UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA – EEL

TATIANE SUELI COUTINHO

**Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre
a sanidade de bezerros desmamados e
bezerras em fase de aleitamento**

LORENA

2012

TATIANE SUELI COUTINHO

**Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre
a sanidade de bezerros desmamados e
bezerras em fase de aleitamento**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Microbiologia Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Ismael Maciel de Mancilha

Edição reimpressa e corrigida

Lorena
Dezembro, 2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catalogação na Publicação
Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Coutinho, Tatiane Sueli

Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre a sanidade de bezerros desmamados e bezerras em fase de aleitamento. / Tatiane Sueli Coutinho. - ed. reimpr., corr. - 2012.
138 p. : il.

Tese (Doutor em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2012.

Orientador: Ismael Maciel de Mancilha

1. Probióticos 2. Bovinocultura 3. Helminíase animal. 4. *Lactobacillus*. I. Título. II. Mancilha, Ismael Maciel de, orient.

579.6 - CDU

BIOGRAFIA

Tatiane Sueli Coutinho nasceu no dia 30 de junho de 1983, na cidade de Cruzeiro/SP, onde reside atualmente. Em 2001, aos 17 anos, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Faculdade Estadual Paulista - UNESP, *campus* de Assis/SP. Neste período teve oportunidade de realizar estágio no Laboratório de Imunologia, trabalhando especificamente com o protozoário *Laishmania*. Posteriormente, por um período de dois anos e meio, desenvolveu atividades em nível de iniciação científica no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica daquela Universidade, iniciando suas pesquisas no campo dos probióticos e prebióticos.

Em 2005, iniciou seus estudos de pós-graduação, em nível de mestrado, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial - Departamento de Biotecnologia, da Faculdade de Engenharia Química de Lorena - FAENQUIL, atualmente, Escola de Engenharia de Lorena - EEL / USP. Nesta oportunidade, deu continuidade à sua formação profissional avaliando o efeito de *Lactobacillus* com propriedades probióticas sobre *Cryptosporidium parvum* em camundongos C57BL/6 imunossuprimidos. No ano de 2008, continuou sua capacitação profissional, ingressando no doutorado, na mesma Instituição de ensino e pesquisa, dando continuidade à linha de pesquisa com probióticos aplicados *in vivo*, utilizando como modelo experimental bezerros desmamados e em fase de aleitamento. Atualmente, leciona como professora concursada de Bioquímica nos cursos de Fisioterapia, Educação Física e Enfermagem da Escola Superior de Cruzeiro - ESC/ESEFIC.

*Dedico esta conquista aos meus pais, Alcione e Ailton,
que sempre me incentivaram e ensinaram a ser uma pessoa melhor.*

*Graças a vocês que estou aqui hoje!
Vocês são meus maiores exemplos de vida!
Amo muito vocês!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por ter me dado forças para enfrentar e vencer as dificuldades de mais essa etapa de minha vida.

À minha maravilhosa família que sempre me apoiou e incentivou a conquistar meus objetivos, dando amor, carinho, conselhos e alegrias nos momentos de adversidades. AMO MUITO TODOS VOCÊS!!!

Ao Prof. Dr. Ismael Maciel de Mancilha pela orientação, paciência e confiança em meu trabalho. Você é um grande exemplo profissional e pessoal para mim. Tenho uma enorme admiração por você!

Ao proprietário da Fazenda Bela Vista, Carlinhos, que confiou em meu trabalho, apoiando-nos sempre que necessário, além das agradáveis manhãs, regadas a um delicioso café, muitas piadas e risos.

Aos proprietários e veterinários da Fazenda Santa Rita, José Fernando e João Paulo, que permitiram a execução deste estudo. Muito obrigada pela confiança em nosso trabalho!

Ao Fabrício, meu camarada colega de trabalho que "enfrentou" os bezerros comigo. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho. Jamais esquecerei de sua ajuda!!!

Ao meu amigo de laboratório Juanito pelos momentos de alegria, pelos conselhos e pelo largo ombro amigo nos momentos de dificuldades desta jornada. Sinto uma grande admiração e carinho por você!!!

Aos meus amigos Flávio e Claudio pela compreensão, além das coletas realizadas. Nestes anos foram muitos risos e conflitos, que fortificaram nossa amizade. Sentirei falta de vocês!!!

Às meninas do laboratório, Adriele, Luanda, Gabriela, que me ajudavam a tagarelar na cabeça dos meninos....rs!!!

Ao meu irmão, Cristiano, por me abrigar na tranquilidade do lar para escrever nos momentos finais.

Ao meu lindo namorado, Ramon Filipe, que me deu carinho e amor, mesmo nos momentos de mais estresse soube me compreender e apoiar... *"Menino, vou te casar comigo..."*

À todos os professores, funcionários e amigos do DEBIQ, que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste estudo. Em especial à Sandra, Cida e Bia, pelos adoráveis cafés...Adoro vocês meninas!!! Vou sentir muitas, muitas e muitas saudades!!!

Aos meus amigos e amigas que mesmo não participando ativamente de minha vida dentro do DEBIQ, tiveram uma grande participação nesta conquista. Em especial para Sandra Gonzalo, Elaine Faria, Danielle Rodrigues, Liliana, Lilian Calili, Glauce, Rodolfo e Neirieli, Robertita e Karina.

À CAPES pelo apoio financeiro e bolsa concedida.

*"Temos o destino que merecemos.
O nosso destino está de acordo com os nossos méritos".*

Albert Einstein

RESUMO

COUTINHO, T. S. **Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre a sanidade de bezerros desmamados e bezerras em fase de aleitamento.** 2012. 138p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.

O setor agropecuário do Brasil apresenta-se em constante expansão, representando uma parcela significativa do PIB nacional, o que demonstra sua importância econômica e social para o país. Sendo assim, este trabalho visou avaliar o efeito de microrganismos probióticos sobre a sanidade e ganho de peso de bezerros, buscando contribuir para a saúde animal e conseqüentemente o incremento da produtividade da bovinocultura. Para tanto, uma preparação probiótica constituída de 4 espécies de *Lactobacillus* foi avaliada sobre o desenvolvimento de 28 bezerros mestiços (H/Z) desmamados (11 machos e 17 fêmeas), com idade entre 6 - 15 meses, naturalmente infectados com nematódeos, distribuídos randomicamente em 2 grupos, de acordo com a contagem de OPG. Os animais foram mantidos na Fazenda Bela Vista – Canas/SP, e a sanidade desses foi avaliada por meio de exames parasitológicos, hemograma completo e ganho de peso. Os resultados demonstraram que o tratamento com o anti-helmíntico Closantel (1ml/10Kg PV) reduziu em 93,45% a contagem de OPG, porém esta aumentou gradativamente após o 60º dia de experimento. Em contrapartida, demonstrou-se que a referida preparação probiótica (4×10^{11} UFC/ml) é uma promissora alternativa na prevenção de helmintíase, pois os animais tratados com probióticos apresentaram redução da contagem de OPG de aproximadamente 54% após 90 dias de tratamento, assim como apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) quando comparada com o grupo controle após 120 dias, demonstrando ser eficaz na prevenção da re-infecção da verminose. Observou-se também, aumento da população leucocitária total e de neutrófilos no sangue dos animais tratados com os lactobacilos, assim como, observou-se um maior ganho de peso desses animais apesar de não haver diferença significativa entre os grupos experimentais. Em uma segunda etapa dos experimentos, avaliou-se a referida preparação probiótica em 15 bezerras em fase de aleitamento, distribuídas em 3 grupos, sendo um grupo controle, outro com bezerras tratadas com probióticos nos primeiros cinco dias de vida e, um grupo composto por bezerras tratadas com a preparação probiótica em dias alternados. Esses animais foram mantidos na Fazenda Santa Rita – Lorena/SP, empregando-se os mesmos parâmetros de avaliação da primeira etapa. Nesta fase de experimentação, não foi observado o efeito benéfico da preparação probiótica sobre a helmintíase, o perfil hematológico e ganho de peso das bezerras, provavelmente devido ao manejo de rotina da fazenda que compreendeu a aplicação de antibiótico, carrapaticida e antiparasitário que podem ter interferido negativamente no desempenho das bactérias probióticas. Diante do exposto, conclui-se que a preparação probiótica em estudo é promissora como tratamento alternativo ao uso de antimicrobianos, uma vez que reduziu o processo de re-infecção da helmintíase, assim como, seus efeitos negativos em bezerros desmamado. Pode-se concluir, também, que os probióticos promoveram aumento no ganho de peso de bezerros debilitados, indicando que a preparação probiótica avaliada apresenta potencial como aditivo alimentar para bovinos.

Palavras-chave: Probióticos. Bovinocultura. Helmintíase Animal. *Lactobacillus*.

ABSTRACT

COUTINHO, T. S. **Evaluation of the effect of probiotics microorganisms on health in weaned calves and dairy calves.** 2012. 138p. Thesis (Doctoral of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.

The agricultural sector of Brazil is constantly enlarging, representing a significant portion of the national economy, which demonstrates its social and economic importance for this country. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of probiotics microorganisms on health and weight gain of calves, seeking to contribute to health's animal and consequently increasing productivity of cattle. For this, a preparation containing 4 species of probiotics *Lactobacillus* was evaluated on the development of 28 weaned calves (11 males and 17 females), aged 6-15 months, naturally infected with nematodes, randomly assigned to 2 groups, according to count of OPG. The animals were held at Bela Vista Farm - Canas/SP, and the health of the animals was evaluated by parasitological examination, hemogram parameters and weight gain. The results demonstrated that treatment with anthelmintic Closantel (1ml/10Kg PV) reduced by 93.45% to count of OPG, however this increased gradually after the 60th day of the experiment. In contrast, it was demonstrated that this probiotic preparation (4×10^{11} UFC/ml) is a promising alternative for the prevention of parasitosis, because the animals treated with probiotics decreased approximately 54% of the OPG after 90 days of treatment, even as showed significant difference ($P < 0.05$) compared with the control group after 120 days, demonstrating was effective in preventing re-infection of helminthiasis. It was also observed, increasing leukocyte population and of neutrophils in the blood of animals treated with lactobacilli, as well was observed a greater weight gain this animals, although there was no significant difference ($P > 0.05$) between the experimental groups. In a second step of the experiments, it was evaluated the probiotic preparation on 15 dairy calves, divided into 3 groups, one control group, other with heifers treated with probiotics in the first five days of life, and one other group of heifers treated with probiotic preparation on alternate days. These animals were kept at Santa Rita Farm - Lorena/SP, using the same evaluation parameters of the first. In this case, there was not beneficial effect of the probiotic preparation on the helminthiasis, weight gain and hematological profile of calves, probably due to the handling of the farm that included the use of antibiotics, antiparasitic and acaricides that may have interfered negatively in the viability of probiotic bacteria. Therefore, it is concluded that the probiotic preparation evaluated is promising as a alternative treatment to use of antimicrobials, for it reduced the process of re-infection by helminths, as well as negative effects on weaned calves. It was also concluded that the probiotics promotes increased in the weight gain of debilitated calves, indicating that the probiotic preparation evaluated has the potential an additive to cattle feed.

Keywords: Productivity of cattle. Animal Helminthiasis. *Lactobacillus*. Probiotics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico dos nemátodos.....	33
Figura 2. Coleta de sangue por punção na veia jugular	61
Figura 3. A - Estado de sanidade de uma bezerra desmamada; B - ovos de nemátodos isolados das fezes dos animais (100X em microscopia óptica).....	66
Figura 4. Valores de OPG nas fezes de bezerros desmamados, naturalmente infectados, submetidos a vermifugação (Grupo A) e a vermifugação acompanhada de tratamento com probióticos (Grupo A1).....	70
Figura 5. Relação entre os valores médios da OPG (barra) e a concentração média de hemácias (linha) nos bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos.....	77
Figura 6. Relação entre o valor médio de OPG (barra) e a concentração média de hemácias (linha) de bezerras recém-nascidas submetidas a diferentes tratamentos.....	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ocorrência das principais espécies de helmintos em população bovina no Brasil.....	36
Tabela 2. Valores médios da contagem de ovos eliminados nas fezes (OPG) de bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos.....	67
Tabela 3. Análise estatística dos resultados referente a contagem de OPG nas fezes de bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos.....	69
Tabela 4. Valores médios do eritrograma de bezerros desmamados, naturalmente infectados por helmintos, submetidos a diferentes tratamentos.....	75
Tabela 5. Coeficiente de correlação entre os valores médios da OPG e a concentração média de hemácias nos bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos.....	78
Tabela 6. Valores médios do leucograma (mm^{-3}) de bezerros desmamados, naturalmente infectados por helmintos, submetidos a diferentes tratamentos.....	81
Tabela 7. Médias $\pm$ desvio padrão do peso (Kg) de bezerros desmamados, naturalmente infectados, submetidos a diferentes tratamentos.....	84
Tabela 8. Valores médios da contagem de ovos eliminados nas fezes (OPG) de bezerros em fase de aleitamento.....	87
Tabela 9. Valores médios do eritrograma de bezerros em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos	90
Tabela 10. Coeficiente de correlação entre os valores médios de OPG e a concentração média de hemácias nas bezerras em fase de aleitamento submetidas a diferentes tratamentos.....	91

Tabela 11. Valores médios do leucograma (mm^{-3}) de bezerras em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos.....	94
--	----

Tabela 12. Médias de ganho de peso (g/dia) $\pm$ desvio padrão de bezerras em fase de aleitamento submetidas a diferentes tratamentos.....	96
--	----

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1	Setor agropecuário.....	22
2.2	Desenvolvimento do perfil hematológico de bovinos.....	23
2.3	Desenvolvimento do trato gastrointestinal de bovinos.....	28
2.4	Helmintíase em bovinos.....	32
2.4.1	Manifestações clínicas e principais efeitos das helmintíases gastrointestinais.....	38
2.4.2	Mecanismos de ação e efeitos negativos dos principais anti- helmínticos.....	41
2.5	Probióticos.....	45
2.5.1	Principais benefícios relacionados aos probióticos.....	46
2.5.2	Ação antagônica dos probióticos sobre espécies enteropatogênicas....	49
2.5.3	Ação antagônica dos probióticos sobre verminoses.....	51
2.5.4	Efeito de probióticos no desempenho zootécnico de bezerros.....	53
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	57
3.1	Animais e manejo.....	57
3.2	Microrganismos e preparação probiótica.....	58
3.3	Delineamento experimental.....	59
3.3.1	Bezerros desmamados.....	59
3.3.2	Bezerras em fase de aleitamento.....	61
3.4	Métodos analíticos.....	62
3.4.1	Exame parasitológico.....	62
3.4.2	Perfil hematológico.....	63
3.5	Análise dos Resultados.....	63
3.6	Aspectos Éticos.....	64
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
4.1	Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre a helmintíase em bezerros desmamados.....	65

4.2	Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o eritrograma de bezerros desmamados.....	74
4.3	Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o leucograma dos bezerros desmamados.....	79
4.4	Avaliação da helmintíase e do tratamento probiótico sobre o ganho de peso de bezerros desmamados.....	83
4.5	Efeito de microrganismos probióticos sobre helmintíase em bezerras em fase de aleitamento.....	86
4.6	Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre o eritrograma das bezerras em fase de aleitamento.....	89
4.7	Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o leucograma das bezerras em fase de aleitamento.....	92
4.8	Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o ganho de peso das bezerras em fase de aleitamento.....	95
5	CONCLUSÕES.....	98
	REFERÊNCIAS.....	99
	APÊNDICES.....	117

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira encontra-se em constante expansão, representando um importante setor sócio-econômico para o país, correspondendo a 7% do PIB brasileiro, tanto pela produção de gado de corte, sendo considerado o maior exportador de carne mundial, como de gado de leite, ocupando a posição de quinto maior país produtor de leite no mundo (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes - ABIEC, 2009; Embrapa, 2009).

Vários fatores interferem no desenvolvimento pleno da atividade pecuária, dentre eles, destaca-se a sanidade animal tendo em vista a alta incidência de infecções causadas por protozoários e helmintos. No ano de 2010, a Embrapa estimou que os custos com a sanidade na bovinocultura leiteira foi de aproximadamente R\$ 75,00 por animal. Desta forma, o aumento nos custos com tratamentos profiláticos e curativos dos bovinos representam maiores gastos na produtividade, além de acarretar prejuízos com problemas reprodutivos e morte de animais em casos mais graves.

Em função das condições climáticas brasileiras, a maioria dos animais encontra-se parasitada durante todo o ano por helmintos gastrintestinais, uma vez que as larvas destes encontram-se constantemente na maioria das pastagens.

Animais jovens são altamente susceptíveis às infecções helmínticas durante o primeiro ano de pastejo, podendo ser observado, já na primeira semana de vida, ovos de *Strongyloides papillosus*, devido à infecção transplacentária ou à ingestão de larvas infectantes presentes no colostro ou no leite, tendo um pico de eliminação de ovos entre o 2º e o 4º mês de idade.

Na Região Sudeste, tem sido observado, que, em geral, bezerros que mantêm contato com pastagens, começam a eliminar nas fezes ovos de *Cooperia*, seguidos por ovos de *Haemonchus* e *Trichostrongylus*, a partir dos 2 ou 3 meses de idade, assim como ovos de *Oesophagostomum*, após o 3º ou

4ºmês. O número de ovos por grama de fezes (OPG) desses parasitos aumenta gradativamente até um ano e meio de idade dos bezerros, o que estimula a busca por tratamento alternativo que reduza o processo infeccioso para que não se acentue a verminose que promove a debilidade do animal, podendo leva-lo à morte.

Somente na região Sudeste, estima-se que o índice de mortalidade provocado por helmintíases em bezerros esteja entre 5 e 10%, principalmente, em rebanho leiteiro. Essas verminoses, infecções intestinais prevalentes em bovinos, são causadas por helmintos que podem desencadear graves distúrbios gastrintestinais como diarreia, que retardam o desenvolvimento dos bezerros e comprometem a produção. Essas parasitoses são tratadas, em geral, de maneira incorreta pelo uso excessivo e desordenado de anti-helmínticos, provocando a seleção de estirpes de helmintos cada vez mais resistentes aos tratamentos o que demonstra a necessidade da adoção de estratégias para a profilaxia e tratamentos alternativos para essas verminoses.

Além da seleção de parasitos resistentes aos antiparasitários, muitos produtores não observam ou respeitam os períodos de carência de tais produtos, o que acarreta no aumento de resíduos tóxicos na carne e no leite de origem desses animais, podendo causar problemas à saúde do consumidor. Assim, dentre os tratamentos alternativos, destacam-se o manejo e vermifugações estratégicas, suplementação com tanino, suplementação com fungo nematófago, e o uso de preparações probióticas no controle dos respectivos agentes infecciosos, principalmente, gastrintestinais.

Os probióticos contêm em sua formulação espécies de microrganismos vivos que melhoram a saúde do hospedeiro quando consumidos com frequência e em quantidades adequadas. Os diferentes mecanismos de ação destas espécies compreendem a exclusão competitiva no trato gastrintestinal, estimulação do sistema imune do hospedeiro, melhora na digestibilidade de nutrientes, dentre outros.

A exclusão competitiva beneficia a saúde do hospedeiro por manter em equilíbrio a microbiota intestinal. Esse equilíbrio se deve à competição por sítios de ligação na mucosa e por nutrientes, pela produção de compostos antimicrobianos (bacteriocinas) ou pela redução do pH intestinal, devido à produção de ácido láctico e outros ácidos orgânicos de cadeia curta, além da produção de peróxido de hidrogênio, o que sustenta o seu efeito antagônico sobre espécies patogênicas. A diminuição da infecção por enteropatógenos pode ainda estar relacionada à ação dos probióticos sobre o metabolismo do hospedeiro por meio da estimulação do sistema imunológico.

Além destes efeitos, esses microrganismos podem melhorar a digestibilidade dos alimentos, bem como estimular o desenvolvimento do rúmen dos animais, promovendo ganho de peso de novilhos e melhora da produtividade na bovinocultura.

Neste contexto, diversos estudos têm demonstrado a ação antagônica de preparações probióticas constituídas de diferentes espécies de microrganismos sobre patógenos como bactérias, protozoários e helmintos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, em diferentes espécies de animais. Sendo assim, a suplementação na dieta diária de animais jovens com preparações probióticas, representa uma alternativa em potencial para substituir os quimioterápicos como antibióticos, antiparasitários e carrapaticida.

Diante do exposto, o presente estudo visou avaliar o efeito de uma preparação probiótica, constituída por espécies de *Lactobacillus*, sobre sanidade e desenvolvimento de bezerros, tendo como parâmetros de resposta o ganho de peso, presença de helmintíase e o perfil hematológico de animais desmamados e em aleitamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Setor agropecuário*

O setor agropecuário do Brasil destaca-se como uma parcela significativa do PIB nacional, demonstrando sua importância econômica e social para o país.

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC), em 2008, o Brasil liderou o *ranking* dos maiores exportadores de carne bovina no mundo, somando a quantia de 2,2 milhões de toneladas equivalente carcaça e receita cambial de US\$ 5,3 bilhões. Estes valores representaram uma participação de 28% do comércio internacional, sendo a exportação realizada para mais de 170 países.

Em 2007, o rebanho bovino brasileiro contava com aproximadamente 200 milhões de cabeças, sendo considerado um dos maiores do mundo. Segundo o IBGE, o efetivo nacional de bovinos em 2010 chegou a 209,5 milhões de cabeças, um aumento de 2,1% em relação ao ano anterior, passando a apresentar o maior rebanho comercial mundial. Foram registrados aumentos nas regiões Norte (4,1%), Centro-Oeste (2,7%) Nordeste (1,7%) e Sudeste (0,6%). A distribuição regional apresenta-se com 34,6% dos bovinos encontravam-se no Centro-Oeste, 20,1% no Norte e 18,3% no Sudeste. Os três principais municípios produtores foram São Félix do Xingu/PA, com 2,0 milhões de cabeças, Corumbá/MS, com 1,9 milhão e Ribas do Rio Pardo/MS, com 1,2 milhão (IBGE, 2010).

A pecuária brasileira vem se destacando, também, no segmento de produção de leite, uma vez que o Brasil ocupou o quinto lugar dentre os países de maior produção mundial no ano de 2009, produzindo mais de 29 bilhões de litros de leite o que representou 5% do total da produção anual mundial, de

acordo com os dados publicados pela EMBRAPA (2009). No ano de 2010 a produção de leite bovino chegou a 30,7 bilhões de litros, um acréscimo de 5,5% sobre o ano anterior (IBGE, 2010).

O Brasil tem apresentado um constante crescimento na produção de leite, sendo observado um crescimento da produção nacional em dez anos (1998-2008) de 45%, com destaque para o ano de 2008, o qual apresentou um crescimento de 5,5%. Com um rebanho leiteiro de quase 22 milhões de animais, o Brasil possui o segundo maior rebanho leiteiro do mundo, sendo que a região Sudeste destaca-se como a maior produtora do país, apresentando 36% da produção nacional, sendo o Estado de Minas Gerais o maior produtor, com mais de 7 bilhões de litros de leite produzidos no ano de 2009 (AGE/MAPA, 2010).

Os principais fatores que influenciam a produtividade da pecuária brasileira estão relacionados ao manejo do rebanho que pode influenciar na sanidade dos animais, a qual interfere diretamente no desenvolvimento dos mesmos, assim como na produção de seus subprodutos.

2.2 *Desenvolvimento do perfil hematológico de bovinos*

O período neonatal é caracterizado por intensas modificações no quadro hematológico durante o desenvolvimento do animal (BIRGEL-JUNIOR, D'ANGELINO; BENESI, 2001).

Tendo em vista que a alimentação é um fator determinante no bem-estar dos animais, a ingestão de colostro é indispensável à defesa orgânica e sobrevivência do bezerro nos primeiros dias de vida, sendo considerada uma das mais importantes recomendações nesse período. A falha na ingestão de colostro leva à baixa imunidade e ao aumento da prevalência de enfermidades, com efeitos sobre a mortalidade dos animais (RENGIFO et al 2010).

A hematologia do animal está diretamente relacionada à sanidade do mesmo, uma vez que as células sanguíneas apresentam funções variadas no metabolismo do animal. Os eritrócitos ou hemácias representam a fração vermelha do sangue com função de promover a troca gasosa, principalmente a oxigenação dos tecidos influenciando no catabolismo dos mesmos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

A fração branca sanguínea, composta pelos leucócitos, promove a resposta imunológica do hospedeiro contra agentes patogênicos. Os linfócitos são as células mediadoras da imunidade humoral, com produção de anticorpos pelos linfócitos B, e da imunidade celular, por meio da ativação dos linfócitos T, que eliminam células infectadas por microrganismos intracelulares ou neoplásicas. Os monócitos, macrófagos e neutrófilos são células responsáveis pelo processo fagocítico de antígenos, tendo participação no processo inflamatório observado nos tecidos infectados. Os eosinófilos apresentam relação ao sistema alérgico do hospedeiro, assim como resposta a parasitas extracelulares, como os helmintos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

Estudos por Silva et al (2005) e Paula-Neto (2004) realizados sobre a hematologia dos bezerros demonstram que os valores médios do eritrograma de bezerros jovens com até um ano de idade são superiores aos dos animais adultos. Esse padrão é explicado pelo fato da hematopoiese nos animais jovens ocorrer na medula óssea de todos os ossos, gerando uma vigorosa produção de eritrócitos e outras células mieloides, enquanto nos animais adultos se restringe a medula óssea dos ossos longos (JAIN, 1993).

Borges et al (2011) avaliando o perfil hematológico de bezerros *Bos taurus* demonstraram uma elevação no número de hemácias do nascimento aos 11 meses de idade ($8,77 \pm 1,51 \times 10^6/\mu\text{L}$), seguido de redução significativa a partir dos 36 meses, atingindo o menor valor médio em animais com mais de 60 meses ($6,55 \pm 0,87 \times 10^6 / \mu\text{L}$). Resultados semelhantes foram observados em animais das raças Curraleiro (PAULA NETO, 2004), Jersey (BIRGEL-JUNIOR; D'ANGELINO; BENESI, 2001) e Sindi (SILVA et al, 2005).

Comportamento semelhante é observado, também na concentração de hemoglobina que apresenta queda gradativa com o aumento da idade, sendo o maior valor ($11,87 \pm 1,46$ g/dL) observado em bezerras neonatos com até 2 meses de idade e a menor ($10,11 \pm 1,33$ g/dL) em animais com mais de 60 meses (BORGES et al, 2011). De acordo com Latimer, Mahaffey e Prasse (2003), a hipótese que poderia sustentar esta observação consiste na destruição de hemoglobina fetal, para a substituição desta por hemoglobina adulta.

