento suficiente para detectar as diferenças em digestibilidade promovidas pelos ionóforos, da ordem de 2 pontos percentuais (SPEARS; 1990). O experimento de Merchen e Berger (1985) relata não haver diferença para ovinos suplementados ou não com salinomicina. O erro padrão da média de digestibilidade reportado neste experimento é de 0,78 pontos percentuais. Estimando o intervalo de confiança a partir do erro padrão, por aproximação conforme descrito por Morris (1999) (intervalo de confiança = $\sqrt{2}$ x 2 x erro padrão da média) tem-se o valor de +-2,2%. Em outras palavras, a valor mínimo para se detectar diferença estatística seria de aproximadamente 2,2%. Este raciocínio sugere que tal experimento pode correr o risco de cometer erro estatístico do tipo 2: aceitar que os tratamentos são iguais, quando na verdade são diferentes.

Se for considerado possível aumento de digestibilidade de dois pontos percentuais pelo uso do aditivo, conforme sugerido pela revisão de Spears (1990), seria possível aumentar o ganho de peso de um animal consumindo forragem de 0,660 para 0,750 kg/cab/dia (simulação feita pelo modelo NRC, 1996). Conforme apontado por Spears (1990), o aumento na digestibilidade pode explicar parcialmente o incremento em eficiência de crescimento causado pelos ionóforos.

Outro fator que pode contribuir para o efeito do ionóforo é o poder de reduzir a deaminação e a degradação da proteína microbiana, reduzindo o teor de amônia ruminal, o que aumenta a passagem e absorção de proteína para o intestino delgado e causa economia de nitrogênio para o ruminante (OWENS et al; 1978; SPEARS; 1990;

LANA; RUSSEL; 1997; BOHNERT et al; 2000). No entanto, o potencial de tradução deste benefício em resultados numéricos de ganho de peso ainda não foi bem explorado na literatura.

O controle de coccidiose é um benefício muito importante dos ionóforos a ser considerado, e em situações de alta infestação causa aumentos expressivos em ganhos de peso, conforme é discutido a seguir na seção 2.4. Sinks; Quigley; Reinemeyer (1992) inocularam bezerros artificialmente com oocistos de *Eimeria bovis*, e demonstraram que o número de oocistos fecais foi reduzida em animais que receberam lasalocida. Merchen e Berger (1985) encontraram redução significativa na porcentagem de animais portadores de oocistos nas fezes, bem como a redução do número de oocistos de coccídia nas fezes de novilhos suplementados com salinomicina a partir de 16,5 ppm para avaliação no 28º dia de experimento. Em uma segunda avaliação no 111º dia de experimento, 5,5 ppm de salinomicina na ração foram suficientes para reduzir a infestação de oocistos.

A literatura revisada explicita que a melhora em desempenho observada para o uso de ionóforos é resultado de um conjunto de fatores. Com o conhecimento atual não é possível atribuir ordens de importância aos fatores causais. Além disso, existem variações nas respostas ruminais, nutricionais e fisiológicas obtidas com o uso dos ionóforos que ainda não se explica com clareza. O que se sabe é que na grande maioria das situações, o conjunto de fatores citados resulta em melhora nos parâmetros de produtividade ganho de peso e/ou eficiência de conversão alimentar, conforme pode ser observado em diversas revisões publicadas (PAGE; 2003; BRETSCHNEIDER et al.; 2008).

Acredita-se que o antimicrobiano virginiamicina atua de maneira similar aos ionóforos em ruminantes, por inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas (COCITO; 1979). A literatura sobre este antimicrobiano enfatiza o aspecto de redução da produção de lactato, redução da incidência de acidose ruminal e de abcessos hepáticos em condições de dieta de alto grão. As demonstrações de redução da produção de lactato e acidose ruminal são encontradas nos trabalhos de Nagaraja et al (1987); Hedde et al (1989) e Rowe et al (1989) apud Nagaraja et al (1995); Coe et al (1999); Clayton et al. (1999). Para a aprovação do uso da virginiamicina em gado de

corte nos EUA, foi elaborado relatório (FDA; 1994) de estudos envolvendo 1520 bovinos. A ocorrência de abcessos hepáticos diminuiu de 30,14 para 18,53% com o uso de virginiamicina.

Os estudos microbiológicos de Nagaraja e Taylor (1987) determinaram a concentração mínima inibitória da virginiamicina para diversas bactérias ruminais. Os microorganismos produtores de ácido lático e hidrogênio foram altamente susceptíveis ao antimicrobiano, enquanto que os produtores de propionato foram tolerantes. Pelos resultados deduziu-se que a virginiamicina tem as características de um antimicrobiano capaz de reduzir as condições de acidose ruminal e de desviar a fermentação ruminal para a produção de propionato.

Skrivanováa e Marounek (1993) trabalharam com bezerros em amamentação com idade de 4 a 20 semanas. A virginiamicina aumentou significativamente a porcentagem molar de propionato e reduziu a relação acetato:propionato no fluido ruminal, melhorando o desempenho dos bezerros em 5,1%.

Nagaraja et al (1995) trabalhou com ovinos recebendo desafio de alta ingestão de grão (1,7 kg de cevada por cabeça) e notou que após o desafio os animais que recebiam virginiamicina apresentaram menor pH, maior concentração de propionato e lactato no fluido ruminal. O antimicrobiano falhou em controlar as condições de acidose ruminal, contrariando a expectativa. A hipótese para explicar as observações é que a virginiamicina mudou o padrão de fermentação redirecionando elétrons da produção de metano para a produção de lactato e propionato.

Em contraste, Salinas-Chavira et al (2009) demonstraram maior concentração molar de acetato, maior estimativa de produção de metano e menor concentração molar de propionato com o uso da virginiamicina em novilhos consumindo dieta com base em milho floculado. A eficiência do uso do nitrogênio ruminal, medido como o fluxo de compostos nitrogenados não-amonia para o intestino delgado, aumentou em animais tratados com virginiamicina. A digestibilidade ruminal e pós-ruminal da matéria orgânica, fibra em detergente neutro (FDN) e nitrogênio não foram afetadas pela virginiamicina. Em experimento paralelo de desempenho não se observou alteração em ganho de peso, mas demonstrou-se melhora da eficiência de conversão alimentar com a virginiamicina.

Enquanto que o controle da produção de lactato e acidose ruminal têm sido efeitos consistentes em ruminantes tratados com virginiamicina, as alterações nas proporções de AGV´s ruminais encontradas na literatura para a virginiamicina são variáveis. No entanto, quando se analisa as respostas em ganho de peso de animais em pastagens, os benefícios são consistentes, conforme será discutido nas próximas seções.

Não há expectativa de controle de coccidiose com o uso da virginiamicina, conforme demonstrado pelo trabalho de Skrivanováa, Marounek e Klein (1999).

2.4 Efeito dos antimicrobianos no ganho de peso de animais em pastagens

A capacidade dos ionóforos e outros antimicrobianos para promover ganho de peso de animais em pastejo é amplamente reconhecida atualmente. O ganho de peso adicional com uso de ionóforos para animais mantidos exclusivamente em pastagens é de 0,070 a 0,110 kg/cab/dia em relação à grupos controle, que não recebem o antimicrobiano (Kunkle et al, 2002).

Goodrich (1984) reuniu informações de 24 trabalhos com fornecimento de monensina para 914 animais em pastagens e reportou aumento significativo médio no ganho de peso de 0,082 kg/cab/dia (13,5%) para os tratamentos que receberam o ionóforo.

Mais tarde, Potter et al (1986) publicaram dados de 24 trabalhos com o fornecimento de monensina na dose de 200 mg/cab/dia em quantidade limitadas de suplemento concentrado. Os ganhos de peso dos grupos controle, que recebiam suplemento concentrado sem monensina, foram de 0,240 a 0,960 kg/cab/dia, com média de 0,560 kg/cab/dia. A adição de monensina no suplemento proporcionou aumento no ganho de peso em todos os experimentos, sendo que na análise de todos os trabalhos em conjunto houve incremento significativo de 0,090 kg/cab/dia (+16,3%).

Em compilação mais recente da literatura, Bretschneider et al. (2008) revisaram 99 trabalhos com ionóforos (monensina, lasalocida, tetronasina, lisocelina e salinomicina) e outros antimicrobianos de ação similar no rúmen (virginiamicina, bambermicina e avoparcina). A média ponderada das substâncias avaliadas revela 12,07% de aumento em ganho de peso para animais a pasto tratados com antimicrobianos promotores de crescimento.

Os trabalhos revisados por Bretschneider et al. (2008) indicam que o aumento de ganho de peso pelos antimicrobianos promotores de crescimento ocorreu para vários níveis de ganho de peso, estando presente em experimentos em que o ganho de peso do tratamento controle foi próximo à situação de mantença e também em pesquisas nas quais o ganho do tratamento controle eram mais altos. Observou-se pequena redução da resposta em ganho de peso para a monensina conforme se aumentava o ganho de peso dos grupos controle (GPD[8] monensina = 0,950 x ganho do grupo controle + 0,11; n=22; R^2=0,93). A equação sugere que nas condições em que os animais do grupo controle ganham 0,100 kg/cab/dia, animais tratados com monensina ganhariam 0,205 kg/cab/dia. Já para a situação em que o ganho de animais não tratados fosse de 0,800 kg/cab/dia, o ganho do tratamento com monensina seria de 0,870 kg/cab/dia. Já a lasalocida demonstrou maiores benefícios quando os grupos controle ganhavam mais peso (GPD lasalocida = 1,055 x ganho do grupo controle + 0,04; n=10; R^2 =0,99). Outros antimicrobianos (lisocelina, tetronasina, salinomicina, avoparcina, virginiamicina e bambermicina) com menor número de trabalhos foram agrupados, gerando a seguinte equação: GPD outros (kg) = 0,940 x ganho do grupo controle + 0,14 (n=13; R^2=0,98).

É importante avaliar com cuidado as equações geradas por Bretschneider et al. (2008), pois os dados não são oriundos de experimento delineado para testar a correlação avaliada. As equações devem ser entendidas como sugestivas para as correlações propostas, e experimentos devem ser conduzidos com delineamento apropriado para testar a correlação entre a taxa de ganho do grupo controle e a resposta obtida com os diferentes antimicrobianos.

Page (2003) reporta incrementos de ganho de peso para animais em pastejo de 18% em média de 26 estudos com monensina, 21,25% de aumento na média de 8 estudos com lasalocida e 20,4% de aumento na média de 7 estudos com salinomicina.

Em trabalho com novilhas nelore em pastejo de *Brachiaria decumbens*, Saran Netto et al (2004) demonstraram benefício da salinomicina fornecida via sal proteinado com consumo de aproximadamente 320 g/cab/dia. O ganho de peso foi de 0,100 e 0,202 para os animais controle ou tratados com 0,3 mg de salinomicina/kg de peso vivo, respectivamente.

---

[8] GPD = ganho de peso diário.

Bagley et al (1988) conduziu estudo com novilhos em pastagem de capim-bermuda (*Cynodon dactylon*) consumindo suplemento de 0,9 kg de milho/cab/dia, que provia diferentes níveis de salinomicina. O ganho de peso foi monitorado durante 161 dias. Os ganhos de peso observados foram de 0,490; 0,700; 0,730 e 0,750 kg/cab/dia para novilhos recebendo 0, 55, 105 e 150 mg de salinomicina/cab/dia. O ganho de peso do tratamento controle no trabalho de Bagley (1988) é muito inferior aos tratamentos com salinomicina, e a magnitude de ganho (0,210 kg/cab/dia a mais para o tratamento medicado com dose mais baixa) é maior do que a normalmente encontrada em experimentos com ionóforos (POTTER et al; 1986; PAGE, 2003; BRETSCHNEIDER et al; 2008). Aumentos com esta magnitude são esperados para situações onde há ocorrência de coccidiose.

Sinks; Quigley; Reinemeyer (1992) reportaram aumento em ganho de peso com o uso da lasalocida de 0,750 para 0,810 kg/cab/dia (8%) em animais não inoculados e de 0,500 para 0,750 kg/cab/dia (50%) para animais inoculados artificialmente com oocistos de *Eimeria bovis*.

A respeito da virginiamicina, apesar da ênfase da pesquisa com objetivo de controle de acidose em rações de alto grão, existem indicações de que este aditivo pode gerar benefício em condições de dietas de forragem com animais em pastejo.

Boucque et al (1990) demonstraram aumento de ganho de peso em bovinos consumindo dieta à base de silagem de milho de 1,280 para 1,380 kg/cab/dia, sem efeito no consumo de ração.

Fiems et al (1992) conduziram experimentos com novilhos e novilhas em pastejo de azevém perene, fornecendo suplemento de 1 kg/cab/dia de polpa de beterraba seca, no qual era misturada a virginiamicina para os tratamentos que receberiam antimicrobiano. Observaram-se aumentos significativos no ganho de peso com o uso da virginiamicina, de 0,590 para 0,720 kg/cab/dia (experimento 1; $P<0,001$; 147 dias), de 0,730 para 0,810 (experimento 3; $P<0,01$; 182 dias), mas em um dos experimentos não houve aumento significativo ($P>0,10$; de 0,510 para 0,550 kg/cab/dia; 194 dias). Os autores sugeriram que este evento pode ter sido decorrência da elevada dose de virginiamicina (300 mg/cab/dia) neste experimento. No trabalho de Fiems et al (1992) relata-se não haver diferença no ganho de peso nem na conversão alimentar entre os

tratamentos no período subseqüente ao de suplementação como virginiamicina a pasto, quando os animais foram confinados.

2.5 Efeito dos antimicrobianos no consumo em dietas de forragem

Em animais recebendo rações de confinamento, os ionóforos normalmente reduzem ou mantém o consumo de alimento, enquanto que o ganho de peso é mantido ou aumentado em pequena intensidade. O resultado clássico observado é a melhoria da conversão alimentar (BERGEN; BATES; 1984; PAGE; 2003).

Já em condição de dietas de forragem e animais em pastejo, o consumo de alimento é mantido ou diminuído em pequena intensidade (POTTER et al; 1986; BRETSCHNEIDER et al; 2008), enquanto o ganho de peso é aumentado em magnitude normalmente mais expressiva do que em confinamento (SCHELLING; 1984). Também para a condição de pastejo observa-se melhoria da conversão alimentar (BRETSCHNEIDER et al; 2008).

Potter et al (1986) reuniram os dados de 12 experimentos que avaliaram o consumo de forragem cortada e servida no cocho para bovinos. Foi realizada análise estatística considerando experimentos e blocos experimentais como componentes do modelo estatístico. Observou-se redução significativa ($P<0,01$) de -3,1% no consumo de forragem.

Trabalhando com dados da literatura, Bretschneider et al (2008) não encontraram diferença no consumo de forragem de animais tratados ou não com monensina e lasalocida. No total, foram revisados 31 trabalhos com animais recebendo forragem no cocho ou em pastejo com uso de marcadores de consumo.

2.6 Benefícios ambientais e segurança da aplicação de antimicrobianos para animais em pastagens

A produção de alimentos de origem animal para a alimentação humana tem sido alvo de críticas devido ao potencial de degradação do meio ambiente que esta atividade pode gerar (MARLOW et al; 2009). As principais preocupações relativas à sustentabilidade na produção de ruminantes são relativas à alta demanda de insumos (terra, água, energia e fertilizantes) por este setor agropecuário e ao potencial de

emissão de gases de efeito estufa (principalmente metano) pelos animais (STEINFELD et al; 2006).

Sabe-se que os ionóforos aumentam a eficiência do uso do nitrogênio por ruminantes e redução na produção de gás metano no rúmen, podendo contribuir para a mitigação da emissão deste gás de efeito estufa (RUSSEL; STROBEL, 1989; TEDESCHI; FOX; TYLUTKI; 2003).

Reid et al (2004) comentam que a maioria das estratégias que possibilitam redução da produção de metano em pastagens tropicais são associadas a ganhos de produtividade. Neste trabalho são enumerados como possíveis estratégias para a mitigação de metano: melhorar a nutrição e saúde dos animais; reduzir o número de animais doentes e não-produtivos; a utilização de melhoramento genético que incremente a produtividade e reduza o tempo para o abate; adequação do manejo do pastejo para possibilitar consumo de forragem de melhor qualidade; utilização de anabolizantes para reduzir o tempo para o abate e utilização de antibióticos e ionóforos que melhoram a conversão alimentar.

Além de reduzir a produção de metano, os antimicrobianos diminuem a demanda dos ruminantes por alimentos (TEDESCHI; FOX; TYLUTKI; 2003), ou seja, reduzem a demanda por insumos. Além disso, conforme discutido na seção 1 (Introdução), com o conhecimento atual sobre a resposta dos bovinos em pastejo ao uso de antimicrobianos promotores de crescimento, estima-se redução de 23% na necessidade de área para produção de alimentos para a bovinocultura de corte, o que indiretamente também reduz a pressão de desmatamento de novas áreas para agricultura e pastagem.

Diversos antimicrobianos promotores de crescimento em animais são alvo de preocupações quanto ao perigo que podem representar devido à possibilidade dessas substâncias selecionarem bactérias resistentes que podem ser prejudiciais aos seres humanos (FIORENTIN; 2005; HUGHES; HERITAGE; 2004). Algumas críticas parecem ser céticas (FIORENTIN, 2005) quanto à pesquisas que avaliam a segurança dos antimicrobianos aprovados para uso na produção animal. Já outros autores parecem ser mais ponderados e, perante informações científicas que comprovam a segurança de determinada substância, defendem seu uso considerando os benefícios em produtividade e sustentabilidade que a tecnologia pode gerar (PHILLIPS et al; 2003).

A monensina, um antibiótico da classe dos ionóforos, foi considerada por Hughes e Heritage (2004) uma das substâncias mais efetivas como promotora de crescimento e seguras em relação à saúde humana e animal. Os ionóforos não pertencem à classe importante de antibióticos médicos utilizados em humanos e não são associados à problemas de resistência de bactérias patogênicas (HUGHES; HERITAGE; 2004). O ionóforo salimomicina foi submetido a diversas avaliações de risco para o ambiente e para a saúde humana antes da aprovação de seu uso para animais (FDA; 1992), assim como foi feito para a virginiamicina (FDA; 1993).

A segurança da utilização da virginiamicina tem sido discutida recentemente. A aplicação deste antimicrobiano como promotor de crescimento em animais é feito a mais de 30 anos e, recentemente, após a aprovação do antibiótico Synercid (quinupristina associada à dalfopristina) em 1999, a continuidade de sua utilização tem sido questionada. O Synercid é uma droga da classe das estreptograminas, recentemente aprovada para o controle de *Enterococcus faecium* em humanos (FDA; 2004). Para reavaliar o risco da virginiamicina para humanos frente à esta situação, o FDA conduziu avaliação de risco, publicado em FDA (2004). Os resultados da avaliação indicaram que as chances de que a virginiamicina utilizada em animais possa transferir resistência à *Enterococcus faecium* em humanos são baixas. Phillips et al (2004), considerando os trabalhos disponíveis, concluíram que existe pouca ou nenhuma evidência de que *Enterococcus sp.* resistentes de animais possam representar risco para a população. Os autores acreditam que a proibição de antimicrobianos promotores de crescimento na nutrição animal pelo perigo de essas substâncias desenvolverem resistência em *Enterococcus sp.* patogênicos em humanos não se justifica e que o banimento não terá impacto na ocorrência de infecções *Enterococcus sp.* em humanos. O próprio comitê científico para nutrição animal da União Européia divulgou relatório concluindo que o uso da virginiamicina como promotor de crescimento atualmente não representa risco para a população (SCAN; 1998).

Conforme discutido por Phillips et al (2003), o “princípio de precaução[9]” praticado pela União Européia, que proíbe determinadas substâncias por precaução mesmo que

[9] O “princípio de precaução” aplicado a antimicrobianos promotores de crescimento considera que as substâncias devem ser banidas nas seguintes situações: 1) Casos em que os dados científicos sejam insuficientes, pouco conclusivos ou incertos ou 2) Casos em que um exame científico preliminar revele

as análises de risco de especialistas demonstrem que ela é segura, pode ser considerada uma abordagem não-científica do assunto.

A pressão de proibição de antimicrobianos promotores de crescimento para a produção agropecuária parece ser ditada por parte da sociedade que desconhece o enorme impacto em sustentabilidade que essas tecnologias proporcionam, conforme foi devidamente ilustrado no poema “Em Equilíbrio com a Natureza” (Anexo B). Cabe aos profissionais da ciência animal defender o uso de tecnologias seguras e importantes com o uso de embasamento científico.

2.7 Fornecimento de antimicrobianos para bovinos em pastejo via mistura mineral

As respostas dos bovinos em pastejo aos antimicrobianos promotores de crescimento enfatizam a importância econômica e ambiental de se aplicar esta tecnologia nos sistemas de produção. No entanto, existe dificuldade para se fornecer o aditivo para o animal a pasto, o que pode ser apontado como principal causa da baixa adoção desta tecnologia.

Os veículos para a administração de ionóforos para bovinos em pastejo com efetividade comprovada são os suplementos com grãos em níveis variados de consumo (Potter et al, 1986; Kunkle et al, 2002; Saran Netto, 2004; Prohmann, 2004; Bretschneider et al., 2008). No entanto, a suplementação com grãos implica em aumento de custos de produção que podem não ser traduzidos em retorno econômico.

Os *bolus* intra-ruminais são dispositivos de liberação lenta capazes de fornecer doses adequadas de antimicrobianos no interior do rúmen do animal (DAVENPORT et al, 1989). Esta tecnologia é promissora, no entanto, segundo PERES[10] (comunicação pessoal), a aplicação dos *bolus* com o objetivo único de promover crescimento ainda é economicamente inviável frente aos preços de comercialização praticados na venda dos bolus. Tal material é atualmente comercializado para situações de prevenção de timpanismo em pastagens de clima temperado, situação na qual o custo se justifica.

---

que se pode razoavelmente recear efeitos potencialmente perigosos para o ambiente e para a saúde das pessoas e dos animais bem como para a sanidade vegetal (PORTAL DA UNIÃO EUROPÉIA; 2010).

[10] PERES, J. R. Elanco Saúde Animal.

A maioria dos sistemas de produção de bovinos utiliza suplementação mineral. Portanto, validar método de fornecimento de antimicrobiano via mistura mineral possibilitaria adoção ampla da tecnologia pelos produtores.

Uma das limitações para o fornecimento de antimicrobianos via sal mineral é que os ionóforos geralmente diminuem o consumo da mistura mineral (BAGLEY et al, 1988; GUTIERREZ; 1997; FRANCO; 2007), o que pode prejudicar o desempenho animal por restrigir o fornecimento de minerais e inviabilizar o fornecimento da dose de ionóforo pretendida.

Franco (2007) avaliou o consumo de misturas minerais em três tratamentos: 1) Mistura mineral controle, sem ionóforo; 2) Mistura mineral com monensina sódica da marca comercial Rumensin 200® e 3) Mistura mineral com monensina sódica em veículo especial (Elanco Saúde Animal). Os consumos médios de suplemento mineral foram de 56,9; 27,5 e 36,1 g/cab/dia nos tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente, sendo que a média do tratamento 1 foi significativamente maior ($P<0,05$) do que a dos outros tratamentos.

Outro problema do uso do sal mineral como veículo para antimicrobianos promotores de crescimento é que, por apresentar baixo consumo, as misturas minerais apresentam alta variabilidade de ingestão individual diária se comparadas aos suplementos com grãos (Cockwill et al, 2000). Devido à variabilidade diária individual no consumo, a dose diária de antimicrobiano também varia, fato que pode comprometer a ação da substância e normalmente é citado como causa explicativa para ausência de resultados. Esse aspecto tem sido citado como causa da ausência de resultados de ganho de peso quando o fornecimento é feito via mistura mineral.

Existe também a possibilidade de que os aditivos percam a efetividade depois de misturados aos minerais e ainda expostos às condições de cocho. Bagley et al (1988) notaram redução de 47% na atividade da salinomicina duas semanas após a mistura com o suplemento mineral.

Existem diversos casos de ausência de resultados com o uso de antimicrobianos promotores de crescimento em misturas minerais (PITMAN; PATE; 1984; BAGLEY et al; 1988; DELCURTO; WEBER; CRAIG, 1989; RODE et al; 1994 – experimento 2; GUTIERREZ; 1997; ROSO; RESTLE; 2001; FIESER; HORN; EDWARDS; 2007 –

experimento 2). As limitações já citadas para o fornecimento de antimicrobianos via mistura mineral e os casos de ausência de resultados podem ser apontados como desencorajadores da pesquisa com objetivo de se estudar este método de fornecimento, o que explica o número reduzido de trabalhos.

