

## EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE *bacillus licheniformis* e *bacillus subtilis* NOS NIVEIS DE CCS DO LEITE DE VACAS LEITEIRAS DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO

BRUNA EMANUELE DA SILVA VELASQUEZ<sup>1</sup>; MURILO SCALCON NICOLA<sup>1</sup>;  
LIZANDRO LOPES<sup>1</sup>; STEFANE GABRIELA BORK SOARES<sup>1</sup>;  
VIVIANE RABASSA<sup>1</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC HUB) - @nupeec.hub  
Faculdade de Veterinária – Universidade Federal de Pelotas – UFPEL  
Campus Universitário – 960010900 – Pelotas/RS - Brasil

<sup>2</sup>velasquezbruna95@gmail.com

<sup>3</sup>marcio.nunescorrea@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As vacas leiteiras, durante o período de transição, inevitavelmente enfrentam um processo inflamatório não patológico, desencadeado pelo parto, alterações na dieta e involução uterina. Este processo inflamatório também pode ser agravado em animais que adquirem alguma infecção neste período, como retenção de placenta, metrite e mastite (Trevisi & Minuti, 2018).

Esse processo inflamatório, dependendo da intensidade, pode aumentar a ocorrência de mastite subclínica, caracterizada por um aumento na contagem de células somáticas (CCS), sem apresentar sinais clínicos de mastite (Sharma & Jeong, 2013). Uma estratégia para reduzir a intensidade do processo inflamatório é a suplementação com probióticos na dieta, com o objetivo de beneficiar a microbiota gastrointestinal e inibir microrganismos indesejáveis (Chaucheyras-Durand & Durand, 2010).

Os *Bacillus* são utilizados como probióticos e apresentam a característica de formar esporos, fato que os torna mais resistentes ao armazenamento e ao tráfego gastrointestinal, sendo capazes de resistir em diferentes faixas de pH, podendo colonizar o gastro intestinal dos animais (Nithya & Halami, 2013). Eles possuem a capacidade de inibir o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, por competição, e de forma direta, através de secreções de metabólitos antimicrobianos com diferentes ações nas células de bactérias e fungos patogênicos (Tran et al., 2022). Além disso, podem estimular o sistema imunológico, através de respostas imunes desencadeadas pelo receptor Toll-like 3 em células epiteliais intestinais bovinas, que estimulam a resposta imune inata nos animais (Villena et al., 2018).

Esse estímulo ao sistema imune pode tornar os animais mais resistentes a infecções, como a mastite, reduzindo assim a CCS média das vacas durante o período de transição. Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a suplementação de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* (Bovacillus™) na dieta de vacas leiteiras durante o período de transição e seu efeito na contagem de células somáticas no leite.

### 2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado em uma fazenda comercial no sul do Grande do Sul, Brasil, onde a criação é em sistema de confinamento, em galpão *compost-barn*. Todos os procedimentos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPEL, sob o número “CEUA 016526/2023-64”.

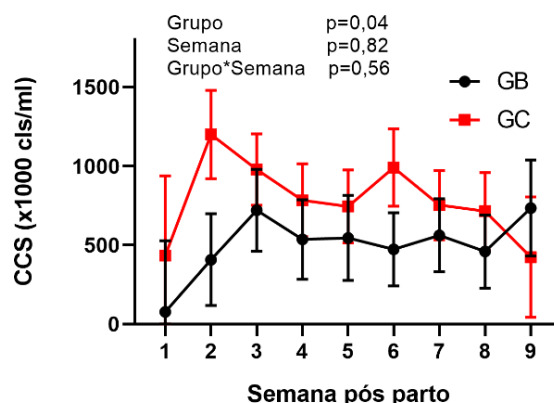
Para o estudo, foram utilizadas 60 vacas leiteiras multíparas da raça holandesa, divididas em dois grupos, ambos com 30 animais: Grupo Controle (GC, sem adição de aditivo, n=30); Grupo Bacilos (GB, 3g de Bovacillus<sup>TM</sup>/animal/dia na TMR, o que corresponde a  $9,6 \times 10^9$  UFC de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*, n=30). Os animais foram suplementados e acompanhados desde 30 dias antes do parto até 60 dias após o parto, pareados pela produção na lactação anterior (GC=  $9485,4 \pm 3090,1$  L; GB=  $9491,8 \pm 3657,4$  L), número de lactações (GC=  $1,47 \pm 0,86$ ; GB=  $1,47 \pm 0,82$ ). Os animais foram ordenhados três vezes ao dia (6:00h, 14:00h e 22:00h). A alimentação era composta por concentrado e volumoso nas proporções de 61,6% de volumoso e 38,4% de concentrado no pré-parto, e 56% de volumoso e 44% de concentrado no pós-parto, sendo fornecida duas vezes ao dia, às 9h e às 15h, com sobras estimadas de aproximadamente 5% de MS, e livre acesso à água.