Gonçalves et al (2001) avaliaram a influência da idade sobre o hemograma de 18 bovinos da raça Guzerá, e os resultados demonstraram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) influenciada pela idade, considerando as variáveis número de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular e volume corpuscular médio.

A literatura relata que os animais jovens com até 11 meses de idade, apresentam valores médios superiores no que se refere ao número de hemácias e hematócrito, e inferiores no tocante ao volume corpuscular médio - VCM comparados aos animais com idades superiores (BORGES et al, 2011; PAULA NETO, 2004; BIRGEL-JUNIOR; D'ANGELINO; BENESI, 2001; GONÇALVES et al, 2001). Portanto, conclui-se que a diminuição da eritropenia, ocorre concomitante ao aumento de volume das hemácias, assim como maiores concentrações de hemoglobinas em seu interior (HCM).

Estudo realizado por Birgel-Junior et al (2001), no Estado de São Paulo com 253 fêmeas da raça Jersey, demonstrou uma variação do perfil leucocitário, sendo que bezerras com até três meses de idade apresentaram valor médio de 10.926 ± 3.314 leucócitos/mm³, o qual permaneceu estável no grupo de bezerras de 3 a 6 meses (10.453 ± 3.378 leucócitos/mm³). A seguir, os autores observaram um aumento significativo destes valores nos animais com idade variando de 6 a 12 meses e de 12 a 24 meses, sendo os valores máximos correspondentes a 13.577 ± 2.838 e 13.962 ± 3.259 leucócitos/mm³, respectivamente. A partir desta idade, observou-se uma diminuição do número total de leucócitos, sendo os valores mínimos obtidos nas vacas com mais de 72 meses de idade. Este quadro leucocitário foi ocasionado pelo aumento do

perfil linfocitário, que apresentou um aumento gradual destas células do nascimento aos 12 meses de idade, apresentando valores médios (linfócitos/mm³) de: 0 - 3 meses - 7.444±2.675; 3 - 6 meses - 8.107±2.868; 6 - 12 meses - 10.950 ± 2.801. Este padrão se mantém até 24 meses de idade sendo observado uma redução significativa nos animais adultos chegando a 6.857±1.326 linfócitos/mm³.

Resultados semelhantes foram apresentados por Costa et al (2000), que verificaram que o fator etário exerce influência significativa no número total de leucócitos de bovinos da raça Nelore, com pequenas variações até os 12 meses de idade, atingindo valor máximo de 16992±4104/mm³, a partir do qual ocorre decréscimo expressivo na contagem dessas células, chegando ao valor mínimo de 10353±2797/mm³ em animais com 48-72 meses de idade. Assim como observado na raça Jersey, esse quadro leucocitário foi ocasionado pelo alto valor médio de linfócitos típicos, sendo que a máxima concentração linfocitária foi de 12758±3608/mm³, detectado em bezerros entre 6-12 meses.

A redução do número de linfócitos, com o aumento da idade, é esperada, porque animais em crescimento apresentam índices linfocitários mais elevados que os adultos, devido à atividade imunogênica ser mais intensa (GARCIA-NAVARRO; PACHALY, 1994). A redução gradual do número de linfócitos com a idade é atribuída ao declínio de linfócito T, em razão da diminuição da função do timo, glândula responsável pela produção e diferenciação desse tipo celular (JAIN, 1993).

Entretanto, a literatura é controversa no que se refere ao tipo de leucócito predominante ao nascimento. Segundo estudos realizados por Jain (1993) e Jones e Allison (2007), ao nascimento, há predominância de neutrófilos segmentados em relação à concentração de linfócitos, com inversão deste parâmetro com o avanço da idade. Jones e Allison (2007) afirmaram que bezerros normalmente apresentam poucos linfócitos e que sua concentração aumenta com o avanço da idade até ultrapassar o número de neutrófilos segmentados dos 6 aos 8 meses de idade. Contudo, Birgel-Junior et al, em seu trabalho publicado em 2001, não observaram variações significativas no

número de neutrófilos atribuída à influência da idade, enquanto Costa et al (2000) observaram redução do número destas células com o aumento da idade. Tal contradição de resultados pode ser explicada por fatores como local de realização do estudo, manejo e raça dos animais, uma vez que o primeiro trabalho foi realizado nos Estados Unidos e os dois últimos no Brasil.

Segundo Hauser et al (1986), apesar dos bezerros apresentarem número total de neutrófilos maior que os adultos, sua ativação e funcionamento não é completa até os 150 dias de idade, o que promove uma maior susceptibilidade à doenças. A atividade debilitada dos neutrófilos proporciona uma resposta imunológica fraca, lenta e facilmente revertida, originando a moderação da doença, porém não prevenindo a ocorrência de uma infecção por patógenos intracelulares, comum nesta fase do desenvolvimento do animal (GONÇALVEZ et al 2011).

No tocante à concentração de eosinófilo, importante célula relacionada a resposta imunológica contra parasitas gastrintestinais, observa-se um aumento gradual e significativo da concentração sérica dessa célula relacionada a idade dos bovinos. Apesar da concordância quanto ao aumento gradual da eosinofilia, o valor médio de eosinófilos apresentou variação em diferentes estudos. Birgel-Junior (2001) quantificou o valor médio de 60 ± 102 eosinófilos/mm³ em bezerros aos 3 meses de idade e um maior valor médio correspondente a 441 ± 376 eosinófilos/mm³ em bezerros de 12-24 meses. Em contrapartida, Borges et al (2011) relataram o valor mínimo ($89,48 \pm 189,11/\mu\text{L}$) em bezerros entre 3-11 meses de idade atingindo os maiores valores ($872,62 \pm 587,59/\mu\text{L}$) na fase adulta, entre 36 e 60 meses. Costa et al (2000) reportaram valores de eosinófilos máximo de $999 \pm 499/\mu\text{L}$ (24 a 48 meses) e mínimo de 265 ± 276 em estudo realizado com bezerros nelore nas faixas etária de 24 a 48 meses e 3 a 6 meses, respectivamente.

Sendo assim, fatores como idade, sexo, raça, nutrição e manejo podem influenciar o perfil hematológico de bezerros tendo como consequência alterações na susceptibilidade às doenças, que podem interferir no bem-estar e desenvolvimento dos animais (COSTA et al, 2007).

Neste contexto, estudos demonstram que uma alimentação suplementada com probióticos podem influenciar no perfil hematológico de animais (SAXELIN et al, 2005). Segundo Chen et al (2010) e Ogawa et al (2006), os microrganismos que apresentam propriedades probióticas apresentam habilidade de modular respostas imunes sistêmicas, aumentando a concentração de células fagocíticas, como macrófagos, neutrófilos e monócitos do hospedeiro.

Em trabalho desenvolvido por Galdeano et al (2009) com camundongos suplementados com leite fermentado com *Lactobacillus*, foi observado um aumento da população de diferentes tipos de células do sistema imune, associado ao intestino, como os linfócitos T e linfócitos B secretores de IgA desses animais.

2.3 *Desenvolvimento do trato gastrintestinal de bovinos*

As funções primárias do trato gastrintestinal e de seus órgãos acessórios são a digestão e a absorção de nutrientes essenciais para os processos metabólicos. Portanto, o bom desenvolvimento e funcionamento do sistema digestório está diretamente relacionado ao desempenho zootécnico e a sanidade dos animais, tendo como consequência melhoria da produtividade (OLIVEIRA; ZANINI; SANTOS, 2007; SIGNORETTI et al, 2011)

Os ruminantes são animais poligástricos, que dispõem de um sistema digestório diferenciado e complexo permitindo melhor utilização de material fibroso comparado aos animais monogástricos. Nesses animais o estômago é dividido em quatro compartimentos: rúmen, retículo, omaso denominados de pré-estômago e o abomaso caracterizado como o estômago verdadeiro (CARVALHO; SANCHES; VIÉGAS, 2003).

Ao nascimento, o abomaso representa aproximadamente 70% do peso total do estômago, porém, com oito semanas de vida, o retículo-rúmen passa a

corresponder mais de 80% do total dos quatro compartimentos, enquanto que o abomaso, resume-se em um pequeno compartimento do estômago do animal. As mudanças anatômicas e fisiológicas são características da transição de uma digestão monogástrica para uma digestão do tipo ruminante, promovida pelo desenvolvimento do rúmen (CHURCH, 1993).

A alimentação inicial do bezerro é basicamente o leite, o qual por ser digerido no abomaso, quando retido no rúmen ocasiona diarreia. Portanto, no início do desenvolvimento do bezerro há um canal de passagem do leite pelo rúmen, denominado goteira esofágica, formada devido à união dos lábios do sulco rúmimo-reticular por reflexo mediado pelos nervos sensoriais glossofaríngeos e nervo vago de ação motora. Compõe-se assim um verdadeiro canal tubular no qual o líquido é conduzido diretamente ao abomaso sem passagem pelo rúmen (COSTELLO, 2008; RODRIGUES; LUCCI; RODRIGUES, 2002).

Portanto, o aleitamento não promove o desenvolvimento do rúmen, sendo necessário que os bezerros sejam suplementados com alimentos fibrosos. O consumo de concentrado, como os farelo de milho, farelo de arroz e grãos, promove modificações histológicas na parede ruminal, como o aumento de tamanho e densidade das papilas e da superfície de absorção da parede do rúmen. Concomitantemente, o consumo de volumoso, contendo carboidratos fibrosos representados por feno, capins verdes e silagem, está associado às mudanças anatômicas no trato gastrointestinal, aumento de tamanho e volume, e à manutenção do pH do rúmen (OLIVEIRA; ZANINI; SANTOS, 2007; COELHO, 2010). Animais que são alimentados precocemente com concentrado apresentam um rúmen bem desenvolvido, vascularizado, e com microbiota estabelecida o que permite desaleita-los precocemente, por volta da oitava semana de vida, sem que haja prejuízo no seu desenvolvimento (GONSALVES NETO; SILVA; BONOMO, 2008; LIZIERE et al, 2002).

De acordo com Ferreira et al (2008), entre as vantagens do desmame precoce estão a economia na produção, uma vez que a suplementação alimentar para promover o desenvolvimento do rúmen apresenta menor preço quando comparado ao leite, além do aumento na quantidade de leite a ser

comercializada pelo produtor. Por outro lado, a qualidade do suplemento, principalmente a fonte proteica, é o fator determinante para a obtenção de resultados semelhantes aos observados com o aleitamento.

Além da importância dos alimentos sólidos, para o desenvolvimento histológico e anatômico, é necessário a instalação de uma microbiota diversa que desempenha um papel de importância fundamental na digestibilidade dos nutrientes ingeridos (RASTEIRO et al, 2007; ALMEIDA; LOBATO; SCHENKEL, 2003).

A microbiota ruminal é complexa e diversa, sendo composta de protozoários ciliados e flagelados, os fungos e as bactérias. Grande parte desta microbiota é composta pela população de protozoários anaeróbios e não patogênicos que fermentam alimentos fibrosos, contribuindo para a nutrição do hospedeiro. Os protozoários ciliados podem variar entre 10^4 até 10^6 por mL de conteúdo ruminal (KAMRA, 2005). Apesar da importância metabólica dos protozoários, as bactérias são os microrganismos mais ativos na produção enzimática desempenhando papel fundamental na digestibilidade de fibras no rúmen (ARCURI; MATOS, 1992)

A colonização do rúmen dos bovinos inicia-se, a partir dos dois dias de vida, predominando espécies de bactérias urolíticas que convertem uréia em amônia, sendo observado a partir do quarto dia a presença de espécies de bactérias celulolíticas, as quais promovem a digestão da celulose. No animal adulto a diversidade bacteriana no rúmen aumenta, sendo constituída por 63 espécies pertencentes a 29 gêneros diferentes, constituindo aproximadamente 10^{10} UFC/mL de conteúdo ruminal (ARCURI, et al 2006; ALMEIDA; LOBATO; SCHENKEL, 2003).

As bactérias do rúmen fermentam carboidratos e frações de proteínas da dieta, promovendo o aumento da produção de ácidos graxos voláteis (AGV), principalmente butírico e propiônico, que agem como estímulo primário para o desenvolvimento do rúmen. O efeito dos AGV sobre o desenvolvimento do epitélio se deve à extensiva metabolização durante a absorção, fornecendo

energia para crescimento do tecido epitelial e para contração muscular (COELHO, 2010)

Estudos realizados por Arcuri, et al (2006), Davis e Drackley (1998) e Newbold, Wallace e Chen (1995) demonstraram que os microrganismos do rúmen permitem a utilização indireta de carboidratos, promovendo melhor digestibilidade de nutrientes e, conseqüentemente, aumento na conversão alimentar e ganho de peso.

Neste contexto, pesquisas têm destacado a importância de aditivos alimentares, tais como os probióticos, que interferem no metabolismo melhorando a eficiência de utilização de alimentos e proporcionando maior produção animal (TIMMERMAN et al, 2005).

Os probióticos são produtos constituídos de microrganismos vivos capazes de colonizar o trato gastrointestinal do ruminante, promovendo equilíbrio na microbiota ruminal. Esse equilíbrio promove aumento da população de espécies de bactérias capazes de sintetizar proteínas e vitaminas, diminuindo os níveis de amônia, uma vez que esta é utilizada para formação de aminoácidos (ORTIZ et al, 2009; RASTEIRO et al, 2007).

Além desse mecanismo de ação, os probióticos podem estimular a digestibilidade de nutrientes, o que melhora a ingestão de volumoso, promovendo o ganho de peso, e podendo interferir na composição dos produtos de origem animal, como o leite, no tocante aos teores de gordura e proteínas (SIGNORINI et al, 2011).

O ganho de peso pode estar relacionado, ao aumento da produção dos AGV, que promovem o desenvolvimento das papilas do rúmen melhorando sua capacidade de absorção e conseqüente aproveitamento do alimento. Além do desenvolvimento da mucosa ruminal, esses ácidos são absorvidos servindo de fonte de energia para o animal (KABIR et al, 2004; KELLEY et al, 1998).

Sun, Wang, Zhang (2010) demonstraram que bezerros suplementados com probióticos aos sete dias de vida apresentaram uma melhora na eficiência alimentar promovendo aumento diário de ganho de peso. Arenas et al (2005)

também observaram aumento de 33,28% no ganho de peso de bovinos alimentados com probióticos, representando um lucro bruto de R\$14,00 por animal, com a arroba do boi gordo cotada a R\$52,00.

Sendo assim, os produtos probióticos podem ser uma alternativa ao uso de aditivos antimicrobianos, pois além de promoverem o ganho de peso dos animais, proporcionam outros efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (SIGNORINI et al, 2011; SUN; WANG; ZHANG, 2010; RASTEIRO et al, 2007; ARENAS et al, 2005; KABIR et al, 2004).

2.4 *Helmintíases em bovinos*

Além de um eficiente desenvolvimento do trato gastrintestinal para se obter um melhor desempenho zootécnico dos animais e, consequente melhoria no índice de produtividade do gado de leite e corte, outras características que interferem na bovinocultura incluem a genética, a qualidade da nutrição e o tipo de manejo, uma vez que estes fatores influenciam diretamente a saúde dos animais (EMBRAPA, 2009).

Um dos principais problemas relacionados a saúde dos bezerros, são as doenças parasitárias causadas por hemoparasitos, ectoparasitos e helmintos gastrintestinais e pulmonares (VAN METRE; TENNANT; WITHLOCK, 2008).

No Brasil, é comum a ocorrência de poliparasitismo intestinal nos animais mantidos a pasto, o que dificulta avaliar os efeitos deletérios de uma infecção única. Entretanto, sabe-se que estas infecções promovem perda de peso dos bovinos, prejudicando o desenvolvimento de bezerros e a produção de leite ou carne (BRITO; NOBRE; FONSECA, 2009; REPOSSI-JUNIOR, 2006; RIBEIRO, 2003).

Os helmintos, popularmente conhecidos como vermes, são metazoários invertebrados subdivididos em dois filos de importância epidemiológica, a

saber: Platyhelminthes, tendo como principais Classes infectantes Cestoda e Trematoda; e o filo Nematoda que apresenta como principais Ordens parasitárias Ascaridida, Rhabditida, Spirurida e Enoplia (NCBI *Taxonomy Browser*).

De maneira geral, os nemátodos apresentam em seu ciclo de vida, um estágio parasitário, representado, principalmente, pelos vermes adultos que permanecem no interior dos animais, e a fase de vida livre que ocorre quando os ovos são liberados no meio ambiente junto com as fezes dos animais. No ambiente extracorpóreo os ovos sofrem diferenciação, eclodindo e liberando as larvas rabditoide nas fases L1, que se desenvolve em larvas rabditoide L2, as quais mantêm-se no ambiente até atingirem o terceiro estágio (L3), que correspondem as larvas infectantes que, ao serem ingeridas pelo hospedeiro completam o ciclo biológico conforme esquematizado na Figura 2 (KEITH, 1953).

Figura 1. Ciclo biológico dos nemátodos

As larvas filarioides L3 ao serem ingeridas pelos animais, no momento do pastejo, penetram na parede do abomaso ou dos intestinos ou, ainda, se alojam entre as vilosidades do tubo digestivo, onde se nutrem de alimento pré-digerido, tecidos ou sangue destes animais e, após sofrerem uma ou duas mudas, atingem o estágio adulto. As fêmeas iniciam a postura de ovos, que são eliminados junto com as fezes, entre a terceira e quarta semanas após a infecção dependendo do gênero e da imunidade do animal (TAYLOR; COOP, WALL, 2010; LIMA, 2004).

No bolo fecal, nas primeiras 24 horas, os fatores ambientais como umidade, teor de oxigênio, radiação solar e temperatura adequada (20-30°), influenciam a evolução dos ovos embrionados em larvas de primeiro estágio (L1), as quais sofrem muda para a segunda fase (L2), com o desenvolvimento de uma cutícula protetora. Ambas se alimentam de bactérias e outros microrganismos (TAYLOR; COOP, WALL, 2010; EMBRAPA, 1999).

O estágio infectante, larvas L3, retém a cutícula da fase anterior, sendo considerada a fase de maior resistência às adversidades climáticas. No período da seca, a maioria dessa forma larval permanece no bolo fecal ou nas bases das plantas próximas às fezes. Entretanto, no período das chuvas, essas formas infectantes podem migrar em torno de 90cm do bolo fecal para as pastagens adjacentes. A maioria das larvas L3 de *Cooperia*, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Trichostrongylus* e *Bunostomum* são recuperadas do bolo fecal até 4 meses após a contaminação das pastagens, entretanto, algumas dessas larvas infectantes podem permanecer viáveis por até 7 meses, reiniciando o ciclo do parasito aos ser novamente ingeridas pelos bovinos (TAYLOR; COOP, WALL, 2010; Lima, 2004).

Em função das condições climáticas brasileiras, esses parasitos sobrevivem durante o ano todo ocasionando infecções em bovinos (STROMBERG; GASBARRE, 2006; GUIMARÃES et al, 2000).

A erradicação destes vermes é praticamente impossível devido à sua capacidade de multiplicação e adaptação ao meio externo. Os ovos e

principalmente as larvas de helmintos, apresentam a capacidade de sobreviver por períodos extensos na pastagem. O próprio material fecal protege as larvas infectantes da dissecação, fazendo com que algumas perdurem no pasto por vários meses, ou até mais de um ano, mesmo em períodos de seca (RAMOS et al, 2004).

Além da resistência dos parasitos, o sistema de criação mais utilizado no Brasil de semi-confinamento permite o acúmulo das formas infectantes parasitárias no meio ambiente. Grande parte dos animais parasitados apresenta manifestação sub-clínica assintomática, conseqüentemente não são tratados, o que promove uma contaminação constante das pastagens, facilitando o contato dos hospedeiros a outras parasitoses ou à re-infecção, mantendo elevada a prevalência dessas helmintoses (DORCHIES, 2008; REPOSSI-JUNIOR et al, 2006; RIBEIRO et al, 2003).

A incidência e distribuição dos helmintos apresentam variações regionais e sazonais, dependendo de vários fatores como regime pluvial, ecossistema, manejo, raça e idade dos animais. No Brasil, as verminoses predominantes de bovinos criados em pastagens naturais estão apresentadas no Tabela 1 (TORRES, 2009; CRAIG, 2008; DORCHIES, 2008; SOUZA et al 2008; ARAUJO et al, 2006; REPOSSI-JUNIOR et al, 2006; STROMBERG; GASBARRE, 2006; CATTO et al, 2005; LIMA, 2004; RAMOS et al, 2004; RIBEIRO et al, 2003; GIRÃO; LEAL, 2002; PIMENTEL-NETO; FONSECA, 2002; GUIMARÃES et al 2000; SOUZA et al 2000; EMBRAPA, 1999; VICENTE et al, 1997; BIANCHIN, 1996; GECHEVARRIA et al, 1993; ARAUJO et al, 1992; CHARLES; FURLONG, 1992; LIMA, 1989; CARNEIRO et al, 1987; COSTA et al, 1986; FURLONG; ABREU; VERNEQUE, 1985).

Tabela 1. Ocorrência das principais espécies de helmintos em população bovina no Brasil

Classificação	Gênero/Espécies de relevância	Habitat	Distribuição Geográfica
Cestoda	<i>Moniezia spp</i> <i>Cysticercus bovis</i>	Intestino Delgado Músculos e Vísceras	BA, GO, MA, MT, MS, MG, PE, PI, PR, RJ, RS, SP DF, MT, MS, MG, PE, PI, PR, RJ, RS, SC, SP
Nematoda			
Trichostrongylidae	<i>Haemonchus spp</i> <i>Ostertagia spp</i> <i>Trichostrongylus spp</i> <i>Cooperia spp</i>	Abomaso Abomaso Abomaso Intestino Delgado	BA, CE, DF, GO, MA, MG, MS, MT, PA, PI, PR, RJ, RN, RO, RS, SC, SP BA, CE, GO, MA, MG, MS, MT, PA, PI, RJ, RN, RO, RS, SC, SP BA, DF, GO, MA, MG, MS, MT, RJ, RN, RO, SC, SP BA, CE, DF, GO, MG, MS, MT, PA, PI, PR, RJ, RN, RO, RS, SC, SP
Rhabdiasidea	<i>Strongyloides papillosus</i>	Intestino Delgado	BA, CE, DF, GO, MG, MS, MT, PA, PI, RJ, RN, RS, SC, SP
Strongylidea	<i>Oesophagostomum radiatum</i>	Intestino Grosso	BA, CE, DF, GO, MA, MG, MS, MT, PA, PE, PI, PR, RJ, RN, RO, RS, SC, SP
Trichuridea	<i>Trichuris discolor</i>	Intestino Grosso	BA, DF, GO, MG, MS, MT, PA, PI, RJ, RN, RO, RS, SC, SP

Fonte: TORRES, 2009; CRAIG, 2008; DORCHIES, 2008; SOUZA et al 2008; ARAUJO et al, 2006; REPOSSI-JUNIOR et al, 2006; STROMBERG; GASBARRE, 2006; CATTO et al, 2005; LIMA, 2004; RAMOS et al, 2004; RIBEIRO et al, 2003; GIRÃO; LEAL, 2002; PIMENTEL-NETO; FONSECA, 2002; GUIMARÃES et al 2000; SOUZA et al 2000; EMBRAPA, 1999; VICENTE et al, 1997; BIANCHI, 1996; ECHEVARRIA et al, 1993; ARAUJO et al, 1992; CRLES; FURLONG, 1992; LIMA, 1989; CARNEIRO et al, 1987; COSTA et al, 1986; FURLONG; ABREU; VERNEQUE, 1985.

Os helmintos pertencentes à família Trichostrongyloidea são os principais responsáveis por infecções que acometem rebanhos bovinos nas regiões tropicais, sendo os gêneros *Haemonchus* spp., e *Cooperia* spp. mais incidentes podendo se observar infecções de diferentes espécies nas diversas regiões do país, além dos gêneros *Strongyloides* e *Oesophagostomum* ssp. que também apresentam alta prevalência no Brasil (TORRES, 2009; ARAÚJO et al, 2006; GIRÃO; LEAL, 2002; EMBRAPA, 1999; LIMA, 1989; FURLONG; ABREU; VERNEQUE, 1985).

Os nemátodos das superfamílias Strongyloidea, Trichostrongyloidea e Ancylostomatoidea, chamados de estrongilídeos, apresentam similaridades quanto ao formato elíptico de seus ovos contendo o embrião larvado em estágio de mórula. Dentre esses os gêneros *Trichostrongylus*, *Nematodirus*, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Cooperia* e *Strongyloides*, apresentam alta prevalência no Brasil, principalmente na região Sudeste e Centro-Oeste (TORRES et al, 2009; BIANCHIN, et al, 1996, ARAÚJO et al, 1992; COSTA et al, 1986).

Segundo Pimentel-Neto e Fonseca (2002), o estabelecimento da parasitose em bezerros tem relação com a idade do animal, com o gênero de helminto, e com a característica climática local. Estes pesquisadores constataram que bezerros com idade de 3 a 4 meses se encontravam parasitados predominantemente por *S. papillosus* e que o parasitismo por *Haemonchus* sp e *Trichostrongylus* sp apresentou tendência de aumento na faixa etária de 10 a 12 meses; além disso *Cooperia* spp e *Oesophagostomum* sp foram encontrados em bezerros com até 16 meses, com brusca redução da intensidade da carga parasitária a partir desta faixa etária.

O controle da verminose bovina é ponto fundamental para promover a sanidade animal, uma vez que esta contaminação é prevalente todas as regiões do Brasil (CHARLES; FURLONG, 1992). A falta desse acompanhamento acarreta prejuízos à saúde dos animais, especialmente nas fases de cria e recria, pois nessa faixa etária os danos são maiores, com

consequências que podem se estender até a sua fase adulta (FURLONG et al, 1993).

O controle das infecções helmínticas é indispensável no manejo sanitário dos bezerros, uma vez que essas parasitoses levam à debilidade física, ao retardo no crescimento e desenvolvimento do animal, bem como à pré-disposição a outras enfermidades, podendo representar causa de mortes significativas dos animais jovens (GIRÃO; LEAL, 2002; FURLONG et al, 1993).