Apesar dos diversos casos de ausência de resultados, quando se avalia a literatura disponível sobre a administração de antimicrobianos promotores de crescimento via suplemento mineral, percebe-se que existem casos de resposta positiva em ganho de peso (VALDES et al; 1988; LUCAS; 1989 e LUCAS; SOBRINHO, 1989; apud NICODEMO; 2001; RODE et al; 1994 – experimento 1; BRAZLE e LAUDERT; 1998; MCCANN et al, 1999 apud PAGE, 2003; FIESER; HORN; EDWARDS; 2007 – experimento 1). As respostas clássicas de aumento de ganho de peso pelo uso de antimicrobianos de 0,07 a 0,120 kg/cab/dia foram observadas nestes trabalhos.

Na tabela 2 sumarizam-se alguns índices dos trabalhos encontrados na literatura que avaliaram o efeito dos antimicrobianos promotores de crescimento via mistura mineral para animais em pastejo.

Tabela 2 - Dados de experimentos para avaliação do efeito dos antimicrobianos fornecidos via mistura mineral no ganho de peso de bovinos em pastejo

Ensaio (1)	Antimicrobiano	Duração (dias)	Animais/ parcela	Parcelas/ tratamento	Peso médio (kg)	Ganho adicional (kg/cab/dia)	valor P (2)	Consumo mineral (g/cab/dia)		Dose antimicrobiano (mg/100 kg de peso vivo)
								Controle	Tratado	
1	monensina	91	14	3 à 4	280	0,170	0,03	193	72	46
2	monensina	113	7	3 à 4	350	0,060	0,35	183	83	42
3	monensina	140	?	?	300	0,007	NS	84	50	60
4	lasalocida	126	7	3	275	0,027	NS	100	77	7
5	lasalocida	126	7	3	275	0,073	NS	100	86	11
6	lasalocida	96	37	2	300	0,087	<0,001	--	--	41
7	lasalocida	84	7	2	350	0,050	>0,1	174	106	48
8	lasalocida	90	35	2	363	0,050	0,04	89	83	31
9	lasalocida	90	15	2	385	0,020	0,51	147	140	48
10	lasalocida	68	3	3	229	-0,010	NS	--	--	--
11	salinomicina	98	8	3	208	0,000	NS	131	65	18
12	virginiamicina	126	100	1	183	0,066	--	--	17,2	56
13	virginiamicina	181	19	1	380	0,078	--	46	47	30
14	virginiamicina	112	100	1	410	0,149	--	44	42	26
15	bambermicina	202	3	3	350	0,130	<0,05	142	142	6

(1) Ensaios: 1) Fieser; Horn; Edwards; 2007 – experimento 1; 2) Fieser; Horn; Edwards; 2007 – experimento 2; 3) Gutierrez; 1997; 4) Pitman; Pate; 1984 – dose 1; 5) Pitman; Pate; 1984 – dose 2; 6) Valdes et al; 1988; 7) DelCurto; Weber; Craig, 1989; 8) Rode et al; 1994 – experimento 1; 9) Rode et al; 1994 – experimento 2; 10) Roso; Restle; 2001; 11) Bagley et al; 1988; 12) Lucas; 1989 apud Nicodemo; 2001; 13) Lucas; Sobrinho; 1989 apud Nicodemo; 2001; 14) Lucas; 1989 apud Nicodemo; 2001; 15) Mccann et al; 1999;

(2) valor P da comparação do ganho de peso entre tratamento controle e tratamento com antimicrobiano;

2.8 Importância de delineamento estatístico robusto em pesquisas com antimicrobianos promotores de crescimento

A ausência de resultados ou ocorrência de resultados não esperados podem ser, na maioria das vezes, explicados por delineamento estatístico inadequado (PIMENTEL GOMES; 1987). A diferença entre tratamentos a ser detectada com o uso de antimicrobianos promotores de crescimento para bovinos é pequena (0,07 à 0,120 kg/cab/dia), se comparada à dispersão natural da variável ganho de peso que, comumente, mostra desvios-padrão de 0,100 até 0,250 kg/cab/dia. Considerando situação hipotética, de tratamento controle com ganho de 0,600 kg/cab/dia, tratamento com ionóforo com 0,670 kg/cab/dia e desvio padrão de 0,130 kg/cab/dia, seriam necessários 74 animais em cada tratamento para que se pudesse obter 90% de chance (poder do teste) de detecção de diferença estatística com nível de significância de 5%. Esta simulação foi feita utilizando-se o procedimento “Two-Sample t-Test” do pacote estatístico SAS (SAS System, 2004).

Ao analisar as pesquisas nas quais não houve superioridade estatística no ganho de peso devido ao uso de antimicrobianos em misturas minerais, percebe-se que o número de animais utilizado pode ser considerado insuficiente. Este fato pode ser observado nas seguintes publicações sumarizadas na Tabela 2: Fieser et al; 2007 – experimento 2; Pitman; Pate; 1984; DelCurto; Weber; Craig, 1989; Rode et al; 1994 – experimento 2; Roso; Restle; 2001.

Justifica-se, desse modo, demanda por experimentos com delineamento apropriado para avaliar o fornecimento de aditivos via mistura mineral para bovinos em pastejo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos com auxílio de estagiários do Projeto CAPIM, grupo de pesquisa do Departamento de Zootecnia da ESALQ orientado pelo Professor Moacyr Corsi. Esse grupo é formado por alunos de graduação treinados para o acompanhamento de experimentos, desenvolvimento de programas de iniciação científica e manutenção de animais e pastagens do Departamento de Zootecnia na Fazenda Areão (ESALQ/USP). A seqüência de experimentos foi iniciada em dezembro de 2008 e findou em maio de 2010.

3.1 Pré-teste de consumo da mistura mineral com aditivos

Antes do início dos experimentos de desempenho, foi conduzido pré-teste para conhecer o consumo voluntário das misturas minerais contendo diferentes antimicrobianos, com o objetivo de definir a dose dos aditivos. Esta fase serviu também para descartar a possibilidade de uso de determinado aditivo caso acontecesse redução drástica no consumo de mistura mineral.

Neste pré-teste, o consumo voluntário de misturas minerais contendo salinomicina e virginiamicina foram comparados com o consumo de mistura sem aditivos durante período de 30 dias. Foram utilizados cento e vinte e um novilhos nelore com idades de 10 a 15 meses mantidos em pastagens do sistema de produção do Projeto CAPIM, na Fazenda Areão (ESALQ/USP), em Piracicaba-SP. Os animais tinham peso médio inicial de 213 kg e foram divididos em dois blocos, de acordo com o peso corporal, e quatro tratamentos: T1) controle: mistura mineral sem aditivo T2) mistura mineral igual à do controle acrescida de 2550 ppm de salinomicina; T3) mistura mineral igual à do controle acrescida de 15% de farelo de soja com objetivo aumentar o consumo voluntário para aproximadamente 0,05% do PV (100 g/cab/dia), contendo 765 ppm de salinomicina; T4) mistura mineral igual à do controle contendo 2550 ppm de virginiamicina.

Os suplementos foram compostos por sal branco, fontes de macro e microminerais, farelo de soja e aditivos conforme o tratamento a ser imposto. Utilizou-se virginiamicina e salinomicina comercializadas pela empresa Phibro Saúde Animal Internacional Ltda. A mistura dos ingredientes foi feita pela empresa Multimix Nutrição Animal Ltda. A composição dos suplementos é detalhada na Tabela 3.

Tabela 3 - Composições dos suplementos utilizados no pré-teste de consumo das misturas

		Tratamento			
		1	2	3	4
		Controle	Salinomicina	Salinomicina alto consumo	Virginiamicina
Mistura mineral	%	100	100	85	100
Farelo de soja	%	0	0	15	0
Consumo esperado	g/cab/dia	30	30	100	30
Salinomicina	mg/kg	0	2550	765	0
Virginiamicina	mg/kg	0	0	0	2550
Dose antimicrobiano	mg/100 kg PV	0	30	30	30
Cálcio	g/kg	180	180	108	180
Fósforo	g/kg	60	60	36	60
Sódio	g/kg	120	120	72	120
Enxofre	g/kg	20	20	12	20
Magnésio	g/kg	10	10	6	10
Manganês	mg/kg	500	500	300	500
Zinco	mg/kg	2400	2400	2440	2400
Cobre	mg/kg	650	650	390	650
Cobalto	mg/kg	38	38	23	38
Iodo	mg/kg	48	48	29	48
Selênio	mg/kg	12	12	7	12

O tratamento 3 foi definido a fim de se testar a hipótese de que, em situações nas quais o consumo da mistura é mais alto, a variabilidade entre dias no consumo individual diminui (COCKWILL et al, 2000) e, portanto, a dosagem é mais constante ao longo dos dias e a resposta ao antimicrobiano pode ser melhor.

As concentrações de aditivos foram definidas para se atingir a dose aproximada de 30 mg/100 kg PV para virginiamicina ou salinomicina, indicadas pela literatura como melhoradoras de desempenho para animais a pasto (Saran Netto, 2004; Bagley et al, 1988; Bretschneider et al., 2008; Lucas, 1989 e Lucas e Sobrinho, 1989, citados por Nicodemo, 2001; Fiems et al, 2006). Para cálculo da dose utilizou-se inicialmente os dados obtidos em pesquisas anteriores na Fazenda Areão em Piracicaba, que indicam consumo voluntário de sal mineral de 30 g/cab/dia. Para o tratamento 3, a expectativa de consumo era de 100 g/cab/dia. O cálculo da dose foi realizado utilizando-se a estimativa do peso médio dos animais durante todo o período do experimento de desempenho, considerando-se 213 kg como peso inicial e 90 kg de ganho durante o período do verão.

O manejo da pastagem foi feito por ocupação contínua, alternando-se os tratamentos entre os piquetes do bloco a cada 5 dias, com o objetivo de minimizar os efeitos das diferenças entre piquetes nos resultados. O bloco 1 foi alternado a cada cinco dias entre quatro piquetes de capim-colonião (Panicum maximum) e quatro piquetes de capim-tanzânia (Panicum maximum), enquanto o bloco 2 foi alternado entre quatro piquetes de capim-xaraés (Brachiaria brizantha). O número de animais nos dois blocos foi planejado para que taxa de lotação fosse igual em ambos, de aproximadamente 4,5 UA/ha.

As misturas minerais foram fornecidas diariamente, por período de 22 dias no mês de dezembro de 2008. As sobras de mistura mineral foram coletadas e pesadas diariamente antes do fornecimento das misturas. O material fornecido e as sobras foram amostrados e colocados em estufa a 65º C para determinação do consumo em matéria seca.

Para a análise estatística, foi considerado delineamento de medidas repetidas no tempo. Os dados de consumo de sal foram transformados para escala logarítmica com base igual a dez, para que atendessem a premissa de distribuição normal para a análise de variância. Utilizou-se o procedimento “MIXED” do pacote estatístico SAS (2004). As variáveis componentes do modelo consideradas foram: bloco; tratamento; data de fornecimento e interação data de fornecimento x tratamento. Adotou-se o critério de minimização dos valores dos parâmetros AIC e BIC (SAS, 2004) para escolha da estrutura de covariância mais adequada. As diferenças entre tratamentos foram estudadas comparando-se as médias dos quadrados mínimos calculadas pelo comando LSMEANS e comparadas com a opção PDIFF do procedimento GLM do SAS (2004)

Além da análise de variância, os dados individuais foram mostrados em gráfico para possibilitar a visualização da variabilidade diária de consumo do lote de animais, reportando-se também o coeficiente de variação de cada parcela.

3.2 Experimento 1: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Piracicaba-SP

3.2.1 Delineamento experimental

Assim como o experimento de pré-teste para avaliar o consumo da misturas, o experimento 1 também foi conduzido na Estação Experimental Fazenda Areão (ESALQ-USP) em área ocupada pelo Projeto CAPIM do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, em Piracicaba-SP. Utilizaram-se os mesmos cento e vinte e um animais empregados na avaliação do pré-teste, que por ocasião do experimento 1 já apresentavam 243 kg de peso médio inicial.

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados. Os animais foram separados em quatro blocos e quatro tratamentos de maneira que, dentro de cada bloco, os quatro tratamentos fossem representados por animais de peso homogêneo. Durante o experimento 1, cada animal permaneceu no mesmo tratamento que lhe foi aplicado no pré-teste, com alterações apenas devido aos ajustes nas formulações de suplemento, descritos a seguir. Os animais foram identificados individualmente com brincos e marca à fogo. Foram aplicados, por via subcutânea, vermífugo à base de ivermectina com concentração de 3,5% na dosagem de 1 ml para cada 50 kg de peso vivo a cada dois meses, e vacinas contra raiva e febre aftosa conforme a campanha de vacinação regional. Foi realizado tratamento para o controle de infestação esporádica de mosca-dos-estábulos (*Stomoxys calcitrans*) durante o período experimental com formulação “pour on” de cipermetrina associada à clorpirifós.

Os quatro tratamentos utilizados foram similares aos descritos anteriormente para o pré-teste, mas com alterações nas formulações dos suplementos, conforme sugerido pelos resultados do pré-teste destinado à avaliação de consumo.

As formulações utilizadas no experimento 1 são demonstradas na Tabela 4. Utilizou-se virginiamicina e salinomicina comercializadas pela empresa Phibro Saúde Animal Internacional Ltda.

As características dos blocos experimentais são detalhadas na Tabela 5. Cada bloco era constituído de área de pastagem homogênea estabelecida com mesma espécie forrageira que dividida em quatro piquetes de tamanho igual, com o intuito de

se aplicar os quatro tratamentos em cada bloco. O número de animais utilizado nos diferentes blocos foi definido considerando-se o histórico da área, sendo que na média a taxa de lotação inicial foi de 4,0 UA/ha. Em princípio, todos os animais seriam utilizados para avaliação de ganho de peso. No entanto, caso fosse necessário, seriam retirados animais dos blocos para utilização como ajustadores de lotação.

Tabela 4 - Especificações das misturas minerais utilizadas nos experimentos 1e 2

		Tratamento			
		1	2	3	4
		Controle	Salinomicina	Salinomicina alto consumo	Virginiamicina
Mistura mineral	%	95	95	75	95
Farelo de soja	%	5	5	25	5
Consumo esperado	g/cab/dia	40	40	100	40
Salinomicina	mg/kg	0	1950	780	0
Virginiamicina	mg/kg	0	0	0	1950
Dose antimicrobiano	mg/100 kg PV	0	30	30	30
Cálcio	g/kg	100	100	40	100
Fósforo	g/kg	57	57	23	57
Sódio	g/kg	133	133	84	133
Enxofre	g/kg	52	52	21	52
Magnésio	g/kg	7	7	3	7
Manganês	mg/kg	1336	1336	534	1336
Zinco	mg/kg	4009	4009	1604	4009
Cobre	mg/kg	1069	1069	428	1069
Cobalto	mg/kg	40	40	16	40
Iodo	mg/kg	67	67	27	67
Selênio	mg/kg	19	19	7,6	19

Com as taxas de lotação e adubações praticadas nos diferentes blocos, ojetivou-se manter altura de forragem em cerca de 50 cm para as pastagens de *Panicum maximum* cvs. Tanzânia, Mombaça e Colonião e 20 cm para as pastagens de Brachiaria brizantha – cv. Xaraés. Estas alturas podem ser consideradas adequadas para ocupação contínua conforme as indicações dos trabalhos de Cecato et al. (2001), Cano et al. (2004) e Silva (2004). Para atingir esses objetivos, nos piquetes onde houve necessidade, foi feito manejo de uniformização com pastejos e roçada, dois meses antes do início do experimento. Este procedimento objetivou uniformizar as condições de qualidade de forragem dos piquetes dentro de cada bloco.

Os níveis de macro e micronutrientes foram verificados em análises de solo para atender às exigências da planta em sistema intensivo de produção segundo metodologia de recomendação descrita por Corsi e Nussio (1992). Com base nesta verificação, foi feita adubação fosfatada no bloco quatro com 300 kg de superfosfato simples/ha. O planejamento da adubação nitrogenada foi feito com objetivo de aplicação de 50 kg de nitrogênio/ha a cada 30 dias, em quatro aplicações. No total, aplicou-se a média de 203 kg de nitrogênio/ha na área experimental durante o verão.

Tabela 5 - Detalhamento das características dos blocos experimentais do Experimento 1

Bloco	**Área (ha)**	**Cabeças**	**Peso inicial (kg)**	**Espécie**
1	3,3	24	200	*Panicum maximum* cv. Mombaça
2	5,5	40	286	*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés
3	4,1	24	261	*Panicum maximum* cv. Colonião
4	3,6	33	224	*Panicum maximum* cv. Tanzânia

A cada sete dias os tratamentos foram alternados entre os piquetes do bloco com o objetivo de se minimizar o efeito das possíveis diferenças entre piquetes. A rotação foi feita sistematicamente de modo que no final de cada período de pesagem todos os quatro tratamentos tivessem freqüentado os quatro piquetes do bloco pelo mesmo período de tempo. O experimento foi realizado durante o período de 30 de janeiro à 18 de maio de 2009.

3.2.2 Amostragens de forragem

Foram feitas avaliações de altura do dossel, massa de forragem e porcentagem de componentes morfológicos (haste, folha e material morto) com o objetivo de caracterizar a forragem disponível nos diferentes piquetes. Tais avaliações foram realizadas por duas vezes: no início e no 70º dia de experimento. A amostragem de todos os blocos durou cerca de 10 dias.

A altura do dossel, considerando o ponto de curvatura das folhas, foi determinada por avaliações com régua, anotando-se 40 pontos de altura dispersos

homogeneamente em 4 linhas transectas imaginárias alocadas nos piquetes para que a amostragem da área fosse uniforme.

A massa de forragem foi estimada pelo método destrutivo, cortando-se a planta ao nível do solo em quadrados amostrais de 1 x 1m. Foram cortados 4 quadrados por piquete, alocados em locais representativos definidos pela altura de forragem, que deveria ser igual à média obtida na avaliação de altura geral do piquete.

A amostra colhida foi pesada *in natura* e uma sub-amostra de aproximadamente 500 g foi retirada para a determinação da composição morfológica, separando o material em: folha (lâmina foliar), haste (bainha + colmo) e material senescido (partes com mais de 50% do tecido amarelecido). Após a separação, as amostras foram secadas em estufa a 60º C para determinação do peso de matéria seca de cada componente morfológico e do teor de matéria seca da amostra total.

3.2.3 Fornecimento de mistura mineral e monitoramento de consumo

O suplemento foi fornecido em cochos de madeira cobertos, com frente móvel, confeccionados conforme projeto descrito por Nunes (1998), respeitando-se área mínima de acesso de 4 cm/animal. Este tipo de cocho impedia que os suplementos fossem molhados pela chuva, viabilizando assim a aplicação de técnica de uso de lítio como marcador.

Os cochos foram monitorados a cada dois dias e o fornecimento de mistura mineral foi feito sempre que houvesse necessidade, para impedir que os cochos ficassem vazios. As sobras das misturas minerais foram recolhidas semanalmente e amostradas para determinação de matéria seca (MS) em estufa de secagem a 60º C.

3.2.4 Estimativa do consumo individual de mistura mineral com a utilização do marcador sulfato de lítio

Foram realizadas estimativas do consumo individual de suplemento mineral em datas amostrais utilizando-se o marcador sulfato de lítio na mistura mineral, conforme metodologia proposta por Suharyono (1992), confirmada por Dixon et al. (2003) e aplicada inicialmente no Brasil por Franco (2007).

Na data amostral, as sobras de suplemento mineral dos cochos eram removidas e substituídas pelo mesmo tipo de suplemento, acrescido de 103 g de sulfato de lítio/kg de suplemento mineral. Esta dose proporcionava concentração de 13 g de lítio/kg de suplemento. Utilizou-se sulfato de lítio anidro P.A., com garantia mínima de 99,5% de $LiSO_4$.

O suplemento com marcador foi fornecido durante o período das 6:00 às 16:00 horas. No final deste período, os animais foram removidos dos piquetes para o início do jejum pré-coleta. As sobras de suplemento marcado (suplemento enriquecidos com lítio) foram coletadas, pesadas e secas em estufa a 60º C para estimativa do consumo com base em matéria seca. As datas amostrais nas quais foi feita a administração de sulfato de lítio foram no 75º e 90º dia de experimento.

No dia posterior ao fornecimento de sal marcado, foram coletadas amostras de sangue para análise do íon lítio no plasma sanguíneo. As amostras foram coletadas durante o período da manhã em tubos de coleta à vácuo contendo potássio-EDTA como anticoagulante, por punção da veia jugular. Durante a coleta as amostras foram mantidas refrigeradas e, no término da coleta, era realizada a centrifugação à 7000 rpm por 10 minutos, para a separação do plasma. Após a centrifugação, o plasma sanguíneo foi coletado por pipetagem e congelado até o momento da análise laboratorial.

O lítio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (FAAS) no Laboratório de Hidrogeologia e Hidrogeoquímica do Departamento de Geologia Aplicada do Instituto de Geociências e Ciências Exatas da UNESP de Rio Claro-SP. Utilizou-se espectrofotômetro de Absorção Atômica marca GBC modelo GBC 9620AA, com lâmpada de catôdo oco de Lítio marca GBC. Antes de serem analisadas as amostras foram diluídas em 10 partes de água para 1 de amostra. As curvas analíticas foram determinadas através de diluições convenientes de solução padrão de Li 1000 ppm IsoSol-Quimlab.

A porcentagem de animais que não consumiu mistura mineral foi determinada pela divisão do número de indivíduos com concentração plasmática de lítio menor do que 50 µg/L pelo número total de animais do lote. A referência de 50 µg/L é oriunda dos

resultados do ensaio de calibração da metodologia de lítio como marcador, descritos adiante.

A estimativa do consumo individual de suplemento pelos animais foi obtida da seguinte maneira: multiplica-se a concentração de lítio no plasma de cada animal pelo seu peso vivo, divide-se este valor pelo total de lítio encontrado no corpo dos animais (somatória do rebanho para a concentração de lítio multiplicada pelo peso vivo do animal), e multiplica-se então esta porcentagem pela quantidade de suplemento marcado consumida pelo lote no dia anterior (KAHN, 1994).

3.2.5 Ganho de peso

As pesagens dos animais foram realizadas pela manhã após jejum de 10 a 14 horas, antes do início do experimento, no 30º, 60 e 90º e 108º dia. Utilizou-se balança individual de pesagem, efetuando-se a tara do equipamento a cada 10 animais pesados. Antes do início da pesagem, o equipamento foi testado com peso conhecido para avaliar a repetibilidade do peso nos diferentes pontos da plataforma da balança, a fim de se checar se todas as células de pesagem estavam funcionando corretamente.

3.2.6 Monitoramento de ocorrência de coccidiose

Amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal para análise de OoPG (oocistos de *Eimeria* sp. por grama) no 60º, 75º e 90º dia de experimento. Após a coleta, as amostras foram refrigeradas para posterior processamento pela técnica de McMaster, utilizando-se dois gramas de fezes em conformidade com metodologia de Gordon e Whitlock (1939), utilizando-se solução saturada de cloreto de sódio. As leituras foram realizadas após cinco a dez minutos da preparação das lâminas, em microscópios ópticos, contando-se o número de oocistos de eimeria. O método de análise utilizado nas amostras do 60º e 75º dias, avaliadas no Laboratório do Capril, do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, demonstrou-se inconsistente. Somente em poucos animais foi possível observar estruturas de ovos de coccídeo, e não havia repetibilidade dos resultados para uma determinada amostra. Devido a este fato, demonstrou-se apenas os dados referentes ao 90º dia, cujas análises foram feitas no

Setor de Enfermidades Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da UNESP em Jaboticabal.

3.2.7 Coletas de fluido ruminal para análises de AGV e amônia

A partir do 90º dia de experimento foram coletadas amostras de fluido ruminal, nos dias 10, 13 e 16 de maio de 2010. A coleta foi feita com uso da sonda esofagiana adaptada a uma bomba de vácuo (Ortolani, 1981). As amostras foram coletadas após o horário de 12:30 horas (meio-dia e meia) em dois animais de cada tratamento, sendo que em cada data de coleta foi utilizado um bloco experimental. De acordo com observações visuais (dados não mostrados), o pico de ingestão de mistura mineral ocorria entre 10:00 e 11:00 horas.