Uma vez por semana, foram realizadas coletas de leite das três ordenhas do dia, que foram enviadas imediatamente para análise laboratorial de Contagem de Células Somáticas. Os resultados foram analisados no programa JMP Pro 14 (SAS Institute Inc., 2018), pelo método de medidas repetidas, usando o procedimento PROC MIXED, considerando tratamento, tempo e interação como efeitos fixos, e efeitos de vaca como efeitos aleatórios. Também foi realizada uma análise da porcentagem de vacas com CCS > 200.000 células por mililitro de leite, valor esse considerado como ponte de corte para diagnóstico de mastite subclínica. Para isso, os resultados foram transformados em variáveis categóricas, sendo "ruim" para vacas com CCS superior a 200.000 células/ml e "bom" para vacas com CCS inferior a 200.000 células/ml, sendo posteriormente avaliados pelo CHI-SQUARE TEST. A significância estatística foi declarada em  $P < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

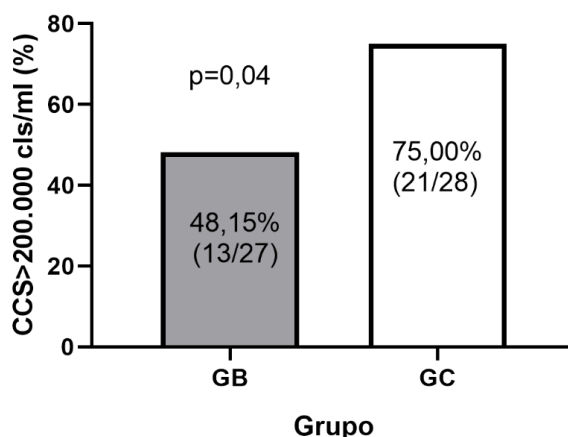
A CCS é um importante indicador de inflamação na glândula mamária, sendo sua elevação decorrente da descamação do tecido epitelial e pelo acúmulo de células de defesa que ocorre em processos inflamatórios (Zigo et al., 2021). A elevação da CCS é muito pronunciada em casos de mastite clínica, porém sua elevação também ocorre em casos de mastite subclínica, sendo esta uma das ferramentas mais eficazes para o diagnóstico de casos subclínicos (Sharma & Jeong, 2013).

Na Figura 1, é apresentado o comportamento da CCS de cada grupo no decorrer das nove primeiras semanas pós-parto, onde, considerando a média de todo o período, as vacas do grupo Bacilos apresentaram uma média de CCS inferior ( $528,98 \times 10^3 \pm 87,9 \times 10^3$  células/ml) quando comparadas ao grupo controle ( $819,10 \times 10^3 \pm 85,7 \times 10^3$  células/ml),  $p=0,04$ .



**Figura 1:** Contagem de Células Somáticas durante as 9 primeiras pós parto em vacas suplementadas (GB) e não suplementadas (GC) como bacilos na TMR.