2.4.1 Manifestações clínicas e principais efeitos das helmintíases gastrintestinais

A manifestação clínica do parasitismo está diretamente relacionada pela carga e patogenicidade do parasito, além do estado nutricional e imunológico do animal. Sendo assim, grande parte dos animais parasitados pode apresentar infecções subclínicas, assintomática, fator que contribui para o aumento da prevalência das verminoses (MURPHY et al 2006; VERCRUYSSSE et al 2004).

Animais jovens são mais susceptíveis às parasitoses helmínticas, durante o primeiro ano de pastejo. No processo infeccioso, as larvas infectantes e os helmintos adultos podem destruir a mucosa gastrintestinal, com a formação de úlceras que propiciam a instalação de infecções secundárias (LIMA et al 2004; FOX, 1997).

A presença dos parasitos somado a perda de células epiteliais geram reações inflamatórias na mucosa, produzindo infiltração de eosinófilos, linfócitos, mastócitos e neutrófilos. A mucosa torna-se edemaciada, o que pode proporcionar a perda de albumina plasmática, e como consequência da hipersecreção de muco desencadeiam-se as diarreias nos animais (ARAUJO, 2009; FOX, 1997).

Em casos crônicos, o epitélio intestinal danificado é substituído por tecido conjuntivo fibroso, durante o processo de cicatrização, fator que acarreta em uma diminuição da absorção de nutrientes e a produção de enzimas, alterando o metabolismo de proteína, energia, mineral e balanço hídrico (STROMBERG; GASBARRE, 2006; LIMA, 1989).

Os helmintos acentuam o processo de má nutrição, pois, além do conjunto de efeitos deletérios supra-citados, podem inibir o apetite dos hospedeiros e diminuir a digestibilidade e absorção dos nutrientes ingeridos. Essas alterações fisiológicas podem estar associadas com a resposta a hormônios circulantes como a gastrina, secretada em resposta ao pH do abomaso, assim como pode ser influenciada por substância de origem parasitária, como a colinesterase de algumas espécies de nematoides (GREGORY, 2005; FOX, 1997).

No caso de haemonchose, os prejuízos são relevantes devido à ocorrência de anemia severa, provocada pelo hábito hematófago do helminto, o qual ocasiona o decréscimo no número de eritrócitos e proteínas séricas, podendo a concentração de hematócrito estar abaixo de 15% (BASSETTO, 2011).

No tocante à parasitose dos bezerros por *Trichostrongylus*, a patogenia é evidente em infecções acima de 150 mil larvas infectantes, as quais promovem elevação do pH do abomaso, com consequente diarreia e anorexia dos animais. Na infecção pelo gênero *Cooperia*, os sintomas só são notados após uma carga parasitária superior a 250 mil larvas infectantes, sendo sua manifestação clínica semelhante a apresentada pela tricostrongiloidíase. Devido à infecção do trato digestivo, os animais apresentam perda de peso que pode atrasar o período de abate em até um ano (CRAIG, 2008; VICENTE et al, 1997).

Apesar das manifestações clínicas agudas e crônicas citadas, a maioria dos animais apresenta infecção subclínica, cujos efeitos passam despercebidos pela maioria dos criadores. A helmintose assintomática é frequente em bovinos após os 18 meses de idade, sendo raro os casos

clínicos, uma vez que a resposta imunológica passa a ser efetiva contra os nematoides gastrintestinais (CRAIG, 2008; BOWMAN, 2003). Os sintomas tornam-se aparentes quando fatores como escassez de alimentos, principalmente no período da seca, quando ocorre diminuição da quantidade e qualidade das pastagens, desmame, alta lotação das pastagens e infecções concomitantes se integram, levando a um quadro clínico caracterizado principalmente, por abdômen distendido, diarreia, mucosas pálidas e fraqueza (SUN; WANG; ZHANG, 2010; TIMMERMEN et al, 2005).

A diarreia, uma das principais causas de mortalidade de bezerros, é um quadro clínico complexo e de etiologia múltipla, devido a interação de diversas variáveis que envolvem os agentes patogênicos, os animais e o meio ambiente. Além dos helmintos provocarem esse distúrbio fisiológico, outros parasitas destacam-se quanto a esse quadro clínico, tais como as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., os protozoários coccídios, principalmente *Cryptosporidium* e *Eimeria* e os vírus como os agentes da Diarreia Viral Bovina (VIVEIROS, 2009; OLIVEIRA-FILHO et al, 2007).

Quanto ao estado fisiológico do animal, Yazwinski e Tucker (2006) relataram que um sistema imunológico fortalecido é fundamental para prevenir as parasitoses e a diarreia. Desta forma, a ação de defesa contra parasitas gastrintestinais compreende o envolvimento de mecanismos imunológicos, principalmente, os eosinófilos, as imunoglobulinas IgG1 e IgE, bem como a resposta inflamatória não específica.

Estudos revelam que as helmintíases causam imunodepressão nos animais parasitados. Dentre os fatores que provocam tal efeito tem-se a estimulação de células supressoras não específicas, modificação do tráfego de linfócitos por meio dos tecidos parasitados e produção de fatores inibidores da resposta imunológica pelos parasitas (SOULSBY, 1985; KLESIUS et al, 1984). Consequentemente, animais parasitados são mais susceptíveis a doenças causadas por outros agentes infecciosos, o que pode culminar em uma infecção múltipla (JOHNSTON; MORRIS, 1996; GIBBS et al, 1992).

Outro fator que aumenta a re-incidência das verminoses é a capacidade dos helmintos em alterar sua morfologia, o que diminui a defesa do hospedeiro à infecções subsequentes. Como exemplo dessa característica evolutiva, as fêmeas de *Ostertagia ostertagi* podem perder o apêndice vulvar do tipo *flap* em casos de re-infecção o que mascara a resposta secundária do sistema imunológico dos animais (STROMBERG; GASBARRE, 2006; MOTA; CAMPOS; ARAÚJO, 2003).

Além do estado nutricional e imunológico do animal, a gravidade da verminose será determinada pela patogenicidade das várias espécies parasitárias, sendo que parasitos mais patogênicos são capazes de promover manifestação da doença com uma menor carga parasitária (CRAIG, 2008).

A principal forma de controle dos parasitas nemátodos ainda é baseado em tratamentos com drogas anti-helmínticas. Apesar da eficiência desse tratamento, reduzindo de forma significativa o nível de infecção dos animais, o surgimento de cepas resistentes a esses agentes químicos tem comprometido a eficácia dessas drogas no controle das verminoses (GIRÃO; LEAL, 2002; KOHLER, 2001; WALLER, 1997).

2.4.2 Mecanismos de ação e efeitos negativos dos principais anti-helmínticos

O crescimento do rebanho brasileiro nos últimos anos tem sido acompanhado pelo expressivo lançamento de novos fármacos aplicados à bovinocultura, visando melhorar a produtividade deste setor. Somente no ano de 2006, a indústria farmacêutica veterinária, obteve um faturamento com a produção bovina de mais de 1bilhão de Reais, sendo a venda dos antiparasitários representada por 33,89% desse mercado (BNDES, 2007).

Esta estatística confirma que, com o objetivo de controlar os efeitos negativos da infecção parasitária, muitos produtores utilizam de forma

indiscriminada e repetitivamente drogas anti-helmínticas, o que promove um aumento nos custos de produção, bem como o surgimento de maior quantidade de resíduos químicos na carne, leite e respectivos derivados, além de resistência dos parasitos (DELGADO, 2009).

Os principais anti-helmínticos atualmente utilizados incluem os Benzimidazóis, representados por Tiabendazole, Mebendazole, Oxfendazole e Albendazole. O mecanismo anti-helmíntico desses agentes químicos envolve sua ligação a proteína tubulina, inibindo a formação de microtúbulos, interferindo na formação do citoesqueleto celular. Além desse efeito inibitório, o albendazole inibe a atividade da fumarato redutase e o transporte de glicose, que são associados às vias energéticas dos nemátodos (GRONVOLD et al, 2004; DAYAN, 2003).

O albendazole é um metil-carbamato da classe dos benzimidazóis de amplo espectro tendo ação sobre o verme adulto, larvas ou ovos de nemátodos, podendo agir também sobre trematódeos como a *Fasciola* sp. e cestódeos. A dosagem de 5mg/ kg de peso corpóreo dos bovinos pode apresentar 100% de eficácia contra os gêneros *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum*, *Moniezia*, *Haemonchus*, *Cooperia* e *Ostertagia* (SILVA; ARANTES; SOUZA, 1995).

Araújo et al (1992), avaliaram a aplicação de tratamentos anti-helmínticos sobre as contagens de OPG de nematoides gastrintestinais em 188 bezerros mestiços (Holandês x Zebu), de 4 a 10 meses de idade, naturalmente infectados e mantidos em cinco fazendas leiteiras. Os gêneros de nemátodos infectantes foram identificados como *Cooperia*, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Bunostomum* e *Trichostrongylus*, sendo o tratamento anti-helmíntico realizado no limiar de 600 OPG, utilizando análogo ao albendazole. Foram observadas reduções de 33,3 a 100% da contagem da OPG das fezes desses animais, sendo que, a baixa eficácia do anti-helmíntico demonstra a resistência de alguns parasitos ao antiparasitário. Os autores observaram que ocorreram re-infecções dos animais tratados, provavelmente devido ao manejo e às condições climáticas.

Apesar de baixa absorção intestinal do albendazole, estudos relatam que este composto pode atravessar a placenta e produzir efeitos embriotóxicos e teratogênicos em ovelhas e ratos (NAVARRO et al, 1998; CAPECE et al, 2003).

Em estudo realizado por Piscopo e Smoak (1997), foi observado que esse anti-helmíntico pode causar severas anormalidades morfológicas e diminuição da capacidade de divisão de embriões bovinos e murinos cultivados *in vitro*.

Outro produto anti-helmíntico muito difundido no mercado veterinário são as avermectinas constituídas de metabólitos derivados da fermentação pelo fungo *Streptomyces avermitilis*. Entretanto, estudos realizados no ano de 2002, por Ayres e Almeida e por Radostits et al demonstram a periculosidade desse anti-parasitário, uma vez que este ocasionou surtos com alterações neurológicas em bovinos, em alta dosagem. Bezerros com menos de 4 meses, apresentam maior suscetibilidade ao composto químico devido ao desenvolvimento incompleto da barreira hematoencefálica, assim como uma maior permeabilidade da mesma, permitindo a ação da ivermectina, droga mais bem caracterizada do grupo, no sistema nervoso.

Experimentos em ratos, coelhos, cães e macacos acometidos com intoxicações aguda, subaguda e crônica, quando tratados com a ivermectina demonstraram que as principais manifestações clínicas são vômito, tremores, ataxia, depressão, convulsões, coma e morte, sendo observado algumas variações entre as espécies (AYRES; ALMEIDA, 2002; RADOSTITS et al 2002; FORBES, 1993; FURLONG, 1993)

No Brasil, Estado do Maranhão, 10 bezerros da raça Nelore, com aproximadamente um mês de idade foram vermifugados com ivermectina e morreram nas primeiras 24 horas após a vermifugação, aparentemente, na dosagem recomendada pelo fabricante. No município de Capitão Poço/PA, foi observada a morte de 10 bezerros recém-nascidos após a administração do anti-helmíntico, na dosagem de 1ml por animal, independentemente do peso. Neste mesmo Estado, 14 bezerros de 8 a 12 meses de idade, apresentaram

alterações neurológicas, compatíveis com as manifestações relatadas na intoxicação por ivermectina, após a administração de 5ml desse medicamento. Estes surtos de intoxicação por antiparasitário representam uma grande perda econômica na produtividade agropecuária (SEIXAS et al 2006; FORBES, 1993).

O anti-helmíntico Closantel é derivado da salicilanida, sendo eficaz, principalmente, contra *Fasciola hepatica*, *Haemonchus* e *Oestrus ovis*, que impede o processo de produção de energia, por interferir na fosforilação oxidativa dos parasitos. Este agente químico é mais utilizado em ovinos e caprinos, motivo pelo qual relatos de intoxicação em bovinos são raros (FURLAN et al 2009).

A intoxicação pelo antiparasitário Closantel, também, foi relatada na literatura. Conforme reportado por Cadioli et al (2008), que observaram a morte de cordeiros com 60 dias de idade, por congestão pulmonar e hepática, vacuolização das fibras nervosas da retina com presença de hemorragia e edema, após vermifugação dos animais, assim como de suas mães, com 15mg/Kg de closantel. Outros dois surtos de intoxicação, no Estado de Santa Catarina, foram descritos por Furlan et al (2009), os quais relatam que aproximadamente 50% dos ovinos vermifugados com 10mL de closantel adoeceram, sendo que 5 apresentaram cegueira, desses três morreram e dois foram eutanasiados, após 6 meses do tratamento. No segundo surto, os mesmos autores constataram que 26 caprinos adoeceram, sendo que seis desses animais sobreviveram, porém ficaram cegos, e um deles foi eutanasiado. De acordo com Furlan et al. (2009), em geral, a intoxicação ocorre acidentalmente quando o produto é utilizado em sobredosagens, tendo como principais consequências cegueira, apatia e perda da co-ordenação motora.

Além dos efeitos tóxicos no metabolismo dos animais, esses antiparasitários podem causar danos ambientais quando usado excessivamente. Segundo Tuerlinckx, Morselli e Mauch (2011), a contaminação dos solos com o anti-helmíntico albendazole influencia algumas

atividades enzimáticas das minhocas *Eisenia foetida*, produzindo alterações patológicas no epitélio intestinal deste invertebrado.

Outro problema sócio-ambiental, está relacionado à seleção de estirpes de parasitos resistentes aos diferentes anti-helmínticos, gerando elevação na dosagem aplicada e consequentemente aumentando o risco de intoxicação dos animais e de resíduos nos produtos de consumo humano como o leite (SCZESNY-MORAES et al, 2010; SOUZA et al 2008; SANXES, 2006; RANGEL et al, 2005, ARAÚJO et al 1992).

A busca por tratamentos alternativos e sistemas profiláticos que evitem a intoxicação e re-infecção dos animais, assim como a seleção de parasitos resistentes, torna-se fundamental para o controle das helmintíases, com destaque para o uso de preparações constituídas por microrganismos que apresentam propriedades probióticas (YOSHIHARA, 2012; TORRES et al, 2009; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003; GIRÃO; LEAL, 2002, ARAUJO et al, 1992).

2.5 Probióticos

O termo 'probiótico', de origem grega, significa 'para a vida', e tem sido empregado de diversas maneiras ao longo dos anos. Este termo foi inicialmente proposto para descrever compostos ou extratos de tecidos capazes de estimular o crescimento microbiano (LILLY; STILLWELL, 1965). Posteriormente, Fuller (1989) definiu probióticos como suplementos alimentares compostos de microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro por meio do equilíbrio da microbiota intestinal. Salminen et al (1999) definem probióticos como preparados de microrganismos, ou seus componentes, que apresentam efeito benéfico sobre a saúde e o bem estar do hospedeiro. Segundo a FAO/OMS (2002), probióticos são microrganismos

vivos que, quando administrados em quantidade adequada, conferem efeito benéfico à saúde do hospedeiro.

Independentemente do conceito utilizado, o que se sabe atualmente é que os probióticos trazem benefícios à saúde do hospedeiro, por meio de diferentes mecanismos de ação, não deixando resíduos nos produtos de origem animal e não favorecendo a resistência às drogas, sendo considerado um potencial substituto dos antimicrobianos e uma forma alternativa de aditivo alimentar promotor de crescimento de animais (TAMBEKAR; BHUTADA, 2010; RASTEIRO, 2007; ARENAS et al 2005; ALVES, 2004; NEPOMUCENO; ANDREATTI, 2000).

2.5.1 Principais benefícios relacionados aos probióticos

Os principais microrganismos utilizados em produtos probióticos são as bactérias ácido lácticas, principalmente dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, além de espécies de *Bacillus*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, e leveduras como *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae* (SAAD, 2006; AMORES et al, 2004; SILVI et al, 2003).

Estas espécies de microrganismos proporcionam vários benefícios à saúde de seu hospedeiro, com destaque para o efeito benéfico de manter em equilíbrio a microbiota intestinal. Esse equilíbrio se deve a exclusão competitiva que consiste na competição entre as linhagens probióticas e enteropatógenos por sítios de ligação na mucosa e por nutrientes. A diminuição da incidência de agentes patogênicos no trato gastrointestinal pode ser proporcionado, também, pela produção de compostos antimicrobianos, como bacteriocinas e peróxido de hidrogênio, ou pela redução do pH intestinal com a produção de ácido láctico e outros ácidos orgânicos de cadeia curta produzidos pelas bactérias lácticas (FONSECA, 2010; FAYOL-MESSAOUDI et al, 2007; ANURADHA; RAJESHWARI, 2005; RASTALL, 2004; NICOLI; VIEIRA, 2000).

Dentre outros benefícios relacionados aos probióticos destacam-se a melhora na digestibilidade e absorção de nutrientes, como a lactose. Por meio da produção da β -D-galactosidase, os probióticos auxiliam na digestão da lactose intestinal produzindo ácido láctico e disponibilizando mais lactase endógena (MARTEAU; BOUTRON-RUAULT, 2002; MARTEAU et al 2001; DE VRESE et al, 2001; NESTEL, 1996).

A regulação da motilidade intestinal, efeito benéfico também exercido pelos probióticos, consiste em se evitar a constipação e auxiliar na digestão devido a liberação de diversas enzimas no lúmen intestinal, que exercem efeitos sinérgicos, aumentando a biodisponibilidade de proteínas e gorduras, assim como aumentando a liberação de aminoácidos livres, o que pode aliviar sintomas de deficiência na absorção de nutrientes (KOPP-HOOLIHAN, 2001)

Além da produção de enzimas, os probióticos sintetizam vitaminas do complexo B, D e K e produzem ácidos orgânicos de cadeia curta (ácido láctico, propiônico e butírico) os quais, quando absorvidos, contribuem para o *pool* de energia disponível do hospedeiro, além de auxiliar na manutenção do pH fundamental para a ação de muitas enzimas bacterianas sobre antígenos no lúmen intestinal e sobre o metabolismo de carcinógenos no intestino (RAFTER, 2007; SAAD, 2006). A proteção a neoplasias dada pelas bactérias lácticas pode ocorrer por meio de vários mecanismos de ação, incluindo a imunomodulação (IBRAHIM, 2010; KARKOW, FAINTUCH, KARKOW, 2007).

No tocante à estimulação do sistema imunológico, tem-se observado que algumas espécies de microrganismos probióticos intervêm nas reações de hipersensibilidade retardada, produção de anticorpos, ativação dos macrófagos e alteração na produção de algumas citocinas como interferon gama, interleucina 12 e interleucina 10 (SAXELIN et al, 2005; DRAKES, BLANCHARD, CZINN, 2004; CHUKEATIROTE, 2003). Sendo assim, a ingestão de microrganismos probióticos pode proporcionar uma melhora significativa da resposta imunológica a agentes patogênicos e processos inflamatórios desencadeados por estes.

Segundo Isolauri (2001), probióticos foram testados para aumentar as diferentes barreiras do trato gastrointestinal, estimulando a resistência inespecífica do hospedeiro aos patógenos microbianos, o que provoca a eliminação dos mesmos.

Os probióticos podem afetar diretamente a mucosa intestinal com a modulação da imunidade secretória, estimulando a síntese da imunoglobulinas, principalmente IgA e IgM, e alterando a formação de muco no local (BROCHERS, 2009; WEHKAMP et al, 2004). Segundo Duarte (2011) camundongos Swiss tratados com um *pool* de bactérias probióticas, constituído por *L. plantarum* ATCC 8014, *L. acidophilus* ATCC 4356, *L. fermentum* ATCC 9338 e *L. casei* ATCC 7469, apresentaram aumento na concentração total de leucócitos com destaque para maior valor médio de monócitos, além de maior concentração de IL-10 e IgA na mucosa intestinal. Tais resultados representam uma imuno-estimulação promovida por essas linhagens sobre o metabolismo dos animais.

Apesar de estimular a secreção de anticorpos e citocinas anti-inflamatórias, os probióticos induzem a supressão de resposta imune humoral pró-inflamatória bem como a hipersensibilidade citocina-dependente do Th1 (DTH), conforme descrito por Duarte (2011), Chen et. (2010) e Brandtzaeg (2002).

Em trabalho desenvolvido por Galdeano et al (2009) foi observado, *in vivo*, um aumento de células intestinais relacionadas à barreira imunológica inespecífica, assim como das células imunológicas associadas ao intestino, o que foi demonstrado por meio do aumento da população de diferentes células do sistema imune, como linfócitos T e linfócitos B secretores de IgA, e pela expressão de marcadores celulares relacionados tanto com a resposta inata quanto a adaptativa (macrófagos).

Em 2006, Ogawa et al demonstraram que o consumo de *L. casei* estimula a produção de interleucina-12 nas células mononucleares do sangue

periférico, produção essa diretamente relacionada com a atividade de células T e Natural Killer (NK).

Segundo Andrade (2008), os microrganismos probióticos estimulam a atividade fagocítica dos leucócitos, aumentam a proliferação de linfócitos T e a atividade dos macrófagos, elevam a atividade das células NK, ativam as células *T-helper* CD4⁺, aumentam a produção de anticorpos e a secreção de mediadores químicos, como citocinas, interferon, fatores de necrose tumoral, interleucina 1 e 2, os quais estimulam o sistema imunológico.

2.5.2 Ação antagônica dos probióticos sobre espécies enteropatogênicas

Diversos estudos realizados em animais e *in vitro* têm demonstrado que microrganismos probióticos exercem ação protetora contra a aderência, colonização, reprodução e ação maléfica de espécies de enterobactérias patogênicas, por meio de vários mecanismos de ação (SERVIN;COCONNIER, 2003).

Os probióticos têm sido amplamente utilizado no tratamento e prevenção de infecções intestinais provocadas por vírus (rotavírus), *Clostridium difficile*, bem como por bactérias causadoras de enterites, como *E. coli* e *Samonella*, e em enterites inespecíficas como diarreia dos viajantes (CHEN et al, 2010; AMORES et al, 2004; GIONCHETTI et al, 2002).

Martins et al (2005) demonstraram que camundongos infectados com *Salmonella typhimurium*, quando tratado com *Saccharomyces cerevisiae*, apresentaram taxa de sobrevivência 40% maior que os não tratados.

Poppi (2005) demonstrou, em estudo *in vitro*, o efeito inibitório de espécies de *Lactobacillus* sobre *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7, comprovando o efeito antagônico dos probióticos.

Chaveerach, Lipman e Van Knapen (2004) demonstraram que a cepa de *Lactobacillus* P93 apresenta propriedades de inibição sobre espécies de *Campylobacter*, sugerindo que este efeito antagônico se deve à combinação da produção de ácidos orgânicos e de peptídeos que apresentam ação antimicrobiana.

Espécies de microrganismos enteropatogênicos, como *Shigella*, *Vibrio cholera* e rotavírus, também tiveram sua infecção diminuída quando em antagonismos com microrganismos probióticos (NOMOTO, 2005; CASBURG-JONES; FARTHING, 2004; CHATEAU; CASTELLANOS; DESCHAMPS, 2003).

Assim como a ação sobre enterobactérias, alguns estudos demonstram também a ação antagônica dos probióticos sobre protozoários intestinais. Coutinho (2008), relatou que um *pool* de *Lactobacillus* foi capaz de reduzir a infecção por *Cryptosporidium parvum* em camundongos imunossuprimidos após 9 dias de tratamento, assim como observou a redução no processo infeccioso de camundongos tratados previamente com a referida preparação probiótica.

Benyacoub et al (2005) demonstraram redução da infecção de camundongos por *Giardia intestinalis* quando esses foram tratados previamente com *Enterococcus faecium* SF68. Essa redução ocorreu devido ao aumento da resposta imune desses animais, demonstrando que os probióticos podem ser uma forma alternativa eficaz na prevenção de enteroparasitoses. Resultados semelhantes foram observados por Bautista-Garfias et al (2005), que demonstraram que *Lactobacillus casei* foi capaz de reduzir a infecção de camundongos por *Babesia microti*.

Em 2005, Dalloul et al avaliaram o efeito de um produto probiótico comercial, contendo *Lactobacillus* sobre *Eimeria acervulina* constatando uma redução no número de oocistos liberados nas fezes de frangos. Os autores atribuíram a este efeito a estimulação do sistema imunológico dos animais, que resultou no aumento dos níveis plasmáticos de Interferon- γ e IL-2, assim como no aumento de interferon- γ na mucosa intestinal.

Estudo realizado por Pereira (2007) destacou que bactérias probióticas foram eficazes no tratamento da eimeriose em *Rattus norvergicus*, sendo que animais tratados com o preparado probiótico apresentaram melhor desempenho zootécnico no que se refere ao ganho de peso e taxa de conversão alimentar quando comparados com o grupo controle.

2.5.3 Ação antagônica dos probióticos sobre verminoses

Apesar da expansão dos estudos relacionados à ação dos microrganismos probióticos, são poucos os trabalhos desenvolvidos com o objetivo de se avaliar os efeitos da administração de preparações probióticas no curso das infecções causadas por helmintos intestinais, assim como estes estudos são restritos a poucas espécies de parasitas.

Solano-Aguiar et al (2004) ao analisar o efeito probiótico em leitões suplementados com *Bifidobacterium lactis* observaram uma redução na incidência da infecção por *Ascaris suum*, além de melhor desempenho na absorção de nutrientes pelos animais suplementados com o probiótico, uma vez que estes apresentaram ganho de peso corpóreo.

Segundo Bautista-Garfias et al (1999) camundongos tratados com probióticos apresentaram uma significativa redução no número de adultos de *Trichinella spiralis*, observando também que estes hospedeiros não apresentaram encurtamento das vilosidades intestinais, característica comum em animais infectados por esse parasito. Em 2001, estes pesquisadores observaram, também, redução na carga parasitária de *T. spiralis* em camundongos tratados tanto com uma preparação probiótica contendo células de lactobacilos bem como quando tratados com sobrenadante resultante do cultivo desses microrganismos. Os resultados demonstraram que os microrganismos probióticos podem apresentar uma ação direta sobre o nematódeo ou promover a imuno-estimulação dos animais.

Em estudo realizado por Martin et al (2006) camundongos infectados por *T. spiralis* e tratados com probióticos apresentaram parâmetros metabólicos semelhantes ao controle, demonstrando que os probióticos podem promover parcial normalização das atividades metabólicas em animais infectados e tratados.

Gallina et al (2009), avaliando a ação inibitória dos microrganismos *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* e *Bacillus cereus* var. *toyoi* sobre a infecção por *Haemonchus contortus* em ovinos, demonstraram que os animais tratados com *S. cerevisiae* apresentaram menor incidência de parasitos no abomaso quando comparados com o grupo controle.