As concentrações de ácidos graxos voláteis foram determinadas de acordo com Palmiquist & Conrad (1971) em cromatógrafo líquido-gasoso (Hewlett Packard 5890 Series II GC), equipado com integrador (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) e injetor automático (Hewlett Packard 6890 Series Injector). Bagley et al (1988) também utilizaram-se da técnica de sonda esofageana para avaliar o efeito do ionóforo no perfil de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen de animais em pastejo.

3.2.8 Análises estatísticas

A média do consumo de mistura mineral total do período experimental foi comparado entre tratamentos utilizando-se o procedimento GLM do SAS (2004), considerando delineamento de blocos completos casualizados. Considerou-se como componentes do modelo as variáveis bloco e tratamento. O consumo de mistura mineral (g/cab/dia) foi transformado para escala logarítimica com base 10, para atender ao critério de distribuição normal para a análise de variância, adotando-se como critério o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov do procedimento UNIVARIATE do software SAS (2004). As médias dos quadrados mínimos reportadas foram obtidas pelo comando LSMEANS (SAS, 2004), comparadas com o comando PDIFF (SAS, 2004).

Os dados de porcentagem de animais que não consome sal e o coeficiente de variação de consumo do lote, estimados com a metodologia do lítio, foram analisados como medidas repetidas no tempo. Os fatores do modelo considerados foram bloco,

tratamento, data de coleta e a interação tratamento x data de coleta. Utilizou-se o procedimento MIXED (SAS; 2004). Testou-se a transformação logarítimica, raiz quadrada e angular (arcoseno) da variável “porcentagem de animais que não consumiram sal”. A melhor transformação foi a de raiz quadrada.

Para a análise do ganho de peso foram utilizadas as médias dos pesos de cada lote. Considerou-se o delineamento de blocos completos casualizados, utilizando-se o procedimento GLM do SAS (2004). Foi feita uma análise para cada período de pesagem e também para todo o período experimental. Foi realizada comparação de médias dos quadrados mínimos entre tratamentos pelo LSMEANS, comando PDIFF, SAS (2004).

As análises de OoPG foram feitas utilizando-se o procedimento “MIXED” do pacote estatístico SAS (2004). Os dados foram transformados para escala logarítimica para atender ao critério de distribuição normal. As variáveis componentes do modelo consideradas foram bloco e tratamento.

Os dados de parâmetros ruminais foram analisados pelo procedimento GLM do SAS (2004), considerando bloco e tratamento como componentes do modelo. Utilizaram-se as médias de cada lote para a análise de variância. As médias dos quadrados mínimos (LSMEANS; SAS, 2004) foram comparadas com o comando PDIFF (SAS, 2004).

3.3 Experimento 2: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Caarapó-MS

3.3.1 Delineamento experimental

O experimento 2 trata-se de repetição do protocolo do experimento 1 em outra localidade e em período de tempo diferente. Serão descritas apenas as particularidades do experimento 2 que se diferenciam do experimento 1, sendo que os procedimentos não descritos devem ser considerados iguais aos do experimento 1.

O ensaio foi conduzido na Fazenda Campanário, em Caarapó-MS, durante o período de 23 de maio a 07 de agosto de 2009. Foram utilizados 196 novilhos inteiros de peso médio inicial de 214 kg, com idade de 8 a 12 meses. As características dos

blocos são detalhadas na Tabela 6. A composição racial dos animais do bloco 1 era de cruzamento ½ sangue nelore x bonsmara. Os animais do bloco 2 tinham composição racial de ¾ senepol e ¼ nelore.

Tabela 6 - Detalhamento das características dos blocos experimentais do Experimento 2

Bloco	Área (ha)	Cabeças	Peso inicial (kg)	Espécie
1	49	96	213	*Cynodon dactylon* cv. Coast-cross
2	59	100	216	*Cynodon dactylon* cv. Coast-cross

No experimento 2 não foi necessário realizar adubações para manter os animais nas pastagens. Objetivou-se altura de manejo de 15 cm para as pastagens de *Cynodon dactylon* cv. Coast-cross - alturas adequadas para ocupação contínua conforme as indicações dos trabalhos de Pinto (2000) e Carnevalli et al. (2001). O esquema de rotação entre piquetes do bloco foi igual ao praticado no experimento 1.

As amostragens de forragem foram feitas uma vez durante o experimento, no 60º dia de maneira semelhante ao procedimento do experimento 1, com exceção da separação de componentes morfológicos que não foi realizada. As amostras de fezes e sangue após a administração de suplemento com lítio foram coletadas por duas vezes na ocasião das pesagens dos animais ao final do 2º e 3º períodos. Realizou-se a coleta de fluido ruminal ao final do experimento.

3.3.2 Análises estatísticas

Para o consumo de mistura mineral, considerou-se delineamento de medidas repetidas no tempo. Os dados de consumo de sal (g/cab/dia) e OoPG foram transformados para escala logarítmica, para que atendessem a premissa de distribuição normal para a análise de variância. Utilizou-se o procedimento “MIXED” do pacote estatístico SAS (2004). As variáveis componentes do modelo consideradas foram: bloco; tratamento; semana e interação semana x tratamento. Adotou-se o critério de minimização dos valores dos parâmetros AIC e BIC (SAS; 2004) para escolha da estrutura de covariância mais adequada. No caso do consumo de sal, devido à perda de dados, consideraram-se apenas as médias de seis semanas experimentais como

medidas repetidas. As médias dos quadrados mínimos foram obtidas pelo comando LSMEANS (SAS, 2004) e comparadas com o comando PDIFF (SAS, 2004).

Os dados de porcentagem de animais que não consome sal e o coeficiente de variação de consumo do lote, estimados com a metodologia do lítio, foram analisados como medidas repetidas no tempo. Os fatores do modelo considerados foram bloco, tratamento, data de coleta e a interação tratamento x data de coleta. Utilizou-se o procedimento MIXED (SAS; 2004).

O ganho de peso e os parâmetros ruminais foram analisados utilizando-se a média dos lotes. Utilizou-se o procedimento “GLM” do pacote estatístico SAS (2004). Consideraram-se como componentes do modelo as variáveis bloco e tratamento. As médias dos quadrados mínimos foram obtidas pelo comando LSMEANS e comparadas com a opção PDIFF (SAS; 2004). No caso do ganho de peso foi feita uma análise separada para cada período e uma considerando o período geral.

3.4 Experimento 3: Validação da metodologia de estimativa de consumo individual de suplemento com o uso de lítio como marcador

Este experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a confiabilidade da metodologia de estimativa de consumo de suplemento com utilização do lítio como marcador sanguíneo. O experimento ocorreu após o término do experimento 2.

Utilizaram-se 30 animais homogêneos oriundos do bloco 2 do experimento 2. Os animais foram mantidos na mesma pastagem e condicionados previamente ao consumo de milho moído servido em cocho diariamente.

Depois do período de condicionamento, no dia anterior à coleta de sangue, foi fornecido 1 kg de milho moído para cada animal em cocho separado, sendo misturadas ao milho diferentes quantidades de suplemento mineral contendo sulfato de lítio (sal marcado), de acordo com o tratamento: 1) zero; 2) 40; 3) 80 e 4) 120 g de sal marcado. O teor de lítio no suplemento mineral foi de 13 g/kg, igual ao utilizado nos experimentos 1 e 2. Enquanto quinze animais receberam o suplemento com sal marcado pela manhã, das 6:30 às 8:30, outros quinze animais receberam o suplemento com sal marcado à tarde, das 17:00 às 18:55.

No dia seguinte ao fornecimento de sal marcado, o sangue foi coletado e o plasma armazenado para análise de lítio em procedimento igual ao descrito para o experimento 1 e 2. As coletas de sangue foram realizadas em três horários: no início da manhã (8:00 h), no final da manhã (12:00 h) e no final da tarde (18:00 h). Todos os animais tiveram o sangue coletado nos três horários de coleta.

O lítio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (FAAS) no Laboratório de Hidrogeologia e Hidrogeoquímica do Departamento de Geologia Aplicada do Instituto de Geociências e Ciências Exatas da UNESP de Rio Claro-SP. Utilizou-se espectrofotômetro de Absorção Atômica marca GBC modelo GBC 9620AA, com lâmpada de catôdo oco de Lítio marca GBC. Antes de serem analisadas as amostras foram diluídas em 10 partes de água para 1 de amostra. As curvas analíticas foram determinadas através de diluições convenientes de solução padrão de Li 1000 ppm IsoSol-Quimlab.

O delineamento experimental foi fatorial 4 x 2 x 3, sendo 4 níveis de ingestão de sal marcado, 2 horários de ingestão e 3 horários de coleta de sangue. Para cada tratamento utilizaram-se 4 repetições, exceto para o tratamento sem ingestão de sal mineral marcado, para os quais utilizou-se apenas 3 repetições.

Para a análise estatística, inicialmente executou-se análise de variância considerando delineamento fatorial. Utilizou-se o procedimento GLM do programa estatístico SAS (2004). O modelo estatístico incluiu as seguintes variáveis como determinantes do teor de lítio no plasma sanguíneo: 1) nível de ingestão de sal marcado; 2) horário de ingestão; 3) horário de coleta, além das interações entre as variáveis 1 x 2; 2 x 3; 1 x 3 e 1 x 2 x 3.

Além da análise de variância, foram realizadas análise de regressão considerando-se o teor de lítio no plasma sanguíneo como variável dependente e nível de ingestão de sal marcado como variável explicativa. Esta análise utilizou os dados dos dois horários de ingestão em conjunto, objetivando testar as condições extremas dos experimentos 1 e 2, nos quais os animais tinham acesso ao sal marcado desde o início da manhã até o final da tarde. Realizou-se uma análise para cada horário de coleta.

3.5 Experimento 4: Avaliação da efetividade da salinomicina após mistura no sal mineral

Foi conduzido ensaio de fermentação *in vitro* para avaliar a efetividade da salinomicina depois de misturada ao sal mineral dos experimentos. A idéia de condução desta avaliação surgiu diante dos resultados obtidos nos experimentos 1 e 2, nos quais não observou-se resposta com o uso da salinomicina. Bagley et al (1988) demonstraram perda de atividade da salinomicina quando adicionada ao suplemento mineral.

3.5.1 Delineamento experimental

O estudo foi conduzido entre março e abril de 2010 no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. Empregou-se delineamento em blocos completos ao acaso. Os tratamentos foram repetidos em conjuntos de incubação em diferentes horários. Cada incubação (n = 5) foi considerada como bloco. Em cada incubação os tratamentos foram representados por frascos em duplicata e a média dos dois frascos foi utilizada como parcela experimental.

Definiram-se os seguintes tratamentos: 1) Controle, sem salinomicina (CONT); 2) Salinomicina 0,5 µg/ml de fluido ruminal tamponado (SALINO-0,5); 3) Salinomicina 1,0 µg/ml (SALINO-1,0); 4) Salinomicina 1,5 µg/ml (SALINO-1,5); 5) Salinomicina 1,5 µg/ml misturada ao suplemento mineral por 40 dias (SALINO-1,5-40d) e 6) Salinomicina 1,5 µg/ml misturada aos suplemento mineral por 300 dias (SALINO-1,5-300d).

Os tratamentos 1 a 4 foram estabelecidos com o objetivo de construir curva de resposta a diferentes níveis de salinomicina. Nestes tratamentos o sal mineral foi misturado à salinomicina e à dieta na tarde anterior ao dia da incubação. Os tratamentos SALINO-1,5-40d e SALINO-1,5-300d foram definidos para avaliar a atividade da salinomicina em diferentes períodos de tempo após a mistura com o suplemento mineral, comparando estes tratamentos aos diferentes níveis de salinomicina dos tratamentos 1 à 4. No tratamento SALINO-1,5-300d foi utilizada amostra de mistura mineral oferecida no experimento 1, que na ocasião havia sido misturada há 300 dias. No tratamento SALINO-1,5-40d foi utilizada formulação de suplemento mineral com salinomicina misturada 40 dias antes do ensaio.

As misturas minerais utilizadas nos tratamentos CONT, SALINO-0,5, SALINO-1,0, SALINO-1,5 e SALINO-1,5-300d foram coletadas dos sacos armazenados do experimento 1. Para os tratamentos CONT, SALINO-0,5, SALINO-1,0 e SALINO-1,5, utilizou-se a mistura do tratamento “controle” do experimento 1 (Tabela 4), e foram adicionadas as quantidades necessárias de salinomicina na tarde anterior à incubação. Para o tratamento SALINO-1,5-300d utilizou-se a mistura mineral do tratamento “salinomicina” do experimento 1 (Tabela 4). A mistura mineral do tratamento SALINO-1,5-40d foi fabricada com composição igual à dos outros tratamentos, porém a mistura dos ingredientes foi feita 40 dias antes do experimento, pela empresa Multimix Nutrição Animal Ltda, seguindo os mesmos procedimentos e utilizando-se os mesmos ingredientes dos outros tratamentos.

Em todas as misturas minerais, utilizou-se virginiamicina e salinomicina comercializadas pela empresa Phibro Saúde Animal Internacional Ltda.

3.5.2 Condições de incubação

Foi utilizada a técnica *in vitro* de produção de gás (THEODOROU et al., 1994) adaptada ao sistema semi-automático (MAURÍCIO et al., 1999), utilizando transdutor de pressão e armazenador de dados (Pressure Press Data 800, LANA, CENA/USP, Piracicaba-SP).

Os frascos de vidro foram seqüencialmente abastecidos com 500 mg de substrato, 50 mL de meio de incubação (Meio de Theodorou descrito em PRESTON, 1995) e 25 mL de inóculo. Em seguida, os frascos foram selados com tampas de borracha, agitados manualmente e incubados em estufa de ventilação forçada à 39 ºC por 16h. A pressão interna do frasco foi mensurada após ter passado 3, 8, 12 e 16 horas da incubação. Para a determinação de metano, amostrou-se 2,5 mL de gás em cada leitura com seringa de 5 mL, armazenado em tubos a vácuo de 10 mL. Após cada amostragem, a pressão interna foi aliviada e os frascos foram agitados manualmente e recolocados na estufa. A fermentação foi paralisada colocando-se os frascos em água gelada (4 ºC).

3.5.3 Descrição do substrato

O substrato incubado foi ração com 20% de volumoso e 80% de concentrado contendo 62,7% de milho moído, 15,0% de farelo de soja, 1,0% de calcário e 1,3% de mistura mineral (% da matéria seca da ração). A matéria seca (MS) da ração total foi 91,4%, sendo a composição química (% da MS total): 15,7% proteína bruta (PB), 3,3% extrato etéreo (EE), 5,4% cinzas, 20,3% fibra em detergente neutro (FDN) e 8,8% fibra em detergente ácido (FDA). A ração foi formulada pelo Small Ruminant Nutrition System v.1.8.0 (CANNAS et al., 2004) para se atingir ou exceder as recomendações do NRC (2007) para carneiros adultos. O substrato foi processado em moinho tipo Wiley usando peneira de 1 mm.

3.5.4 Preparação do inóculo

Os doadores de inóculo foram cinco carneiros Santa Inês (50 kg de peso corporal) canulados no rúmen. Os animais foram mantidos em pastagem de braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), com livre acesso à mistura mineral e água. Foi fornecido suplementação diária de 150 g de milho moído, 65 g de farelo de soja e 4,5 g de melaço de cana por animal/dia. Logo pela manhã as frações líquida e sólida do conteúdo ruminal foram colhidas em separado e armazenadas em garrafas térmicas e caixas de isopor, respectivamente. A fração líquida foi obtida utilizando-se tubo conectado a seringa de 60 mL. A fração sólida foi retirada com auxílio de pinça. Volumes iguais de ambas as frações foram misturados em liquidificador por 10 segundos, gerando mistura que foi filtrada em três camadas de fraldas de algodão e mantida em banho-maria (39 ºC) sob fluxo contínuo de CO_2.

3.5.5 Análises laboratoriais e cálculos

A produção de gás foi estimada usando equação definida para as condições laboratoriais em questão: V = 7,365 x p (n = 500; dados não publicados); sendo: V = volume de gás (mL); p = pressão mensurada (psi). A produção total de gás em 16h foi considerada como a soma das produções parciais de cada leitura.

Ao término da incubação, para a determinação da digestibilidade verdadeira da matéria seca (DVMS), adicionou-se em cada frasco 70 mL de solução de detergente

neutro (VAN SOEST et al., 1991) sem α-amilase e sulfito de sódio. Em seguida, os frascos foram incubados em estufa à 105 ºC por 3h. O resíduo foi filtrado em cadinhos, seguido de lavagem com água quente/acetona e secagem à 105 ºC por 16 horas. Após a determinação da DVMS, o resíduo foi incinerado à 550 ºC por 4 horas, para determinação de cinzas e determinação da digestibilidade verdadeira da matéria orgânica (DVMO).

A concentração de metano foi determinada injetando-se 1,0 mL de gás em cromatógrafo gasoso Shimadzu 2014 (Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com coluna microempacotada Shincarbon ST 100/120 (no 19809, Restek, Bellefonte, PA, EUA). As temperaturas da coluna, injetor e detector de ionização de chama foram 60, 200 e 240 ºC, respectivamente. O gás de arraste foi o hélio a fluxo de 10 mL/min. A concentração de metano foi determinada por calibração externa usando curva analítica (0, 3, 6, 9, 12%) preparado com metano puro (White Martins PRAXAIR Gases Industriais Inc., Osasco-SP; 99,5% pureza). O metano (CH_4) produzido foi calculado de acordo com Longo et al. (2006): CH_4 (mL) = (gás total, mL + headspace, 85 ml) × CH_4 (%).

As determinações de MS, cinzas, PB e EE do substrato foram realizadas de acordo com a AOAC (2006). As concentrações de FDN e FDA foram corrigidas para cinzas. A FDN do substrato foi determinada pelo método não-sequencial usando α-amilase e sulfito de sódio (VAN SOEST et al., 1991) e a FDA foi corrigida conforme Goering e Van Soest (1970).

Depois da incubação, o pH do fluido ruminal tamponado foi mensurado com medidor de pH (Digimed DM21, São Paulo, SP, Brazil).

Para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), 1,6 mL de fluido ruminal tamponado foi centrifugado (15.000 rpm por 15 minutos a 4 ºC) com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25%, ácido fórmico 98-100% + 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM. As concentrações dos AGCC foram determinadas em cromatógrafo gasoso (HEWLETT PACKARD, 1998).

3.5.6 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se o procedimento MIXED do programa estatístico SAS (2004). Os fatores do modelo foram tratamento como efeito fixo e bloco

(inoculo) como efeito aleatório. As médias dos quadrados mínimos foram obtidas pelo comando LSMEANS e comparadas pelo comando PDIFF (SAS, 2004). Foi feita análise dos polinômios ortogonais linear, quadrático e cúbico para avaliar o efeito das doses de salinomicina dos tratamentos de 1 à 4. Também foi feita análise de contrastes para avaliar o efeito do tempo de armazenamento na atividade da salinomicina, comparando-se os tratamentos SALINO-1,5-40d com SALINO-1,5 e SALINO-1,5-300d com SALINO-1,5.

3.6 Experimento 5: Mistura mineral com virginiamicina fornecida em cochos descobertos para novilhos de corte em pastejo

Os eventos de chuva no verão dificultam a disponibilização de mistura mineral seca para os animais, o que pode afetar o consumo de suplemento e possivelmente poderia prejudicar a ação de aditivos. O presente experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar a repetibilidade dos resultados obtidos nos experimentos 1 e 2 e testar o efeito da virginiamicina via mistura mineral quando fornecida em cochos descobertos, em manejo de abastecimento que simulou situação de sistema convencional de produção.

3.6.1 Delineamento experimental

As pastagens foram as mesmas utilizadas no experimento 2. No total, foram utilizados 309 animais divididos em quatro blocos completos, contendo dois tratamentos. Dois blocos foram compostos de 168 novilhos cruzados castrados, comprados do Rio Grande do Sul pela Fazenda Campanário (Caarapó-MS), divididos em dois grupos homogêneos: 84 animais de coloração preta, de composição racial predominante Angus e outro grupo de 84 animais de coloração baia e vermelha, de raças predominantes Charolês e Red Angus. Os outros dois blocos foram compostos de 140 bovinos Nelore inteiros, divididos em dois grupos homogêneos: um de 70 animais Nelore PO (puro de origem) e LA (livro aberto) e outro com 70 animais Nelore oriundos de rebanho comercial de cria da Fazenda Campanário.

Cada bloco foi dividido em dois tratamentos de maneira que a composição de peso e a média de peso fossem similares nos dois tratamentos. Os grupos de animais

recebendo diferentes tratamentos eram alternados a cada 15 dias entre os dois piquetes do bloco.

Cada tratamento recebeu um tipo diferente de mistura mineral, conforme detalhado na Tabela 7. As misturas minerais foram preparadas na fábrica de ração da Fazenda Campanário. A virginiamicina utilizada foi comercializada pela empresa Phibro Saúde Animal Internacional Ltda.

O monitoramento dos cochos foi realizado com freqüência aproximada de 3 dias, toda vez que os lotes de animais eram visitados pelos responsáveis. As misturas minerais foram fornecidas toda vez que os cochos estivessem vazios ou com pouca quantidade de suplemento, evitando-se o fornecimento de quantidade demasiada para que não houvesse sobra. As sobras foram coletadas apenas no final do experimento para cálculo do consumo de sal.

O experimento foi conduzido de 06 de janeiro até 19 de maio de 2010. As pesagens dos animais foram feitas pela manhã, após jejum de 10 a 14 horas de duração. Os animais foram pesados no início do experimento, no 60º e no 133º dia após o início do experimento. Em cada pesagem foi administrado vermífugo à base de ivermectina 3,5% na dosagem de 1 ml para cada 50 kg de peso vivo. Foram realizados tratamentos para controle de infestação de carrapatos (*Boophilus microplus*) com formulação “pour on” de cipermetrina associada à clorpirifós. Foi avaliada a altura de forragem no 60º dia experimental com o mesmo procedimento adotado para o experimento 1.

Tabela 7 - Especificações das misturas minerais utilizadas no experimento 5

		Tratamento	
		1	2
		Controle	Virginiamicina
Virginiamicina	mg/kg	0	2522
Cálcio	g/kg	113	105
Fósforo	g/kg	73	73
Sódio	g/kg	155	155
Enxofre	g/kg	30	30
Magnésio	g/kg	20	19
Manganês	mg/kg	1512	1512
Zinco	mg/kg	4799	4799
Cobre	mg/kg	1346	1346
Cobalto	mg/kg	101	101
Iodo	mg/kg	115	115
Selênio	mg/kg	21	21

3.6.2 Análise estatística

O consumo de mistura mineral total do período e o ganho de peso médio dos lotes foram analisados utilizando-se o procedimento GLM do programa estatístico SAS (2004). Considerou-se o delineamento de blocos completos casualizados e como fatores do modelo foram considerados tratamento e bloco. As médias foram obtidas pelo comando LSMEANS e comparadas com a opção PDIFF (SAS, 2004).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Pré-teste de consumo da mistura mineral com aditivos

Os resultados do pré-teste são apresentados na Tabela 8. Para o tratamento 3 observou-se consumo voluntário mais alto do que para os demais tratamentos, resultado da formulação com 15% de farelo de soja. Para os tratamentos 2 e 4, cujas diferenças de formulação em relação ao tratamento controle foram apenas a inclusão de antimicrobianos, não se detectou diferença estatística na comparação com o tratamento controle. Na comparação do tratamento 1 com os tratamentos 2 e 4, os valores de p foram de 0,19 e 0,09, respectivamente. Esse resultado sugere que pode haver tendência de redução de consumo para o suplemento com virginiamicina em relação ao suplemento controle, embora não seja possível concluir sobre este efeito.

Tabela 8 - Resultados do pré-teste para avaliação do consumo de mistura mineral por 22 dias

	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Logaritmo de consumo de mistura mineral (log de g/cab/dia)	1,465 b	1,341 b	1,690 a	1,302 b	0,035
Consumo de mistura mineral (g/cab/dia)	35,9	28,8	64,7	28,9	

Letras diferentes na mesma linha indicam médias significativamente diferentes ($p<0,05$);
Na comparação dos tratamentos individualmente com o controle, os valores de p são de 0,190; 0,023 e 0,090 para os tratamentos salinomicina, salinomicina alto consumo e virginiamicina, respectivamente.