E na figura 2 é apresentado a porcentagem de vacas com CCS maior do que 200.000 células/ml, onde podemos observar que o GC apresentou uma maior porcentagem de vacas com CCS alta.



**Figura 2:** Porcentagem de animais com CCS superior a  $200 \times 10^3$  células/ml.

A maior CCS no grupo controle pode estar relacionada com a microbiota gastrointestinal, onde a colonização de microrganismos oportunistas pode causar danos às barreiras de proteção do trato gastrointestinal (Hu et al., 2024), permitindo a migração de patógenos e mediadores inflamatórios por vias endógenas, como vasos sanguíneos e linfáticos, até a glândula mamária, gerando uma inflamação que aumentará a CCS. Essa via é conhecida como mastite de origem gastroentérica (Hu et al., 2024; Luo et al., 2022).

Considerando esse conceito, os probióticos, entre eles os *Bacillus* sp., podem ser considerados alternativas para reduzir inflamações na glândula mamária e, conseqüentemente, a elevação da CCS, visto que os *Bacillus* sp., ao colonizarem o trato gastrointestinal, são capazes de limitar o desenvolvimento de microrganismos patogênicos oportunistas de forma indireta, por competição e estimulação do sistema imune (Luise et al., 2022), e de forma direta, pela liberação de metabólitos antimicrobianos (Tran et al., 2022).

#### 4. CONCLUSÕES

A suplementação dietética com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* durante o período de transição de vacas leiteiras reduziu a contagem média de células somáticas e a porcentagem de vacas com CCS superior a 200.000 células/ml.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAUCHEYRAS-DURAND, F., & DURAND, H. (2010). Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes*, 1(1), 3–9. <https://doi.org/10.3920/BM2008.1002>

HU, X., HE, Z., ZHAO, C., HE, Y., QIU, M., XIANG, K., ZHANG, N., & FU, Y. (2024). Gut/rumen-mammary gland axis in mastitis: Gut/rumen microbiota-mediated “gastroenterogenic mastitis.” *Journal of Advanced Research*, 55, 159–171. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.02.009>

LUO, S., WANG, Y., KANG, X., LIU, P., & WANG, G. (2022). Research progress on the association between mastitis and gastrointestinal microbes in dairy cows and the effect of probiotics. *Microbial Pathogenesis*, 173, 105809. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105809>

LUISE, D., BOSI, P., RAFF, L., AMATUCCI, L., VIRDIS, S., & TREVISI, P. (2022). *Bacillus* spp. Probiotic Strains as a Potential Tool for Limiting the Use of Antibiotics, and Improving the Growth and Health of Pigs and Chickens. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.801827>

NITHYA, V., & HALAMI, P. M. (2013). Evaluation of the probiotic characteristics of *Bacillus* species isolated from different food sources. *Annals of Microbiology*, 63(1), 129–137. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0453-4>

SHARMA, N., & JEONG, D. K. (2013). Stem Cell Research: A Novel Boulevard towards Improved Bovine Mastitis Management. *International Journal of Biological Sciences*, 9(8), 818–829. <https://doi.org/10.7150/ijbs.6901>

TRAN, C., COCK, I. E., CHEN, X., & FENG, Y. (2022). Antimicrobial *Bacillus*: Metabolites and Their Mode of Action. *Antibiotics*, 11(1), 88. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010088>

TREVISI, E., & MINUTI, A. (2018). Assessment of the innate immune response in the periparturient cow. *Research in Veterinary Science*, 116, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.12.001>

VILLENA, J., ASO, H., RUTTEN, V. P. M. G., TAKAHASHI, H., VAN EDEN, W., & KITAZAWA, H. (2018). Immunobiotics for the Bovine Host: Their Interaction with Intestinal Epithelial Cells and Their Effect on Antiviral Immunity. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00326>

ZIGO, F., VASIL', M., ONDRAŠOVIČOVÁ, S, et, al. (2021). Maintaining Optimal Mammary Gland Health and Prevention of Mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.607311>.