Coelho (2010) avaliando o antagonismo de *Lactobacillus*, constituindo a mesma preparação probiótica utilizada neste presente estudo, sobre ancilostomíase canina, relatou que os animais tratados com os probióticos apresentaram redução de 88,83% no número de ovos por grama de fezes (OPG) após 28 dias de tratamento, além de um aumento na população de eritrócitos e concentração de hemoglobina, o que indica que os lactobacilos podem reduzir a anemia provocada pelos parasitos. Foi observado também, um processo de re-infecção dos animais quando estes pararam de ser tratados com a preparação probiótica o que indica a necessidade do uso contínuo da preparação probiótica.

Em estudo recente realizado por Teixeira (2011), a preparação probiótica contendo as mesmas cepas de lactobacilos do presente estudo, promoveu uma redução de 66,3% da OPG de ovinos naturalmente infectados com haemonchose, quando os animais foram tratados durante 30 dias com os probióticos. O autor observou, também, melhoras nas condições fisiológicas dos ovinos, no que se refere ao estado de anemia, além de observar a imunestimulação celular.

2.5.4 Efeito de probióticos no desempenho zootécnico de bezerros

Os probióticos podem contribuir para o desempenho zootécnico dos animais uma vez que influencia na permeabilidade do epitélio intestinal, proporcionando maior eficiência na digestão e absorção de nutrientes, assim como evitam que patógenos gastrintestinais se instalem ocasionando infecções (PENHA, 2009; JUNQUEIRA et al, 2009; SAAD, 2006; ROTH, 2000; GUILLOT, 2000).

Em relação aos bovinos, as recomendações dos probióticos na profilaxia de infecções bacterianas em animais recém-nascidos e recém-desmamados é em doses de 10^6 a 10^9 UFC/g de ração, por três a cinco dias consecutivos, e, como promotor de crescimento, utilizam-se doses diárias de 10^6 a 10^7 UFC/g de ração, no mínimo durante um a dois meses. Os resultados reportados na literatura sobre o uso de probióticos para fins terapêuticos ou como promotor de crescimento em bezerros são heterogêneos, irregulares e nem sempre positivos, uma vez que a resposta do animal ao uso de probióticos é influenciada pelo tipo de probiótico, pela dose utilizada, idade e raça do animal, tipo de manejo, uso concomitante de antibióticos e o ambiente de criação (VANDELLE; TELLER; FOCANT, 1990; TOURNUT, 1989).

De acordo com estudo desenvolvido por Penha (2009), bezerros Nelore aos 18 meses de idade, tratados com probiótico Proenzime[®] apresentaram um ganho de peso 17,07% maior que o grupo controle durante 75 dias de tratamento. Este probiótico, não demonstrou diferença significativa no ganho de peso entre os grupos experimentais aos 76 - 150 dias, resultado explicado pelos autores como estabilização do peso dos animais após 30 dias de tratamento.

Terrassi et al (2010) utilizando-se da mesma preparação probiótica supracitada como aditivo alimentar de bovinos Nelore com 10 meses de idade, observaram aumento significativo no ganho de peso desses animais comparado ao grupo controle. Resultados semelhantes foram reportados por

Rasteiro et al (2007), que observaram que bovinos Nelore com 15 meses de idade suplementados com o probiótico comercial Proenzime® (GP), por 150 dias, apresentaram aumento no ganho de peso de 19,45% em relação ao grupo controle. Segundo os autores, tal resultado se deve a melhor utilização dos alimentos pelos bovinos devido à ação dos probióticos, sendo que este ganho de peso representou um ganho líquido de R\$11,13 por animal em 5 meses, considerando a arroba do boi gordo cotada a R\$50,00.

Arenas et al (2007) utilizando bovinos Nelore de 10 meses de idade mantidos em pastejo rotacionado de *Panicum maximum* no período das águas, observaram aumento de 33,28% de ganho de peso de bovinos tratados com o mesmo probiótico comercial supracitado após 81 dias de tratamento, demonstrando que os probióticos são promissores substitutos dos antimicrobianos para serem utilizados como aditivos alimentares.

Segundo Ávila et al (2000) a utilização de probióticos como aditivo alimentar em bezerros recém-nascidos, também, pode melhorar o desempenho zootécnico dos mesmos. Estes autores, observaram que bezerros suplementados com probiótico, contendo *Ruminobacter amylophilum*, *Ruminobacter succinogenes*, *Succinovibrio dextrinosolvens*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus faecium*, do nascimento aos 30 dias de idade, apresentaram um ganho de peso de 10 a 40% superior que animais não tratados. De acordo com os autores este resultado se deve ao equilíbrio da microbiota do trato gastrointestinal promovido pelas bactérias probióticas, proporcionando melhor digestibilidade dos alimentos, com consequente aumento no ganho de peso, assim como uma diminuição da incidência de diarreia.

Em contrapartida, Alves et al (2000) analisando o efeito da adição dos probióticos *L. acidophilus*, *S. faecium* e *Sacharomyces cerevisiae* na alimentação de bezerros mestiços Holandês-Zebu recém-nascidos, mantidos confinados, observaram que animais suplementados com os probióticos não apresentaram diferenças significativas no ganho de peso diário e na conversão alimentar nos tempos de 35, 63 e 91 dias de tratamento. Entretanto, aos 119

dias de idade, os animais tratados com o leite adicionado com probióticos apresentaram ganho médio de peso diário de 1.346g, representando um significativo aumento de 232g/dia (20,8%) comparado ao grupo controle. Estes resultados são corroborados pelo estudo de Sun, Wang, Zhang (2010) os quais demonstraram que bezerros com sete dias de vida suplementados com probióticos em sua dieta apresentaram uma melhora na eficiência alimentar proporcionando um aumento diário de ganho de peso.

O aumento no ganho de peso dos animais suplementados com probióticos, segundo Arcuri et al (2006), é proporcionado pelo prováveis mecanismos de ação destes no ambiente ruminal, como alteração no número de bactérias ruminais, nas condições de anaerobiose do rúmen, no pH ruminal e na digestibilidade da fibra.

Meyer et al (2001) avaliou o efeito da adição de probiótico constituído de *L. acidophilus*, *E. faecium* e *S. cerevisiae* ao leite integral ou sucedâneo de leite, na alimentação de bezerros do nascimento ao desmame. Para tal os autores suplementaram os animais, em balde, a partir do 3º dia e do 15º dia de idade em bezerros. Os autores reportaram que os bezerros que receberam o sucedâneo com probióticos a partir de 3 dias de vida apresentam aumento de 37,5% sobre o ganho de peso diário e melhoria na conversão alimentar de na ordem de 32%, em relação aos animais que não receberam probiótico. Todavia, nos tratamentos com uso de leite e sucedâneo aos 15 dias de vida não houve efeito do fornecimento do probiótico.

Segundo Chaves et al (1999) avaliando a suplementação de probióticos na dieta de bezerros, observou que animais suplementados por 10 dias e 56 dias com *L. acidophilus* LT 516 apresentaram ganho de peso médio diário de 554g e 522g, respectivamente, enquanto o grupo controle apresentou valor médio de 570g. Sendo assim, os autores concluíram que o probiótico avaliado não causou efeito sobre o desempenho zootécnico dos animais, podendo tal resultado ter sido influenciado pelo modo de administração, qualidade do produto e condições do ambiente onde os ensaios foram realizados.

Estes resultados são corroborados por trabalhos de Pimenta-Junior, 2011; Lima et al, 2006; Gonçalves et al, 2000; Morrill; Morrill; Feyerherm, 1995, os quais relataram não haver diferença significativa no ganho de peso de bezerros tratados com probióticos. Segundo tais estudos, a ausência de efeito positivo dos probióticos sobre o ganho de peso de bezerros pode estar relacionado ao bom estado de saúde dos animais, uma vez que é difícil mostrar o benefício de probióticos em animais que não apresentam a microflora intestinal desordenada.

Apesar da literatura controversa, a adição de probiótico na alimentação dos animais, pode promover uma melhora na sanidade do animal tendo como consequência o aumento da produtividade. Sendo assim, preparações probióticas são consideradas potenciais substitutos dos antibióticos, utilizados como promotores de crescimento, uma vez que estes últimos são responsáveis por 20% dos resíduos presentes na carne e no leite, podendo gerar reações alérgicas, efeitos tóxicos diretos e seleção de bactérias resistentes (GEWEHR; LAWISCH, 2003; JACOBSON; CONSUMER, 2003).

Diversos estudos vêm demonstrando o efeito benéfico dos probióticos sobre a sanidade, assim como, melhor desempenho zootécnico de leitões (BUDIÑO et al 2012; JUNQUEIRA et al 2009; SANCHES et al 2006; BUDIÑO et al 2004; CORASSA, 2004; SANTOS et al 2002), frangos (KALAVATHY et al 2003; LAN et al, 2003; MAIORKA et al 2001; PANDA et al 2000; CUEVAS et al, 2000), ovinos (GALLINA, 2009; TEIXEIRA, 2011; CAMPOS et al 2004) e cachorros (COELHO, 2010; FELICIANO et al 2009; GONÇALVES et al 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Probióticos do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena - EEL/USP e, nas Fazendas Bela Vista, no Bairro Santa Galo do Município de Canas/SP e Fazenda Santa Rita, Bairro Angelina, Lorena – SP. Estas fazendas produzem, em média, 450 e 1500 litros/dia de leite Tipo B, respectivamente. Os ensaios foram devidamente realizados sem interferir na rotina de manejo dos animais das respectivas fazendas.

3.1 *Animais e manejo*

Na primeira etapa do trabalho visou-se avaliar o efeito de microrganismos probióticos sobre nematoidíase em bovinos jovens. Os ensaios foram realizados na Fazenda Bela Vista entre os meses de abril a agosto de 2011, utilizando-se 28 bezerros mestiços (H/Z), desmamados, de ambos os sexos, com idade entre 6 a 15 meses mantidos em regime de semi-confinamento.

Previamente, durante o período de aleitamento, estes animais foram mantidos em bezerreiro coletivo com piso de madeira, amamentados, ao pé da vaca, duas vezes ao dia, ao final de cada ordenha, recebendo como complemento capim elefante picado suplementado com concentrado. Durante o ensaio, estes bezerros foram mantidos em piquete de aproximadamente 2000m², contendo capim estrela-africana (*Cynodum nelfuensis*) e alimentados com uma dieta diária por animal constituída de: 481,25g de fubá de milho; 271,25g de farelo de trigo, 112,5g de sal mineral; 200g de sal comum; e como volumoso 12 Kg de cana de açúcar picada e 4 Kg de silagem de milho, colocada em cocho coletivo duas vezes ao dia.

Tendo em vista que estes animais se apresentavam debilitados, com desenvolvimento retardado, quadro de subnutrição e verminose, os mesmos receberam, via intramuscular, 4mL ferro e 5mL do complexo vitamínico ADE, antes do início dos ensaios.

Na segunda etapa do trabalho, desenvolvida na Fazenda Santa Rita, estudou-se o efeito dos microrganismos probióticos sobre o desenvolvimento de bezerras na fase de amamentação. Para tanto, foram utilizadas 15 bezerras mestiças (H/Z), nascidas no período de dezembro a abril de 2012, mantidas em bezerreiro de cimento e alimentadas ao “pé da vaca” 2 vezes ao dia. As bezerras com menos de 2 meses de idade receberam 600g/dia de ração granulada Ternerina - Presence[®], sendo que os animais com idade entre 2 a 4 meses receberam, diariamente em cocho coletivo, concentrado contendo: 200g farelo de trigo, 100g de polpa cítrica, 100g de caroço de algodão e volumoso a base de silagem de milho e capim napier. As bezerras foram mantidos em piquete coletivo (2500m²), contendo capim-estrela-africana, napier e *coast cross*, permanecendo estabulados no período noturno.

Todos os animais receberam água, sal mineral e sal comum *ad libidum*.

3.2 Microrganismos e preparação probiótica

No presente trabalho foram avaliadas quatro cepas de *Lactobacillus*, na forma de um “pool”, constituído por *L. plantarum* ATCC 8014, *L. acidophilus* ATCC 4356, *L. fermentum* ATCC 9338 e *L. acidophilus* ATCC 7469, adquiridas da coleção de culturas da Fundação André Tosello de Pesquisa e Tecnologia, Campinas/SP.

As respectivas cepas foram individualmente mantidas, a 4°C, em ágar MRS composto por: peptona (10g/L), extrato de carne (8g/L), extrato de levedura (4g/L), glicose (20 g/L), fosfato dipotássio (2g/L), acetato de sódio trihidratado (5g/L), citrato triamoniaco (2g/L), sulfato de magnésio

heptahidratado (0,2g/L), sulfato de manganês (0,05g/L), ágar (15g/L), Tween 80 (1ml/L).

Para a formulação do “pool”, as respectivas cepas foram reativadas individualmente por meio de repiques sucessivos em caldo MRS, pH 6,2, esterilizado a 121° C por 15 min, e incubadas a 37° C por 48h. Em seguida, volumes iguais de cada cultivo foram transferidos para frascos Erlenmeyer e homogeneizados para se obter uma preparação probiótica contendo aproximadamente 10^{11} UFC/mL de cada cepa. Este procedimento foi realizado semanalmente e a referida preparação probiótica mantida a 4°C até o momento da sua utilização. A contagem de células foi realizada por densidade óptica (DO) a 600 nm, por meio de uma curva de calibração (DO x UFC/mL).

A confirmação da identidade das culturas foi realizada periodicamente por coloração Gram, teste de catalase e plaqueamento por *pour plate*.

3.3 Delineamento experimental

3.3.1 Bezerros desmamados

Os bezerros foram mantidos na Fazenda Bela Vista e avaliados durante 120 dias, no período de abril a agosto de 2011. Estes animais foram previamente examinados quanto ao número de ovos por grama de fezes (OPG), conforme metodologia descrita no item 3.4.1., e este parâmetro utilizado para a distribuição dos animais em grupos. Devido ao estado de debilidade dos animais, optou-se por não estabelecer o grupo controle negativo (sem tratamento), sendo portanto, todos os animais tratados com probióticos ou anti-helmíntico, caracterizando dois grupos a saber:

- **Grupo A** – (15 animais) – os animais foram vermifugados com Diantel® 10% (closantel), administrado por via oral na dosagem de 1 mL/10 Kg PV, em dose única no início dos ensaios experimentais.

Seguindo instruções do fabricante, uma nova dose do vermífugo deveria ser repetida após 60 dias. Desta forma, após este período de experimento, este grupo foi subdividido em 2 subgrupos, sendo que 7 animais permaneceram como Grupo A, sem receber uma nova dose do vermífugo, com a finalidade de se verificar o processo de reinfecção dos animais. Os demais animais (8 bezerros) passaram a receber 10mL da referida preparação probiótica em dias alternados (segundas, quartas e sextas feiras) por mais 60 dias, a fim de se avaliar a ação dos microrganismos probióticos sobre o processo de reinfecção, compondo, desta forma, o Grupo A1.

- **Grupo B** – (13 animais) – os animais receberam por via oral, com auxílio de uma seringa descartável, doses de 10mL da referida preparação probiótica contendo 10^{11} UFC/mL de cada cepa de *Lactobacillus*, em dias alternados (segundas, quartas e sextas-feiras), durante o período experimental.

Para se avaliar a OPG dos animais, amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal a cada 15 dias. Da mesma forma, amostras de sangue foram colhidas quinzenalmente, por meio de uma punção na veia jugular externa com o auxílio de uma seringa e agulha esterilizadas (Figura 2) e transferidas para tubos contendo anticoagulante EDTA, e enviadas para análise no Laboratório de Análises Veterinárias - Clínica – Guaratinguetá/SP. Os animais tiveram seus pesos estimados nos dias inicial, 60 e 120 dias, utilizando-se uma fita de pesagem.

Figura 2. Coleta de sangue por punção na veia jugular

3.3.2 Bezerras em fase de aleitamento

Para avaliação do efeito da referida preparação probiótica sobre o ganho de peso de bezerras em fase de aleitamento até 4 meses de idade, pertencentes à Fazenda Santa Rita, foram estabelecidos 3 grupos, formados conforme nascimento das bezerras, sendo constituídos de 5 animais cada, a saber:

- **Grupo 1** (controle) - os animais foram tratados em conformidade com a rotina de manejo empregada na Fazenda Santa Rita.
- **Grupo 2** – além do tratamento de rotina, as bezerras receberam, por via oral e com o auxílio de uma seringa descartável, nos 5 primeiros dias de vida, doses diárias de 10 mL da preparação probiótica em estudo.
- **Grupo E** - além do tratamento de rotina, os animais receberam, a partir do nascimento e durante 4 meses seguidos, doses de 10 mL da referida

preparação probiótica em dias alternados (segundas, quartas e sextas-feiras).

Em intervalos de 30 dias os animais tiveram seus pesos estimados por meio do uso de fita de pesagem e amostras de sangue e fezes foram coletadas de cada animal e submetidas a exames de parasitológicos e leucometria.

Em conformidade com a rotina de manejo empregada na Fazenda Santa Rita, os animais foram vermifugados com albendazole (dosagem de 15mL/animal) e foram tratadas mensalmente com carrapaticida Ciperclor plus® *pour on* (contendo 50 g/L de cipermetrina, 70 g/L de clorpirifós, 50 g/L de butóxido de piperonila e 5 g/L de citronelal) ou acatak *pour on* (25g/L de fluazuron), na dosagem de 10ml para cada animal. Segundo orientação dos respectivos fabricantes a dose recomendada destes produtos corresponde a 1mL/ 10kg de PV do animal. Como tratamento complementar as bezerras receberam o antibiótico tetraciclina nos dias 30 e 60 dias de idade, via intramuscular, na dosagem de 10mL por animal, sendo a dose de 1mL/10kg de PV preconizada pelo fabricante.

3.4 Métodos analíticos

3.4.1 Exame parasitológico

As amostras de fezes foram analisadas para se determinar as contagens de ovos por grama de fezes (OPG) de acordo com a técnica de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939) modificada. Para tanto, foram pesadas 2g de fezes frescas ressuspendidas em 28 mL de solução hiper-saturada de NaCl (densidade de 1,220g/mL) homogeneizadas e filtradas em tâmises. Em seguida, a suspensão fecal foi homogeneizada e retiradas duas pequenas

alíquotas transferidas para câmara de McMaster para a quantificação de ovos por meio de microscopia óptica.

Para a análise das coccidioses, como eimeriose e criptosporidiose, parte das fezes foi misturada a uma solução de Dicromato de potássio a 2,5% e conservadas a 4°C. Para isolamento e identificação dos oocistos nas fezes, as amostras conservadas foram centrifugadas a 2200 x *g*, por 15 minutos, para a retirada do Dicromato, e processada por meio da técnica de centrífugo-flutuação em açúcar (CFA), desenvolvida por Figueiredo et al (1984).

3.4.2 Perfil Hematológico

As amostras de sangue foram avaliadas para a quantificação de leucócitos, hemácias e plaquetas por meio da leitura em aparelho Poch 100iv da marca Sysmex, sendo que a diferenciação leucocitária foi realizada por esfregaço corado pelo kit Instant Prov e analisado por microscopia óptica.

Os animais mais debilitados da Fazenda Bela Vista, foram analisados quanto à presença de hemoparasitas, como *Anaplasma* e *Babesia*, sendo esta análise confirmada por esfregaços de sangue periférico, coletado da orelha.

3.5 Análise dos Resultados

No ensaio com bezerros desmamados, o delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com dois tratamentos, contendo o Grupo A quinze repetições e o Grupo B treze repetições, sendo a contagem de OPG dos animais no início dos ensaios o critério para a formação dos blocos. Não foi levado em consideração a idade, sexo ou raça dos animais devido ao pequeno número amostral. Após 60 dias, o Grupo A foi subdividido, utilizando o mesmo

critério para a formação dos grupos de tratamentos, permanecendo nos Grupo A e A1 sete e oito repetições, respectivamente. Os resultados foram interpretados como experimento inteiramente casualizado com diferentes números de repetições, e analisados por meio de análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey e teste de F adotando-se o nível de 1 e 5% de probabilidade. Para se avaliar o efeito da helmintíase sobre a anemia, foi realizada a correlação entre a contagem de OPG e a concentração de hemácias sanguíneas por meio do programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta.

No ensaio com as bezerras em aleitamento, o delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com três tratamentos (Grupos 1, 2 e 3) e cinco repetições em cada grupo, sendo a ordem de nascimento utilizado para a formação dos blocos. A análise dos resultados foram realizadas conforme descrito anteriormente.

3.6 Aspectos Éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal - CEUA do Centro Universitário de Volta Redonda - UniFOA, tendo como protocolo n.º 045/12.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre a helmintíase em bezerros desmamados

A verminose bovina, doença infecciosa causada por espécies de nematoides, cestoides ou trematoides, tem sido apontada como um dos importantes pontos de estrangulamento dos Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e de Leite, acarretando em prejuízos com tratamento da diarreia, queda de produtividade e até morte de animais (YAZWINSKI; TUCKER, 2006; OLIVEIRA et al, 2001).

Conforme demonstrado na Figura 3A, observa-se que os animais desmamados, pertencentes à Fazenda Bela Vista, encontravam-se debilitados, com pêlos arrepiados e desenvolvimento retardado, aspectos que caracterizam a presença de verminose. A parasitose foi confirmada por meio de exame parasitológico dos bezerros (Figura 3B) realizado antes de se iniciar os experimentos. Desta forma, os animais foram submetidos a diferentes tratamentos cujos resultados relativos aos valores de OPG se encontram apresentados na Tabela 2. A debilidade dos bezerros aliada à elevada contagem de OPG, acima dos valores de referência (300-600 OPG), demonstra a gravidade do estado de saúde dos animais e a necessidade de tratamento dos animais, conforme sugerido por Soulsby (1968), o que justifica a ausência do grupo controle, que corresponderia aos animais não tratados.

**Figura 3. A - Estado de sanidade de uma bezerra desmamada;
B - ovos de nemátodas isolados das fezes dos animais
(100X em microscopia óptica)**

Verifica-se que o tratamento com closantel foi eficaz, uma vez que reduziu gradativamente a contagem de ovos nas fezes ao longo de 45 dias de ensaio, atingindo a eficácia máxima de 93,75% conforme revelado pelos valores médio de OPG dos animais do Grupo A. Conforme descrito por Furlan et al (2009), esta resposta se deve ao seu mecanismo de ação sobre as reações de fosforilação oxidativa nas células dos parasitos, interrompendo a produção de energia levando os nemátodas à morte, diminuindo a contagem de OPG do hospedeiro.

Tabela 2. Valores médios da contagem de ovos eliminados nas fezes (OPG) de bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de experimento (dias)		Grupo A		Grupo B		Grupo A1	
		Média $\pm \sigma$	% Redução da OPG	Média $\pm \sigma$	% Redução da OPG	Média $\pm \sigma$	Relação A / A1
Abril	Início dos ensaios	960 ^a $\pm$ 645	-	665 ^a $\pm$ 707	-	-	
	15	467 $\pm$ 694	51,35	523 $\pm$ 381	21,35	-	
Maio	30	103 $\pm$ 197	89,27	625 $\pm$ 632	6,02	-	
	45	60 $\pm$ 134	93,75	462 $\pm$ 393	30,53	-	
Junho	60*	93 ^a $\pm$ 132	90,31	881 ^b $\pm$ 949	-	163 ^a $\pm$ 130	0,62
	75	439 $\pm$ 444	54,27	493 $\pm$ 459	25,86	253 $\pm$ 216	1,64
Julho	90	875 $\pm$ 1179	8,85	308 $\pm$ 332	53,68	338 $\pm$ 264	2,36
	105	1464 $\pm$ 1406	-	504 $\pm$ 468	24,21	369 $\pm$ 281	3,60
Agosto	120*	2707 ^a $\pm$ 2835	-	777 ^b $\pm$ 665	-	706 ^b $\pm$ 418	3,61

Média $\pm \sigma$ - média dos valores de OPG dos animais $\pm$ desvio padrão

¹ Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

Grupo A - Bezerros tratados com anti-helmíntico (closantel) no início dos ensaios; Grupo B - Bezerros tratados com a preparação probiótica em dias alternados; Grupo A1- Bezerros tratados com o anti-helmíntico no início dos ensaios e após 60 dias com o probióticos em dias alternados.

* Médias seguidas de letras minúsculas distintas mesma linha diferem entre si (P<0,05)

Entretanto, 60 dias após a vermifugação, observou-se um processo de re-infecção dos bezerros o que pode ser verificado por meio do aumento gradual da contagem de OPG das fezes dos animais tratados com o anti-helmíntico. Este resultado pode ser explicado pelo manejo adotado pela Fazenda Bela Vista que consiste em manter os animais em regime de semi-confinamento, o que acarreta numa constante contaminação das pastagens com os ovos dos nemátodos os quais após maturação transformam-se em larvas infectantes que re-infectam os animais, tornando necessário uma nova aplicação do anti-helmíntico, conforme preconizado pelo fabricante (TAYLOR; COOP, WALL, 2010; STROMBERG; GASBARRE, 2006).

A preparação probiótica em estudo foi capaz de controlar a helmintíase, uma vez que se observou redução de 53,68% na contagem de OPG nos animais do Grupo B após 90 dias de tratamento, apesar de não haver diferença significativa ($P>0,05$) nos diferentes tempos de ensaio. Nota-se, ainda, que no início dos ensaios o valor médio de OPG (665 ± 707) dos animais tratados com a preparação probiótica não apresentou diferença significativa quando comparado com o valor (777 ± 665) obtido após 120 dias de tratamento, demonstrando que a preparação probiótica manteve estabilizado o quadro de re-infecção dos animais, sem promover aumento significativo na eliminação de ovos nas fezes.

Os resultados apresentados na Tabela 2 demonstram ainda que durante os primeiros 60 dias de tratamento, o anti-parasitário foi mais eficaz em relação à preparação probiótica, o que demonstra que este produto apresenta ação pontual e rápida (Grupo A = 93 ± 132 e Grupo B = 881 ± 949). Em contrapartida, os microrganismos probióticos promoveram uma redução na eliminação de ovos nas fezes dos animais somente após 90 dias de tratamento, mostrando ser mais duradoura, uma vez que, após 120 dias de ensaios, observou-se valor médio na contagem de OPG nas fezes dos bezerros do Grupo B (777 ± 665) significativamente menor ($P<0,05$) quando comparada com a média de OPG dos animais do Grupo A (2707 ± 2835), conforme análise estatística dos

resultados apresentada na Tabela 3, demonstrando que os lactobacilos foram eficazes no controle da re-infecção dos animais.