O consumo observado para o tratamento 3 foi menor do que a expectativa inicial, de 100 g/cab/dia (Tabela 3). Com o objetivo de aumento de consumo em todos os tratamentos, foram feitos ajustes nas misturas minerais para as etapas experimentais

seguintes (Tabela 3). O principal ajuste foi o aumento da inclusão de farelo de soja e redução do teor de aditivos.

Nas figuras 3 e 4 são demonstrados os dados individuais de consumo diário de mistura mineral por lote (tratamento) para os dois blocos experimentais. Pela análise gráfica dos dados deste pré-teste de 22 dias, confirmou-se o conhecimento da literatura de que a variação de consumo do lote entre dias é alta (RODE; LYSYK; BEAUCHEMIN; 1994), o que sugere que a variação individual de consumo também é alta, conforme já foi demonstrado por Tait; Fisher (1996), Cockwill et al. (2000), Dixon et al. (2001). Os coeficientes de variação dos dados foram de 56, 62, 70 e 63% no bloco 1 para os tratamentos 1 a 4, respectivamente, e de 71, 88, 71 e 106% para os tratamentos 1 a 4 do bloco 2. Valores similares de coeficiente de variação (52 a 103%) foram encontrados por Dixon et al. (2001), e de 66 a 150% por Dixon et al. (2003), ambos trabalhos com misturas minerais.

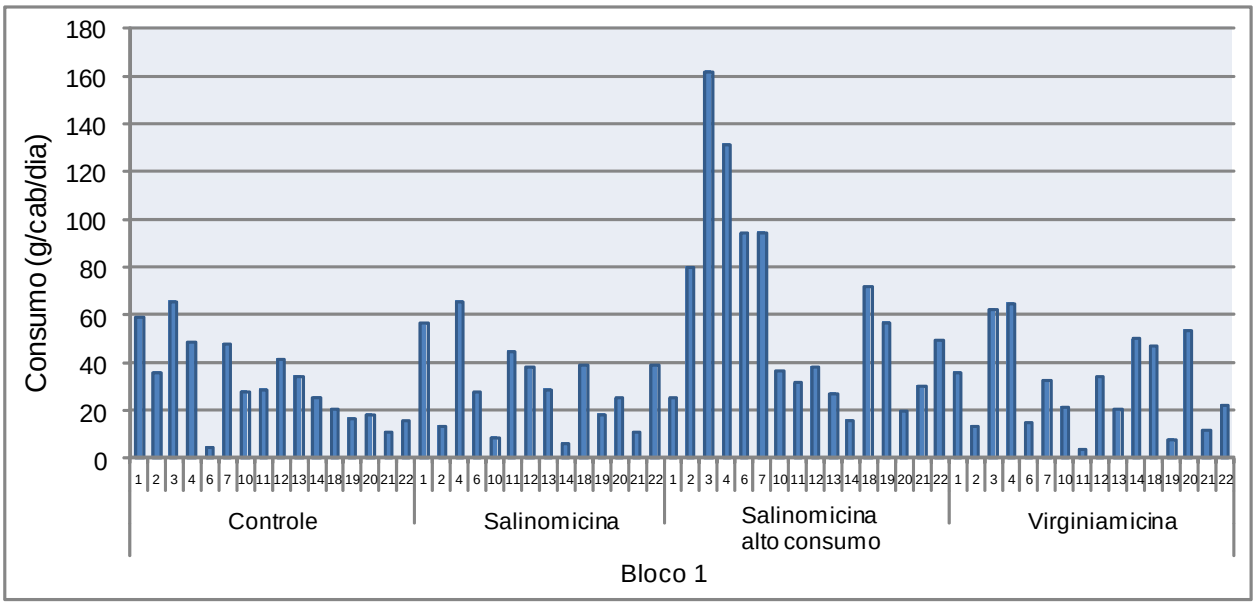

Figura 3 – Consumo médio de sal por data amostral e por lote do bloco 1 durante o pré-teste de consumo de suplementos por 22 dias. Os coeficientes de variação foram de 56, 62, 70 e 63%, para os tratamentos Controle, Salinomicina, Salinomicina alto consumo e Virginiamicina, respectivamente

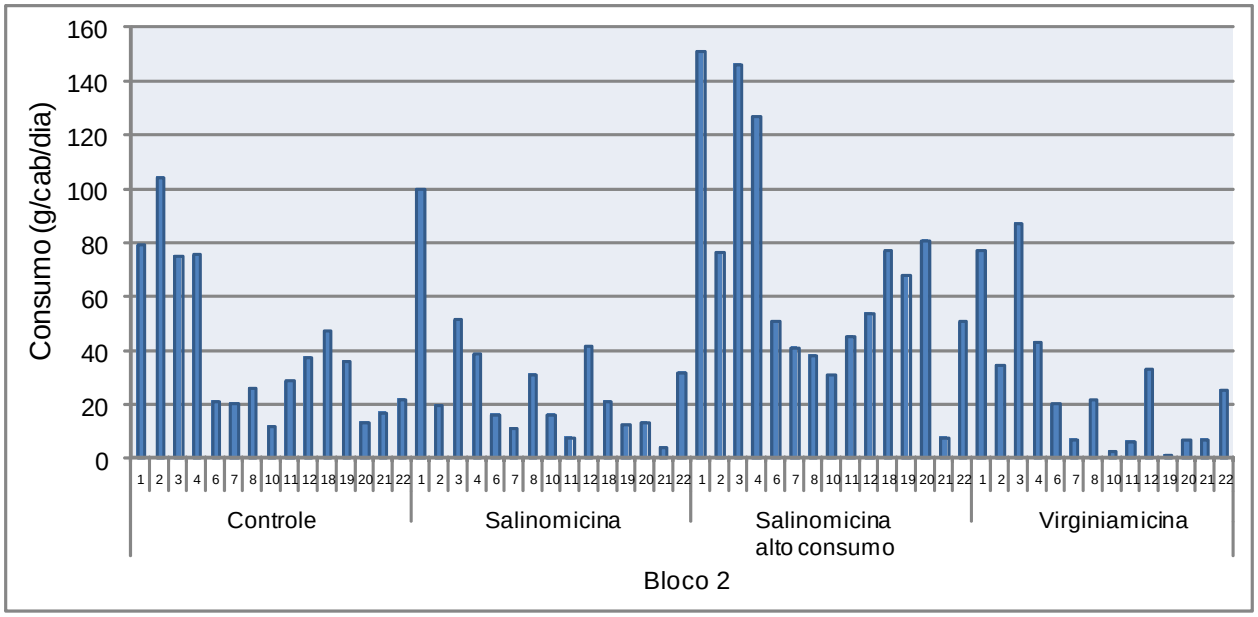

Figura 4 – Consumo médio de sal por data amostral e por lote do bloco 2 durante o pré-teste de consumo de suplementos por 22 dias. Os coeficientes de variação foram de 71, 88, 71 e 106%, para os tratamentos Controle, Salinomicina, Salinomicina alto consumo e Virginiamicina, respectivamente

4.2 Experimento 1: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Piracicaba-SP

Os resultados das caracterizações de forragem dos piquetes são mostrados nas Tabelas 9 e 10. Percebe-se que apesar do esforço para se estabelecer a uniformidade entre piquetes do bloco com a aplicação de pastejos estratégicos e roçadas pré-experimento, os dados indicam existir variação entre piquetes. Embora tenha ocorrido variabilidade entre piquetes, deve-se lembrar que foi adotado o procedimento de rotação semanal dos animais nos piquetes com o intuito de se minimizar o efeito dos piquetes nos lotes de animais, conforme descrito anteriormente.

Os dados de consumo de suplementos são mostrados na Tabela 11. No tratamento 3, de alto consumo, ocorreu maior ingestão de suplemento do que nos demais tratamentos ($p<0,05$). Houve tendência de redução de consumo de mistura mineral nos tratamentos de baixo consumo com aditivos (tratamentos 2 e 4) em relação ao tratamento controle (tratamento 2, $p=0,058$ e tratamento 4, $p=0,077$).

Tabela 9 – Características de forragem dos piquetes no início do experimento 1

Bloco	Piquete	Altura (cm)	Massa (kg MS/ha)	Composição Morfológica (% MS)		
				Folha	Haste	Material morto
Colonião	1	32,4	7.082	30%	36%	32%
	2	46,2	8.819	40%	40%	25%
	3	36,9	7.602	30%	35%	33%
	4	67,7	10.999	32%	43%	25%
Mombaça	1	54,6	6.456	27%	31%	32%
	2	66,5	8.280	44%	35%	18%
	3	48,3	6.099	30%	35%	20%
	4	39,4	7.985	21%	43%	33%
Tanzânia	1	38,7	7.961	40%	36%	28%
	2	44,2	9.093	40%	33%	28%
	3	37,2	10.141	38%	35%	32%
	4	22,3	7.133	28%	28%	38%
Xaraés	1	20,0	5.434	33%	25%	42%
	2	27,1	6.804	25%	30%	40%
	3	24,1	6.151	29%	34%	30%
	4	25,4	8.596	34%	38%	34%

Tabela 10 – Características de forragem dos piquetes no 70º dia do experimento 1

Bloco	Piquete	Altura (cm)	Massa (kg MS/ha)
Colonião	1	42,6	6.950
	2	48,0	8.094
	3	43,4	8.669
	4	34,7	7.563
Mombaça	1	29,1	5.264
	2	37,2	5.803
	3	15,7	3.124
	4	17,8	4.708
Tanzânia	1	19,1	4.760
	2	23,5	7.630
	3	16,4	7.105
	4	16,3	6.048
Xaraés	1	22,5	6.968
	2	11,6	4.901
	3	13,6	5.603
	4	17,5	5.980

Em todos os tratamentos com aditivos, o consumo observado (Tabela 11) foi menor do que o esperado (Tabela 4). Como conseqüência, a ingestão de antimicrobiano foi 28, 34 e 26% menor do que a meta pré-estabelecida para os tratamentos 2, 3 e 4 respectivamente. Bagley et al (1988) também observaram redução de consumo de mistura mineral com o uso de salinomicina. Para a virginiamicina não se encontra trabalho na literatura comparando estatisticamente o consumo de mistura mineral com e sem aditivos. Os relatórios de pesquisa de Lucas (1989) apud Nicodemo (2001) e Lucas e Sobrinho (1989) apud Nicodemo (2001), detalhados na tabela 2, não apresentam diferenças nos valores absolutos de consumo de misturas minerais com virginiamicina em relação à misturas sem aditivos, embora os trabalhos não tenham delineamento que permita testar o efeito do aditivo no consumo de sal.

Tabela 11 – Consumo de mistura mineral médio dos tratamentos no experimento 1

	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Logaritmo de consumo de mistura mineral (log de g/cab/dia)	1,564 b	1,456 b	1,815 a	1,465 b	0,040
Consumo de mistura mineral (g/cab/dia)	37,0	28,7	65,7	29,6	

Letras diferentes na mesma linha indicam médias significativamente diferentes ($p<0,05$);
Na comparação dos tratamentos individualmente com o controle, os valores de p são de 0,058; 0,0007 e 0,077 para os tratamentos salinomicina, salinomicina alto consumo e virginiamicina, respectivamente.

Avaliando-se os dados semanais, tem-se que as médias dos coeficientes de variação dos quatro blocos foram de 34, 36, 29 e 34% para os tratamentos 1, 2, 3 e 4, respectivamente (dados não mostrados). Esses valores sugerem que a variabilidade entre semanas é mais baixa se comparada à variação entre dias, demonstrada para o pré-experimento nas Figuras 3 e 4.

Na Tabela 12 são mostradas as estimativas de consumo individual de suplemento nas duas datas amostrais, para que se possa visualizar a variação entre animais. Os resultados sugerem que muitos animais não recebem quantidade alguma de

antimicrobiano durante o dia enquanto outros recebem 2 ou até 4 vezes a dose planejada (Tabela 12).

Os coeficientes de variação dos dados estimados de consumo individuais são muito altos (Tabela 13) e não foram encontradas diferenças entre tratamentos. O percentual de animais que não consumiu mistura mineral nas datas amostrais foi em média 47%, sem diferença entre tratamentos (Tabela 13).

Não se confirmou a hipótese de que o consumo mais alto no tratamento 3 reduziria a variabilidade diária de consumo, como sugerido por Cockwill et al. (2000) e Dixon et al. (2001), e uniformizaria a dosagem de antimicrobiano. É possível que em níveis mais altos de consumo do que os 65,7 g/cab/dia observados para o tratamento 3 (Tabela 11), ocorra o efeito de uniformização de consumo sugerido na literatura.

Tabela 12 – Dados individuais de consumo de mistura mineral por animal (g/cab/dia) estimado pela metodologia de lítio como marcador sanguíneo em duas datas amostrais do experimento 1

Data	Bloco															
	1				2				3				4			
	Tratamento				Tratamento				Tratamento				Tratamento			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0	0	23	0	17	3	0	28	0	0	393	0	206	13	0	45
	0	14	145	0	3	0	16	0	128	5	0	0	0	26	0	15
	0	0	0	25	0	3	27	18	0	11	12	0	0	3	0	13
	0	39	0	1	0	1	18	0	0	13	75	0	16	5	0	0
	86	32	12	2	2	7	0	6	35	0	0	0	22	0	0	0
	24	60	20	22	9	5	19	69	47	0	29	0	0	0	0	16
	--	--	--	--	--	--	--	--	0	6	0	0	20	0	0	0
	--	--	--	--	--	--	--	--	0	53	200	0	17	0	0	8
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	162	--	--	0	19	0	0
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0	14	0	3
2	0	0	11	0	0	0	0	29	156	27	39	42	0	11	10	40
	93	0	20	71	0	0	0	14	66	51	0	10	36	31	27	0
	41	0	64	0	0	0	3	0	39	110	171	8	0	78	0	0
	13	0	19	87	0	0	0	0	45	6	0	0	0	0	28	0
	28	0	5	0	0	0	28	6	0	53	41	100	20	0	51	0
	7	0	18	0	0	0	17	4	63	0	99	0	47	17	18	0
	--	--	--	--	--	--	--	--	39	45	34	0	49	0	0	0
	--	--	--	--	--	--	--	--	0	6	115	0	7	0	0	26
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	28	--	--	26	0	49	26
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0	35	27	9

Tratamentos: 1) Controle; 2) Salinomicina; 3) Salinomicina alto consumo e 4) Virginiamicina.

Tabela 13 – Médias dos parâmetros de variabilidade de consumo de sal para os tratamentos, estimados pela metodologia do marcador lítio em duas datas amostrais para o experimento 1

	Tratamentos				Erro
	1	2	3	4	padrão
Coeficiente de Variação (%)	143	127	125	141	7,3
Porcentagem de animais que não consumiu sal nas datas amostrais	49	48	39	52	9,8

Tratamentos: 1) Controle; 2) Salinomicina; 3) Salinomicina alto consumo e 4) Virginiamicina.

O ganho de peso dos animais no experimento 1 é mostrado na Tabela 14. Considerando-se o período experimental de 108 dias, compreendido de 30 de janeiro à 18 de maio de 2009, observou-se superioridade de ganho para os animais consumindo mistura mineral com virginiamicina. O incremento observado foi de 0,095 kg/cab/dia ou 16% de aumento em relação ao controle. Os tratamentos com salinomicina apresentaram ganhos similares ao controle considerando-se o período de 108 dias.

Os resultados para os sub-períodos de 30 dias são menos consistentes. Observa-se alta variabilidade dos dados para os intervalos curtos de pesagem, indicada pelos altos valores de erro padrão dos sub-períodos quando comparados ao do período de 108 dias (Tabela 14). A alta variabilidade pode levar à dificuldade de detecção de diferença estatística ou mesmo à ocorrência de resultados inesperados. Essa peculiaridade estatística, somada ao fato de que para o sistema de produção o resultado de longo prazo é mais importante, faz com que a discussão dos resultados por sub-período de 30 dias seja pouco interessante.

Apesar de serem poucos os trabalhos com virginiamicina em dietas de forragem, as publicações encontradas indicam resultado semelhante de efeito positivo da virginiamicina para animais em pastejo (Lucas, 1989 e Lucas e Sobrinho, 1989, apud Nicodemo, 2001; Fiems et al, 2006).

Tabela 14 - Ganho de peso dos novilhos do experimento 1 em Piracicaba-SP

	Tratamentos				Erro padrão
	1	2	3	4	
	Controle	Salinomicina	Salinomicina alto consumo	Virginiamicina	
Peso inicial (kg)	244	244	240	246	
Peso final (kg)	308	314	307	320	
Ganho (kg/cab/dia)					
Geral (108 dias)[1]	0,580 b	0,620 ab	0,614 ab	0,675 a	0,026
0-30 dias[1]	0,857 b	1,078 a	0,977 a	1,071 a	0,099
30-60 dias[1]	0,491 ab	0,340 b	0,506 a	0,483 ab	0,050
60-90 dias	0,798	0,832	0,794	0,898	0,050
últimos 18 dias	-0,110	0,016	-0,123	-0,017	0,051

[1] letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferença estatística (P<0,05);

Não foi encontrado na literatura indicações de aumento de ganho de peso em bovinos em pastagens consumindo misturas minerais com salinomicina, apesar de haver efeito positivo quando esse ionóforo é fornecido via suplementos de consumo mais alto (Saran Netto, 2004; Bagley et al, 1988). Além de trabalhar com suplemento de alto consumo, Bagley et al (1988) também testaram a salinomicina via mistura mineral e demonstraram ausência de diferença em relação ao tratamento controle.

A contagem de oocistos de Eimeria nas amostras de fezes dos animais em Piracicaba-SP é mostrada na Tabela 15. Não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Enquanto para a virginiamicina não há expectativa de controle de *Eimeria* sp. (SKRIVANOVÁA; MAROUNEK; KLEIN; 1999), sabe-se que a salinomicina tem alto poder coccidiostático (BENZ E ERNST, 1979). Portanto, a expectativa era de número mais baixo de oocistos nas fezes dos animais tratados com salinomicina, conforme sugerido pelo trabalho de Merchen e Berger (1985).

Tabela 15 – Contagem de Oocistos de Eimeria sp. por grama (OoPG) nas amostras de fezes do experimento 1

	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Logaritmo de OoPG	2,288	2,343	2,212	2,502	0,202
OoPG	392	355	167	376	

Os resultados da análise do conteúdo ruminal são mostrados na Tabela 16. O teor de isobutirato foi reduzido no tratamento com virginiamicina em relação ao tratamento 3. Tal efeito pode ser indicador de redução da degradação de aminoácidos (OWENS; GOETSCH; 1988). O teor de isovalerato observado no tratamento 4 pode ser considerado diferente do tratamento 3 (p=0,066), o que também indica redução da degradação de aminoácidos com o uso da virginiamicina. No entanto, os valores de amônia não foram afetados pelos tratamentos (Tabela 16).

O teor de butirato foi menor no tratamento 4 em relação aos outros tratamentos. O total de AGCC no conteúdo ruminal pode ser considerado menor no tratamento 4 em relação aos tratamentos 1 e 2 (p=0,058 e 0,067, respectivamente; comparações estatísticas não mostradas na tabela devido ao valor de p>0,05), o que ocorreu em função da redução dos diversos AGCC (Tabela 16).

Tabela 16 – Resultados da análise do conteúdo ruminal coletado em animais amostrais no final do experimento 1

Variável	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Acetato (mmol/L)	35,57	35,49	33,22	29,47	1,18
Propionato (mmol/L)	10,78	10,53	10,28	9,06	0,31
Isobutirato (mmol/L)	0,647 ab	0,673 ab	0,704 a	0,568 b	0,02
Butirato (mmol/L)	6,18 a	6,16 a	6,61 a	5,00 b	0,23
Isovalerato (mmol/L)	0,708	0,727	0,747	0,584	0,03
Valerato (mmol/L)	0,403	0,409	0,458	0,340	0,03
Total AGCC[1]	52,54	52,18	49,81	43,54	1,66
Acetato:Propionato	3,36	3,37	3,24	3,27	0,06
Acetato (mol/100 moles)	67,8%	67,9%	66,6%	67,6%	38,8%
Propionato (mol/100 moles)	20,4%	20,3%	20,7%	20,8%	25,3%
Butirato (mol/100 moles)	11,8%	11,8%	12,7%	11,5%	20,9%
Amônia (mg/100 ml)	7,86	6,95	8,18	7,44	0,5164

[1] AGCC = ácidos graxos de cadeia curta.

O motivo para tal redução no teor total de AGCC no conteúdo ruminal é difícil de ser explicado. A coleta pontual de conteúdo ruminal pode ser causa de erro nos resultados. A decisão de se coletar conteúdo ruminal com sonda esofágica foi encorajada pelo trabalho de Bagley et al (1988), que também utilizaram sonda esofágica e realizaram apenas uma única coleta no final do experimento, demonstrando assim os efeitos clássicos de ionóforos no conteúdo ruminal quando se forneceu salinomicina para animais em dietas de forragem. No entanto, Bagley et al (1988) conheciam o horário de ingestão de ionóforo, que era fornecido com 0,900 kg/cab de milho diariamente em um determinado horário. No presente experimento, embora as observações visuais (dados não mostrados) tenham sugerido que a maioria dos eventos de ingestão de sal acontecia entre 10:00 e 11:00 horas, não seria possível determinar o nível e garantir o horário de ingestão de aditivo para cada animal e cada lote. Além disso, as possíveis diferenças entre pastagens podem ter causado viés nos dados na condição de amostragem pontual (sem repetição no tempo). Este fato pode ter comprometido a qualidade dos dados das análises de conteúdo ruminal.

4.3 Experimento 2: Salinomicina e virginiamicina em misturas minerais para novilhos de corte em pastejo, ensaio Caarapó-MS

Na Tabela 17 são mostrados os dados da caracterização das forragens dos piquetes experimentais. Os dados evidenciam a ocorrência de uniformidade razoável entre piquetes.

Tabela 17 – Características do capim *Cynodon dactylon* cv. coast-cross dos piquetes no 60º dia experimental do experimento 2

Bloco	Piquete	Altura (cm)	Massa (kg MS/ha)
1	1	20,6	2.600
	2	22,5	2.713
	3	20,0	3.138
	4	20,1	2.794
2	1	17,0	1.325
	2	18,6	1.763
	3	17,3	1.781
	4	16,0	1.094

Não foi detectada diferença estatística no consumo de mistura mineral nos tratamentos de baixo consumo com aditivos (tratamentos 2 e 4) em relação ao controle (tratamento 2, p=0,13 e tratamento 4, p=0,54), conforme demonstrado na Tabela 18. O tratamento de alto consumo (tratamento 3) demonstrou superioridade estatística no consumo apenas em relação ao tratamento 2.

O consumo observado (Tabela 18) foi coerente com o esperado (Tabela 4) nos tratamentos de baixo consumo (1, 2 e 4), mas foi inferior à expectativa no tratamento 3. Como conseqüência, a ingestão de antimicrobiano foi 31, 54 e 15% menor do que a meta pré-estabelecida (Tabela 4) para os tratamentos 2, 3 e 4 respectivamente. Não é possível discutir o motivo pelo qual o consumo do tratamento 3 não foi significativamente maior do que os outros tratamentos, como havia sido detectado no experimento anterior.

Tabela 18 – Consumo de mistura mineral médio dos tratamentos no experimento 2

	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Logaritmo de consumo de mistura mineral (log de g/cab/dia)	1,544 ab	1,389 b	1,618 a	1,486 ab	0,065
Consumo de mistura mineral (g/cab/dia)	38,8	27,5	46,42	33,85	

Letras diferentes na mesma linha indicam médias significativamente diferentes ($p<0,05$);
Na comparação dos tratamentos individualmente com o controle, os valores de p são de 0,13; 0,45 e 0,54 para os tratamentos salinomicina, salinomicina alto consumo e virginiamicina, respectivamente.

Avaliando-se os dados semanais de consumo, tem-se que as médias dos coeficientes de variação dos quatro blocos foram de 40, 46, 41 e 46% para os tratamentos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Assim como foi possível demonstrar no experimento 1, esses valores também sugerem que a variabilidade entre semanas é mais baixa se comparada à variação entre dias, demonstrada nas Figuras 3 e 4.