Tabela 3. Análise estatística dos resultados referente a contagem de OPG nas fezes de bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos

Tempo analisado	Comparação estatística	Médias	SQ	F	P	CV (%)
Dia inicial	Grupo A Grupo B	960 665	604487	1.33 ns	0,26	81.9
Dia 60	Grupo A Grupo A1 Grupo B	93 ^b 163 ^b 881 ^a	3943557	4.47 *	0.02	138.8
Dia 120	Grupo A Grupo A1 Grupo B	2707 ^a 706 ^b 777 ^b	20134378	4.60 *	0.02	119.4

SQ = Soma de quadrado; F = Estatística do teste F; CV = Coeficiente de variação em %

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0.05$); ns - não significativo ($P \geq 0.05$).

Observa-se que apesar do alto coeficiente de variação dentro dos grupos de tratamentos, que se deve provavelmente a diversos fatores que interferem na sanidade do animal, como genética, raça, idade e alimentação, o tratamento com a preparação probiótica foi eficaz no controle da infecção pelos nematódeos, apresentando diferença significativa ($P = 0,02$) ao final dos ensaios .

Com a finalidade de se verificar a ação dos microrganismos probióticos sobre o processo de re-infecção dos animais, os bezerros do Grupo A, vermifugados no início do experimento, foram distribuídos em dois subgrupos, após 60 dias de ensaio, permanecendo os animais do Grupo A sem receber nova dose do vermífugo, conforme recomendado pelo fabricante, e os animais do Grupo A1 passaram a receber tratamento complementar que consistiu na

administração da preparação probiótica 3 vezes por semana, à semelhança do Grupo B. Observa-se (Figura 4) que, no período entre 60 e 120 dias, o aumento gradativo nos valores de OPG observado nos animais do Grupo A, sendo 261% superior ao obtido nos animais tratados com probiótico no final dos ensaios. Estes resultados confirmam a ação positiva da preparação probiótica em estudo no sentido de interferir no processo de re-infecção dos bezerros. Nota-se ainda que os animais do Grupo A1 apresentaram valor médio de OPG acima dos valores de referência (300-600OPG) somente a partir de 120 dias de tratamento, o que permite supor adiar por 60 dias a nova vermifugação, reduzindo o custo de produção.

Figura 4. Valores de OPG nas fezes de bezerros desmamados, naturalmente infectados, submetidos a vermifugação (Grupo A) e a vermifugação acompanhada de tratamento com probióticos (Grupo A1)

Grupo A - animais tratados com anti-helmíntico no início do ensaio; Grupo A1 - animais tratados com o anti-helmíntico no início do ensaio e com a preparação probiótica após o 60º dia do ensaio

Os resultados representados na Figura 4 demonstram que inicialmente não há diferença significativa entre os valores de OPG dos grupos

experimentais, todavia após 75 dias de ensaio nota-se o aumento progressivo da contagem de OPG dos animais não tratados com a preparação probiótica, sendo este valor significativamente maior aos 120 dias de tratamento, o que demonstra que a preparação probiótica avaliada foi eficaz ao interferir no processo de re-infecção da helmintíase.

Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Teixeira (2011), que observou, em ovinos naturalmente infectados com *Haemonchus* e tratados com a mesma preparação probiótica avaliada neste estudo, 66,3% de redução da OPG após 30 dias de tratamento. Assim como observado no presente estudo, os microrganismos probióticos, apesar de induzirem uma acentuada redução na contagem de OPG dos animais, não foram capazes de eliminar totalmente a infecção. Desta forma, a inclusão da referida preparação probiótica na dieta dos animais pode ser usada como tratamento complementar aos anti-helmínticos. O autor observou também que o *pool* de lactobacilos, apesar de não eliminar totalmente a verminose, permitiu a manutenção da contagem de OPG constantemente abaixo do observado nos animais do grupo controle.

Coelho (2010) avaliando o antagonismo da mesma preparação probiótica sobre ancilostomíase canina, relatou que os animais tratados com os probióticos apresentaram uma redução de 88,83% no número de ovos por grama de fezes após 28 dias de tratamento, quando foi interrompido. O autor relatou, também, após 14 dias do final do tratamento (42 dias de ensaio) houve um processo de re-infecção dos animais demonstrando a importância da inclusão da preparação probiótica na dieta diária dos animais.

Resultados apresentados por Mussi, Mattos, Balthazar (2008) corroboram com o efeito dos probióticos sobre helmintíase, observado no presente estudo, uma vez que estes autores demonstraram redução de 100% da eliminação de ovos nas fezes de cães infectados com nematódeos tratados com leveduras com propriedades probióticas.

A redução da contagem de OPG dos bezerros pode estar relacionada ao efeito imunomodulador promovido pela preparação probiótica estudada. Duarte (2011) demonstrou que o *pool* de *Lactobacillus*, que compõe esta preparação

probiótica, foi capaz de induzir aumento da população de leucócitos sérico e da concentração de IgA na mucosa intestinal em camundongos *swiss*. Em trabalho desenvolvido por Galdeano et al (2009) foi observado aumento do número de células intestinais relacionadas à barreira imunológica inespecífica, assim como das células imunológicas associadas ao intestino. Desta forma, esta imuno-estimulação desencadeia o equilíbrio nas relações parasito-hospedeiro permitindo uma menor ovoposição ou estabilização da população de helmintos. O efeito imunomodulador explicado pelos autores supracitados, pode explicar os resultados observados com os animais tratados com a preparação probiótica, que mantiveram a contagem de OPG sem variações significativas (Grupo B), ou mantiveram a eliminação de ovos nas fezes significativamente menor comparados aos animais do Grupo A.

Segundo Bautista-Garfias (2001) microrganismos probióticos também podem apresentar ação direta sobre os parasitos por meio da produção de antimicrobianos, uma vez que camundongos tratados com o sobrenadante de culturas de lactobacilos probióticos apresentaram uma redução na carga parasitária de *Trichinella spiralis*, mecanismo que também pode explicar a menor contagem de OPG dos animais tratados com a preparação probiótica comparados aos não tratados.

Além do efeito de imuno-estimulação e produção de substâncias antimicrobianas por espécies probióticas, estas podem interferir na colonização do trato gastrointestinal (TGI) dos animais por meio da formação de um biofilme que reduz o processo de re-infecção e adesão de enteropatógenos. Esse efeito pode não ter ação direta sobre a adesão de larvas infectantes ou vermes adultos na mucosa intestinal, porém pode diminuir a incidência de infecções secundárias comuns em helmintíase, principalmente em bezerros. Conforme demonstrado na literatura as bactérias com propriedades probióticas apresentam efeitos antagônicos a enteropatógenos como *Cryptosporidium parvum* (COUTINHO, 2008), *Eimeria* (PEREIRA, 2007), *E. coli* (CHEN, 2010) e *Salmonella* sp. (FAYOL-MESSAOUDI, 2007) e rotavírus (PANT et al, 2007), os quais causam, frequentemente, infecções diarreicas em bovinos.

Segundo estudos desenvolvidos por Mokhber-Dezfouli et al (2007) e Ávila et al (2000) bezerros tratados com probiótico a base de lactobacilos apresentaram menor incidência de diarreia (11,33% e 30% de casos, respectivamente) quando comparados com os respectivos controles que corresponderam a valores de 58,33% e 69%, respectivamente. Signorini et al (2011) também constataram que a suplementação alimentar de bezerros com bactérias lácticas, antes do desmame, foi capaz de exercer efeito protetor reduzindo a frequência de diarreias, reforçando a ideia de que essa prática promove equilíbrio da microbiota do trato gastrointestinal dos animais.

Estudo realizado por Donavan; Franklin; Chase (2002) demonstram que bezerros recém-nascidos suplementados com antibióticos (oxitetraciclina 138 mg/kg e neomicina 276 mg/kg) apresentaram incidência de diarreia semelhante aos animais que receberam uma preparação simbiótica como suplemento, demonstrando que esta preparação pode reduzir a incidência de infecção causada por enteropatógenos, apresentando o mesmo efeito que os antimicrobianos.

Conforme reportado por Sun; Wang; Zhang (2010), o processo infeccioso, assim como os sintomas resultantes da verminose, é influenciado pelo sistema imunológico e o estado nutricional dos bezerros, que são fatores que podem influenciar na liberação de ovos nas fezes. Esta observação pode sustentar a elevada variação dentro dos grupos experimentais dos valores médios de OPG, que resultou em valores altos de desvio padrão, verificada nos animais avaliados (Tabela 2 e Apêndice A).

A eliminação total da infecção dos animais é dependente de um conjunto de fatores, como: temperatura, precipitação pluviométrica, solo, tipo e manejo de pastagem, espécie, raça, idade, estado fisiológico e nutricional e manejo dos animais (DORCHIES, 2008; MURPHY et al, 2006). O nível de contaminação da pastagem com as larvas infectantes, assim como o estado nutricional dos animais são fatores que podem ter dificultado a cura dos bezerros avaliados no presente estudo.

Estas observações permitem inferir que o uso frequente de uma preparação probiótica na dieta de bovinos jovens e adultos pode trazer efeitos benéficos para a saúde do animal em substituição ao uso de drogas terapêuticas, que induzem a seleção de parasitos resistentes, bem como deixam resíduos nos respectivos derivados, além de serem tóxicos para o animal, homem e meio ambiente (SCZESNY-MORAES et al, 2010; CADIOLI et al., 2008; MACARI; FURLAN, 2005). Ademais, o efeito positivo de microrganismos probióticos sobre helmintíase, pode acarretar em menor número de vermifugações, redução do custo de produção e aumento da produtividade.

4.2 Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o eritrograma de bezerros desmamados

Um dos efeitos resultantes de parasitoses severas no metabolismo do animal consiste na presença de anemia, devido a hematofagia dos parasitos, rompimentos de capilares durante a fixação do verme adulto ou ação indireta destes que podem desencadear a formação de úlceras gastrintestinais que promovem o sangramento da mucosa (CRAIG, 2008; LIMA et al 2004; MOLENTO et al, 2004). Sendo assim, no presente trabalho avaliou-se o efeito dos tratamentos com a preparação probiótica e o anti-helmíntico sobre o estado de anemia dos animais desencadeada pela verminose, cujos resultados encontram-se apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores médios do eritrograma de bezerros desmamados, naturalmente infectados por helmintos, submetidos a diferentes tratamentos

Valores de Referências ¹	Hemácias			Hematócrito			Hemoglobina			VCM			HCM		
	7 - 10,5 x 10 ⁶ /mm ³			26 - 38 %			7,5 - 13,5 g/dL			> 45 fL			12 - 15 pg		
Tempo de Experimentos (dias)	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^{ab}	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^{ab}	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^{ab}	Grupo A	Grupo B	Grupo A1	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^b
Início – dia 0	5,6	6,6	-	21,8	25,7	-	6,7	7,8	-	39	39	-	16	12	-
15	6,0	7,0	-	24,8	28,0	-	8,7	8,5	-	41	39	-	15	12	-
30	5,7	6,3	-	23,1	25,1	-	7,0	7,6	-	42	40	-	13	12	-
45	6,4	6,8	-	28,7	30,7	-	8,0	8,5	-	47	45	-	13	13	-
60*	5,5	6,4	6,1	22,8	26,3	24,2	7,0	8,0	7,5	41	41	40	13	13	13
75	5,9	6,8	6,5	23,8	27,0	25,7	7,4	8,2	7,8	41	40	40	13	12	12
90	5,5	6,7	6,1	22,5	26,3	24,0	6,9	8,0	7,2	41	39	40	13	12	12
120	4,7	6,3	6,0	22,1	27,0	24,8	6,1	7,7	7,1	47	43	42	13	12	12

VCM - Volume corpuscular médio; HCM - Hemoglobina corpuscular média; * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

Grupo A - Bezerros tratados com anti-helmíntico (closantel) no início dos ensaios; Grupo B - Bezerros tratados com a preparação probiótica em dias alternados; Grupo A1 - Bezerros tratados com o anti-helmíntico no início dos ensaios e após 60 dias com o probióticos em dias alternados.

Grupos seguidos de letras minúsculas distintas na mesma linha diferem entre si (P<0,05)

¹ BORGES et al, 2011.

Observa-se que, apesar da administração de 4mL de Ferro/animal previamente ao início dos experimentos, todos os animais se mantiveram anêmicos durante o período experimental, independente do tratamento utilizado, apresentando concentração média de hemácias e hemoglobina limítrofe ou menor aos valores de referência. Este resultado encontra-se sustentado no parâmetro referente ao volume corpuscular médio (VCM), que se encontra abaixo de 45fL, que, de acordo com Silva et al (2005), caracteriza quadro de anemia microcítica. Essa observação pode indicar ainda a existência de uma anemia ferropriva a qual pode ter sido desencadeada pelo quadro de má nutrição dos animais, comum em verminoses com destaque para as parasitose haemonchose e oesofagostomose (STROMBERG; GASBARRE, 2006; GREGORY, 2005; BROOKER, BETHONY; HOTEZ, 2004).

No tocante aos animais do Grupo A, verifica-se que os mesmos apresentaram redução na concentração de hemácia e hemoglobina ao final do tratamento, apesar desta não ser significativamente diferente ($P>0,05$). Verifica-se também que não houve diferença significativa entre os valores obtidos para parâmetros sanguíneos avaliados, referentes aos animais do Grupo B e A1, confirmando que os tratamentos foram incapazes de eliminar o estado anêmico dos animais, apesar destes apresentarem menor redução dos níveis de hemácias e hemoglobinas séricas.

Em contrapartida, a população de hemácias dos animais do Grupo A, após 120 dias de experimento, foi significativamente ($P<0,05$) menor quando comparada com animais dos Grupos B e A1 que foram tratados com a preparação probiótica (Figura 5). Esses resultados sugerem que o efeito de redução do processo da re-infecção dos bezerros pelos helmintos promovido pelo *pool* de *Lactobacillus*, aos final dos ensaios, pode ter atenuado o quadro de anemia desses animais, além da ação direta dessas espécies sobre a absorção de ferro e outros minerais.

Figura 5. Relação entre os valores médios da OPG (barra) e a concentração média de hemácias (linha) nos bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos

* Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1; Grupo A - Bezerros tratados com anti-helmíntico (closantel) no início dos ensaios; Grupo B - Bezerros tratados com a preparação probiótica em dias alternados; Grupo A1 - Bezerros tratados com o anti-helmíntico no início dos ensaios e após 60 dias com o probióticos em dias alternados.

Os resultados referentes à baixa eficácia de probióticos sobre a anemia são semelhantes aos obtidos por Teixeira (2011) o qual constatou que ovinos tratados com a mesma preparação probiótica em estudo não foram capazes de recuperar à população normal de hemácias assim como a concentração de hemoglobina sérica.

Segundo resultados apresentados na Tabela 5, observa-se coeficientes de correlação negativos entre a contagem de OPG e a população de hemácias séricas nos diferentes grupos, o que demonstra que estes parâmetros são inversamente proporcionais. Nota-se, também, que não houve correlação significativa entre a OPG e a concentração de hemácias dos animais tratados com a preparação probiótica (Grupo B e A1), demonstrando que o nível de infecção não interferiu no quadro de anemia desses animais, conforme correlação negativa não significativa. Em contrapartida, observa-se significativa correlação negativa significativa destes parâmetros nos animais do Grupo A, indicando que o aumento da infecção ao final dos ensaios agravou o estado anêmico dos bezerros.

Tabela 5. Coeficiente de correlação entre os valores médios da OPG e a concentração média de hemácias nos bezerros desmamados submetidos a diferentes tratamentos

Tratamentos	Coeficiente de correlação (R)	Significância
Grupo A	-0,831	**
Grupo B	-0,676	ns
Grupo A1	-0,482	ns

** Presença de correlação entre os fatores analisados
ns ausência de correlação entre os fatores analisados

Resultados similares foram observados por Coelho (2010) que demonstrou que cães tratados com o mesmo *pool* de *Lactobacillus*, comparados ao grupo controle, apresentaram menor redução da população de hemácias no sangue periférico ocasionado pela verminose. Segundo o autor, a justificativa para tal efeito consiste na diminuição do número de parasitos ou ação direta dos probióticos que são capazes de aumentar a biodisponibilidade de ferro absorvível. O efeito do probiótico sobre o ferro está relacionado com a produção de ácidos orgânicos de cadeia curtas, que ao diminuir o pH intestinal melhora a solubilização de minerais, facilitando a absorção dos mesmos (SAKAI et al, 2000). Consequentemente, o aumento da absorção de ferro promove o aumento na produção de eritrócitos.

Segundo Veloso (2004), as verminoses podem modificar a fisiologia do trato gastrointestinal, interferindo nas vilosidades intestinais, o que promove má absorção dos nutrientes dificultando a recuperação dos animais mesmo após a redução do número de OPG, fator que poderia explicar os resultados dos animais do Grupo A.

A eritropenia e a baixa produção de hemoglobina observado em todos os animais avaliados, pode representar quadro de desnutrição proteica ou férrica dos animais, que pode ter sido desencadeado pela baixo consumo de alimentos concentrados e excesso de sal na dieta, além da parasitose. Sendo assim, visando a melhora e manutenção da sanidade dos bezerros da Fazenda

Bela Vista, terminados os ensaios, introduziu-se na dieta dos animais uma formulação de sal proteinado contendo 50Kg de sal comum, 30Kg de mineral concentrado 130, 30Kg de farelo de arroz, 25Kg de farelo de algodão 38%, 25Kg de uréia pecuária e 20Kg de probiótico ProbioTeck administrado *ad libidum* aos animais.

4.3 Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o leucograma dos bezerros desmamados

Estudos revelam que a utilização de microrganismos probióticos na dieta pode promover o efeito de imunomodulação, estimulando a resposta imunológica celular ou humoral, porém por meio de mecanismos de ação não totalmente elucidados (DUARTE, 2011; GALDEANO et al, 2009; WEHKAMP et al, 2004; SILVA et al, 2002; ISOLAURI, 2001). Sendo assim, no presente estudo avaliou-se o efeito dos diferentes tratamentos sobre o sistema imunológico dos animais, tendo como parâmetro contagem diferenciada de células leucocitárias, conforme apresentado na Tabela 6.

Verifica-se que inicialmente os animais apresentavam valores normais no tocante a leucócitos totais, dentro da faixa de referência, que segundo Birgel-Junior et al. (2001) correspondendo a 13900 leucócitos/mm³ e de acordo com Borges et al. (2011) equivalente a 16840 leucócitos/mm³. Assim como demonstrado pelos mesmos autores, o quadro leucocitário dos animais foi ocasionado, em geral, pelo perfil linfocitário, que no decorrer dos ensaios usualmente apresentou-se com mais de 60% de valor relativo.

No presente estudo, nota-se (Tabela 6) que não houve diferença significativa quanto a variação de leucócitos totais nos animais do Grupo A, ao longo do tratamento, porém observou-se aumento acentuado na concentração de neutrófilos a partir dos 45 dias de ensaio, acompanhado por uma diminuição significativa de linfócitos típicos. Verifica-se ainda que a concentração de eosinófilo variou entre nulo e 98/mm³, no dia inicial e após 45 dias,

respectivamente. Entretanto, no que se refere aos animais do Grupo B, observou-se que não houve diferença significativa ($P>0,05$) na redução da concentração de linfócitos típicos.

A análise estatística dos resultados referente ao eritrograma revelou que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os Grupos A e B ao longo do experimento. Em contrapartida, os resultados referentes à contagem de linfócitos típicos no sangue de animais do Grupo A1, após 120 dias, demonstraram que os valores obtidos foram maiores ($P<0,05$) em relação ao Grupo A. Observou-se, também que houve diferença significativa da população leucocitária entre esses grupos ao término do experimento, sendo que os animais do Grupo A, apresentaram uma queda significativa ($P<0,05$) de leucócitos, enquanto os bezerros do Grupo A1 apresentaram aumento nesta população. Desta forma, pode-se inferir que a preparação probiótica em estudo foi capaz de estimular o sistema imunológico dos animais.

Os resultados referentes ao quadro leucocitário divergem do estudo realizado por Duarte (2011) que ao avaliar o efeito imunomodulador das mesmas espécies de *Lactobacillus* em camundongos saudáveis, observou aumento da população leucocitária, principalmente de monócitos, no perfil hematológico de animais tratados com a referida preparação, células que não apresentaram variação significativa neste estudo.

Entretanto, estudos realizados com camundongos tratados com probióticos por Vinderola; Medice; Perdígón (2004) apresentou resultado semelhante, quanto ao aumento da população linfocitária de animais tratados com microrganismos probióticos. Segundo Borchers (2009), Sheil et al. (2006) e Budino et al. (2004), alguns gêneros de bactérias intestinais como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estão diretamente relacionados com o aumento da resposta imune por meio da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, proliferação de células T, aumento do número de neutrófilos e monócitos, produção de Interferon, Interleucina-2 (IL-2) e outros metabólitos.

Tabela 6. Valores médios do leucograma (mm³) de bezerros desmamados, naturalmente infectados por helmintos, submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de Experimentos (dias)	Leucócitos totais			Neutrófilos segmentados			Linfócitos típicos			Neutrófilos bastonetes		
	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^b	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^b	Grupo A ^a	Grupo B ^b	Grupo A1 ^b	Grupo A	Grupo B	Grupo A1
Início – dia 0	13780	15515	-	1827	2785	-	12310	12670	-	28	0	-
15	14627	15385	-	1675	1647	-	12889	13659	-	12	57	-
30	13447	14815	-	1309	2063	-	11992	12612	-	49	59	-
45	15820	15531	-	5886	5305	-	10329	10547	-	0	0	-
60*	13586	15615	15986	3811	6231	7857	9774	9586	8291	0	0	0
75	14571	16577	17525	6657	5782	6533	7914	10979	10916	0	0	0
90	12057	14715	14388	4255	4322	6338	7802	10261	8034	0	0	0
120	11550	13792	16475	3864	3322	5597	7642	10424	10659	26	0	114

Tabela 6. Continuação

Tempo de Experimentos (dias)	Eosinófilos			Monócitos			Plaquetas (x10 ³)		
	Grupo A	Grupo B	Grupo A1	Grupo A	Grupo B	Grupo A1	Grupo A	Grupo B	Grupo A1
Início – dia 0	98	34	-	0	26	-	362	241	-
15	57	9	-	0	13	-	236	281	-
30	54	68	-	6	30	-	356	220	-
45	0	31	-	0	0	-	317	278	-
60*	0	0	0	0	0	31	396	367	458
75	0	0	0	0	7	118	219	228	226
90	0	0	0	0	0	15	283	258	314
120	0	0	0	17	127	92	426	265	365

* Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1; Grupo A - Bezerros tratados com anti-helmíntico (closantel) no início dos ensaios; Grupo B - Bezerros tratados com a preparação probiótica em dias alternados; Grupo A1 - Bezerros tratados com o anti-helmíntico no início dos ensaios e após 60 dias com o probióticos em dias alternados.

Segundo Shu, Qu e Gill (2001) leitões tratados com *Bifidobacterium lactis* HN010 apresentaram aumento da resposta proliferativa de linfócitos T, corroborando para os resultados do presente estudo, referente ao aumento de linfócitos típicos. Esses autores também observaram aumento da quantidade de neutrófilos, assim como elevação da concentração sanguínea de anticorpos, levando à diminuição da incidência de diarreia.

Pereira (2007) reportou diminuição leucocitária sérica em *Rattus norvergillus* infectados com *Eimeria*, assim como observado nos Grupos A e B, explicando que esta pode estar relacionada com o estímulo da produção de citocinas no intestino, promovido pela colonização intestinal pelos lactobacilos ou pela parasitose, que estabeleceu um aumento da diapedese para o tecido parasitado influenciando na ação das células imunológicas sobre os parasitos.

O aumento da população linfocitária dos animais dos Grupos B e A1 (Tabela 6) podem ser explicados em conformidade com as observações relatadas por Murphy; Travers; Walport (2009), que afirmam que a resposta imunológica contra helmintíase é dependente da proliferação dos linfócitos T CD4+ para resposta Th2, o que aumenta a secreção de diversas citocinas (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) as quais estimulam a produção de anticorpos, especialmente IgE pelos linfócitos B, efetivos contra o parasito.

No tocante a concentração de células neutrófilas observa-se (Tabela 6) que os valores de neutrófilos segmentados séricos, referentes aos Grupos A1 e B, apresentaram redução maior no período entre 60 e 120 dias de experimento, quando comparados ao Grupo A, indicando que a colonização do TGI pelos microrganismos probióticos pode ter estimulado a produção de citocinas na mucosa intestinal, como a interleucina-12 e INF- γ , que ativam o efeito quimiotático sobre os neutrófilos, intensificando sua capacidade de produção de superóxido e desgranulação que pode ter influenciado na redução da re-infecção pelos helmintos, reduzindo conseqüentemente a OPG (GARRETT; GORDON; GLIMCHER, 2010; SAXELIN et al., 2005; DRAKES, BLANCHARD, CZINN, 2004).

Não foi observado diferença significativa entre os grupos experimentais quanto às populações de neutrófilos bastonetes, eosinófilos, monócitos e plaquetas.

4.4 Avaliação da helmintíase e do tratamento probiótico sobre o ganho de peso de bezerros desmamados

A verminose retarda o desenvolvimento de bezerros, desencadeando em perdas econômicas para os produtores. Sendo assim, neste estudo avaliou-se o efeito dos referidos tratamentos sobre o ganho de peso dos animais (Tabela 5), tendo em vista que estudos relatam o uso de probióticos como promotores de crescimento (PINHEIRO; SOBRINHO; YAMAMOTO, 2007; FOX, 1997).

Por meio dos resultados mostrados na Tabela 7, verifica-se que os animais não apresentaram ganho de peso significativo independente dos tratamentos. Esses resultados se devem, provavelmente, ao fato de que os animais se encontram infectados (Tabela 2) por helmintos, debilitados devido à má nutrição e ao período da seca, quando a pastagem é escassa.

A análise estatística desses resultados não revelou diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos avaliados, porém vale destacar que os animais do Grupo B, tratados com a preparação probiótica, apresentaram ganho médio de peso de 15kg após 120 dias de experimento, enquanto os animais do Grupo A, tratados com vermífugo, apresentam ganho médio de peso de 6Kg.