Na primeira coleta de sangue no experimento 2, devido ao alto número de animais, coletou-se sangue de apenas 1 bloco para que as amostras fossem coletadas pela manhã, o que garantiria a qualidade dos dados. É importante lembrar que no experimento 2 foram utilizados 24 a 25 animais por lote, enquanto que no experimento 1 utilizaram-se 6 a 10 animais. Na segunda coleta de sangue, dois lotes foram acidentalmente misturados por danificação de estrutura de cercas no dia da administração do suplemento com lítio, o que impediu a aplicação dos cálculos de estimativa de consumo nestes dois lotes.

Os dados disponíveis são mostrados nas Tabelas 19 e 20. É evidente a alta variabilidade de consumo de mistura mineral. Enquanto alguns animais não ingerem aditivo, alguns receberam até 5 vezes a dosagem estimada (Tabelas 19 e 20).

Tabela 19 – Dados individuais de consumo de mistura mineral por animal (g/cab/dia) estimado pela metodologia de lítio como marcador sanguíneo na primeira data amostral do experimento 2

Bloco 1			
Tratamento			
1	2	3	4
16	6	21	27
52	35	121	46
13	11	17	36
19	55	33	8
18	17	36	0
47	10	40	30
44	26	0	41
16	0	46	25
25	17	0	0
63	29	53	50
36	54	79	40
78	0	104	0
43	14	138	22
21	0	29	29
13	18	0	8
19	5	160	27
52	16	53	38
49	66	62	38
15	0	0	39
0	0	15	0
61	16	73	56
61	4	165	26
27	9	8	65
6	8	0	41
41	18	40	30

Tratamentos: 1) Controle; 2) Salinomicina; 3) Salinomicina alto consumo e 4) Virginiamicina.

Tabela 20 – Dados individuais de consumo de mistura mineral por animal (g/cab/dia) estimado pela metodologia de lítio como marcador sanguíneo na segunda data amostral do experimento 2

Bloco					
1				2	
Tratamento				Tratamento	
1	2	3	4	1	2
0	0	0	53	3	4
82	22	190	13	0	69
142	15	0	23	0	23
70	0	80	88	0	91
213	0	45	0	34	115
0	84	134	125	10	155
0	197	0	180	0	0
29	74	0	0	217	29
0	105	30	0	0	0
76	0	69	120	96	91
277	28	318	38	125	95
0	0	20	0	28	0
203	41	415	34	0	18
20	0	0	61	202	0
184	0	0	27	37	0
226	106	13	104	0	0
0	0	113	18	0	0
7	172	371	137	0	0
0	0	389	150	13	117
197	16	0	0	0	69
0	14	17	95	0	0
0	0	63	46	182	0
0	0	12	98	0	0
8	16	39	31	115	0
0	204	157	6	0	0

Tratamentos: 1) Controle; 2) Salinomicina; 3) Salinomicina alto consumo e 4) Virginiamicina.

Não foram detectadas diferenças entre tratamentos quanto à variabilidade individual de consumo (coeficiente de variação na Tabela 21) e quanto à porcentagem de animais que não consumiu sal (Tabela 21). Em média, 40% dos animais não consumiu sal nas datas amostrais e o coeficiente de variação médio de consumo foi de 121%.

Tabela 21 – Médias dos parâmetros de variabilidade de consumo de sal para os tratamentos, estimadas pela metodologia do marcador lítio em duas datas amostrais para o experimento 2

	Tratamentos				Erro
	1	2	3	4	padrão
Coeficiente de Variação (%)	114	143	133	95	7,0
Porcentagem de animais que não consumiu sal nas datas amostrais	40	47	37	35	5,5

Tratamentos: 1) Controle; 2) Salinomicina; 3) Salinomicina alto consumo e 4) Virginiamicina.

O ganho de peso dos animais é reportado na Tabela 22. Detectou-se superioridade do tratamento com virginiamicina em relação aos tratamentos com salinomicina para o período de 137 dias de experimento, embora não se tenha observado diferença estatística entre a virginiamicina e o tratamento controle. Na comparação do tratamento de virginiamicina com o controle, o valor de p é igual a 0,088, o que sugere diferença entre tratamentos, apesar da evidência ser fraca (SAS/LAB Help; SAS, 2004). Os tratamentos com salinomicina não diferiram do controle (p>0,10).

Tabela 22 - Ganho de peso dos novilhos do experimento 2 em Caarapó-MS

	Tratamentos				
	1	2	3	4	Erro padrão
	Controle	Salinomicina	Salinomicina alto consumo	Virginiamicina	
Peso inicial (kg)	215	217	212	215	
Peso final (kg)	282	283	276	286	
Ganho (kg/cab/dia)					
Geral (137 dias)[1,2]	0,487 ab	0,478 b	0,466 b	0,518 a	0,018
0-39 dias[1]	0,261	0,256	0,198	0,215	0,017
39-59 dias[1]	-0,621 ab	-0,779 b	-0,624 ab	-0,487 a	0,058
59-98 dias[1]	0,846 ab	0,868 ab	0,791 b	0,911 a	0,055
98-137 dias[1]	0,924	0,954	0,968	0,944	0,018

[1] letras diferentes na mesma linha indicam médias com diferença estatística a 5% de probabilidade
[2] Na comparação do ganho geral (137 dias) dos tratamentos individualmente com o tratamento controle, os valores de p são de 0,501, 0,180 e 0,088 para os tratamentos 2, 3 e 4, respectivamente.

Não foi detectada diferença estatística na comparação dos valores de OoPG entre tratamentos (Tabela 23), assim como foi observado no experimento 1.

Tabela 23 – Contagem de Oocistos de Eimeria sp. por grama (OoPG) nas amostras de fezes do experimento 2

	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Logaritmo de OoPG	2,682	2,456	2,782	2,570	0,079
OoPG	588	320	631	406	

Os dados da análise de conteúdo ruminal são mostrados na Tabela 24. Ocorreu redução do teor de acetato no tratamento 2. Assim como foi discutido anteriormente para o experimento 1, a representatividade dos números obtidos com a metodologia de coleta utilizada é questionável. Não foi analisado isobutirato, isovalerato e valerato no experimento 2 por limitação do laboratório de análise.

Tabela 24 – Resultados da análise do conteúdo ruminal coletado em animais amostrais no final do experimento 2

Variável	Tratamento				Erro Padrão
	1 Controle	2 Salinomicina	3 Salinomicina alto consumo	4 Virginiamicina	
Acetato (mmol/L)	52,67	59,30	49,11	55,74	2,47
Propionato (mmol/L)	11,24	13,74	10,61	11,64	0,68
Butirato (mmol/L)	7,57	9,23	6,43	7,68	0,49
Total AGCC[1]	71,48	82,27	66,15	75,06	3,53
Acetato:Propionato	4,71	4,34	4,72	4,93	0,10
Acetato (mol/100 moles)	73,75% ab	72,26% b	74,57% a	74,75% a	0,48%
Propionato (mol/100 moles)	15,7%	16,7%	15,9%	15,3%	0,24%
Butirato (mol/100 moles)	10,5%	11,1%	9,6%	10,0%	0,36%
Amônia (mg/100 ml)	29,55	33,93	30,46	28,05	1,07

[1] AGCC = ácidos graxos de cadeia curta.

4.4 Experimento 3: Ensaio para validação da metodologia de estimativa de consumo individual de suplemento com o uso de lítio como marcador

Alguns animais recusaram o suplemento fornecido, enquanto outros consumiram quantidade diferente da planejada. Isto fez com que o número de animais avaliados fosse diferente do proposto no planejamento do experimento. No total, coletou-se sangue de 5, 3, 2, e 3 animais que consumiram 0, 40, 80, 120 g/cab/dia de sal marcado respectivamente, no período da manhã, e de 5, 2, 2, e 1 animais que consumiram 0, 40, 80, 120 g/cab/dia de sal marcado respectivamente, no período da tarde.

Os resultados da análise de variância dos dados são demonstrados na Tabela 25. O nível de ingestão de sal marcado alterou significativamente o teor de lítio no plasma dos animais (Tabela 25). Os animais que não consumiram mistura mineral apresentaram valor muito baixo de lítio no plasma sanguíneo e, devido à sensibilidade do método analítico, os resultados foram reportados como “< 50 µg/L” para estes animais. Para análise estatística considerou-se que os valores “<50 µg/L” foram iguais a 25 µg/L.

Houve efeito significativo do horário de coleta de sangue nos resultados de teor de lítio no plasma (Tabela 25). Os valores para as coletas entre 8:00 e 12:00 horas são similares enquanto que às 18:00 horas os valores de lítio no plasma já se encontravam mais baixos. Os resultados sugerem que a coleta de sangue no período da manhã, entre 8:00 e 12:00 pode gerar melhores resultados em relação à coleta durante todo o dia, diminuindo as variações associadas ao horário de coleta de sangue.

Suharyono (1992) apud Kahn (1994), trabalhando com ovelhas, demonstrou que o teor de lítio no plasma atingiu pico 12 horas após a ingestão do suplemento marcado, mantendo-se em platô até 24 horas, decrescendo lentamente de 24 até 30 horas e, depois desse período, o declínio foi mais rápido. Dixon; Smith; Reid (2003), trabalhando com bovinos com ingestões de lítio similares ao do presente experimento, encontraram pico de lítio no sangue 24 horas após a ingestão, seguido de declínio lento até o último período de coleta, 96 horas após a ingestão. No presente experimento, para as coletas às 8:00 horas, os animais com menor tempo em relação à ingestão (ingestão à tarde)

estavam com 13 horas e para as coletas às 18:00, os animais com mais tempo em relação à ingestão apresentavam 35,5 horas.

Tabela 25 – Médias das concentrações plasmáticas de lítio em bovinos no dia seguinte à ingestão de níveis diferentes de mistura mineral com lítio, em dois períodos de ingestão (manhã ou tarde), para diferentes horários de coleta de sangue

Horário de coleta de sangue	Ingestão de sal marcado (g/cab/dia)								Médias[2]
	0		40		80		120		
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde[1]	
08:00	25	25	882	963	1426	1731	1953	2361	1171 A
12:00	25	25	920	997	1536	1840	1910	2285	1192 A
18:00	25	25	781	833	1237	1566	1646	1696	976 B
Médias[3]	25 d		896 c		1556 b		1975 a		

[1] Horários de ingestão: Manhã=6:30 às 8:30 h, Tarde=17:00 às 18:55;
[1] Efeito significativo de horário de ingestão (P<0,0001);
[2] Médias na mesma coluna seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (P<0,05);
[3] Médias na mesma linha seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (P<0,05);
Houve Interação significativa entre horário de coleta e nível de ingestão (P=0,003); interação significativa entre nível de ingestão e período de ingestão (P=0,002)

O período de ingestão de suplemento também apresentou efeito significativo nos valores de lítio no plasma sanguíneo (P<0,001). Em média, os animais que consumiram sal pela manhã apresentaram 1030 µg/L de lítio no sangue enquanto que os animais que consumiram sal à tarde apresentaram 1195 µg/L (dados não mostrados).

A interação significativa entre horário de coleta e nível de ingestão (Tabela 25) indica que, para baixos níveis de ingestão (0 e 40 g/cab/dia), os três períodos de coleta apresentavam valores estatisticamente semelhantes (comparações estatísticas não mostradas na tabela). Já nos níveis maiores do que 80 g/cab/dia, o horário de coleta das 18:00 passa a se diferenciar dos demais, com valores mais baixos de lítio no plasma. Evidentemente, a ocorrência de interação entre estas variáveis foi influenciada pelo tratamento de 0 g/cab/dia de sal marcado, no qual o valor de lítio no plasma é, como se esperava, igual para todos os horários de coleta.

Houve interação significativa entre nível de ingestão e período de ingestão (Tabela 25; comparações estatísticas não mostradas na tabela). Para ingestões de sal marcado de 0 a 40 g/cab/dia, não há diferença entre os dois períodos de ingestão, enquanto para os níveis de ingestão de 80 a 120 g/cab/dia, os animais que consumiram suplemento à

tarde apresentavam maiores valores de lítio no plasma. Novamente, o tratamento de 0 g/cab/dia de sal marcado provavelmente influenciou a ocorrência de interação, pois os valores de lítio para este tratamento são iguais para ambos os períodos de ingestão (<50 µg/L).

Com o objetivo de visualizar os dados individualmente e ilustrar a capacidade de predição de consumo de suplemento com base no teor de lítio no plasma, são apresentados os gráficos e equações de regressão para cada período de coleta de sangue (Figura 5).

As equações de regressão revelam a boa capacidade de predição do consumo de suplemento com base no teor de lítio no sangue ($r^2 \approx 0,94$). Pela análise visual dos pontos de dados da Figura 5, percebe-se que é fácil fazer distinção entre os animais que não consumiram suplemento, aqueles que consumiram 40 g/cab/dia e os animais que consumiram mais do que 80 g/cab/dia. A distinção entre animais que consumiram 80 ou 120 g/cab/dia é mais difícil, pois os valores de lítio no plasma para estes dois níveis de consumo se sobrepõem (Figura 5).

De maneira geral, o ensaio demonstrou que a metodologia do lítio é satisfatória para predizer o consumo de suplemento de determinada data amostral e muito acurada para estimar o número de animais que não consomem mistura mineral.

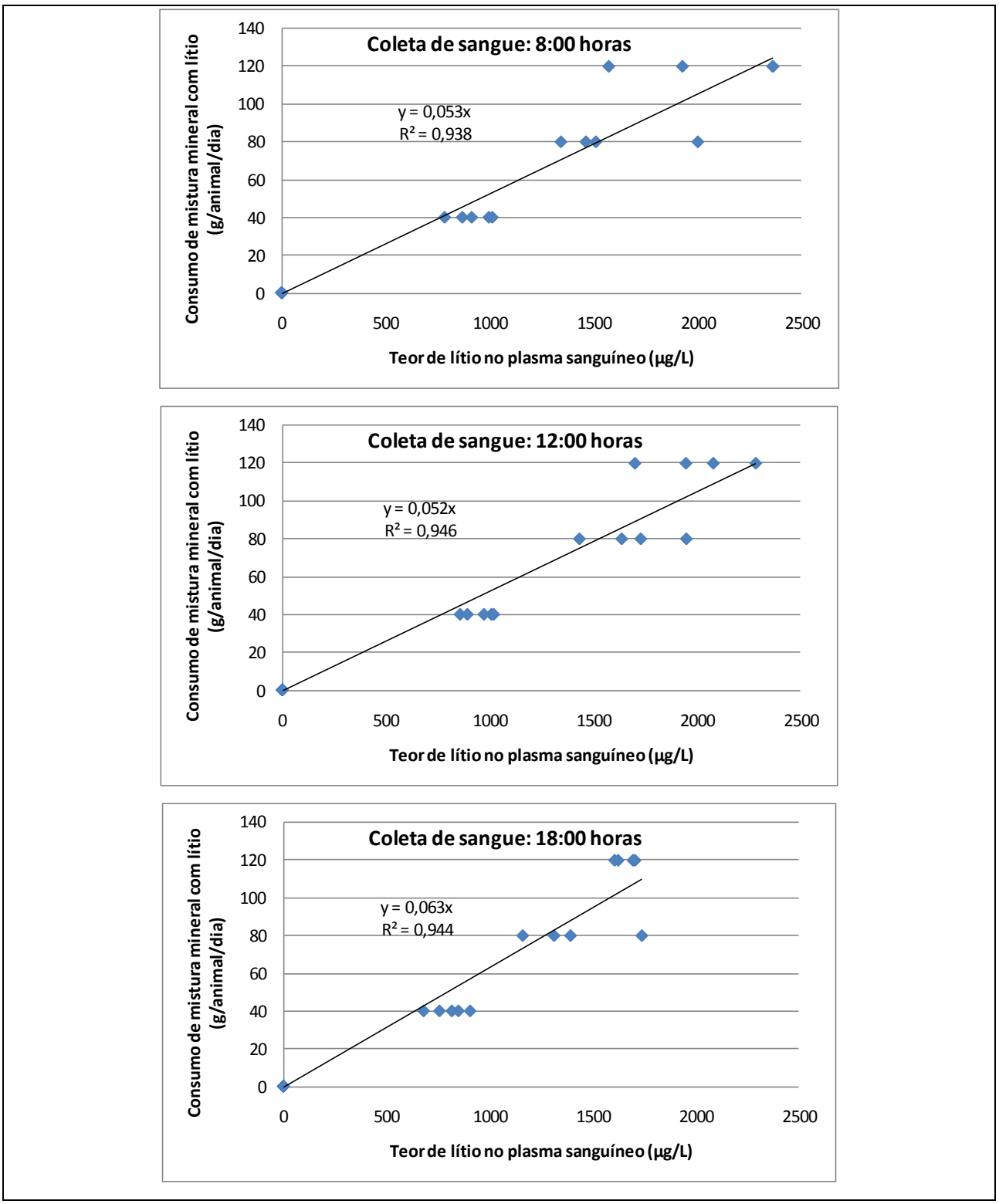

Figura 5 – Análises de regressão entre teores de lítio no plasma sanguíneo e quantidade de suplemento consumida para os três períodos de coleta de sangue

4.5 Experimento 4: Avaliação da efetividade da salinomicina após mistura no sal mineral

A digestibilidade verdadeira da matéria seca e da matéria orgânica decresceram linearmente com a adição crescente de salinomicina (Tabela 26). Esses resultados estão de acordo com estudos prévios obtidos com monensina utilizando a mesma metodologia (Araújo et al., 2009). O armazenamento da mistura mineral com salinomicina por 40 ou até 300 dias não afetou a atividade do antimicrobiano na digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca ou matéria orgânica (Tabela 26).

O ionóforo modificou a fermentação reduzindo linearmente a produção de gás com o aumento da dosagem (Tabela 26). Faftine (2004) também demonstrou resultado semelhante de redução na produção de gás com o uso de doses crescentes de salinomicina em estudo *in vitro*. A produção de gás também foi reduzida com a adição de quantidades crescentes de monensina no estudo de Araújo et al. (2009). O tempo de armazenamento da mistura mineral com salinomicina não causou efeito na produção de gás, o que pôde ser percebido pela ausência de diferença estatística na comparação do tratamento SALINO-1,5 com os tratamentos SALINO-1,5-40d e SALINO-1,5-300d.

Doses crescentes de salinomicina reduziram linearmente a produção de metano, enquanto em termos percentuais não houve efeito significativo na participação do metano no total de gás produzido (Tabela 26). O armazenamento da salinomicina em mistura mineral por diferentes períodos de tempo não modificou a atividade do ionóforo em relação à produção de metano.

Não houve efeito dos tratamentos no pH do fluido ruminal tamponado ao final da incubação. Em experimentos *in vitro* não há absorção de AGCC, portanto o pH é fruto do acúmulo de ácidos gerados durante a fermentação. No entanto, devido ao uso necessário de tampões, é difícil encontrar efeito em pH com o uso deste tipo de metodologia de fermentação *in vitro*.

A produção de acetato não foi alterada significativamente com a inclusão de salinomicina, enquanto a produção de propionato foi aumentada (Tabela 26). Resultado semelhante foi observado por Araújo et al. (2009) em trabalho *in vitro* com monensina quando o feno de *Cynodon dactylon* foi utilizado como substrato, mas quando utilizou-

se ração de alto concentrado como substrato, a concentração de acetato foi reduzida com o uso de monensina. Nagaraja et al. (1987) reportaram a mesma tendência de estabilidade na produção de acetato e aumento na produção de propionato na fermentação *in vitro* de substrato composto de carboidratos, proteínas e vitaminas do complexo B.

A proporção molar de acetato foi afetada ligeiramente em resposta quadrática à níveis crescentes de salinomicina. Resultados similares foram reportados por Bagley et al. (1988) em experimento *in vivo* pela análise do conteúdo ruminal coletado via sonda esofágica.

A relação acetato:propionato foi reduzida em conseqüência do aumento da produção de propionato principalmente, assim como foi demonstrado em outros trabalhos da literatura com salinomicina (BAGLEY et al, 1988; NAGARAJA et al, 1987) e monensina (Araújo et al, 2009). É importante notar que não houve diferença dos tratamentos SALINO-1,5-40d e SALINO-1,5-300d quanto comparados com o tratamento SALINO-1,5, evidenciando que o armazenamento da mistura mineral com salinomicina não alterou a atividade do antimicrobiano quanto à alteração no padrão de produção dos AGCC acetato e propionato.

A produção e proporção molar de isobutirato decresceram linearmente com doses crescentes de salinomicina (Tabela 26). Araújo et al. (2009) reportou a mesma tendência de redução de isobutirato trabalhando com monensina e utilizando a mesma metodologia do presente estudo. A proporção molar de isovalerato decresceu linearmente com as doses crescentes de salinomicina (Tabela 26) em coerência com os resultados de Araújo et al (2009) com monensina. Isobutirato e isovalerato são ácidos graxos de cadeia ramificada oriundos da degradação de aminoácidos (OWENS; GOETSCH; 1988). Os resultados indicam diminuição da degradação de aminoácidos na presença de salinomicina.

A adição de níveis crescentes de salinomicina reduziu a produção e proporção molar de butirato (Tabela 26), resultado compatível com indicações prévias da literatura de trabalhos *in vitro* (Nagaraja et al, 1987) e *in vivo* (Bagley et al, 1988).

A proporção molar de valerato foi afetada quadraticamente pelo uso de salinomicina e houve diferença entre os tratamentos 4 e 5. Nagaraja et al (1987) não

encontraram alteração de valerato com o uso de salinomicina. Araújo et al (2009) demonstraram redução de valerato com o uso de monensina em incubação de ração de alto concentrado. Não é possível discutir as causas da diferença observada entre os tratamentos 4 e 5. Também não é possível afirmar que tempo de armazenamento afetou a proporção molar de valerato uma vez que o tratamento 6, cuja mistura mineral foi armazenada por 300 dias com salinomicina, não foi diferente do tratamento 4.

Os resultados gerais do experimento in vitro sugerem não haver redução na atividade da salinomicina quando armazenada por longos períodos de tempo em mistura com as fontes de mineral dos suplementos. Portanto, a perda na atividade do antimicrobiano quando em mistura com mineral, conforme previamente indicado pelo resultado de Bagley (1988), não pode ser utilizada como causa explicativa da ausência de resposta à salinomicina nos experimentos de campo (Experimentos 1 e 2).

Tabela 26 – Resultados do estudo de fermentação *in vitro* para avaliação da efetividade da salinomicina após diferentes tempos de contato com a mistura mineral

Variável	Tratamento						Erro Padrão	Polinômios e Contrastes Significativos[1]
	1 Controle	2 Salinomicina 0,5 µg/ml	3 Salinomicina 1,0 µg/ml	4 Salinomicina 1,5 µg/ml	5 Salinomicina 1,5 µg/ml 40 dias	6 Salinomicina 1,5 µg/ml 300 dias		
DVMS (%)[2]	66,6	64,5	63,9	60,5	61,1	60,6	1,24	L
DVMO (%)[3]	69,1	67,5	66,4	62,9	63,3	62,7	1,17	L; C
Produção de gás (ml)	124,0	114,7	110,7	106,6	107,8	105,5	2,82	L
Metano (ml)	19,5	14,6	14,2	12,1	12,1	12,3	2,21	L
Metano (% do gás)	15,7	12,7	12,5	11,3	11,2	11,5	1,8	NS
pH	6,73	6,77	6,78	6,77	6,76	6,74	0,03	NS
Acetato (mmol/L)	47,53	47,99	46,29	46,23	46,57	46,08	1,48	NS
Propionato (mmol/L)	13,13	15,54	15,61	16,11	16,39	16,16	0,36	L; C
Isobutirato (mmol/L)	0,72	0,66	0,59	0,56	0,56	0,56	0,04	L
Butirato (mmol/L)	10,28	8,13	7,36	7,04	6,86	6,96	0,33	L; C
Isovalerato (mmol/L)	1,29	1,24	1,15	1,11	1,10	1,13	0,07	L
Valerato (mmol/L)	0,84	0,86	0,83	0,81	0,78	0,81	0,04	NS
Total AGCC[4]	73,79	74,03	71,83	71,86	72,26	71,71	2,19	NS
Acetato:Propionato	3,62	3,17	2,96	2,87	2,84	2,85	0,05	L; C
Acetato (mol/100 moles)	64,4	64,8	64,4	64,3	64,4	64,3	0,3	Q, C
Propionato (mol/100 moles)	17,8	20,5	21,8	22,5	22,7	22,5	0,3	L; C
Isobutirato (mol/100 moles)	1,0	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,0	L; C
Butirato (mol/100 moles)	13,92	10,98	10,23	9,79	9,49	9,70	0,26	L; Q; C
Isovalerato (mol/100 moles)	1,75	1,67	1,60	1,54	1,52	1,57	0,06	L; C
Valerato (mol/100 moles)	1,15	1,17	1,16	1,13	1,08	1,13	0,02	Q; 4 vs. 5

[1] Foram testados: a) polinômios ortogonais linear (L), quadrático (Q) e cúbico © para os tratamentos 1 a 4 e b) contrastes comparando os tratamentos 4 com 5 (4 vs. 5) e 4 com 6 (4 vs. 6).
[2] DVMS = digestibilidade verdadeira da matéria seca;
[3] DVMO = digestibilidade verdadeira da matéria original;
[4] AGCC = ácidos graxos de cadeia curta.