Tabela 7. Médias $\pm$ desvio padrão do peso (Kg) de bezerros desmamados, naturalmente infectados, submetidos a diferentes tratamentos

Grupos de animais	Tempo de experimentação (dias)		
	Início dos ensaios	60	120
A	134 $\pm$ 31,32	149 $\pm$ 28,54	140 $\pm$ 37,77
B	130 $\pm$ 31,52	149 $\pm$ 25,80	145 $\pm$ 29,51
A1	-	146 $\pm$ 33,41	146 $\pm$ 29,09

Grupo A - Bezerros tratados com anti-helmíntico (closantel) no início dos ensaios; Grupo B - Bezerros tratados com a preparação probiótica em dias alternados; Grupo A1 - Bezerros tratados com o anti-helmíntico no início do ensaio e após 60 dias com o probióticos em dias alternados. Médias seguidas de letras minúsculas distintas (a,b) diferem significativamente entre si ($P < 0,05$);

A metodologia aplicada no presente trabalho buscou não interferir na rotina da fazenda, o que não permitiu controlar fatores externos que podem influenciar no ganho de peso dos bezerros como o sexo, idade, genética e ingestão individual de alimentos. Todavia, observou-se que os animais tratados com os probióticos, durante 120 dias, apresentaram ganho de peso 250% superior em relação que os animais tratados com o anti-helmíntico, quando mantidos nas mesmas condições de manejo.

Este resultado pode estar relacionado a ação do probiótico sobre a infecção por helmintos ou pelo efeito direto da preparação probiótica na melhora da digestibilidade dos animais (JUNQUEIRA et al 2009; ARCURI et al 2006; SAAD, 2006).

O ganho de peso apresentado pelos animais do Grupo B, representou 11,53% do PV inicial, sendo inferior aos resultados reportados por Penha (2009); Arenas et al (2007) e Rasteiro et al (2007) que observaram aumento significativo no ganho de peso vivo de bovinos saudáveis de 17,07; 33,28 e 19,45%, respectivamente. Este menor ganho de peso, observado no presente estudo, pode estar relacionado à debilidade dos animais causada pela desnutrição, desencadeada pelo baixo consumo de alimentos proteicos, ao período da seca, além da parasitose. Penha (2009) e Rasteiro et al (2007) avaliaram o probiótico comercial Proenzime® (GP), composto pelas espécies

probióticas *L. acidophilus*, *S. faecium*, *B. thermophilum*, *B. longum*, porém adicionado das enzimas amilase, celulase, protease, lipase, pectinase, que podem ter interferido na digestibilidade de nutrientes pelos animais proporcionando em maior ganho de peso. Ambos autores avaliaram o ganho de peso de animais da raça Nelore enquanto o presente estudo utilizou bezerros mestiços Holandês-Zebu. Arenas et al (2007), observaram 33,28% de ganho de peso dos animais, que além de tratados com o mesmo probiótico comercial acrescido de enzimas, foram mantidos em pastejo rotacionado de *Panicum maximum* no período das águas, que há elevada produção de forragem de boa qualidade.

Trabalhos destacam a ação dos microrganismos probióticos como potencial substituto dos antibióticos como promotores de crescimento, tendo em vista que muitos países restringem o uso destes medicamentos uma vez que podem acumular nos tecidos e produtos dos animais, promover resistência da microbiota humana, assim como provocar resistência cruzada em humanos e em outros animais. Desta forma, países importadores de carnes e seus derivados vêm constantemente aumentando a exigência quanto à presença de resíduos antimicrobianos (PENHA, 2009; JUNQUEIRA et al. 2009; SOUTELLO; SENO; AMARANTE, 2007; SAAD, 2006; ROTH, 2000)

Além de não aumentar a quantidade de resíduos nos produtos da bovinocultura, os probióticos podem estimular a digestibilidade dos alimentos e absorção de nutrientes o que melhora a ingestão de volumoso, promovendo ganho de peso (ARCURI et al. 2006). Estudos tem demonstrado que o uso de preparações probióticas como aditivo alimentar melhora a produção e composição dos produtos de origem animal, como o leite, no tocante ao teor de gordura e proteínas (SIGNORINI et al., 2011; TIMMERMAN et al., 2005).

Outro efeito positivo dos microrganismos probióticos sobre o ganho de peso dos animais consiste na produção de ácidos graxos voláteis que estimulam o desenvolvimento do rúmen, promovendo melhor aproveitamento do alimento fibroso, além de ser absorvidos pelo organismo do animal e utilizados como fonte energética (COELHO, 2010; ARCURI, et al. 2006).

Segundo Rasteiro et al (2007), o uso de probióticos em bezerros, com 10 meses de idade, durante 5 meses, representou um ganho líquido de R\$ 11,13 por animal considerando a arroba de boi gordo cotada a R\$50,00, demonstrando, desta forma, que os probióticos são promissores substitutos dos antimicrobianos para serem utilizados como aditivos alimentares.

4.5 Efeito de microrganismos probióticos sobre helmintíase em bezerras em fase de aleitamento

Animais jovens são altamente susceptíveis às infecções helmínticas podendo ser observadas, na primeira semana de vida, a presença de ovos de *Strongyloides papillosus*, devido à infecção transplacentária ou à ingestão de larvas infectantes presentes no colostro ou no leite, sendo observado aumentos da eliminação de ovos nas fezes, entre 2 e 4 meses de idade, de parasitos pertencentes aos gêneros *Cooperia*, *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*. A contagem de OPG nas fezes desses animais aumenta gradativamente até um ano e meio de idade, promovendo a debilidade ou levando o animal à morte, caso não seja submetido a tratamento.

Sendo assim, no presente estudo avaliou-se o efeito da preparação probiótica em estudo sobre helmintíase em bezerras em fase de aleitamento durante os primeiros 4 meses de vida, cujos resultados encontram-se apresentados na Tabela 8.

Observa-se que os animais do Grupo 1 (controle), apresentaram uma alta contagem de OPG aos 30 dias de idade, reduzindo significativamente aos 60 dias devido à vermifugação com albendazole realizada no 45º dia, porém apresentando aumento significativo ($P < 0,001$) aos 90 dias de idade, sendo necessária realizar uma nova vermifugação, antes do período preconizado pelo fabricante, demonstrando a baixa eficácia do produto empregado.

Tabela 8. Valores médios da contagem de ovos eliminados nas fezes (OPG) de bezerros em fase de aleitamento

Tempo de experimento (dias)	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
	Média $\pm$ SD	Média $\pm$ SD	Média $\pm$ SD
30	838 ^a $\pm$ 789	788 ^a $\pm$ 507	10 ^b $\pm$ 22
60	10 ^b $\pm$ 22	400 ^{a,c} $\pm$ 268	1040 ^a $\pm$ 596
90	3860 ^a $\pm$ 1013	713 ^a $\pm$ 588	2830 ^a $\pm$ 2873
120	170 ^b $\pm$ 135	1550 ^a $\pm$ 679	410 ^c $\pm$ 610

Média $\pm$ SD - média dos valores de OPG dos animais $\pm$ desvio padrão; Grupo 1 - Bezerras tratadas com anti-helmíntico (albendazole) 45 e 90 dias de ensaios; Grupo 2 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica nos primeiros 5 dias de vida e vermifugadas com albendazole aos 75 dias de ensaios; Grupo 3 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica em dias alternados e vermifugadas com albendazole aos 100 dias de ensaios; Médias seguidas de letras minúsculas distintas (a,b,c) na mesma linha diferem significativamente entre si ($P < 0,05$); As vermifugação com albendazol foram realizadas conforme manejo do fazendeiro, não orientadas pelos pesquisadores

Nota-se, ainda, que os animais do Grupo 2, tratados com os probióticos durante os primeiros 5 dias de vida, também apresentaram valor médio de OPG acima daquele considerado normal (300-600) para 30 dias de idade, sendo observado redução de 50,76% aos 60 dias de idade. Vale destacar que estes animais foram tratados com o anti-helmíntico aos 75 dias de ensaio, podendo observar uma baixa eficácia deste tratamento tendo em vista que aos 90 dias a contagem de OPG apresentou aumento de 78,25% atingindo maiores valores após 120 dias de tratamento.

Em relação aos animais do Grupo 3 verifica-se que o valor médio de OPG se encontrava acima do valor de referência aos 60 dias de idade, com progressivo aumento aos 90 dias (2830 $\pm$ 2873), sendo então vermifugados aos 100 dias de idade, tendo como consequência redução na contagem de OPG para 410 $\pm$ 610 após 120 dias de experimento.

Durante o experimento, os animais foram tratados com o anti-helmíntico albendazole na dosagem de 15mL/animal, associado a aplicação de carrapaticidas e antibióticos, conforme procedimento de rotina da Fazenda Santa Rita. Os resultados expressos na Tabela 8 demonstram a baixa eficácia

deste produto, bem como revelam o elevado nível de contaminação da pastagem, o que favorece a re-infecção dos animais. Estas observações permitem sugerir que este procedimento pode induzir à seleção de parasitos resistentes ao albendazole conforme relatado por Sczesny-Moraes et al (2010), Souza et al (2008) e Araújo et al (1992). Ademais, o uso excessivo de produtos químicos pode ter interferido negativamente na avaliação do efeito da preparação probiótica sobre o controle da verminose nos animais. Assim como, a aplicação constante do antibiótico tetraciclina (10mL/animal) pode ter influenciado na viabilidade e colonização dos lactobacilos no trato gastrintestinal dos animais, uma vez que este antimicrobiano atua sobre bactérias gram negativas e positivas por inibição da subunidade 30S dos ribossomos, impedindo a síntese de proteínas (POZZA et al, 2011). Estes resultados ressaltam a importância do manejo na manutenção da sanidade dos animais.

Em complemento à determinação da contagem de OPG nas fezes dos animais, avaliou-se também a presença de outros enteropatógenos, como *Cryptosporidium parvum* e *Eimeria*, que poderiam ter influenciado no quadro clínico dos animais e no tratamento destes. Conforme descrito no item 3.4.1, a identificação dos oocistos desses coccídios nas fezes foi realizada pela técnica de centrífugo-flutuação em açúcar, sendo constatada a ausência de oocistos nas amostras examinadas.

4.6. Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o eritrograma das bezerras em fase de aleitamento

A ocorrência de anemia em bezerros recém-nascidos variam entre 15 e 30%, podendo variar quanto a gravidade devido à taxa de crescimento e fonte adicional de ferro na alimentação. Em estudo realizado por Rengifo et al. (2010) com bezerros mestiços no município de Seropédica/RJ, foram reportadas ocorrências de anemia em 30,7% nos animais neonatos, chegando

a 68,2% dos bezerros aos 15 dias e 42,3% aos 30 dias de vida. Desta forma, no presente estudo avaliou-se o efeito de microrganismos probióticos sobre o estado anêmico das bezerras em fase de aleitamento, cujos resultados são apresentados na Tabela 9. Verificou-se que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os diferentes tratamentos avaliados, demonstrando dessa forma que as cepas probióticas não interferiram nas concentrações das respectivas células que compõem o eritrograma.

Observa-se que os valores médios de hemácias (máximo de $4,8 \times 10^6 / \text{mm}^3$) das bezerras, independentemente do tratamento, apresenta-se abaixo dos valores de referência descritos por Borges et al. (2011) correspondentes a $8,03 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (0 - 2 meses) e $8,77 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (3 - 11 meses), por Rengifo et al. (2010) como $5,9 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (30 dias) e por Paula-Neto (2004) como $10,4 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (0-6 meses) e por Birgel-Junior, D'Agelino e Benesi (2001) como $7,57 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (0-3 meses) e 8,34 (3-6 meses).

Apesar da baixa concentração de hemácias, nota-se que a concentração de hemoglobina foi semelhante as reportadas na literatura revelando não haver deficiência de ferro ou proteína na dieta diária dos animais, o que permite sugerir que a anemia pode ter sido desencadeada pela hemólise sanguínea (BORGES et al., 2011; RENGIFO et al., 2010; PAULA-NETO, 2004; BIRGEL-JUNIOR; D'AGELINO; BENESI, 2001).

A anemia apresentada pelos animais é classificada como normocítica ou macrocítica, levando-se em conta os valores médios de VCM que se encontram entre 42,8fL e 61,2fL, os quais são equivalentes aos valores de referência (BORGES et al, 2011; PAULA-NETO, 2004; BIRGEL-JUNIOR; D'AGELINO; BENESI, 2001).

Tabela 9. Valores médios do eritrograma de bezerros em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de Experimentos (dias)	Hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)			Hematócrito (%)			Hemoglobina (g/dL)			VCM (fL)			HCM (pg)		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
30	3,7 ^a	4,0 ^a	4,2 ^a	26,7 ^a	32,3 ^a	34,2 ^a	10,3 ^a	10,9 ^a	11,4 ^a	42,8 ^a	43,2 ^a	48,8 ^a	27,8 ^a	27,2 ^a	28,0 ^a
60	4,6 ^a	3,7 ^a	3,5 ^a	22,2 ^a	21,6 ^a	18,8 ^a	11,6 ^a	7,3 ^b	8,0 ^b	48,2 ^{a,b}	59,5 ^b	61,2 ^b	25,6 ^a	20,0 ^b	23,8 ^a
90	4,4 ^a	4,4 ^a	4,8 ^a	20,9 ^a	21,3 ^a	25,3 ^a	9,3 ^a	10,4 ^a	10,9 ^a	44,4 ^a	48,7 ^{a,b}	51,2 ^{a,b}	21,0 ^b	23,8 ^a	22,8 ^a
120	4,7 ^a	4,5 ^a	4,6 ^a	21 ^a	19,5 ^a	21,3 ^a	12,8 ^a	10,7 ^a	10,6 ^a	45,6 ^a	44,3 ^a	45,9 ^a	26,8 ^a	23,7 ^a	23,1 ^a

VCM - Volume corpuscular médio; HCM - Hemoglobina corpuscular média;

Grupo 1 - Bezerras tratadas com anti-helmíntico (albendazole) 45 e 90 dias de ensaios; Grupo 2 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica na primeira semana de vida e vermifugadas com albendazole aos 75 dias de ensaios; Grupo 3 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica em dias alternados e vermifugadas com albendazole aos 100 dias de ensaios; Médias seguidas de letras minúsculas distintas (a,b,c) diferem significativamente entre si ($P < 0,05$);

As vermifugações com albendazole foram realizadas conforme manejo do fazendeiro, não orientadas pelos pesquisadores.

A infecção por helmintos pode desencadear quadro de anemia nos animais, sendo que no presente trabalho não foi observado (Tabela 10 e Figura 6) correlação negativa entre a contagem de OPG e a concentração de hemácias sanguíneas, nos Grupos 2 e 3. Nota-se uma pequena correlação negativa no Grupo 1, o que demonstra que a OPG não está sendo determinante na causa da anemia desses animais.

Tabela 10. Coeficiente de correlação entre os valores médios da OPG e a concentração média de hemácias nas bezerras em fase de aleitamento submetidas a diferentes tratamentos

Tratamentos	Coeficiente de correlação (R)	Significância
Grupo 1	-0,073	ns
Grupo 2	0,817	ns
Grupo 3	0,404	ns

** Presença de correlação entre os fatores analisados
ns ausência de correlação entre os fatores analisados

Conforme demonstrado na Figura 6, a eritropenia não apresentou variações significativas ao longo do experimento, enquanto que a contagem de OPG variou constantemente independente do tratamento utilizado.

Figura 6. Relação entre o valor médio de OPG (barra) e a concentração média de hemácias (linha) de bezerras recém-nascidas submetidas a diferentes tratamentos

Grupo 1 - Bezerras tratadas com anti-helmíntico (albendazole) 45 e 90 dias de ensaios; Grupo 2 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica na primeira semana de vida e vermifugadas com albendazole aos 75 dias de ensaios; Grupo 3 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica em dias alternados e vermifugadas com albendazole aos 100 dias de ensaios;

Este quadro de eritropenia pode encontrar explicação no fato que a infestação por carrapatos (*Rhipicephalus microplus*, é uma constante na Fazenda Santa Rita. O carrapato é o vetor de uma das mais importantes doenças bovina, a babesiose, causada por protozoários do gênero *Babesia*. Esta infecção é caracterizada por ciclos repetidos de invasão e multiplicação dos parasitos nos eritrócitos do hospedeiro, seguido de lise eritrocitária, o que pode resultar em severa anemia, conforme reportado por Bazan et al (2008).

4.7. Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o leucograma das bezerras em fase de aleitamento

Os resultados referentes ao efeito dos microrganismos probióticos sobre a leucometria das bezerras, apresentados na Tabela 11, demonstram que os animais se encontravam com leucocitose, caracterizado pelos elevados valores de leucócitos totais, o que sugere a presença de um processo

infeccioso. O aumento dos leucócitos das bezerras do Grupo 1 e 2 ao longo dos ensaios, pode ser explicado pelo fato de 40% dos animais destes grupos terem sido diagnosticados com babesiose e, 20% deles diagnosticados com pneumonia após 60 dias de idade, conforme veterinário da Fazenda Santa Rita.

Nota-se, ainda nos animais dos Grupos 1 e 2, um aumento na concentração de leucócitos totais caracterizado pelo aumento de neutrófilos, o que pode confirmar a existência de uma infecção aguda causada por microrganismo intracelular. A neutrofilia reforça a existência de um processo infeccioso agudo tendo, como resposta a produção destas células pela medula óssea (PAES et al., 2012; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

No tocante aos neutrófilos observa-se que as bezerras em aleitamento tratadas com a preparação probiótica (Grupo 3) apresentaram uma concentração significativamente menor ($P < 0,05$) que as demais (Grupos 1 e 2), o que pode representar uma imunomodulação local no trato gastrointestinal dos animais, indicando que a colonização do TGI pelos microrganismos probióticos pode ter estimulado a produção de citocinas, que ativam o efeito quimiotático sobre os neutrófilos, ocasionando sua translocação (GARRETT; GORDON; GLIMCHER, 2010).

Não foi observado diferenças significativas ($P > 0,05$) da quantidade de células bastonetes, monócitos, eosinófilos e plaquetas, comparadas aos valores de referências de Borges et al (2011).

Tabela 11. Valores médios do leucograma (mm³) de bezerras em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de Experimentos (dias)	Leucócitos totais			Neutrófilos segmentados			Linfócitos típicos			Neutrófilos bastonetes		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
30	15940	14100	19200	4750	6130	7114	11127	7897	11604	0	0	270
60	24580	23625	18440	11641	11810	5207	12719	11608	12936	0	94	140
90	31900	40025	24400	17394	14396	12309	14033	25565	12107	0	0	0
120	29680	41100	18060	11230	22599	8710	17761	18273	9350	241	109	0

Tabela 11. Continuação

Tempo de Experimentos (dias)	Eosinófilos			Monócitos			Plaquetas (x10 ³)		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
30	0	0	33,4	63	73	178	388	239	575
60	0	32,5	32,4	221	80	125	363	251	388
90	0	0	62,8	296	65	278	371	530	337
120	0	0	0	90	119	0	476	476	604

Grupo 1 - Bezerras tratadas com anti-helmíntico (albendazole) 45 e 90 dias de ensaios; Grupo 2 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica na primeira semana de vida e vermifugadas com albendazole aos 75 dias de ensaios; Grupo 3 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica em dias alternados e vermifugadas com albendazole aos 100 dias de ensaios; As vermifugações com albendazole foram realizadas conforme manejo do fazendeiro, não orientadas pelos pesquisadores.

Como procedimento de rotina da Fazenda Santa Rita, os animais foram pulverizados a cada 30 dias com os carrapaticida ciperclor ou acatak. Os fabricantes destes produtos preconizam como período de carência para acatak de 42 dias para o animal que se destina ao abate e de 10 dias para Ciperclor,, cujo período de carência para produção de leite é de 72 horas. O período de carência reflete o grau de toxicidade destes produtos, os quais, em diferentes níveis, interferem no metabolismo dos animais podendo promover alterações no seu perfil hematológico das bezerras.

4.8 Avaliação do efeito dos microrganismos probióticos sobre o ganho de peso das bezerras em fase de aleitamento

O ganho de peso é um parâmetro que reflete o desempenho zootécnico do animal, que interfere diretamente no desenvolvimento da bovinocultura por permitir a desmama, abate e produção precoces (FOX, 1997). Desta forma, no presente trabalho este parâmetro foi avaliado em função dos diferentes tratamentos aos quais as bezerras foram submetidas.

Os resultados mostrados na Tabela 12 demonstram que os animais do Grupo 1 apresentaram aumento acentuado no ganho de peso no período entre 60 e 90 dias de ensaio, entretanto não significativo ($P>0,05$). Nota-se, ainda, que os animais do Grupo 2 apresentaram ganho peso diário praticamente estável ao longo do experimento, com exceção do valor médio de ganho de peso aos 60 dias que foi quantificado em 800g/dia. Por outro lado, no que se refere aos animais do Grupo 3, nota-se aumento no ganho do peso diário ao longo do ensaio, o que sugere que a administração da preparação probiótica três vezes por semana resultou em melhor desempenho dos animais como reflexo da colonização do TGI, manutenção do equilíbrio da microbiota ruminal resultando em melhor digestibilidade dos alimentos e desenvolvimento dos animais.

Tabela 12. Valores médios de ganho de peso (g/dia) $\pm$ desvio padrão de bezerras em fase de aleitamento submetidas a diferentes tratamentos

Grupos	Período (dias)				
	0-30	30-60	60-90	90-120	0-120
1	458 $\pm$ 314	693 $\pm$ 410	620 $\pm$ 170	367 ^a $\pm$ 298	521 $\pm$ 37,67
2	452 $\pm$ 196	800 $\pm$ 438	475 $\pm$ 281	458 ^a $\pm$ 96	546 $\pm$ 242
3	268 $\pm$ 87	553 $\pm$ 56	600 $\pm$ 248	767 ^b $\pm$ 170	519 $\pm$ 75

Grupo 1 - Bezerras tratadas com anti-helmíntico (albendazole) 45 e 90 dias de ensaios; Grupo 2 - Bezerras Tratadas com a preparação probiótica na primeira semana de vida e vermifugadas com albendazole aos 75 dias de ensaios; Grupo 3 - Bezerras tratadas com a preparação probiótica em dias alternados e vermifugadas com albendazole aos 100 dias de ensaios; Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem significativamente ($P < 0,05$)

Neste contexto, vale destacar que as bezerras do Grupo 3, no período entre 90 e 120 dias de experimento, apresentaram média de ganho de peso diário significativamente ($P < 0,05$) superior aos demais grupos. Apesar deste maior ganho de peso no último período analisado, não foi observada diferença significativa entre os diferentes tratamentos no período de 0 a 120 dias.

Resultados semelhantes foram observados por Alves et al (2000) que reportou que bezerros mestiços Holandês-Zebu, alimentados com leite adicionado de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Sacharomyces cerevisiae*, não apresentaram diferença significativa no ganho de peso diário após 35, 63 e 91 dias de tratamento, quando comparados com o grupo controle. Entretanto, após 119 dias de idade, os animais tratados com o leite adicionado de probióticos apresentaram ganho médio de peso diário de 1.346g, representando aumento significativo de 232g/dia, equivalendo a 20,8% superior ao grupo controle. O ganho de peso dos animais após 120 dias de tratamento reportado pelos autores foi superior ao observado no presente estudo, provavelmente, devido ao sistema de manejo dos bezerros, que foram confinados em baias individuais alimentados com leite foi fornecido em quantidade equivalente a 13,5% do PV do animal. Em contrapartida o aumento no ganho de peso dos animais tratados com a preparação probiótica neste trabalho apresentou-se 60% superior ao grupo controle, enquanto Alves et al

(2000) observou aumento equivalente a 20,8% deste parâmetro.

Segundo Chaves (1996), o ganho médio diário de peso vivo, de 554 g, aos 56 dias de idade, de animais suplementados com *Lactobacillus acidophilus* em sua dieta não foi significativo quando comparado ao grupo controle, o que corrobora com os resultados do presente estudo. Resultados semelhantes foram verificados por Meyer et al (2001) e Ávila et al (2000) que avaliaram o desenvolvimento de bezerros alimentados com leite contendo probióticos, relatando 37,5% e até 40%, respectivamente, de aumento no ganho de peso dos animais tratados comparados ao grupo controle.

Sendo assim, a preparação probiótica avaliada não promoveu aumento significativo ($P>0,05$) no ganho de peso de bezerros durante o período de 0 a 120 dias.

5 CONCLUSÕES

De acordo com as condições experimentais aplicadas, os resultados obtidos na Fazenda Bela Vista permitem concluir que:

- A preparação probiótica avaliada foi eficaz no controle da helmintíase podendo ser utilizada como tratamento complementar ou preventivo;
- As cepas de *Lactobacillus* que compõem a preparação probiótica em estudo foi capaz de estabilizar a anemia dos animais, porém não conseguiu eliminá-la;
- A preparação probiótica utilizada por 120 dias foi capaz de estimular o sistema imunológicos dos animais.
- Os animais tratados com a preparação probiótica, apesar de apresentaram maior ganho de peso, este não foi significativo quando comparado com os animais tratados com anti-helmíntico.