4.6 Experimento 5: Mistura mineral com virginiamicina fornecida em cochos descobertos para novilhos de corte em pastejo

Os resultados da avaliação de altura de forragem são mostrados na Tabela 27. Os dados indicam a ocorrência de uniformidade entre piquetes dentro de cada bloco.

Tabela 27 – Características do capim *Cynodon dactylon* cv. coast-cross dos piquetes no 60º dia experimental do experimento 5

Bloco	Piquete	Altura (cm)
1	1	18,8
	2	20,3
	3	20,2
	4	21,0
2	1	16,6
	2	17,3
	3	17,7
	4	15,2

Os resultados de consumo de suplemento e desempenho animal são demonstrados na Tabela 28. A virginiamicina proporcionou aumento significativo de ganho de peso de 0,063 kg/cab/dia (9,8%), considerando-se todo o período experimental de 133 dias. No primeiro período foi possível detectar diferença estatística (P=0,021), enquanto no segundo período a diferença não foi significativa (P=0,454).

Apesar de não ter sido detectada diferença no segundo período, os dados não permitem afirmar que os tratamentos são iguais, ou seja, não permitem confirmar que o antimicrobiano não faz em efeito em longo prazo. A maior variabilidade dos dados do segundo período (59-74 dias), demonstrada pelo erro padrão (Tabela 28), indica que a possibilidade de detecção de diferença estatística foi menor para este período. Para investigar esta questão, calculou-se o poder do teste utilizando-se o SAS (2004), considerando nível de significância de 5%. O poder do teste representa a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade quando a hipótese alternativa é verdadeira (SAS Help and Documentation; SAS, 2004), ou seja, a probabilidade de detecção de diferença estatística quando ela realmente existe. Os poderes de teste calculados

foram de 86, 72 e 9,5% para o período geral de 133 dias, 0-59 dias e 59-74 dias, respectivamente. Percebe-se que a possibilidade de detecção da diferença foi muito remota para o segundo período (9,5%).

O resultado de ausência de diferença estatística no segundo período (59-74 dias) deve ser entendido como sugestivo de que a virginiamicina tem efeito mais expressivo no início de sua administração aos animais. Porém, são necessárias mais pesquisas para confirmação do efeito do tempo de fornecimento na efetividade do antimicrobiano. É interessante que sejam conduzidas pesquisas por prazo mais longo (Ex: 1 ano).

Tabela 28 – Médias dos ganhos de peso e dos consumos de suplemento de animais tratados com virginiamicina via mistura mineral fornecida em cochos descobertos, no experimento 5

	Tratamento		Erro Padrão	Valor P
	Controle	Virginiamicina		
Peso inicial (kg)	236,1	236,7		
Peso final (kg)	321,6	330,7		
Ganho (kg/cab/dia)				
Geral (133 dias)	0,643	0,706	0,069	0,019
0-59 dias	0,867	0,965	0,064	0,032
59-74 dias	0,465	0,501	0,075	0,454
Consumo de suplemento (g/cab/dia)	43	39	2,44	0,062

Os resultados de ganho de peso estão de acordo com as indicações do experimento 1 e 2 e corroboram as indicações da literatura (FIEMS et al, 2006; LUCAS, 1989 e LUCAS; SOBRINHO, 1989, apud NICODEMO, 2001) de que a virginiamicina pode ser utilizada como melhoradora de desempenho via suplementos minerais para animais em pastagens. O experimento demonstra que as misturas minerais com virginiamicina podem ser fornecidas em cochos descobertos e com manejo de abastecimento simples (descrito em material e métodos), mesmo com a ocorrência de dias chuvosos de verão (06 de janeiro a 19 de maio), quando o consumo pode ser temporariamente reduzido pelo umedecimento e endurecimento do suplemento (ORTOLANI; 1999).

Houve tendência de redução no consumo de mistura mineral (p=0,062) com o uso de virginiamicina. No entanto, a diferença entre tratamentos foi pequena (Tabela 28) e de pouca importância prática. O resultado está de acordo com a tendência observada e discutida para os dados do experimento 1.

4.7 Discussão integrada dos resultados

Os resultados dos três experimentos com animais indicam que a virginiamicina fornecida via mistura mineral é capaz de melhorar o ganho de peso de novilhos em pastejo de capins tropicais. Em média, o incremento observado foi de 63 g/cab/dia de aumento em relação ao ganho do tratamento controle, equivalente a 11% de incremento. Os atuais custos do aditivo justificam economicamente sua utilização, uma vez que a relação custo benefício foi em média igual a 1:15, considerando a ingestão média dos experimentos de 0,74 g/cab/dia de produto comercial com 10% de virginiamicina ao custo de R$ 18,70/kg, R$ 85,00/@ na venda e 53% de rendimento de carcaça para transformação do ganho de peso vivo em arrobas.

A salinomicina não apresentou efeito em desempenho nos experimentos (Tabelas 14 e 22). Em contrapartida, já foi demonstrado na literatura o efeito positivo da salinomicina no desempenho dos animais em pastagens quando o ionóforo foi fornecido via suplementos de alto consumo (BAGLEY ET AL, 1988; PAGE, 2003; SARAN NETTO ET AL, 2004). Também não se detectou redução de coccidiose com o uso de salinomicina (Tabelas 15 e 23), enquanto na literatura este efeito já foi demonstrado (MERCHEN E BERGER; 1985).

Portanto, os resultados indicam que o ionóforo salinomicina não exerceu sua ação nas condições em que foi administrado. Bagley et al (1988) também notaram ausência de ação quando a salinomicina foi fornecida via mistura mineral.

O estudo de Bagley (1988) revelou que a salinomicina perdeu atividade quando misturada ao suplemento mineral. Portanto, a primeira hipótese para a ausência de efeito da salinomicina nos experimentos 1 e 2 seria a possível deficiência em sua atividade. Esta hipótese foi então testada com o ensaio *in vitro* (Experimento 4) e não

foi confirmada, pois a atividade da salinomicina após 300 dias de mistura ao sal mineral foi igual à do produto recém-misturado.

Outra hipótese para a ausência de efeito da salinomicina é que o consumo errático e desuniforme observado para misturas de baixo consumo (TAIT; FISHER, 1996; COCKWILL ET AL., 2000; DIXON ET AL., 2001) poderia prejudicar a dosagem adequada do antimicrobiano.

A metodologia do lítio se provou confiável para a estimativa de consumo individual e do número de animais que não ingere suplemento em uma determinada data, conforme demonstrado no ensaio de calibração (Experimento 3). Os dados de consumo individual de suplemento dos experimentos 1 e 2 indicam que a variação entre indivíduos foi muito alta (Tabelas 12 e 20).

Embora Muller et al (1986) tenham demonstrado que suplementos com monensina funcionam normalmente quando administrados em dias alternados, fornecendo-se o dobro da dosagem média nos dias de fornecimento, a variação de consumo entre dias observada nos experimentos 1 e 2 pode ter sido muito alta para que a salinomicina exercesse efeito. As estimativas com uso do lítio indicaram que alguns animais consumiram até 5 vezes a dosagem pretendida (Tabelas 12 e 20) e que praticamente a metade do lote (43,5%) não consumiu sal nas datas amostrais (Tabelas 13 e 21).

Sabe-se que em doses elevadas os ionóforos não aumentam desempenho dos animais (POTTER; COOLEY; RICHARDSON, 1976) e, assim como os diversos ionóforos, a salinomicina é tóxica aos bovinos em doses elevadas (GAVA et al, 1997). Com base nesta discussão, sugere-se que a salinomicina não exerceu ação nos experimentos 1 e 2 devido à alta variabilidade da dosagem, que pode inclusive prejudicar os animais nos dias de consumo excessivamente alto.

De fato, os resultados de utilização de ionóforos em misturas minerais de baixo consumo na maioria das vezes não mostram efeito em ganho de peso, como pode ser observado pela síntese da literatura apresentada na Tabela 2. Normalmente a alta variabilidade do consumo entre animais e o consumo errático ao longo dos dias são apontados como possíveis causas da ausência de efeito quando os ionóforos são administrados via mistura mineral (PITMAN; PATE, 1984; BAGLEY, 1988; DELCURTO; WEBER; CRAIG, 1989).

A causa pela qual a virginiamicina foi capaz de exercer efeito mesmo em situação de consumo variável pode ser explicado por dois motivos principais. O primeiro motivo é baixa toxidez deste antimicrobiano, que apresenta efeito positivo em desempenho em fornecimento de até 3 vezes a dosagem recomendada e não demonstra efeitos adversos de toxidez quando fornecido em níveis de até 25 vezes mais altos que a dosagem recomendada (FDA, 1993). O segundo motivo é relacionado à característica de bacteriopausa do antimicrobiano. Segundo Cocito et al (1997) apud Stewart et al (2010), quando em contato com as células bacterianas a virginiamicina inibe o crescimento deste microorganismos por período prolongado de tempo mesmo depois que a virginiamicina é retirada, caracterizando a propriedade de bacteriopausa. Este mecanismo pode garantir que a alteração da fermentação ruminal aconteça por período suficiente de tempo para causar efeito positivo no desempenho, mesmo que o consumo seja pontual e o animal não faça a ingestão diária do suplemento.

Os dados de parâmetros ruminais coletados nos experimentos 1 e 2 não permitem inferir sobre o efeito dos antimicrobianos na fermentação. Embora a coleta de fluido ruminal pontual com utilização de sonda esofágica no final do experimento tenha sido suficiente para demonstrar os efeitos de antimicrobianos para animais em pastejo no experimento de Bagley et al (1988), no qual o suplemento com salinomicina foi fornecido em horário conhecido, tal metodologia pode não ter sido suficiente para se detectar o efeito dos antimicrobianos quando fornecidos via mistura mineral. Isto provavelmente acontece porque o consumo de misturas minerais é muito variável (Tabelas 12 e 20) e não é possível conhecer o horário de ingestão dos animais.

5 CONCLUSÕES

Virginiamicina é antibiótico promissor para aplicação como promotor de crescimento para animais em pastejo via misturas minerais. Identificou-se eficiência do antimicrobiano também em sistema de fornecimento em cochos descobertos com ocorrência de dias chuvosos, quando o consumo de sal pode ser temporariamente reduzido pelo umedecimento da mistura.

A salinomicina via mistura mineral não demonstrou efeito em ganho de peso e também não apresentou redução do número de ovos de coccídia. A possibilidade de perda de atividade da salinomicina quando misturada às fontes de minerais não pode ser indicada como causa da ausência de ação do antimicrobiano. O estudo indica que a variabilidade do consumo individual ao longo dos dias pode ser a causa da ausência de efeito da salinomicina.

A técnica da utilização do lítio como marcador foi avaliada e demonstra ser confiável para estimativa do consumo individual e do número de animais que não ingere suplemento em determinada data de amostragem.

Pesquisas adicionais são necessárias para a compreensão das peculiaridades da virginiamicina para animais em pastejo. São necessários estudos por períodos de tempo prolongados, que permitam definir o efeito do antimicrobiano por longo prazo (ex.: um ano).

É preciso conduzir experimento com delineamento apropriado para avaliar o efeito do antimicrobiano em animais de diferentes idades e categorias. Necessitam-se estudos para se definir a resposta a diferentes doses de virginiamicina em misturas minerais para bovinos em situação de pastejo de forragens tropicais. É interessante avaliar o efeito do antimicrobiano em dietas de forragem com diferentes níveis de energia em relação à exigência de mantença, observando-se o efeito da virginiamicina no ganho de peso e também no consumo de forragem. Outro foco de estudo interessante é a investigação da associação da virginiamicina com ionóforos para animais em pastejo. Como sugestão pode ser testada a lasalocida, que tem margem de segurança maior do que os outros ionóforos comumente utilizados (GALITZER; KRUCKENBURG; KIDD, 1986) e, portanto, pode não apresentar problema quando o

consumo é variável. A lasalocida poderia complementar o efeito da virginiamicina devido à sua ação coccidiostática.

REFERÊNCIAS

AGTARAP A.; CHAMBERLIN,J.W.;PINKERTON,M ;STEINRAUF L. The structure of monensic acid, a new biologically active compound. **Journal of the American Chemical Society**, Salt Lake City, v. 89, p. 5737–5739, 1967.

ARAÚJO, R.C. ; PIRES, A.V. ; ABDALLA, A.L. ; PECANHA, M.R.S.R. ; SALLAM, S.M.A. . Monensina sódica como controle positivo para estudos sobre manipuladores da fermentação ruminal utilizando a técnica de produção de gás in vitro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46, 2009, Maringá, PR. **Resumos...** Brasília : SBZ, 2009. p. 1-3

ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J. da C. Microbiologia do rúmem. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. de. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. cap. 5, p.111-150.

ARMENTANO, L.E.; YOUNG, J.W. Production and metabolism of volatile fatty acids, glucose and CO2 in steers and the effects of monensin on volatile fatty acid kinetics. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.113, p. 1265, 1983.

AOAC; ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 18th ed. Gaithersburg, 2006.

AVCARE. **The role of enteric antibiotics in livestock production** Disponível em: http://www.animalhealthalliance.org.au. Canberra: Advanced Veterinary Therapeutics, 2003. Acesso em: 05 nov. 2010.

BAGLEY, C.P.; FEAZEL J.I., MORRISON, D.G. ; LUCAS D.M. Effects of salinomycin on ruminal characteristics and performance of grazing beef steers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 66, p.792–797, 1988.

BENZ G.W. ;ERNST J.V. Efficacy of salinomycin in treatment of experimental eimeria bovis infections in calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.40, n.8, p1180-1186, 1979.

BERGEN, WERNER G., BATES, DOUGLAS B. Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 58, p.1465-1483, 1984.

BERGER J.; RACHLIN A.J.;SCOTT W.E.;STERNBACH, L.H.;GOLDBERG, M.W. The isolation of three new crystalline antibiotics from Streptomyces. **Journal of the American Chemical Society**, Salt Lake City, v.73, p. 5295–5298, 1951.

BOHNERT, D.W.;HARMON,D.L.;DAWSON , K.A.;LARSON,B.T.;RICHARDS, C.J.; STREETER MN Efficacy of laidlomycin propionate in low-protein diets fed to growing beef steers: effects on steer performance and ruminal nitrogen metabolism **Journal of Animal Science,** Savoy, v.78:n.1,p.173–180, 2000.

BRAZLE, F.K.; LAUDERT.;S.B.Effect of feeding rumensin in a mineral mixture on steers grazing native grass pastures. Manhattan: **KANSAS STATE CATTLEMEN'S DAY**, 1998. Disponível em: http://krex.k-state.edu/dspace/handle/2097/4805 **;** Acesso em: 05 nov. 2010

BRETSCHNEIDER, G.; ELIZALDE, J.C.; PEREZ, F.A. The effect of feeding antibiotic growth promoters on the performance of beef cattle consuming forage-based diets: a review. **Livestock Science,** v. 114, n. 2/3, Abril 2008, p.135-149.

BROWN H.; CARROLL,L.H.;ELLISTON, N.G.; GURETER,H.P.;MCASKILL, J.W.;OLSON,R.D.; RATHMACHER,R.P. Field evaluation of monensin for improving feed efficiency in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 38: p.1340, 1974.

CANO, C.C.P.;CECATO, U.;CANTO, M.W. ;SANTOS, G.T. ;GALBEIRO, S. ;MARTINS E.N. ;MIRA E R.T.. Valor nutritivo do Capim-Tanzânia (Panicum maximum Jacq. cv. Tanzânia-1) pastejado em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 3, p.1959-1968, 2004.

CARNEVALLI, R.A. Desempenho de ovinos e respostas de pastagens de coastcross submetidas a regimes de desfolha sob lotação contínua. **Pesquisa Agropecuária. Brasileira,** Brasília, v. 36, n.6, p. 919-927 jun 2001.

CECATO, U.; CASTRO, C.R.C.; CANTO, M.W.; PETERNELLI, M.; ALMEIDA JÚNIOR, J.; JOBIM, C.C.; CANO, C.C.P. Perdas de forragem em capim-Tanzânia (Panicum maximum Jacq. cv. Tanzânia-1) manejado sob diferentes alturas sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, p.295-301, 2001.

CHAMPNEY,W.S. TOBER, C.L. Specific inhibition of 50S ribosomal subunit formation in Staphylococcus aureus cells by 16–membered macrolide, lincosamide, and streptogramin B antibiotics. **Current Microbiology,** New York, v. 41; n. 2; p. 126–135, 2000.

CLAYTON, E.H.;LEAN, I.J., ROWE, J.B., COX, J.W. Effects of Feeding Virginiamycin and Sodium Bicarbonate to Grazing Lactating Dairy Cows **Jounal of Dairy Science**, Champaign, v.82,p.1545-1554, 1999.

COCITO, C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington DC, v.43, p.145-192, 1979.

COCKWILL, C.L.; MCALLISTER, T.A.; OLSON, M.E.; MILLIGAN, D.N.; RALSTON, B.J.; HUISMA, C.; HAND, R.K. Individual intake of mineral molasses supplements by cows, heifers and calves. **Canadian Journal of Animal Science,** Ottawa, v.80, p. 681-690, 2000.

COE, M.L.;NAGARAJA, T.G.; SUN, Y.D.;WALLACE, N.;TOWNE, E.G.; KEMP, K.E., HUTCHESON, J.P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis, **Journal of Animal Science**, Savoy, v.77, p. 2259-2268, 1999.

CORSI, M. ; GOULART, R.D.C.D. . O sistema de produção de carne e as exigências da sociedade moderna. In: PEDREIRA,C.G.S.;MOURA, J.C.de; Silva, S.C.da Vidal,P de F. (Org.). **As pastagens e o meio ambiente**. Piracicaba: FEALQ, 2006. p. 7-35.

COTTYN, B.G.; BOUCQUE, C.V. Rapid method for the gas-chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 16, n. 1, p. 105-107, 1968.

CUNNINGHAM, F.E. Using dehydrated poultry waste in poultry rations — A review. **Agriculture and Environment**, Amsterdam, v. 3, n.1, Dec. 1976. p.69-76.

CUTHBERTSON,W.F.J.The Nutritional significance of the animal protein factor and antibiotics. **British Journal of Nutrition**, London, v.6, p 330-334, 1952.

DAVENPORT, R.W., GALYEAN, M.L., BRANINE, M.E., HUBBERT, M.E., Effects of a monensin ruminal delivery device on daily gain, forage intake and ruminal fermentation of steers grazing irrigated winter wheat pasture **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 67, p. 2129–2139, 1989.

DELCURTO, T.; WEBER, D.W.; CRAIG, A.M. Administration of lasalocid in a self-fed mineral carrier, or hand- fed three times weekly to stocker cattle on pasture. **Nutrition Reports International**, California, v.39, p.773–780, 1989.

DIXON R.M.; SMITH D.R.; PORCH I.; PETHERICK J.C. Effects of experience on voluntary intake of supplements by cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture,** Melbourne, v. 41, 581–592, 2001.

DIXON, R.M.; WHITE, A.; FRY, P.; PETHERICK, J.C. Effects of supplement type and previous experience on variability in intake of supplements by heifers. **Australian Journal of Agricultural Research,** Collingwood, v.54, p.529-540, 2003.

FAULKNER,D.B.;KLOPFENSTEIN, T.J.;TROTTER,T.N.;BRITTON,R.A Monensin effects on digestibility, ruminal protein escape and microbial protein synthesis on high fiber diets. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 61, p.654–660, 1985.

FDA Center for Veterinary Medicine. Freedom of Information Summary. NADA 140–998 Virginiamycin in the diet of cattle fed in confinement for slaughter ("feedlot cattle"). Food and Drug Administration, Washington DC, 1994. Disponível em: http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm054890.htm. Acesso em: 22 jun 2010.

FDA Center for Veterinary Medicine. Washington DC: **Environmental Assessment Food and Drug Administration,** 1992. Disponível em: http://www.fda.gov. Acesso em 5 nov. 2010. (Report for NADA 128-686)

FDA Center for Veterinary Medicine. Washington DC: **Environmental Assessment, Food and Drug Administration, 1993**. Disponível em: http://www.fda.gov. Acesso em 5 nov. 2010. (Report for NADA 140-998)

FDA. Risk assessment of streptogramin resistance in *Enterococcus faecium* attributable to the use of streptogramins in animals: “Virginiamycin Risk Assessment”—Draft for comment. **Food and Drug Administration**, Center for Veterinary Medicine, 2004. Disponível em: http://www.fda.gov. Acesso em: 05 nov. 2010.

FIEMS,L.O. ; BOUCQUE, C.V.; COTTYN, B.G; MOERMANS, R.J.; DE BRABANDER D.L. Effect of virginiamycin supplementation on the performance of young grazing cattle. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.47 , p. 36–40, 1992.

FIESER, B.G., HORN, G.W., EDWARDS, J.T. Effects of energy and/or mineral supplementation in combination with monensin on performance of steers grazing winter wheat pasture. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.85, p. 3470-3480, 2007

FILÍPEK, J.; DVORAK, R. Determination of the volatile fatty acid content in the rumen liquid: comparison of gas chromatography and capillary isotachophoresis. **Acta Veterinaria Brno**, Brno, v. 78, n. 4, p. 627-633, 2009.

FIORENTIN, L. **Entendendo a questão dos antibióticos promotores de crescimento em frangos.** EMBRAPA Suínos e Aves. 2005. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=artigos&cod_artigo=203. Acesso em: 22 jun. 2010.

FRANCO, F.M.J. **Consumo de monensina sódica via suplemento mineral por bovinos de corte em pastagens.** 2007**.** 55 p, Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

GALITZER S.J.;KRUCKENBURG S.M.;KIDD J.R. Pathologic changes associated with experimental lasalocid and monensin toxicosis in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 47, n. 6, p. 2624, 1986.

GAVA A.;WOUTERS A.T.B.;WOUTERS F.;NIZGOSKI L.;BARROS C.S.L 1997. Intoxicação por salinomicina em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 3/4, p.127-130,Jul. 1997.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications).. Washington, D.C.:ARS-USDA, 2007.p.1-20. (Agriculture Handbook, 379)

GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. **Journal Council Scientific Industry Research**, London, v. 12, p. 50-52, 1939.

GOTTSCHALL, D.W.;WANG, R. ; KINGSTON, D.G., Virginiamycin metabolism in cattle rumen fluid. **Drug Metabolism and Disposition: the Biological Fate of Chemicals**, Beltsville, v.16, p. 804–812, 1988.

GUTIERREZ, R.R.V. **Efeito da monensina sódica misturada ao sal mineral no desempenho produtivo de bovinos da raça nelore em pastagem de brachiaria decumbens.** 1997. 34 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1997.

HAMMOND, A.C. Use of blood urea nitrogen concentration to guide protein supplementation in cattle. In:ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM,3., 1992. Gainesville. **Proceedings…**. Gainesville; University of Florida,. 1992. p. 9-18.

HANEY M.E. ; HOEHN M.M. Monensin, a new biologically active compound. I. Discovery and isolation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington DC, v. 7, p.349–352, 1967.

HEWLETT PACKARD. The separation of saturated and unsaturated acids and FAMEs using HP-FFAP and HP-INNOWax columns. Application note 228-398. 1998. Disponível em: http://www.chem.agilent.com/Library/applications/59663971.pdf. Acesso em: 38 jul. 2010.

HOLDEN, L.A. Comparison of methods of dry matter digestibility for ten feeds. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.

HUGHES ,P.; HERITAGE, J.; Antibiotic growth promoters in food animals, Assessing Quality and Safety of Animal Feeds. Rome: FAO Animal Production and Health Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004. p. 129–152.(Papers Series, 160.).

KAHN, L.P. The use of lithium chloride for estimating supplement intake in grazing sheep: estimates of heritability and repeatability**. Australian Journal of Agricultural Research,** Collingwood, v.45, p.1731-1739, 1994.

KOZLOSKI, G.V.. **Bioquímica dos ruminantes.** 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2009. 214 p.

KUNKLE, W.E.;JOHNS, J.T.;POORE, M.H.;HERD, D.B. 2000. Designing supplementation programs for beef cattle fed forage based diets**. Proceedings of the American Society of Animal Science.** Disponível em: http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/1912.pdf. Acesso em: 05 nov. 2010.

LANA,R.P.; RUSSELL,J.B. Effect of forage quality and monensin on the ruminal fermentation of fistulated cows fed continuously at a constant intake**. Journal of Animal Science,** Savoy, v.75: n.1, p. 224–229, 1997.

LASSEY, K.R. Livestock methane emission: From the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle**, Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 142, n. 2/4, p.120-132, 12 Feb.2007.

MARLOW, H.J.; HAYES, W.K.; SORET, S.;CARTER, R.L.;SCHWAB, E.R., SABATE, J. Diet and the environment: does what you eat matter? **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.89, p.1699-1703, 2009.

MAURÍCIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S.; OWEN, E.; CHANNA, K.S.; THEODOROU, M.K. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal **Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999.

MERCHEN, N.R.;BERGER, L.L. Effect of salinomycin level on nutrient digestibility and ruminal characteristics of sheep and feedlot performance of Cattle **Journal of Animal Science**, Savoy,v.60, p. 1338-1346, 1985.

MITANI M.;YAMANISHI T.;MIYAZAKI Y Salinomycin: a new monovalent cation ionophore. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v.66, n. 4, p. 1231-1236, 1975.

MIYAZAKI Y.; SHIBUYA M.; SUGAWARA H.; KAWAGUCHI O.; HIRSOE C. Salinomycin, a new polyether antibiotic. **The Journal of Antibiotics**, Tokyo, v.27,n.11, p.814-822, 1974.

MULLER, R.D.;POTTER, E.L.;WRAY, M.L.; RICHARDSON, L.F.; GRUETER, H.P., Administration of monensin in self-fed (salt limiting) dry supplements or on an alternate-day feeding schedule. **Journal of Animal Science,** Savoy, v.62, p.593–600, 1986.

NAGARAJA,T.G.; TAYLOR, M.B.; HARMON,D.L.;BOYER, J.E. In vitro lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science,** Savoy, v.65, p. 1064–1076, 1987.

NAGARAJA, T.G.;GODFREY, S.I.;WINSLOW, S.W.;ROWE, J.B.; KEMP, K.E. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in faunated or ciliate-free sheep overfed with barley grain. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 17, p.1–8, 1995.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte.** Campo Grande: EMBRAPA gado de corte, 2001, 54 p. (Documentos).

NUNES, S.G. 1998. **Saleiros automáticos para bovinos.** Disponível em: http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/ct/ct17/index.html. Acesso em: 29 dez. 2008.

OLIVEIRA, D.E. **Uso da técnica de n-Alcanos para medir o aporte de nutrientes através de estimativas do consumo de forragem em bovinos**. 2003.129 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

ORTOLANI, E.L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v.33, n.2, p.269-275, 1981

ORTOLANI, E.L. Influence of sodium content and the physical form of the mineral supllement on the mineral consumption and weight gain of grazing steers. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 711-716, 1999.

OWENS, F.N.;GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1988. p.145-171.

OWENS, F.N.;SHOCKEY,B.J.;FENT, R.W.;RUST, S. Monensin and abomasal protein passage of steers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.47 (Suppl 1), p. 114, 1978.

PAGE, S.W. Mode of action, In: PAGE, S.W. (Ed.),**The role of enteric antibiotics in livestock production.** Canberra: Avcare, 2003. p. 1-2; 2-14..

PALMIQUIST, D.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.54, n.7, p.1025, 1971.

PARIGI-BINI R Researches on virginiamycin supplementation of feeds used in intensive cattle management. PIANA, G ; PIVA, G(Ed.). In: PERFORMANCE IN ANIMAL PRODUCTION, 1979. Milano, Italy, **Proceedings…** Milano, Italy, 1979. p 237–250.

PFALLER, M.A. Flavophospholipol use in animals: positive Implications for antimicrobial resistance based on its microbiologic properties. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, New York, v.56, p.115–121, 2006.

PHILLIPS, I.; CASEWELL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R. WADDELL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data JAC Advance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Washington DC, v. 53, p. 28-52, 2003.

PIMENTEL GOMES, F. A estatística é como o biquíni **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n.108, p. 9; Dez 2004.

PINTO, L.F. de M. Dinâmica do acúmulo de matéria seca em pastagens de tifton-85 sob pastejo.**Scientia Agricola,** Piracicaba,v. 58,n. 3, p. 439-447, 2001.

PITMAN, W.D.; PATE, F.M. Lasalocid in a free-choice mineral mix for grazing steers.In: FLA-BEEF-CATTLE-RES-REP-FLA-AGRIC-EXP-STN. 1984. GAINESVILLE, FLA. **Proceedings**….: THE STATIONS. 1984. p. 74-76.

PORTAL DA UNIÃO EUROPÉIA. 2010. Disponível em: http://europa.eu/scadplus/glossary/precautionary_principle_pt.htm Acesso em 22 jun. 2010.

POTTER, E.L.;COOLEY, C.O.; RICHARDSON, L.F. Effect of monensin on performance of cattle fed forage. **Journal of Animal Science,** Savoy, v. 43, n. 3, p. 665-669, 1976.

POTTER, E.L.; MULLER, R.D.;WRAY, M.I.; CARROLL, L.H.; MEYER, R.M. Effect of Monensin on the Performance of Cattle on Pasture or Fed Harvested Forages in Confinement. **Journal of Animal Science**, Savoy , v.62, p. 583-592, 1986.

POTTER,E.L.; COOLEY,C.O.; RAUN, A.P.; RICHARDSON,L.F.; RAGHMACHER, R.P. Effect of monensin on daily gain of cattle on pasture. **Journal of Animal Science**, Savoy , v.38, p.1344, 1974.

PRESSMAN, B.C. Biological applications of ionophores. **Annual Review of Biochemistry**, California, v.45, p.501-503, 1976.

PRESTON, T.R.Tropical animal feeding: a manual for research workers. Rome: FAO, 1995. 305 p. (Animal Production and Health Paper 126.)

PROHMANN, P.E.F.; BRANCO, A.F.; CECATO, U.; CLÓVES, C.J.; GUIMARÃES, K.C.; FERREIRA, R.A. Suplementação de bovinos em pastagens de Coastcross (Cynodon dactylon (L.) Pers) no inverno. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.4, p.801-810, jul./ago. 2004.

RAUN, A.P.;COOLEY C.O.;POTTER,E.L.;RICHARDSON, L.F.;RATHMACHER, R.P. ;KENNEDY,R.W. Effect of monensin on feed efficiency of cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.39, p.250, 1974b.

RAUN, A.P;, COOLEY, CO, RATHMACHER RP, RICHARDSON LF AND POTTER EL Effect of different levels of monensin on feed efficiency, ruminal and carcass characteristics of cattle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.38, p.1344,1974a.

REID, R.S.; THORNTON, P.K.; MCCRABB, G.J.; KRUSKA, R.L.; ATIENO, F.; JONES, P.G. Is it possible to mitigate greenhouse gas emissions in pastoral ecosystems of the tropics? **Environment, Development and Sustainability,** Netherlands, v. 6, p. 91-109, 2004.

RODE, L.M.; LYSYK, T.J.;BEAUCHEMIN, K.A. Intake of lasalocid-containing mineral supplements by grazing beef heifers. **Canadian Journal of Animal Science,** Ottawa, v. 74: p. 77–82, 1994.

RUSOFF, L.L. Antibiotic feed supplement (Aureomycin) for dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.34, p.652-655, 1951.

RUSOFF, L.L.;DAVIS, A.V.;ALFORD, J.A. Growth-promoting Effect of Aureomycin on Young Calves Weaned from Milk at an Early Age. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 4, p.289-300, 1951.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. MINIREVIEW: Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied Environmental Microbiology**,Washington, v.55, p.1-6, 1989.

SARAN NETTO, A. ; ZANETTI, M.A. ; SALLES, M.S.V. ; MORGULIS, S.C.F. ; FAFTINE, O.L.J. Efeito da adição de salinomicina no sal proteinado sobre o desempenho de novilhas nelore em regime de pastejo em *Brachiaria decumbens*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2004; Campo Grande. **Anais...**Campo Grande, 2004, v. 41, p. 1-5.

SAS INSTITUTE. **SAS systems for Windows PC: Versão 9.1.3.** SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2004.

SCAN. **Opinion of the Scientific Committee for Animal Nutrition (SCAN) on the immediate and longer-term risk to the value of streptogramins in human medicine posed by the use of virginiamycin as an animal growth promoter**, 10 July 1998. Office for EC publications, Luxembourg. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scan/out14_en.html Acesso em:26 jun. 2010.

SHUMARD,R.F.;CALLENDER,M.E. Monensin a new biologically active compound. VI. Anticoccidial activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** , Washington DC, v.7, p. 369–377, 1968.

SILVA, S.C. Fundamentos para o manejo do pastejo de plantas forrageiras dos gêneros brachiaria e panicum. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO EM PASTAGEM, 2004, VIÇOSA.. **Anais...** VIÇOSA: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p.346-385.

SINKS, G.D.; QUIGLEY, J.D.; REINEMEYER, C.R. Effects of lasalocid on coccidial infection and growth in young dairy calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaunburg, v. 200, n. 12, p. 1947-1951, 1992.

SKRIVANOVÁA V.; MAROUNEK M.; KLEIN P. Effects of virginiamycin and salinomycin on performance, digestibility of nutrients and mortality of rabbits. **Animal Feed Science And Technology,** Netherlands, v. 77, n 1. p. 139-147, 1999.

SKRIVANOVÁA,V.;MAROUNEK,M. Effect of virginiamycin on feed intake, daily gains, ruminal volatile fatty acids and blood parameters in veal calves. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 44, n. 1, p. 41–46, 1993.

SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.120, p.632–638, 1990.

STEINFELD, H.; GERBER, P.;WASSENAAR, T.;CASTEL, V.;ROSALES, M; HAAN, C. DE.. **Livestock's long shadow:** environmental issues and options. Rome. Food and Agriculture Organization (FAO), 2006. 390 p.

STEWART, L.L.; KIM, B.G.; GRAMM, B.R.; NIMMO, R.D.; STEIN, H.H. Effect of virginiamycin on the apparent ileal digestibility of amino acids by growing pigs. **Journal of Animal Science,** Savoy, v. 88, n. 5, p. 1718-1724, 2010.

STOKSTAD, E.L.R. ;JUKES, T.H. Growth promoting effect of aureomycin on turkey poults. **Poultry Science**, Champaign, v. 29, p.611, 1950b.

STOKSTAD, E.L.R.; JUKES, T.H.; PIERCE, J.; PAGE JR., A.C. FRANKLIN. A.L. The multiple nature of the animal protein factor. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.180, p. 647-654, 1949.

STOKSTAD,E.L.R.;JUKES, T.H. Effect of various levels of vitamin B12 upon growth response produced by aureomycin in chicks. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v.76, n.1, Jan.,p.73-76, 1951.

STOKSTAD,E.L.R.;UKES,T.H.Further observations of the animal protein factor. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v.72, p.523, 1950a

SUHARYONO, J**. Estimation of dietary intake in sheep, using lithium as a marker.** 1992. 92 p. Dissertação (Mestrado em Animal Science) - Armidale:University of New England, 1992.

TAIT, R.M.; FISHER, L.J. Variability in individual animal´s intake of minerals offered free-choice to grazing ruminants. **Animal Feed Science and Technology,** Netherlands, v. 62, p. 69-76, 1996.

TEDESCHI, L.O.;FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, p.1591-1602, 2003

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; McALLAN, A.B.; FRANCE, J.A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology,** Amsterdam, v. 48, n. 3/4, p. 185-197, 1994.

VALDES, J.L.;MCDOWELL, L.R.; WILKINSON, N. Lasalocid for grazing steers administered in a free-choice mineral mix. **Nutrition Reports International**, California, v.38, p.1–8, 1988.

VAN SOEST, P.J. Collaborative study of acid detergent fiber and lignin. **Journal Of The Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v.56, p.781, 1973.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, R.S. A theoretically-base model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science And Technology,** Netherlands, v.39, p.95-119, 1992.

YATES, J.D; SCHAIBLE PJ Virginiamycin an antibiotic for poultry feeds. **Nature**, London, v. 194, p. 183–184, 1962.

ZIMMER, A.H. ; EUCLIDES, V.P.B ; EUCLIDES FILHO, K ; MACEDO, M.C.M . **Considerações sobre índices de produtividade da pecuária de corte em mato grosso do sul.** Campo Grande: EMBRAPA - Gado de Corte, 1998. 53 p. (Documentos,70).

APÊNDICES

APÊNDICE A

'Wonder Drug' Aureomycin Found to Spur Growth 50%

By WILLIAM L. LAURENCE
Special to THE NEW YORK TIMES

PHILADELPHIA, April 9—The golden-colored chemical aureomycin, life-saving drug of the group known as antibiotics, has been found to be one of the greatest growth-promoting substances so far to be discovered, producing effects beyond those obtainable with any known vitamin.

This discovery was announced here this evening by the American Chemical Society on the eve of the opening in this city tomorrow morning of its annual spring meeting.

The discovery of the new role for aureomycin, described in the announcement as "spectacular," is believed to "hold enormous long-range significance for the survival of the human race in a world of dwindling resources and expanding populations."

Five pounds of an unpurified product, selling at 30 to 40 cents a pound, when added to a whole ton of animal feed, the report states, "has increased the rate of growth of hogs by as much as 50 per cent." Similar results have been obtained in chickens and turkeys.

The report was submitted to the American Chemical Society by Dr. E. L. R. Stokstad and Dr. T. H. Jukes, pioneers in vitamin research, of the Lederle Laboratories Division, American Cyanamid Company, Pearl River, N. Y. In these laboratories aureomycin was isolated about four years ago by Dr. B. M. Duggar from a golden-colored soil mold.

Clinical investigations on human subjects, to check on the possibility that aureomycin's hitherto unsuspected nutritional powers may also aid the growth of malnourished and undersized children, in addition to extending the world's meat supply and decreasing its cost, are now under way, the report states.

Up to now aureomycin, like pen-

Continued on Page 17, Column 2

The New York Times
Published: April 10, 1950
Copyright © The New York Times

AUREOMYCIN FOUND GROWTH STIMULUS

Continued From Page 1

icillin, streptomycin and the other mold-derived "wonder drugs," has been regarded solely as a weapon for fighting infectious disease. It has been found particularly useful against such ills as virus pneumonia, whooping cough, Rocky Mountain spotted fever, parrot fever (psittacosis), eye infections, typhus, amoebic dysentery, undulant fever, and streptococcus and staphylococcus infections.

This discovery may turn out to have much greater significance, apart from its promise as a promoter of growth for children and as a new provider of meat products for a hungry world, important as these are. It promises to shed light on many dark unknown corners in the biological and medical sciences, and thus to open new vistas in our understanding of some of the basic mysteries in the processes of life, in health and in disease.

Growth Processes Unexplained

At present very little is known about the processes that promote growth, beyond the fact that some substances, such as the growth hormone from the master pituitary gland, and some of the vitamins of the B-complex group, are essential for it. Also, very little, if anything, is known of the mechanism whereby the antibiotics, such as penicillin, streptomycin and aureomycin, exert their power in destroying deadly bacteria, and why the molds produce them.

The observation that one of these potent germ-fighters (antibiotics), produced by molds, is also a powerful growth-stimulant suggests that other antibiotics likewise possess similar growth-promoting properties. Conversely, it suggests that the reverse may also be true, namely, that substances that promote growth, particularly the vitamins of the B-complex group, might also serve as powerful germ-fighters.

Moreover, the discovery that one and the same substance can effectively check the growth of bacteria while at the same time it acts as a powerful stimulant to normal growth in higher animals suggests the possibility that it may also have an antagonistic effect against abnormal growth. There is some evidence pointing in that direction.

Several years before the discovery of aureomycin it was observed by Dr. Ivor Cornman, now of the George Washington University Medical School, Washington, D. C., that a yellow substance, present in a crude batch of penicillin before it had been purified, had the power to check the growth of cancer cells cultured in test tubes.

Impurity Not Identified

The impurity in that batch of penicillin never was identifed, but the fact that it was absent from highly purified penicillin, and especially the fact that it was yellow in color, suggests the possibility that the yellow mold that produces aureomycin was the contaminating agent that was responsible for the mysterious impurity.

The discovery of the new role for aureomycin is the outgrowth of three different and independent lines of investigation. One of these was the search for germ-fighters produced by living organisms. The second was the attempt during the last quarter-century to isolate the mysterious life-saving factor in liver that kept pernicious anemia patients alive. The third was the hunt to identify a mysterious factor observed to be present in the litter in the hen house, without which chicks failed to grow and eggs did not hatch. This was known as the Animal Protein Factor, or APF.

In 1948 chemists of Merck & Co., Rahway, N. J., isolated the anti-pernicious anemia factor in liver and identified it as a vitamin of the B-complex group, which they named vitamin B^{12}. It was soon thereafter found to be produced by the molds producing streptomycin and aureomycin in the course of the fermentation process used to obtain these drugs.

At about the same time it was found that APF was produced by a bacterium in the hen-house litter also by a process of fermentation and that it consisted of several factors instead of only one. One of these factors was found to be none other than vitamin B^{12}.

Discovery Made by Chance

As was the case with many other discoveries, Drs. Stokstad and Jukes came upon the present one by chance, which, as Pasteur pointed out, always favors the prepared mind. They observed that fermentation derivatives from the preparation of aureomycin gave a growth response with chicks greater than the one obtained when only pure vitamin B^{12} was included in their feed. When pure aureomycin was added to the vitamin B^{12} even a greater growth response was observed. This precipitated a series of experiments from coast to coast that yielded the results summarized in the report made public here tonight.

The Animal Protein Factor has been found to raise the nutritional value of a purely vegetable diet up to par with a diet containing proteins from animal sources. Since it takes about eight pounds of vegetable food to produce one pound of beef, the discovery of the growth-promoting value of aureomycin may lead to greatly improved nutrition for the peoples of the world in two ways—by the direct increase of meat and poultry products and by making a purely vegetable diet the nutritional equal of a diet containing animal products.

However, the report states:

"The use of aureomycin as a feed supplement is not limited to vegetable protein rations. It produces an increase in growth when added to diets containing animal proteins as well as when added to all-vegetable protein diets. This promises to give more efficient utilization of feed and to decrease the cost of meat production."

In the experiments conducted so far, the report adds, "aureomycin has been found to produce a growth response that cannot be duplicated by any of the vitamins known at the present time, even when added in many times the normal requirement." No undesirable side effects have been observed, it is said.

The New York Times
Published: April 10, 1950
Copyright © The New York Times

ANEXOS

Antimicrobianos, anticoccidianos e agonistas autorizados (atualização 03/12/2008)

1- ANTIMICROBIANOS

Indicações de uso: Para uso exclusivo em rações para ..... (espécies animais conforme coluna "a" e fases de uso conforme coluna "b"), para o aumento da taxa de ganho de peso e melhoria da eficiência alimentar.

	Espécie animal e categoria animal (a)	Fase de uso (b)	Teor em ppm (g/ton de ração) (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
AVILAMICINA	Frangos de corte		2,5 a 10		Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Cuidados: ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Frangas de reposição	Cria ou Recria	2,5 a 10		
	Perus de corte		5 a 10		
	Suínos	Crescimento	10 a 40		
		Terminação	10 a 20		
BACITRACINA METILENO DISALICILATO	Frangos de corte		4 a 55		Restrições de uso: Não administrar a suínos com peso acima de 113 kg. Cuidados: Bacitracina pode causar alergia em indivíduos sensíveis. Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras contra pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Galinhas poedeiras	7 primeiros meses de produção	11 a 28		
	Perus de corte		4 a 55		
	Suínos	Crescimento ou Terminação	11 a 33		
BACITRACINA DE ZINCO	Frangos de corte		4 a 55		Cuidados: Bacitracina pode causar alergia em indivíduos sensíveis. Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras contra pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Galinhas poedeiras		11 a 28		
	Perus de corte		4 a 55		
	Codornas de corte		5 a 22		
	Suínos	Crescimento ou Terminação	11 a 55		
	Bovinos em confinamento	Crescimento	35 a 70 mg/cabeça/dia		
COLISTINA (SULFATO DE)	Frangos de corte	Inicial	2 a 10	3 dias antes do abate	
		Crescimento	2 a 5		
		Terminação	2 a 5		
	Galinhas poedeiras		4 a 10		
	Suínos	Pré-inicial ou Inicial	20 a 40	3 dias antes do abate	
		Crescimento	5 a 10		
		Terminação	2 a 5		
	Bovinos	Inicial ou Crescimento	5 a 40 ppm	3 dias antes do abate	

ANEXO A

	Espécie animal e categoria animal (a)	Fase de uso (b)	Teor em ppm (g/ton de ração) (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
CLOREXIDINA (CLORIDRATO DE)	Frangos de corte	Inicial	20		
		Crescimento	15		
		Terminação	10		
	Galinhas reprodutoras (matrizes) ou poedeiras		10 a 15		
	Suínos	Pré-inicial ou Inicial	20 a 40		
		Recria	20 a 30		
		Terminação	20		
ENRAMICINA	Frangos de corte	Pré-inicial, Inicial ou Crescimento	5 a 10		
		Final	3 a 5		
	Galinhas poedeiras	Cria	5 a 10		
		Recria	5		
		Postura	5 a 10		
	Suínos	até 60 dias	5 a 10		
		de 60 dias ao abate	3 a 5		
ERITROMICINA	Suínos	Inicial	10 a 70		
		Crescimento ou Terminação	10		
ESPIRAMICINA	Frangos de corte		5		
	Suínos	até desmama	30		
		desmama até engorda	5		
	Bezerros	do 7° dia até desmama	30		
FLAVOMICINA (FLAVOFOSFOLIPOL ou BAMBERMICINA)	Frangos de corte		1 a 2		Restrições de uso: não administrar a patos, gansos e pombos, bovinos reprodutores ou ruminantes que estejam na fase adulta e de engorda. Cuidados: Ao manipular o produto usar equipamentos de proteção individual (máscara, luvas de borracha e óculos de proteção. Os operadores devem se lavar com água e sabão após o manuseio do produto.
	Perus de corte		1 a 2		
	Suínos	Crescimento ou Terminação	2 a 4		
	Coelho		2 a 4		
	Bovinos (novilhos)	Confinamento ou Pasto	10 a 20 mg/cabeça/dia		
HALQUINOL (CLOROHIDROXIQUINOLINA)	Frangos de corte		15 a 30		
	Galinhas reprodutoras (matrizes) ou poedeiras	Cria	30 a 60		
		Recria	30		
		Postura	30 a 60		
	Suínos	Pré-inicial ou Inicial	120		
		Crescimento	120		
		Terminação	60		

	Espécie animal e categoria animal (a)	Fase de uso (b)	Teor em ppm (g/ton de ração) (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
LASALOCIDA	Bovino	Inicial	60 a 120 mg/cabeça/dia		Restrições de uso: Não permitir que cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo lasalocida. A ingestão pode ser fatal. Este produto contém ionóforo a sua utilização simultanea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A Lasalocida é incompatível com a Tiamulina. Cuidados: Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti-pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
		Crescimento	90 a 225 mg/cabeça/dia		
		Terminação (Confinamento ou Pasto)	195 a 360 mg/cabeça/dia		
	Vacas	Lactação	195 a 360 mg/cabeça/dia		
LINCOMICINA	Frangos de corte		2,2 a 4,4		Restrições de uso: Não administrar a suínos com peso maior que 113,4 kg. Não administrar a coelhos, cobaias, eqüinos ou ruminantes. A ingestão de Lincomicina por estas espécies animais pode causar graves distúrbios gastrintestinais.
	Suínos	Crescimento ou Terminação	22		Ocasionalmente, os suínos alimentados com ração contendo Lincomicina podem apresentar diarréia e/ou edema do ânus nos primeiros 2 dias de administração. Em raras ocasiões, alguns animais podem apresentar vermelhidão na pele e comportamento irritadiço. Estas alterações podem ser autocorrigidas dentro de 5 a 8 dias, sem necessidade de interrupção da administração.
MONENSINA SÓDICA	Bovinos	Crescimento, Reposição ou Reprodutores	130 a 360 mg/cabeça/dia		Restrições de uso: Não permitir que cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo monensina. A ingestão pode ser fatal. Este produto contém ionóforo a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A Monensina é incompatível com a Tiamulina. Cuidados: Evitar contato direto do produto com a pele e mucosas, pode irritar os olhos e o sistema respiratório. Ao manipular o produto usar equipamentos de proteção individual (máscara anti-pó, luvas de borracha e óculos de proteção). Os operadores devem se lavar com água e sabão após o manuseio. Se acontecer contato acidental com os olhos e a pele lavar com água abundantemente. Em caso de ingestão acidental, procurar o médico imediatamente, levando consigo a embalagem do produto. Não há antídoto específico. O tratamento é sintomático.
		Confinamento	100 a 300 mg/cabeça dia		
	Vacas	Lactação	150 a 450 mg/ cabeça/dia		
	Ovinos		15 a 30 mg/ cabeça/dia		