Os resultados obtidos na Fazenda Santa Rita, considerando as condições experimentais, permitem concluir que:

- O anti-helmíntico albendazol apresentou baixa eficácia no tratamento da verminose das bezerras em aleitamento.
- O uso constante de antibióticos podem ter afetado a viabilidade dos microrganismos probióticos e conseqüentemente, seus efeitos.
- A anemia apresentada pelas bezerras não foi sanada por meio da administração da preparação probiótica avaliada;
- Animais tratados com a preparação probiótica avaliada não apresentaram ganho de peso significativo quando comparado ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 564p.
- AGE/MAPA – Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura. Projeções do Agronegócio Brasil 2009/10 a 2019/20. Brasília, 2010. 50p.
- ALMEIDA, S. P.; LOBATO, J. F. P.; SCHENKEL, F. S. Idade de desmame e suplementação no desenvolvimento e em características de carcaças de novilhos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1713-1721, 2003.
- ALVES, J. B., et al Efeitos de aditivo alimentar enzimático contendo probiótico no desempenho de bovinos Guzerá em confinamento. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 41, 2004, Campo Grande, **Anais**, p.1 - 6.
- ALVES, P. A. Uso de probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Sacchamoryces cerevisiae* na dieta de vitelos bovinos: efeitos sobre o desempenho e qualidade da carne. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 5, p. 25 – 34, 2000.
- AMARANTE, F.T. Controle Integrado de Helmintos de Bovinos e Ovinos. **Rev. Bras. Parasitol.Vet**, v. 13, supl. 01, p. 68 - 71, 2004.
- AMORES, R.; CALVO, A.; MAESTRE, J.R.; MARTINEZ-HERNANDEZ, D. Probióticos. **Rev. Esp. Quimioterap.**, v. 17, p. 131 – 139, 2004.
- ANDRADE, F.S. **Manual de Terapêutica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2008.
- ANURADHA, S.; RAJESHWARI, K. Probiotics in Health and Disease. **Journal Indian Academy of Clinical Medicine**, v. 6, n.1, 2005
- ARAUJO, J. V. et al Avaliação de tratamentos anti-helmínticos em bezerros da bacia leiteira de Muriaé/MG. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 27, n. 1, p. 7 – 14, 1992.
- ARAÚJO, J.V. et al Efeito antagônico de fungos predadores dos gêneros *Monacrosporium*, *Arthrobotryse* *Duddingtonia* sobre larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 373 - 380, 2006.
- ARAUJO, M. T. F. **Aleitamento e infecções por parasitas intestinais em gestantes adolescentes e seus filhos**. 2009. 76f. Dissertação (Mestrado em

Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2009

ARCURI, P. B. et al Utilização de probióticos e prebióticos em rações de bovinos. In: VIII Simpósio sobre Nutrição de Bovinos, FEALQ, 2006.

ARCURI, P. B. ; MATOS, L. L. Microbiologia do Rúmen. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG, v. 16, n. 175, p. 5-8, 1992.

ARENAS, S. E. et al. Effect of probiotic Proenzime® on weight gain in cattle. **Arch. Zootec.**, v. 56, n. 213, p. 76 - 78, 2007.

Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes – ABIEC, **Brasil lidera ranking de exportação de carne**, 2008. Disponível em:

<

ÁVILA, F. A., A. C. et al Avaliação da eficiência de um probiótico no controle de diarreia e no ganho de peso de bezerros. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 52, n. 1, p. 41-46, 2000.

AYRES, M. C. C.; ALMEIDA, M. A. O. Agentes antinematódeos, Agentes antiparasitários. In: Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 3ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 476 - 488.

BABCOCK INSTITUTE – Essenciais em gado de leite, Do nascimento à desmama, Fornecimento de feno, água e concentrado. Disponível em <http://babcock.wisc.edu/node/245> Acesso em: junho/2012

BASSETTO, C C. **Proteção de bovinos contra *Haemonchus placei* e *Haemonchus contortus* após imunização com antígenos oriundos da membrana intestinal de *H. contortus***. Dissertação (Mestre em Biologia Geral e Aplicada). 2011. Universidade Estadual Paulista - Instituto de Biociências, Botucatu.

BAUTISTA-GARFIAS, C. R. et al The treatment of mice with *Lactobacillus casei* induces protection against *Babesia microti* infection. **Parasitol. Res.**, v. 97, p 472 – 477, 2005.

BAUTISTA-GARFIAS, C.R. et al Effect of viable or dead *Lactobacillus casei* organisms administered orally to mice on resistance against *Trichinella spiralis* infection. **Parasite**, v. 8, n. 2, p. 226S-228S, 2001.

BAUTISTA-GARFIAS, C.R. et al Enhancement of resistance in mice treated with *Lactobacillus casei*: effect on *Trichinella spiralis* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 80, n. 3, p.251-260, 1999.

BAZAN, C. T. Babesiose bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina veterinária**, n. 11, 2008

BENYACOU, J. et al *Enterococcus faecium* SF68 Enhances the Immune Response to *Giardia intestinalis* in Mice. **J. Nutr.**, v. 135, p. 1171 – 1176, 2005.

BIANCHIN, I. et al **Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil**. Campo Grande: EMBRAPA/CNPQC, 1996. 120 p.

BIRGEL JUNIOR, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J. Valores de referência do eritrograma de bovinos da raça Jersey criados no estado de São Paulo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, p.1 - 9, 2001.

BIRGEL JUNIOR, E H. et al Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 3, p.136-141, 2001

BNDES Setorial, **Panorama da Indústria Farmacêutica Veterinária**, n. 25, p. 157 - 174, 2007.

BORCHERS, A. T. et al Probiotics and immunity. **J. Gastroenterol.**, v. 44, p. 26 – 46, 2009.

BORGES, A. C. et al Características Hematológicas de Bovinos (*Bos taurus*) Sadios da Raça Pantaneira. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / EmbrapaPantanal**, p. 13, 2011

BOWMAN, D.D. **Parasitology for Veterinarians**, 8th ed. New York: Editora Elsevier, 2003

BRANDTZAEG, P. Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v. 964, p. 13 - 45, 2002.

BRITO, A. S.; NOBRE, F.V.; FONSECA, J.R.R. Bovinocultura leiteira: informações técnicas e digestão. Natal: SEBRAE/RN, 2009, 320p.

BROOKER S., BETHONY J., HOTEZ P. J. Human Hookworm Infection in the 21st Century. **Advances in Parasitology.**, v. 58, p. 197 – 288, 2004.

BUDINO, F. E. L. et al . Efeito da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre o desempenho, incidência de diarreia e contagem de coliformes totais. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, 2012.

BUDIÑO, F. E. L. et al Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros

sanguíneos. **ActaScientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 4, p. 529 - 536, 2004.

CADIOLI, F. A. Acute Closantel Poisoning in Lambs – case report. **Vet. E Zootec.** v. 15, n. 02, p. 23, 2008.

CAMPOS, C.F.A. et al Uso de probiótico para bezerras leiteiras mestiças. In: CONGRESSO NACIONAL DE ZOOTECNIA, 9. 2004, Brasília, **Anais...** Brasília: Zootec, CD-ROM.

CAPECE B.P.S. et al Albendazole Sulphoxide Enantiomers in Pregnant Rats Embryo Concentrations and Developmental Toxicity. **The Veterinary Journal**, v. 165, p. 266 – 275, 2003.

CARNEIRO, J.R.; CALIL, F.; PEREIRA, E.; LIMA, W.S. Comportamento das infecções helmínticas em bovinos de diferentes faixas etárias em região do cerrado do estado de Goiás - Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zool.**, v. 39, n. 3, p. 415 - 422, 1987.

CARVALHO, P. A.; SANCHEZ, L. M. B.; VIÉGAS, J. Desenvolvimento de estômago de bezerros holandeses desaleitados precocemente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p.1461 - 1468, 2003.

CASBURN-JONES, A. C.; FARTHING, M. J. G. Management of infectious diarrhea. **Gut**, v. 53, p. 296 – 305, 2004.

CATTO, J.B. et al Efeitos da everminação de matrizes e de bezerros lactentes em sistema de produção de bovinos de corte na região de Cerrado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 188-194, 2005.

CHARLES, T. P.; FURLONG, J. (Org.). **Doenças parasitárias dos bovinos de leite**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNGL, 1992. 134p.

CHATEAU, N.; CASTELLANOS, I.; DESCHAMPS, A. M. Distribution of pathogen inhibition in the *Lactobacillus* isolates of a commercial probiotic consortium. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 74, p. 36 - 40, 2003.

CHAVEERACH P., LIPMAN L. J. A.; VAN KNAPEN, F. Antagonistic activities of several bacteria on *in vitro* growth of 10 strains of *Campylobacter jejuni/coli*. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 90, p. 43 - 50, 2004.

CHAVES, A. H. Efeito da estirpe LT 516 de *Lactobacillus acidophilus* como probiótico para bezerros. **Rev. bras. zootec.**, v. 28, n. 05, p. 1075 - 1085, 1999.

CHEN, C. C. et al Probiotics have clinical, microbiologic, and immunologic efficacy in acute infectious diarrhea. **Pediatr Infect Dis J.**, v. 29, n. 2, p. 135 – 138, 2010.

CHUKEATIROTE, E. Potential use of probiotics. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, v. 25, n. 02, p. 275 - 282, 2003.

CHURCH, D. C. **Fisiologia digestiva y nutrición de los ruminantes**. Acríbia: ed. Zaragoza, 1993, 64p.

COPPOLA, M.M.; TURNES, C.G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

COELHO, M. D. G. **Avaliação do uso de probióticos no controle da infecção causada por Ancylostomidae em cães (*Canis familiaris*) naturalmente infectados**. 2010. 94 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, SP.

COELHO, S. G. Alimentação da Bezerra – In: SIMPÓSIO MINEIRO DE NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE, 5, 2010, Belo Horizonte, MG: EV-UFMG, DZO, **Anais**.

CORASSA, A. **Mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos, probióticos e níveis de ácido fólico em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade**. 2004. 65f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2004.

COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; KOHAYAGAWA, A.; SOUZA, T. S. Serum proteinogram in Holstein Friesian calves from birth until 150 days of age. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.8, n.4, p. 267 - 275, 2007

COSTA, J. N. et al. Influence of age on the leukogram values for healthy nelore (zebu) cattle. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 399 - 403, 2000

COSTA, H.M.A.; LEITE, A.C.R.; GUIMARÃES, M.P.; LIMA, W.S. Distribuição de helmintos parasitos de animais domésticos no Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 38, n. 4, p. 465 - 579, 1986.

COSTELLO, R. **Bottles vs. Pails: Are There Differences Between Calf Feeding Methods?**, 2008. Disponível em: http://www.merricks.com/pdf/Bottle_vs_Pail_11-06-08.pdf. Acesso em maio/2012.

COUTINHO, T. S. **Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre *Cryptosporidium parvum* em camundongos C57BL/6 imunossuprimidos**. 2008. 63f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2008.

CRAIG, T. M. Helminth parasites of the ruminant gastrointestinal tract. **Current veterinary therapy**, v. 51, p. 78 - 91, 2008.

CUEVAS, A.C. et al El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. **Veterinária México**, v. 31, n. 4, 2000.

DALLOUL, R. A. et al Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 28, p. 351 – 361, 2005.

DAVIS, C. L.; DRACKLEY, J. K. The development, nutrition, and management of young calf: Iowa: State University, 339 p., 1998.

DAYAN A.D. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. **ActaTropica**. v. 86, p. 141 - 159, 2003.

DE VRESE, M. et al. Probiotics – compensation for lactase insufficiency. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, Supl. 2, p. 421 – 429, 2001.

DELGADO, F. E. E. et al Cattle helminthiasis: farmers perception in Minas Gerais, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 18, n. 3, p. 29 - 33, 2009.

DRAKES, M.; BLANCHARD, T.; CZINN, S. Bacterial Probiotic Modulation of Dendritic Cells. **Infection and immunity**, v. 72, n. 6, p. 3299 – 3309, 2004.

DONOVAN, D.C.; FRANKLIN, S.T.; CHASE, C.C.L. et al Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or enteroguard. **Journal of Dairy Science**, v.85, p. 947 - 950, 2002.

DORCHIES, P. **Relative importance of bovine parasitic diseases**. Bovine Fasciolosis: A parasitic infection of the past, present and future... Epidemiology and treatment issues, p. 6 - 15, France: Virbac - Animal health, 2008.

ECHEVARRIA, F.A.M. et al Use of resseeded pastures as an aid in the control of gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 50, p. 151 - 155, 1993.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. **Custo de produção da atividade leiteira**, 2009. Disponível em: http://www.epagri.sc.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=178:-custo-de-producao-da-atividade-leiteira&catid=19:cursos-treinamentos&Itemid=26 Acesso em: agosto/2011

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. **Verminose Bovina.**, 1999. Disponível em: http://www.cpamn.embrapa.br/publicacoes/documentos/1999/Doc_41.pdf. Acesso em: julho/2011

FAO/WHO - Food And Agriculture Organization Of The United Nations, World Health Organization. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001. 34 p. Disponível em:

<http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf> Acesso em: jan/2011.

FAYOL-MESSAOUDI, D. et al The *Lactobacillus plantarum* strain ACA-DC287 isolated from a Greek cheese demonstrates antagonistic activity *in vitro* and *in vivo* against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 657 - 665, 2007.

FELICIANO, M.A.R. et al . Efeitos de probióticos sobre a digestibilidade, escore fecal e características hematológicas em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 61, n. 6, 2009

FERREIRA, L. S. et al Desempenho animal e desenvolvimento do rúmen de bezerros leiteiros aleitados com leite integral ou sucedâneo. **B. Indústr. anim. N. Odessa**, v. 65, n. 4, p. 337 - 345, 2008.

FIGUEIREDO, P. C.; SERRA-FREIRE, N. M.; GRISI, L. Eimerias de bovinos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro: técnica de diagnóstico e espécies identificadas. **Atas da Sociedade de Biologia**, v. 24, p. 22 - 26, 1984.

FONSECA, B.B. et al Microbiota of the cecum, ileum morphometry, pH of the rop and performande of broiler chickens suplemmented with probiotics. **Revista Brasileira de zootecnia**, v. 39, n. 08, p. 1756 - 1760, 2010.

FORBES A.B. A review of regional and temporal use of avermectinas in cattle and horses worldwide. **Vet. Parasitol.** v. 48, p. 19 - 28, 1993.

FOX, M.T. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 285 - 308, 1997.

FRIZZO, A. et al Suplementação energética na recria de bezerras de corte mantidas em pastagem de inverno. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 3, p. 643 - 652, 2003.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, n.5, p.365 - 378, 1989.

FURLAN, F. H. et al . Intoxicação por closantel em ovinos e caprinos no Estado de Santa Catarina. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 29, n. 1, 2009 .

FURLONG, J. et al Análise bio-econômica do uso de anti-helmíntico em bezerros na Zona da Mata de Minas Gerais. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 2, n. 2, p. 119 - 126, 1993.

FURLONG, J. ABREU, H.G. L, VERNEQUE, R. S. Parasitoses dos bovinos na região da Zona da Mata de Minas Gerais. **Pesqui. Agropecu. Bras.**, v. 20, n. 1, p. 143 - 153, 1985.

GALLINA, T. et al **Utilização de probióticos no controle da infecção de *Haemonchus contortus* em ovinos**. Pelotas, 2009. 4 p. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA00710.pdf> Acesso em: agosto/ 2011

GALDEANO, C. M. et al Mechanisms involved in the immunostimulation by probiotic fermented milk. **J. Dairy Res.**, v. 76, n. 4, p. 446 – 454, 2009.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K.; PACHALY, J. R. **Manual de hematologia veterinária**, São Paulo: Livraria Varela, 1994. 169 p.

GARRETT, W.S.; GORDON, J. I.; GLIMCHER, L. H. Homeostasis and inflammation in the intestine. **Cell** v. 140, p. 859 – 870, 2010.

GEWEHR, C. E.; LAWISCH, A. A. Antibióticos na nutrição animal. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 16, n. 2, p. 43 - 46, 2003.

GIBBS, H. C. The effects of subclinical disease on bovine gastrointestinal nematodiasis. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 14, n. 5, p. 669 - 677, 1992.

GIONCHETTI, P. et al, Probiotic administration may exert a protective effect in colitis by preventing mucosal barrier disruption and influencing the extent of mucosal injury. **Gut**, v. 54, p. 898 - 900, 2005.

GIRÃO, E. S.; LEAL, J.A. Verminose gastrintestinais em bezerros e seu controle. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v. 04, n.1 , p. 37 – 45, 2002.

GONÇALVES, M. et al Avaliação da capacidade imuno-estimulante e da estabilidade de probiótico empregado em rações de cães. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 02, p. 25 - 30, 2007.

GONCALVES, R C. et al . Influência da suplementação de vitamina E na profilaxia e tratamento da broncopneumonia moderada e grave em bezerros. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, 2011.

GONÇALVES, R. C.; et al Influência da idade e sexo sobre o hemograma, proteínas séricas totais, albumina e globulina de bovinos sadios da raça Guzera (Bosindicus). **Veterinária Notícias**, v. 7, n.1, p. 61 - 68, 2001.

GONCALVES, G. D. et al . Influência da adição de probióticos na dieta sobre o estado sanitário e desempenho de bezerros da raça Holandesa. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 37, n. 1, 2000.

GONSALVES-NETO, J.; SILVA, F.F.; BONOMO, P. Desempenho de bezerros da raça Holandesa alimentados com concentrado farelado ou peletizado. **Rev. Bras. Saúde**

Prod. An., v. 9, n.4, p. 726 - 733, 2008.

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

GREGORY, L. Principais enfermidades de pequenos ruminantes que ocorrem no HOVET-USP. In: SIMPÓSIO SOBRE ENFERMIDADES DE CAPRINOS E OVINOS, 2005, Instituto Biológico, São Paulo.

GRONVOLD J., et al Effect of the antiparasitic drugs fenbendazole and ivermectin on the soil nematode *Pristionchus maupasi*. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 91 – 99; 2004.

GUILLOT, J. F. The pros and cons of probiotics – make probiotics work poultry. **Feed Mix**, v. 23, n. 08, p. 28 – 30, 2000.

GUIMARÃES, M. P. et al Strategic control of gastrointestinal nematodes in dairy calves in Florestal, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Research Communications**, v. 24, n. 1, p. 31 - 38, 2000.

HAUSER M. A.; KOOB, B. S.; JAMES, A. R. Variation of neutrophil function with age in calves. **Am. J. Vet. Res.** v. 47, p. 152 - 153, 1986.

IBRAHIM, F. et al Probiotics and immunosenescence: cheese as a carrier. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.** v. 59, p. 53 – 59, 2010

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa da pecuária municipal: efetivo dos rebanhos, 2007**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=22&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>>. Acesso em: julho/2011

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Produção da Pecuária Municipal - 2010**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2002&id_pagina=1. Acesso em: agosto/2012

ISOLAURI, E. Probiotics in human disease. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 73, p. 1142 - 1146, 2001.

JACOBSON, B.; CONSUMER, S. **Antibiotics in beef**. Colorado State University Cooperative Extension, 2003. Disponível em: <<http://www.ext.colostate.edu/PUBS/COLUMNCC/cc990115.html>>. Acesso em: set. 2011

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary haematology**. Pennsylvania: Lea & Febiger, 989p., 1993.

JOHNSTON, J. K.; MORRIS, D. D. Alterations in Blood Proteins. In: SMITH, B.P. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. 2.ed. Saint Louis: Mosby, 1996, p. 489 - 497.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.**, v.23, p.377 - 402, 2007.

JORGE, C. F. J. F. et al Efeito de um aditivo alimentar contendo probiótico e enzimas digestivas no ganho de peso de bovinos nelore em regime de pasto. Em: IV Encontro de Pesquisa e Iniciação Científica do Estado e da Região do Pantanal, Universidade Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal. Campo Grande, Anais, p. 69-79, 2006.

JUNQUEIRA, O. M. et al Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2394 – 2400, 2009.

KABIR, S.M.L. et al The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. **Int. J. Poultry Sci.**, v. 3, n. 5, p. 361 - 364, 2004.

KALAVATHY, R. et al Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 44, n. 1, p. 139 - 144, 2003.

KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, v.89, p.124 - 135, 2005.

KARKOW, F.J.A.; FAINTUCH, J.; KARKOW, A.G.M. Probióticos: perspectivas médicas. **Rev AMRIGS**. v. 51, p. 38 – 48, 2007.

KEITH, R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasite of cattle. **Australian Journal of Zoology**, v. 1, n. 2, p. 223 - 235, 1953.

KELLY, M.L. et al Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. **J. Dairy Sci.** v. 81, p. 1630 - 1636, 1998.

KLESIOUS, P. H. et al Lymphocyte reactivity to *Ostertagia ostertagi* L3 antigen in type I ostertagiasis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 2, p. 230 - 233, 1984.

KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 101, p.229 - 241, 2001.

KOHLER, P. The biochemical basis of antihelmintic action and resistance. **Int. J. Parasitol.**, v.31, p. 336 - 345, 2001.

LAN, P.T.N. et al Impact of two probiotic *Lactobacillus* strains feeding on fecal lactobacilli and weight gains in chicken. **Journal of General and Applied Microbiology**, v.49, n.1, p. 29 - 36, 2003.

LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. **Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. 4.ed. Ames: Iowa State University Press., 450p., 2003.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. **Science**. v. 147, p. 747 – 748, 1965.

LIMA, W.S. **Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrointestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estádios de vida livre na Região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil**. 1989. 178 p.(Tese Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais – Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, 1989;

LIMA, W. S. Os inimigos ocultos da pecuária. DBO - **Saúde animal**, p. 8 - 16, 2004.

LIMA, P. O. Desempenho e indicadores de estresse térmico em bezerras alimentadas com sucedâneo lácteo com ou sem probiótico no semi-árido brasileiro. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v. 14, n. 02, p. 49 - 55, 2006.

LIZIEIRE, R. S. et al Fornecimento de Volumoso para Bezerros Pré-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 32, n. 5, p. 835 - 840, 2002.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. Facta, v. 1, p. 53 - 72.

MAIORKA, A et al . Utilização de Prebióticos, Probióticos ou Simbióticos em Dietas para Frangos. **Rev. Bras. Cienc. Avic.**, v. 3, n. 1, 2001.

MARTEAU, P. R. et al Protection from gastrointestinal diseases with the use of Probiotics. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, p. 430 – 436, 2001.

MARTEAU, P.; BOUTRON-RUAULT, M. C. Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. **Br. J. Nutr.**, v. 87, suppl. 2, p. 153 - 157, 2002.

MARTIN, F. P. J. et al Transgenomic metabolic interactions in a mouse disease model: interactions of *Trichinella spiralis* infection with dietary *Lactobacillus paracasei* supplementation. **Journal of Proteome Research**, v. 5, p. 2185 - 2193, 2006.

MARTINS, F. S. et al Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice. **J. Gen. Appl. Microbiol.**, v. 51, p. 83 – 92, 2005.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba: **Anais...** Piracicaba, SBZ, 2001. p. 141-157.

MEYER, P. M. et al Adição de probiótico ao leite integral ou sucedâneo e desempenho de bezerros da raça holandesa. **Scientia Agricola**, v. 58, n.02, p. 215 - 221, 2001.

MOLENTO, M. B. et al Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1139 - 1145, 2004.

MORRILL, J.L.; MORRILL, J.M.; FEYERHERM, A.M. Plasma proteins and a probiotic as ingredients in milk replacer. **Journal Dairy Science**, v.78, n.4, p.902 - 907, 1995

MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. Biological control of helminth parasites of animals: current stage and future outlook. **Pesq. Vet. Bras.** v. 23, n. 3, 2003

MOKHBER-DEZFOULI, M. R. et al Effects of Probiotics Supplementation in Daily Milk Intake of Newborn Calves on Body Weight Gain, Body Height, Diarrhea Occurrence and Health Condition. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10, p. 3136 - 3140, 2007.

MURPHY T. M. et al A study of helminth parasites in culled cows from Ireland. **Preventive Veterinary medicine**, v. 76, p. 1 - 9, 2006.

MURPHY, J.; TRAVERS, J.; WALPORT, S. **Imunobiologia**, , 7. ed. Ed. Artmed, 2009.

MUSSI, E. M.; MATTOS, J. R.; BALTHAZAR, L. M. C. Associação de febantel, pamoato de pirantel, praziquantel e probiótico em cães (*Canis familiaris*) naturalmente infectados por ancilostomídeos. **Pubvet**, v. 2, n. 18, 2008

National Center for Biotechnology Information – Taxonomy Browser. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> Acesso em: junho/2011

NAVARRO, M., et al Anthelmintic induced congenital malformations in sheep embryos using netobimin. **Veterinary Record**, v. 142, 86 – 90, 1998.

NEPOMUCENO, E. S.; ANDREATTI, R. L. F. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** Concórdia, SC : EMBRAPA SUÍNOS E AVES, v.1, p.45 - 55, 2000.

NESTEL, P. Intestinal flora and human health. **Asia Pacific J. Clin.Nutr.**, v. 5, n. 1, p. 1 - 2, 1996.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 6, p. 1811-1818, 1995.

NICOLI, R. J.; VIEIRA, Q. L. Moduladores do ecossistema digestivo: probióticos,

prebióticos e simbióticos. **Ciências Hoje**, v. 28, n. 163, p. 34 - 38, 2000.

NOMOTO, K. Prevention of infectiond by probiotics. **Journal of Bioscience and Bioengineering**_v. 100, n. 6, p. 583 – 592, 2005.

OGAWA T. et al Natural killer cell activities of synbiotic *Lactobacillus casei* ssp. casei in conjunction with dextran. **Clin. Exp. Immunol.** v. 143, p. 103 – 109, 2006.

OLIVEIRA-FILHO, J. P. et al Diarreia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, n. 10, p. 419 - 424, 2007.

OLIVEIRA, I. C. S. et al Situação do controle da verminose em bovinos de leite no Município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v. 7, n. 2, p. 103-111, 2001.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINI, A. M.; SANTOS, E. M. Fisiologia, manejo e alimentação de bezerros de corte. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**, v. 10, n. 1, p. 39 - 48, 2007.

ORTÍZ, M.A. et al Effect of a slow nitrogen intake supplementation with or without a lactic probiotic in Pelibuey lamb growth. **Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats**, v. 85, p. 294 - 309, 2009.

PAES, P. R. O. et al The leukogram as an indicator stress on weaning and after road transport in Nelore calfs. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 305 - 312, 2012.

PANDA, A.K. et al Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherichia coli* of broilers fed diets with various levels of probiotic. **Archiv. Fur. Geflugelkunde**, v. 64, n. 4, p. 152 - 156, 2000.

PANT, N. et al. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. **Microbiology**, v. 7, n. 86, p.1 - 9, 2007.

PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 627 - 631, 2003

PAULA NETO, J. B. P. **Hemogramas de bovinos (Bostaurus) sadios da raça curraleiro de diferentes idades, machos e fêmeas, gestantes e não gestantes.** 2004. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

PENHA, L. A. C. **Efeito da suplementação com probióticos no cortisol sérico e no ganho de peso em bovinos.** 2009. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Pudente, 2009.

PEREIRA, C.A.S. **Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre Eimeria spp em Rattus norvegicus.** 2007. 74f. Tese (Doutorado em Biotecnologia

Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2007.

PIMENTEL NETO, M.; FONSECA, A. H. Epidemiology of pulmonary and gastrointestinal helminthoses in calves in the low land of the state of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.22, n. 4, p. 148 – 152, 2002.

PINHEIRO, R. S. B.; SOBRINHO, A. G. S.; YAMAMOTO, S. M. Desempenho de cordeiros lactentes recebendo probióticos em comedouros privativos. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 38 - 42, 2007.

PISCOPO, S. E.; SMOAK, I. W. Comparison of effects of albendazole sulphoxide on in vitro produced bovine embryos and rat embryos. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, p. 1038 – 1042, 1997.