	Espécie animal e categoria animal (a)	Fase de uso (b)	Teor em ppm (g/ton de ração) (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
SALINOMICINA SÓDICA	Suínos	Inicial ou Crescimento (até 4 meses)	30 a 60		Restrições de uso: Não permitir que cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo salinomicina. A ingestão pode ser fatal. Evitar que os suínos tenham acesso as rações com Salinomicina pelo menos sete dias antes e após terem recebido rações com tiamulina . Este produto contém ionóforo a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A Salinomicina é incompatível com a tiamulina.
		Terminação ou Engorda	15 a 30		
	Bovinos de corte	Confinamento ou Semiconfinamento	100 a 120 mg/cabeça/dia		Cuidados: Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
TIAMULINA (FUMARATO HIDROGÊNIO DE)	Suínos	Todas	11	2 dias antes do abate	EXCLUSIVO PARA SUÍNOS. Restrições de uso: Não administrar em suínos acima de 113kg, reprodutores, fêmeas prenhes e leitões em fase de amamentação. Não usar outros produtos que contenham Tiamulina, para não exceder os níveis indicados de administração. Como reações adversas podem ocorrer, evitar o acesso de suínos a outras rações contendo ionóforos polieter (Ex.: monensina, lasalocida, narasina, salinomicina e semduramicina). Descontinuar o uso se ocorrerem sinais de toxicidade.
					Cuidados: A tiamulina irrita as membranas mucosass e apresenta um potencial de sensibilização para os olhos e pele. Qualquer contato com os olhos e com a pele deve ser evitado. Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão. Conservação: Não armazenar por mais de 7 dias, em temperaturas quentes, 40 ºC.
TILOSINA (FOSFATO OU TARTARATO DE)	Frangos de corte		4 a 55		Restrições de uso: Não usar em rações, concentrados ou suplementos contendo mais de 2% de bentonita. Cuidados: Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Galinhas reprodutoras (matrizes) ou poedeiras		22 a 55		
	Suínos	Pré-inicial ou Inicial	22 a 110		
		Crescimento	22 a 44		
		Terminação	11 a 22		

	Espécie animal e categoria animal (a)	Fase de uso (b)	Teor em ppm (g/ton de ração) (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
VIRGINAMICINA	Frangos de corte		5,5 a 16,5		Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Cuidados: Pode causar irritações para os olhos e a para pele ou reações alérgicas devido ao contato com o produto. Pode causar irritação no sistema respiratório. Ao manipular o produto, usar equipamentos de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscara anti pó). Os operadores devem tomar banho após a jornada de trabalho. Se acontecer contato acidental com os olhos e a pele, lavar com água abundante. Em caso de ingestão acidental não induzir ao vômito e consultar o médico. Não há antídoto específico.
	Perus de corte		11 a 22		
	Suínos	Inicial	11		
		Crescimento ou Terminação	5,5		
	Bovinos		100 a 340 mg/cabeça/dia		

Observação: as indicações para ruminantes são em mg/cabeça/dia e não em g/ton de ração.

2 - ANTICOCCIDIANOS

Indicações de uso: Para uso exclusivo em rações para ... (conforme coluna "c").

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
AMPRÓLIO + ETOPABATO[1]	Frangos de corte ou frangas de reposição	250 do aditivo pronto p/ uso (correspondendo a 125 a 250 / 4)	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte e frangas de reposição causada por *Eimeria acervulina, E. brunetti, E. necatrix, E. maxima, E. tenella* e *E. mivati* e em perus causada por *Eimeria adenoeides, E. meleagrimitis* e *E. gallopavonis*	5 dias antes do abate	Restrições de uso : Não administrar a galinhas poedeiras. Usar como única fonte de amprólio. Não usar em rações, concentrados ou suplementos contendo bentonita.
CLOPIDOL	Frangos de corte , frangas de reposição	125 a 250	Auxiliar na prevenção da coccidiose em em frangos de corte e galinhas poedeiras causada por *Eimeria acervulina, E. brunetti, E. necatrix, E. maxima, E. tenella* e *E. mivati* e em perus de corte causada por *Leucocytozoon smithi*	5 dias antes do abate	
	Perus de corte	125 a 250			
CLOPIDOL + METILBENZOQUATO[1]	Frangos de corte	500 do aditivo pronto p/ uso (correspondendo a 100 a 125 / 8 a 10)	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte causada por *Eimeria acervulina, E. brunetti, E. necatrix, E. maxima, E. tenella* e *E. mivati*	5 dias antes do abate	
DECOQUINATO	Frangos de corte	20 a 40	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte causada por *Eimeria acervulina, E. mivati, E. brunetti, E. necatrix, E. maxima, E. tenella*	3 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Não usar em rações, concentrados ou suplementos contendo bentonita
	Bezerros de corte e bezerras leiteiras	até 0,5 mg/kg de peso corporal/dia	Auxiliar na prevenção da coccidiose em bezerros causada por *Eimera bovis* e *E. zuernii*		Restrições de uso: Não administrar a bovinos que produzem leite para consumo humano. Fornecer por no mínimo 28 dias em períodos de exposição à coccidiose. Não usar em rações, concentrados ou suplementos contendo bentonita

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
DECOQUINATO (continuação)	Ovinos e Caprinos	até 0,5 mg/kg de peso corporal/dia	Auxiliar na prevenção da coccidiose em ovinos causada por *Eimeria ovinoidales, E. crandallis, E. parva* e *.E. bakuensis* e em caprinos causada por *Eimeria arloingi, E christensi* e *E.ninakohlyakimove.*		Restrições: Não administrar a caprinos e ovinos que produzem leite para consumo humano. Fornecer por no mínimo 28 dias em períodos de exposição à coccidiose. Não usar em rações, concentrados ou suplementos contendo bentonita
DICLAZURIL	Frangos de corte	1	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte causada por *Eimeria acervulina, E. tenella, E. brunetti, E. necatrix, E. mivati* e *.E. maxima,* em perus causada por *Eimeria adenoeides, E. meleagrimitis* e *E. gallopavonis* e em coelhos causada por *Eimeria intestinalis* e *E. flavescens*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. O uso prolongado de diclazurila pode levar a resistência dos coccídeos
	Perus de corte	1			Uso da primeira à décima segunda semana de vida; não administrar a perus reprodutores
	Coelhos	1			
HALOFUGINONA	Frangos de corte ou frangas de reposição	3	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte e de reposição causada por *Eimeria acervulina, E. tenella, E. brunetti, E. necatrix, E. mivati* e *.E. maxima* e em perus causada por *Eimeria adenoeides, E. meleagrimitis* e *E. gallopavonis.*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras e frangos acima de 16 semanas de idade. Cuidados: Produto irritante evitar contato direto do produto com os olhos e a pele. Ao manipular o produto usar equipamento de proteção individual (máscara anti-pó, óculos de proteção e luvas de borracha). Os operadores devem se lavar após o manuseio. Em caso de contato acidental com os olhos e a pele lavar com água abundantemente. Se acontecer ingestão acidental, procurar o médico imediatamente, levando embalagem do produto.
	Perus de corte	3		7 dias antes do abate	
LASALOCIDA	Frangos de corte	75 a 125	Auxiliar na prevenção da coccidiose em em frangos de corte causada por *Eimeria acervulina, E. tenella, E. brunetti, E. necatrix, E. mivati* e *.E. maxima* e em perus de corte causada por *Eimeria adenoeides, E. meleagrimitis* e *E. gallopavonis.*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a vitelos, hamsters, cobaias, cavalos ou outros eqüideos. Este produto contém ionóforos a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada, especialmente as sulfas. A lasalocida é incompatível com a tiamulina. Cuidados: Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Perus de corte	75 a 125			
	Bovinos	1 mg/kg de peso corporal/dia (com máx. 360 mg/cabeça/dia)	O controle da coccidiose em bovinos causada por *Eimera bovis* e *E. zuernii*		

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
LASALOCIDA (continuação)	Ovinos	22 a 33 (entre 15 a 70 mg/cabeça/dia)	Auxiliar na prevenção da coccidiose em ovinos causada por *Eimeria ovina, E. ovinoidales, E. crandallis, E. parva e E. intrincata*		Restrições de uso: Não administrar a vitelos, hamsters, cobaias, cavalos ou outros eqüideos. Este produto contém ionóforos a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada, especialmente a sulfadimetoxina. A lasalocida é incompatível com a tiamulina. Cuidados: Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Coelhos	125	Auxiliar na prevenção da coccidiose em coelhos causada por *Eimeria intestinalis e E. flavescens*		
MADURAMICINA AMÔNIO	Frangos de corte	5 a 6	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte causada por *Eimera acervulina, E. tenella, E. brunetti, E. máxima, E. necatrix e E. mivatii.*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Uso exclusivo para frangos de corte. Não administrar a galinhas poedeiras e às aves que tenham recebido tiamulina, por pelo menos 7 dias antes e 7 dias depois do tratamento. Não permitir que coelhos, cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo maduramicina. A ingestão pode ser fatal. Na ausência de coccidioses, 6 ppm de Maduramicina causa significativos efeitos adversos sobre o ganho de peso diário e a conversão alimentar. Em concentrações acima de 20% é altamente tóxico. Cuidados: Usar equipamento de proteção individual durante o manuseio do produto. Ao manusear o produto, evitar contato e inalação. Lavar bem as mãos após o manuseio. Em caso de inalação ou ingestão, remover a pessoa para um local fresco e procurar cuidados médicos imediatamente. Em caso de contato com os olhos lavar com água em abundância. Procurar imediatamente um oftalmologista. Em caso de contato com a pele, remover a roupa contaminada e lavá-la antes de reutilizar. Lavar a área da pele exposta com água e

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
MADURAMICINA + NICARBAZINA [1]	Frangos de corte	500 do aditivo pronto p/ uso (correspondendo a 3,75 / 40 a 50)	A prevenção da coccidiose causada por por *Eimeria tenella, E. necatrix, E. acervulina, E. maxima, E. brunetti e E. mivati.*	10 dias antes do abate	Restrições de uso: Uso exclusivo para frangos de corte. Não administrar a galinhas poedeiras e às aves que tenham recebido tiamulina, por pelo menos 7 dias antes e 7 dias depois do tratamento.Não permitir que coelhos, cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo maduramicina. A ingestão pode ser fatal. Na ausência de coccidioses, 6 ppm de Maduramicina causa significativos efeitos adversos sobre o ganho de peso diário e a conversão alimentar. Em concentrações acima de 20% é altamente tóxico. Cuidados: Usar equipamento de proteção individual durante o manuseio do produto. Ao manusear o produto, evitar contato e inalação. Lavar bem as mãos após o manuseio. Em caso de inalação ou ingestão, remover a pessoa para um local fresco e procurar cuidados médicos imediatamente. Em caso de contato com os olhos lavar com água em abundância. Procurar imediatamente um oftalmologista. Em caso de contato com a pele, remover a roupa contaminada e lavá-la antes de reutilizar. Lavar a área da pele exposta com água e sabão. Se ocorrerem erupções na pele, procurar cuidados médicos.
MONENSINA SÓDICA	Frangos de corte, frangas de reposição	100 a 120	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte e frangas de reposição, causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti, E. máxima, E. necatrix e E. mivati.*	3 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras e frangos acima de 16 semanas de idade. Não permitir que cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo monensina. A ingestão pode ser fatal. Este produto contém ionóforos a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A monensina é incompatível com a tiamulina. Cuidados: Evitar contato direto do produto com a pele e mucosas, pode irritar os olhos e o sistema respiratório. Ao manipular o produto usar equipamentos de proteção individual (máscara anti-pó, luvas de borracha e óculos de proteção). Os operadores devem se lavar com água e sabão após o manuseio. Se acontecer contato acidental com os olhos e a pele lavar com água abundantemente. Em caso de ingestão acidental, procurar o médico imediatamente, levando consigo a embalagem do produto. Não há antídoto específico. O tratamento é sintomático.
	Perus de corte	60 a 100	Auxiliar na prevenção da coccidiose em perus de corte causada por *Eimeria meleagrimitis, E. adenoeides e E. gallopavonis.*		
	Bovinos	180 a 360 mg/cabeça/dia	A prevenção e o controle da coccidiose em bovinos, causada por *Eimera bovis e E. zuernii.*		

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
MONENSINA + ÁC. 3-NITRO[1]	Frangos de corte	500 do aditivo pronto p/ uso (correspondendo a 100 a 120 / 50)	A prevenção de coccidiose em frnagos de corte, causada por por *Eimeria tenella, E. necatrix, E. acervulina, E. maxima, E. brunetti e E. mivati.*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras e frangos acima de 16 semanas de idade. Não permitir que cavalos ou outros eqüideos tenham acesso a rações contendo monensina. A ingestão pode ser fatal. Este produto contém ionóforos a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A monensina é incompatível com a tiamulina. Cuidados: Evitar contato direto do produto com a pele e mucosas, pode irritar os olhos e o sistema respiratório. Ao manipular o produto usar equipamentos de proteção individual (máscara anti-pó, luvas de borracha e óculos de proteção). Os operadores devem se lavar com água e sabão após o manuseio. Se acontecer contato acidental com os olhos e a pele lavar com água abundantemente. Em caso de ingestão acidental, procurar o médico imediatamente, levando consigo a embalagem do produto. Não há antídoto específico. O tratamento é sintomático.
NARASINA	Frangos de corte	60 a 80	Auxiliar na prevenção da coccidiose causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti, E. máxima, E. necatrix e E. mivati*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Este produto contém ionóforos e a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. Não permitir que cavalos ou outros eqüideos ou perus adultos tenham acesso a rações contendo Narasina. A ingestão pode ser fatal.
NICARBAZINA	Frangos de corte	125	A prevenção da coccidiose em frangos de corte, causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti, E. máxima, E. necatrix e E. mivati*	10 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Frangos de corte submetidos a nicarbazina podem apresentar baixa tolerância ao calor e umidade. Cuidados: Ao misturar e manipular a nicarbazina, use roupas protetoras, luvas impermeáveis e máscara anti-pó. Após a manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão. Se ocorrer contato acidental com os olhos, lavá-los imediatamente e completamente com água.
NARASINA + NICARBAZINA[1]	Frangos de corte	80 a 100 do aditivo pronto p/ uso	A prevenção da coccidiose frangos de corte, causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti, E. máxima, E. necatrix e E. mivati*	10 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Frangos de corte submetidos a nicarbazina podem apresentar baixa tolerância ao calor. Não permitir que cavalos ou outros eqüideos ou perus adultos tenham acesso a rações contendo narasina. A ingestão pode ser fatal. Cuidados: Ao misturar e manipular a nicarbazina, use roupas protetoras, luvas impermeáveis e máscara contra pó. Após a manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão. Se ocorrer contato acidental com os olhos, lavá-los imediatamente e completamente com água.

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
ROBENIDINA (CLORIDRATO DE)	Frangos de corte e frangas de reposição	33	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte, causada por *Eimeria acervulina, E. mivati, E. brunetti, E. necatrix, E. maxima, E. tenella*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Não utilizar em rações com bentonita. O prazo de validade de rações contendo Robenidina é de 50 dias. Cuidados: Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão.
	Coelhos	50 a 66	Auxiliar na prevenção da coccidiose em coelhos causada por *Eimeria intestinalis e E. flavescens*	5 dias antes do abate	
SALINOMICINA SÓDICA	Frangos de corte e frangas de reposição	44 a 66	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte e frangas de reposição causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti E.máxima ,E. necatrix e E. mivati*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras e frangos acima de 16 semanas de idade. Não permitir o acesso a perus adultos e eqüinos a rações contendo salinomicina; a ingestão pode ser fatal. Este produto contém ionóforo sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A salinomicina é incompatível com a tiamulina. Não aprovado para ser utilizado como "binders" para pellets. Cuidados: Pode causar irritação aos olhos e ao sistema respiratório. Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão. Evitar contato direto do produto com a pele e mucosas Se acontecer contato acidental com os olhos e a pele , lavar com água abundante;retirar a roupa contaminada e lavá-las antes de reusá-la. Se ingerido induzir o paciente ao vômito por si só somente se o mesmo estiver em completa consciência e procurar um médico imediatamente.
	Codorna	55	Auxiliar na prevenção da coccidiose em codornas causada por *Eimera dispersa e E. lettyae*	5 dias antes do abate	

	Espécie animal e categoria animal (a)	Teor em ppm (g/ton de ração) (b)	Indicações (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
SALINOMICINA + ÁC. 3-NITRO[1]	Frangos de corte e frangas de reposição	500 do aditivo pronto p/ uso (correspondendo a 44 a 66 / 25 a 50)	A prevenção de coccidiose causada por por *Eimeria tenella, E. necatrix, E. acervulina, E. maxima, E. brunetti e E. mivati.*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras e frangos acima de 16 semanas de idade. Não permitir o acesso a perus adultos e eqüinos a rações contendo salinomicina; a ingestão pode ser fatal. Este produto contém ionóforo a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. A salinomicina é incompatível com a tiamulina. Não aprovado para ser utilizado como "binders" para pellets. Cuidados: Pode causar irritação aos olhos e ao sistema repiratório. Ao manipular o produto, usar equipamento de proteção individual (roupas protetoras, óculos, luvas impermeáveis e máscaras anti pó). Após manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão. Evitar contato direto do produto com a pele e mucosas. Se acontecer contato acidental com os olhos e a pele, lavar com água abundante;retirar a roupa contaminada e lavá-las antes de reusá-la. Se ingerido induzir o paciente ao vômito por si só somente se o mesmo estiver em completa consciência e procurar um médico imediatamente.
SEMDURAMICINA	Frangos de corte	25	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti E.máxima , E. necatrix e E. mivati*	5 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Contra-indicação: Este produto contém ionóforo, a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada.
SEMDURAMICINA + NICARBAZINA[1]	Frangos de corte	500 - 600 do aditivo pronto p/ uso (correspondendo a 15 a 18 / 40 a 48)	Auxiliar na prevenção da coccidiose em frangos de corte causada por *Eimera acervulina, E.tenella, E. brunetti E.máxima , E. necatrix e E. mivati*	10 dias antes do abate	Restrições de uso: Não administrar a galinhas poedeiras. Este produto contem ionóforo a sua utilização simultânea com certas substâncias medicamentosas pode ser contra-indicada. Frangos de corte submetidos a nicarbazina podem mostrar baixa tolerância ao calor e umidade. Cuidados: ao misturar e manipular o produto, use roupas protetoras, luvas impermeáveis e máscara anti-pó. Após a manipulação do produto, os operadores devem lavar-se totalmente com água e sabão. Se ocorrer contato acidental com os olhos, lavá-los imediatamente e completamente com água.

(1): Autorização permitida apenas para os anticoccidianos (produtos acabados/formulados) registrados na Coordenação de Produtos Veterinários - CPV/DFIP cujas licenças/renovação de licenças encontram-se vigentes. Novos Registros de aditivos anticoccidianos independemente da sua composição (associações ou não) deverão ser requeridos à Coordenação de Produtos para Alimentação Animal - CPAA /DFIP em cumprimento ao que determina a legislação vigente, especialmente a Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004 e o Decreto 6296 de 11 de dezembro de 2007.

O teor em ppm no caso das associações se refere ao aditivo pronto para uso nas rações e não às substâncias isoladas.

Observação: as indicações para ruminantes são em mg/cabeça/dia e não em g/ton de ração.

3 - AGONISTAS

Indicações de uso: Para uso exclusivo em de rações para suínos em fase de terminação, como repartidor de energia.

	Espécie animal (a)	Fase de uso (b)	Teor em ppm (g/ton de ração) (c)	Período de retirada (d)	Restrições de uso (Contra-indicações/ Precauções/Incompatibildade/Efeitos colaterais) e Cuidados (e)
RACTOPAMINA (CLORIDRATO DE)	Suínos	Terminação	5 a 20		Restrições de uso: Não utilizar nas fases de cria e recria. Cuidados: Pode irritar os olhos e o sistema respiratório. Ao manipular o produto, usar equipamentos de proteção individual (máscara anti-pó, luvas de borracha e óculos de proteção).

ANEXO B

Em Equilíbrio com a Natureza

John Carrew

No princípio, havia a Terra, bonita e selvagem.
E então, veio o homem para habitá-la.
No princípio, ele vivia em cavernas como os outros animais,
alimentando-se das criaturas e plantas ao seu redor.
A isso se deu o nome de "Em equilíbrio com a Natureza."

E então, rapidamente, o homem se multiplicou.
Ele progrediu, sempre fadigado pela incessante e exaustiva busca por alimento.
Construiu casas e cidades. Plantas e animais selvagens foram domesticados.
Alguns homens se tornaram Fazendeiros para que outros se tornassem Industriais, Artistas ou Doutores.
A isso se deu o nome de Sociedade.

O Homem e a Sociedade progrediram.
Com sua inventividade divina, o homem aprendeu a se alimentar, se vestir, se proteger e se transportar com mais eficiência para que pudesse desfrutar a Vida.
Ele fez carros, casas – uma em cima da outra –, e nylon.
E a vida se tornou mais agradável.

Os homens chamados Fazendeiros tornaram-se eficientes.
Um único Fazendeiro produzia alimento para 143 Industriais, Artistas e Doutores,
assim como para Escritores, Engenheiros e Professores.
Para proteger seus grãos e seus animais,
o Fazendeiro produziu substâncias para repelir ou destruir Insetos, Doenças e Pragas.
A isso se deu o nome de Pesticidas.

Os Médicos desenvolveram substâncias similares para proteger os humanos.
A isso se deu o nome de Remédios. A Era da Ciência chegou, trazendo consigo dietas melhores e vidas mais longas e mais felizes para a maioria dos membros da Sociedade.

Em pouco tempo, aconteceu que alguns bem alimentados membros da Sociedade
desaprovaram o uso da Ciência pelo Fazendeiro.
Eles se pronunciaram severamente contra as técnicas que o Fazendeiro usava para alimentar, proteger e preservar plantas e animais.
Eles deploraram que o Fazendeiro estivesse rompendo o "Equilíbrio da Natureza".
Eles lembraram com nostalgia da vida simples à qual alguns se referiam como "Bons Tempos de Outrora".
Isso teve um apelo emocional muito grande para o resto da Sociedade.

Nesta época, Fazendeiros tinham se tornado tão eficientes
que a sociedade havia lhes dado um novo título: "Minoria Sem Importância".
Com a Sociedade bem alimentada, jamais se imaginava que pudesse haver escassez de alimentos.
Foram então aprovadas leis para abolir Pesticidas, Fertilizantes e Conservantes de Alimentos.
Então, Insetos, Doenças e Pragas floresceram.

Grãos e Animais morreram.
O alimento tornou-se escasso.

Para sobreviver, Industriais, Artistas e Doutores tiveram de cultivar seu próprio alimento.
Mas eles eram terrivelmente ineficientes.
Parques, campos de golfe e florestas tiveram que se transformar para que se plantasse comida.
Logo as pessoas e os governos começaram a guerrear para conseguirem terra agricultável.
Milhões de pessoas foram exterminadas.
Aqueles que sobreviveram sofreram com fome e com pragas.

No fim, poucos sobreviveram.
Eles viviam em cavernas como os outros animais,
alimentando-se das criaturas e plantas ao seu redor.
A isso se deu o nome de “Em equilíbrio com a Natureza.”

Tradução livre de Edilza Maria Cazerta Goulart