POPPI, L.B. **Avaliação do efeito antagônico de espécies de *Lactobacillus* sobre *Escherichia coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes***. 2005. 113f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, SP

POZZA, M S S. et al Use of *Lactobacillus* spp prebiotics and antibiotic resistance. **Hig. Aliment.**, v. 25, p. 99 - 103, 2011.

RADOSTITS O. M. Doenças causadas por substâncias químicas inorgânicas e produtos químicos utilizados nas fazendas, p.1417 - 1471. In: Ibid. (ed.) **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.

RAFTER J. et al Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. **Am J Clin Nutr**. v. 85, p.488 – 496, 2007.

RAMOS, C. I. et al Epidemiology of sheep gastrointestinal helminthosis in “Planalto Catarinense” Region, Brazil. **Ciência Rural**, v. 34, n.6, 2004.

RANGEL, V. B. et al Resistência de *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. às avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 2, p. 186 - 190, 2005.

RASTALL, R. A. Bacteria in the gut: Friends and Foes and How to Alter the Balance. **J. Nutr**. v. 134, Supl., p. 2022 – 2026, 2004.

RASTEIRO, V. L. et al Adição de probiótico na mistura mineral eleva o ganho de peso de bovinos no período da seca. **Asociación Latinoamericana de Producción Animal**, v. 15, n. 3, p. 83 - 87, 2007.

REPOSSI-JUNIOR et al Prevalence and control of gastrointestinal parasitoses in calves from dairy farms in the municipality of Alegre, Espírito Santo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n. 03, p. 147 – 150, 2006

RENGIFO, S.A. et al . Hemogram and auxiliary serum biochemistry in neonatal crossbred calves and disease occurrence. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 62, n. 4, 2010.

RIBEIRO, A. R. P. et al Aspectos da bovinocultura leiteira no município de Ilhéus - BA. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 3, p. 374 - 376, 2003.

RODRIGUES, R. R.; LUCCI, C. S.; RODRIGUES, P. H. M. Ruminant calves fed with solid or liquid diet: esophageal groove formation and ruminal by-pass. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 31, n. 6, 2002.

ROTH, L. The battle of the bugs the direct fed microbial concept. **Pig progress**. v. 16, p. 12 – 15, 2000.

RUPPERT, L.D.G.; MCCOY, G.C.; HUTJENS, M.F. Feedings of probiotics to calves. **Journal of Dairy Science**, v.77, Supl. 1, p. 296, 1994.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 42, n. 1, 2006.

SANCHES, A. L. et al Probiotic, prebiotic and symbiotic in weaning piglets rations. **Ciênc. agrotec.**, v. 30, n.04, p. 774 - 777, 2006.

SAKAI, K. et al The cecum and dietary short-chain fructooligosaccharides are involved in preventing postgastrectomy anemia in rats. **J. Nutr.**, v. 130, n. 06, p. 1608 - 1612, 2000.

SALMINEN, S. et al Probiotics: how should they be defined? **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p.107 - 110, 1999.

SANTOS, M. S. et al Administração de Lactobacillus sp. em leitões na fase de aleitamento e na fase de creche. **Ciências Agrotécnica**, v.26, n.1, p.165-173, 2002

SANXES, J. N. Clinical and pathogenetic aspects of abamectin poisoning in calves. **Pesq. Vet. Bras.** v. 26, n. 3, p. 161 - 166, 2006.

SAXELIN, M. et al Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. **Current opinion in Biotechnology**. v. 16, p. 1 - 8, 2005.

SERVIN, A. L.; COCONNIER, M. H. Adhesion of probiotics strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, p. 741 – 754, 2003.

SCZESNY-MORAES, E. A. et al Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.

30, n. 3, p. 229 - 236, 2010.

SEIXAS, J. N. et al Aspectos clínicos e patogênicos de intoxicação por abamectina em bezerros. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 03, p. 161 - 166, 2006.

SHEIL, B. et al Role of interleukin (IL- 10) in probiotic-mediated immune modulation: an assessment in wild-type and IL- 10 knock-out mice. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 144, p. 273 – 280, 2006.

SHU, Q.; QU, F.; GILL, H. S. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. **Journal Pediatric Gastroenterological Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 171-177, 2001.

SIGNORINI, M. L. et al Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. **Research in Veterinary Science**, v. 90, n. 03, p. 212 - 218, 2011

SILVA, C. R; ARANTES, G. J.; SOUZA, L. M. Eficácia anti-helmíntica de uma formulação de albendazole 10% associada a Cobalto em Nematódeos de bezerros naturalmente infectados. **Rev. Bras. Parasitol. Vet**, v. 4, n.2, p. 125 – 128, 1995.

SILVA, M. M. et al Efeito da verminose na resposta imune em caprinos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 1, p. 15–19, 2002.

SILVA, R. M. N. et al Efeito do sexo e da idade sobre os parâmetros fisiológicos e hematológicos de bovinos da raça Sindi no semi-árido. **Ciências Agrotécnicas**, v.29, n.1, p.193 - 199, 2005.

SILVI, S. et al Isolation and identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from faecal samples of elderly subjects for a possible probiotic use in functional foods. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 195 - 200, 2003.

STROMBERG, B. E.; GASBARRE, L. C. Gastrointestinal nematode control programs with an emphasis on cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 22, n. 3, p. 543 - 565, 2006.

SOLANO-AGUILAR, G. et al The effect of human-derived probiotic bacteria on the intestinal function of pigs. **Veterinary Parasitology**, v. 125, p. 47-61, 2004.

SOULSBY, E. J. L. Advances in immunoparasitology. **Veterinary Parasitology**, v. 18, p. 303 - 319, 1985.

SOUTELLO, R. G. V.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.

148, n. 3 - 4, p. 360 - 364, 2007.

SOUZA A. P. et al Anthelmintics resistance of bovine gastrointestinal helminths in Santa Catarina Plateau, **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p.1363 - 1367, 2008.

SOUZA, P. et al Período para desinfestação das pastagens por larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos, em condições naturais nos campos de Lages, SC. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 159-164, 2000.

SUN, P.; WANG, J. Q.; ZHANG, H. T. Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. **J Dairy Sci.**, v. 93, n. 12, p. 5851 - 5855, 2010.

TAMBEKAR, D. H.; BHUTADA, S. A. Acid and bile tolerance, antibacterial activity, antibiotic resistance and bacteriocins activity of probiotic *Lactobacillus* species. **Recent Research in Science and Technology**, v. 2, n. 4, p. 94 - 98, 2010.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

TEIXEIRA, R. S. **Avaliação do efeito de micro-organismos probióticos sobre *Haemonchus contortus* em ovinos**. 2011. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena-SP.

TERRASSE, F. M. et al Efeito do Probiótico Proenzime® no peso de bovinos da raça nelore criandos em regime de pasto. **Colloquium Agrariae**, v. 06, n. 02, p. 52 - 56, 2010.

TORRES, S. E. F. A. Nematódeos de ruminantes em pastagem com diferentes sistemas de pastejo com ovinos e bovinos. **Pesq. agropec. bras.**, v. 44, n. 9, p. 1191-1197, 2009.

TOURNUT, J. Applications of probiotics to animal husbandry. **Revue Scientifique et Technique de l'Ofisse International des Epizooties**, v. 8, n. 2, p. 551 - 566, 1989.

TUERLINCKX, S. M., MORSELLI, T. B. G. A.; MAUCH, C. R. Effect of albendazole sulphoxide on mortality and acetylcholinesterase enzyme activity in earthworms *eiseniafoetida*. **Revista da FZVA**. v. 18, n. 2, p. 30 - 45, 2011.

UTIYAMA, C. E. et al Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2359-2367, 2006.

VAN METRE, D. C.; TENNANT, B. C.; WITHLOCK, R. H. Infectious diseases of the gastrointestinal tract. In T.J. Divers; S.F. Peek, **Rebhun's diseases of dairy cattle**, 2° ed., p. 200 - 294, Elsevier Inc, 2008.

VANDELLE, M.; TELLER, E.; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition : a review. **Archives of Animal Nutrition**, v. 40, n. 7, p. 543 – 567, 1990.

VELOSO, C.F.M. et al Efeitos da suplementação protéica no controle da verminose e nas características de carcaça de ovinos Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n. 3, p. 131-139, 2004.

VERCRUYSSE, J. et al Veterinary parasitic vaccines: pit falls and future directions. **Trends in parasitology**, v. 20, n. 10, p. 488-492, 2004.

VICENTE, J. J. Nematóides do brasil. Parte v: nematóides de mamíferos **Rev. bras. Zool.** 14 (Supl. 1): 1 - 452, 1997.

VINDEROLA, C.G.; MEDICI, M.; PERDIGÓN, G. Relationship between interacion sites in the gut, hydrophobicity, mucosal immunomodulating capacities and cell wall protein profiles in indigenous and exogenous bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p. 230 – 243, 2004.

VIVEIROS, T. C. **Parasitoses gastrintestinais em bovinos na ilha de S. Miguel, Açores – Inquéritos de exploração, resultados laboratoriais e métodos de controlo.** 2009. 103f. Dissertação. Universidade Técnica de Lisboa Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.

WALLER, P. J. Anthelmintic resistance. **Vet. Parasitol.**, v. 72, p. 391 - 405, 1997.

WEHKAMP, J. et al NF- κ B- and AP-1-mediated induction of human beta defensin-2 in intestinal epithelial cells by *Escherichia coli* Nissle 1917: a novel effect of a probiotic bacterium. **Infect. Immun.** v. 72, n. 10, p. 5750 - 5758, 2004.

YAZWINSKI T. A.; TUCKER C. A. A sampling of factors relative to the epidemiology of gastrointestinal nematode parasites of cattle in the United States. **Food animal practice**, v. 22, n. 3, p. 501-526, 2006.

YOSHIHARA, E. Avaliação de métodos alternativos no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v.0 9, n. 87, 2012

APÊNDICES

APÊNDICE A. Contagem de OPG nas fezes de animais desmamados submetidos a diferentes tratamentos

Animais		Valores de OPG - Tempo de ensaio (dias)								
		inicial	15	30	45	60*	75	90	105	120
Grupo A	Lembrança	2800	200	0	0					
	Cigano	1600	0	550	0	50	275	850	1250	2650
	Campina	1000	300	150	100	0	1250	900	4300	3750
	Itália	900	0	0	0					
	Novela	900	0	0	0					
	Delicado	800	100	0	0					
	Robinho	700	300	0	0	0	150	300	700	850
	Rainha	500	100	100	300					
	Melodia	500	0	50	0					
	Suleka	300	100	0	50					
	Estrelinha	1000	900	50	0					
	Rapadura	1500	1400	600	450	50	300	NC	950	2950
	Negrona	1000	1100	0	0	350	250	0	900	350
	Vanessa	100	100	50	0	0	0	50	0	100
	Realeza	800	2400	0	0	200	850	3150	2150	8300
MÉDIA		960	467	103	60	93	439	875	1464	2707
Grupo B	Estrela	2800	500	0	100	50	100	50	550	650
	Jandaia	900	800	2000	1200	500	475	0	0	400
	Fantasia	800	1400	1300	350	1400	150	50	600	1000
	Caçula	500	500	150	150	200	300	250	300	700
	Soraya	200	0	700	350	350	1530	850	800	2650
	Riqueza	200	300	400	400	800	550	150	500	900
	Assembléia	300	700	NC	200	450	300	150	150	250
	Marreca	300	600	0	700	1200	880	800	1000	1050
	Mancha	200	0	300	50	450	625	750	1300	600
	Soberana	900	200	1300	0	50	100	0	0	100
	Grandeza	200	700	800	1050	1500	25	0	100	300
	Mascarado	400	300	550	900	900	200	300	0	250
	Pombinha	950	800	0	550	3600	1180	650	1250	1250
MÉDIA		665	523	625	462	881	493	308	504	777
Grupo	Lembrança					150	300	500	850	1250
	Itália					100	125	50	300	450
	Novela					300	700	750	450	950
	Delicado					0	300	300	50	100
	Rainha					0	100	200	100	500
	Melodia					150	0	150	550	750
A1	Suleka					350	350	650	550	1250
	Estrelinha					250	150	100	100	400
MÉDIA						163	253	338	369	706

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados

* Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APÊNDICE C. Eritrograma de bezerros desmamados naturalmente parasitados com helmintos submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de ensaio (dias)		Hemácias								Hematócrito								Hemoglobina							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo A	Lembrança	5,4	6,1	5,9	5,9					21,9	25,1	23,8	25,4					6,6	25,1	7,4	7,3				
	Cigano	4,0	5,1	4,7	5,4	4,6	3,8	4,2	3,3	15,8	21,6	18,8	26,8	18,4	15,3	16,1	16,5	5,1	6,6	6,1	7,2	5,9	5,0	5,2	4,3
	Campina	3,6	3,7	3,6	5,6	4,6	5,3	5,0	4,5	15,8	16,0	16,3	24,3	18,4	21,4	20,4	21,7	5,0	5,1	4,9	7,3	5,7	6,6	6,1	5,8
	Itália	5,8	7,7	7,4	8,2					22,4	30,4	29,5	33,8					6,4	8,3	8,1	8,9				
	Novela	8,5	8,7	8,8	8,4					28,7	30,0	30,1	30,9					8,9	9,5	9,5	9,1				
	Delicado	5,4	6,3	5,6	5,4					20,0	25,4	21,7	27,2					6,4	7,9	6,8	7,1				
	Robinho	6,1	6,1	5,0	5,9	5,6	5,8	5,0	3,9	26,3	27,7	22,4	28,3	26,3	25,8	21,9	19,3	8,0	8,3	6,9	8,4	8,1	8,1	6,9	5,9
	Rainha	7,9	8,5	7,4	8,3					29,3	33,3	28,4	34,2					9,0	9,9	8,7	9,8				
	Melodia	6,2	7,5	7,0	7,7					24,0	30,3	28,0	33,8					7,3	9,3	8,3	9,6				
	Suleka	5,6	5,6	5,5	6,1					22,5	22,7	22,2	27,5					7,1	7,1	7,1	7,7				
	Estrelinha	4,4	4,1	4,2	5,1					18,4	17,9	18,0	22,6					5,7	5,5	5,5	6,6				
	Rapadura	5,0	4,6	4,5	5,3	5,1	5,4	5,7	5,7	20,2	20,0	19,6	26,4	21,7	22,7	24,2	27,5	6,3	6,1	6,1	7,3	6,8	6,8	7,5	7,4
	Negrone	4,2	4,6	5,2	5,0	5,1	7,1	6,5	5,2	15,7	20,1	22,1	24,2	20,5	27,3	24,9	22,8	4,8	5,9	6,7	6,4	6,3	8,6	7,7	6,2
	Vanessa	6,3	7,7	6,5	7,8	7,5	7,2	6,9	6,1	25,7	32,2	27,5	35,9	30,5	29,6	27,9	26,1	7,8	9,7	8,1	9,9	9,5	8,9	8,4	7,3
	Realeza	5,3	4,4	3,5	5,7	6,2	6,6	5,4	4,2	19,9	19,2	18,1	28,7	23,7	24,8	21,9	20,5	6,0	5,8	5,2	7,7	6,9	7,6	6,5	5,6
MÉDIA		5,6	6,0	5,7	6,4	5,5	5,9	5,5	4,7	21,8	24,8	23,1	28,7	22,8	23,8	22,5	22,1	6,7	8,7	7,0	8,0	7,0	7,4	6,9	6,1

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE C. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		VCM								HCM							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo A	Lembrança	22	41	40	43					41	13	13	12				
	Cigano	40	41	40	50	40	40	39	50	13	13	13	13	13	13	13	13
	Campina	44	44	45	43	40	40	41	47	14	14	14	13	13	13	12	
	Itália	39	39	40	41					11	11	11	11				
	Novela	34	34	34	67					11	11	11	11				
	Delicado	37	40	39	50					12	13	12	13				
	Robinho	73	45	45	48	47	45	44	50	13	14	14	14	14	14	14	15
	Rainha	37	39	39	41					11	12	12	12				
	Melodia	39	41	40	44					12	13	12	12				
	Suleka	23	41	40	42					40	41	12	13				
	Estrelinha	42	43	43	45					13	13	13	13				
	Rapadura	40	44	44	50	42	42	42	48	13	13	14	14	13	13	13	13
	Negrone	37	44	43	48	41	38	38	44	11	13	13	13	13	12	12	12
	Vanessa	41	42	42	46	41	41	40	43	12	13	12	13	13	12	12	12
	Realeza	38	44	52	50	38	38	40	49	11	13	15	13	11	12	12	14
MÉDIA		39	41	42	47	41	41	41	47	16	15	13	13	13	13	13	13

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE C. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Hemácias								Hematócrito								Hemoglobina							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo B	Estrela	5,8	6,3	5,9	6,7	7,1	6,6	5,6	5,8	24,8	28,0	26,6	30,8	30,3	27,0	23,0	27,0	7,6	8,5	8,0	8,9	9,0	8,1	7,0	8,0
	Jandaia	7,4	7,7	6,6	7,8	7,0	8,1	7,4	7,1	30,5	33,7	29,5	41,4	32,5	36,0	32,8	34,3	9,2	10,2	8,9	11,3	10,0	11,4	10,1	9,9
	Fantasia	6,6	5,7	5,8	7,0	5,6	6,6	7,7	6,5	25,3	22,8	22,6	30,3	23,2	26,3	30,1	25,9	7,6	6,7	7,0	8,4	6,9	7,9	8,8	7,4
	Caçula	6,6	7,1	6,6	6,7	6,2	6,0	5,2	5,3	27,3	31,6	28,7	34,1	27,1	25,6	21,6	26,0	8,3	9,5	8,9	9,2	8,5	8,0	6,9	7,1
	Soraya	3,8	5,4	4,9	5,8	5,9	6,0	6,0	6,5	14,4	20,0	17,4	21,5	21,0	21,5	21,1	23,4	4,4	6,1	5,4	6,5	6,6	6,5	6,4	7,0
	Riqueza	6,3	6,8	5,8	7,2	6,8	7,3	6,3	6,2	23,8	26,1	22,1	30,4	25,6	27,2	22,8	25,5	7,3	7,6	6,5	8,2	7,6	7,9	6,9	7,1
	Assembléia	6,8	7,7	6,7	7,5	7,4	7,8	8,6	6,2	28,2	31,5	26,2	31,8	29,6	29,5	33,2	24,6	8,4	9,5	7,9	8,9	8,9	9,2	9,9	7,1
	Marreca	8,1	7,8	6,4	6,5	5,7	6,7	6,0	6,0	27,6	28,1	23,7	32,5	22,4	25,8	22,1	26,9	8,3	8,4	7,3	8,2	7,1	8,2	6,8	7,3
	Mancha	7,2	7,5	7,8	7,3	6,0	6,5	6,6	6,2	29,3	30,2	31,3	35,4	25,3	26,6	26,6	29,3	8,4	9,1	9,1	8,7	7,3	7,9	7,8	7,8
	Soberana	7,1	8,4	6,8	7,1	6,4	6,5	6,6	6,0	27,7	32,7	26,1	29,5	27,2	25,4	26,1	25,2	8,6	10,1	8,0	8,7	8,2	7,8	8,0	7,3
	Grandeza	6,2	6,5	6,0	6,2	6,8	7,6	8,2	7,8	23,4	26,0	25,7	29,9	30,0	31,8	33,6	35,2	6,9	7,9	7,6	8,4	9,0	9,4	10,1	10,0
	Mascarado	7,8	7,5	6,7	6,3	6,2	7,1	7,5	6,3	28,5	27,0	24,7	26,0	24,0	27,5	28,9	24,8	8,8	8,4	7,6	7,6	7,5	8,4	8,7	7,4
	Pombinha	6,3	6,8	5,8	6,0	6,1	5,5	5,4	5,5	23,5	26,5	22,0	25,0	23,8	20,6	20,5	21,5	7,5	8,2	6,9	7,4	7,6	6,4	6,4	6,1
MÉDIA		6,6	7,0	6,3	6,8	6,4	6,8	6,7	6,3	25,7	28,0	25,1	30,7	26,3	27,0	26,3	26,9	7,8	8,5	7,6	8,5	8,0	8,2	8,0	7,7

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE C. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		VCM								HCM							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo B	Estrela	43	44	45	46	43	41	41	43	13	13	14	13	13	12	13	13
	Jandaia	41	44	45	53	47	45	44	48	13	13	14	15	14	14	14	14
	Fantasia	38	23	39	43	41	40	39	40	12	12	12	12	12	12	12	11
	Caçula	42	45	43	51	44	43	42	49	13	14	13	14	14	13	13	14
	Soraya	38	37	35	37	36	36	35	36	12	11	11	11	11	11	11	11
	Riqueza	38	38	38	43	38	37	36	40	12	11	11	12	11	11	11	12
	Assembléia	41	41	39	43	40	38	39	40	12	12	12	12	12	12	12	12
	Marreca	34	36	37	50	40	38	37	45	10	11	11	13	13	12	11	12
	Mancha	41	40	40	49	42	41	40	47	12	12	12	12	12	12	12	13
	Soberana	39	39	38	41	42	39	40	42	12	12	12	12	13	12	12	12
	Grandeza	38	40	43	48	44	42	41	45	11	12	13	14	13	12	12	13
	Mascarado	37	37	37	41	39	39	39	39	11	11	11	12	12	12	12	12
	Pombinha	37	39	38	42	39	38	38	39	12	12	12	12	13	12	12	11
MÉDIA		39	39	40	45	41	40	39	43	11,9	12,0	12,2	12,6	12,5	12,1	12,1	12,3

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE C. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Hemácias								Hematócrito								Hemoglobina							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo	Lembrança					5,21	4,95	4,98	4,85					21,3	20,3	21,2	20,7					6,6	6,3	6,5	5,8
	Itália					6,53	7,28	6,24	5,94					26,8	28,6	25,2	25,4					8,3	6,6	6,1	6,9
	Novela					7,75	7,65	7,81	8,04					26,8	28,2	29,1	28,6					8,7	8,2	7	8,5
	Delicado					5,45	5,89	5,58	4,81					23,7	23,9	21,6	21,5					7,3	9	8,9	5,9
	Rainha					7,08	7,47	6,25	6,74					27,6	29,4	23,7	28,9					8,5	8,8	7,3	8
	Melodia					5,59	6,59	6,64	7,52					22,5	27,5	25,8	30,3					7	8,5	7,9	8,9
A1	Suleka					5,49	6,05	5,72	5,48					22,1	23,8	23,3	22,6					6,8	7,7	7,3	6,9
	Estrelinha					5,53	6,15	5,69	4,94					22,6	24	21,9	20,6					7,1	7,4	6,7	6
MÉDIA						6,1	6,5	6,1	6,0					24,2	25,7	24,0	24,8					7,5	7,8	7,2	7,1

Tempo de ensaio (dias)		VCM								HCM							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo	Lembrança					41	41	43	43					13	13	13	12
	Itália					41	39	40	43					13	11	11	12
	Novela					35	37	37	36					11	12	11	11
	Delicado					44	40	39	45					13	12	12	12
	Rainha					39	39	38	43					12	12	12	12
	Melodia					40	42	39	40					13	13	12	12
A1	Suleka					40	39	41	41					12	13	13	13
	Estrelinha					41	39	39	42					13	12	12	12
MÉDIA						40,1	39,5	39,5	41,6					12,5	12,3	12,0	12,0

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APÊNDICE D. Leucograma de bezerros naturalmente parasitados com helmintos submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de ensaio (dias)		Leucócitos totais								Neutrófilos segmentados							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo A	Lembrança	16000	17500	14700	19700					1280	2625	882	7683				
	Cigano	8400	8500	9000	9400	9600	6000	7900	5000	672	425	630	2820	2304	1920	2449	1250
	Campina	10000	10400	8800	13000	12600	13900	11000		1500	1352	440	4030	4032	5143	3300	
	Itália	12800	17700	14100	16300					1024	1770	1410	3423				
	Novela	17400	18000	18900	22000					4002	2340	2366	7260				
	Delicado	9600	9800	8300	11500					768	784	415	8165				
	Robinho	16200	19100	14800	20200	17100	19700	15700	15900	4536	2764	740	5858	4275	6698	3297	5088
	Rainha	17500	16200	15900	17700					1750	486	795	4602				
	Melodia	14600	15800	16900	18300					876	1738	507	5673				
	Suleka	18700	20500	23700	17400					1870	2050	4977	7482				
	Estrelinha	16100	11300	10200	15000					1610	339	1224	6900				
	Rapadura	14500	12300	9100	15100	14400	14600	11300	13300	2755	738	1001	6644	5760	9490	3051	4655
	Negrone	9200	13400	11000	16500	12700	13700	11000	10400	644	1608	1100	7425	3556	8768	3300	3120
	Vanessa	12400	18400	13800	15400	15900	17400	15100	14000	2786	5888	1518	9240	5088	9570	5587	4900
	Realeza	13300	10500	12500	9800	12800	16700	12400	10700	1330	210	1625	1078	1664	5010	8804	4173
MÉDIA		13780	14627	13447	15820	13586	14571	12057	11550	1827	1674	1309	5886	3811	6657	4255	3864

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Neutrófilos bastonetes								Linfócitos típicos							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo A	Lembrança	0	0	147	0					14720	14875	13671	12017				
	Cigano	252	0	0	0	0	0	0	50	7476	8075	8370	6580	7296	4080	5451	3700
	Campina	0	0	0	0	0	0	0		8500	9048	8360	8970	8568	8757	7700	
	Itália	0	0	0	0					11520	15576	12690	12877				
	Novela	0	0	0	0					13050	15660	15834	19140				
	Delicado	0	0	0	0					8832	9016	7802	3335				
	Robinho	0	0	0	0	0	0	0	0	11502	16426	14060	14342	12825	13002	12403	10812
	Rainha	0	0	0	0					15225	15714	15105	13098				
	Melodia	0	0	0	0					13724	14062	16393	12627				
	Suleka	0	0	237	0					16643	18245	18012	9918				
	Estrelinha	161	0	102	0					14168	10961	8874	8100				
	Rapadura	0	0	0	0	0	0	0	0	11745	11562	8008	9966	8640	5110	8249	8645
	Negrona	0	0	0	0	0	0	0	0	8464	11792	9790	9075	9144	4932	7700	7176
	Vanessa	0	184	0	0	0	0	0	0	17114	12144	12282	6160	10812	7830	9513	9100
	Realeza	0	0	250	0	0	0	0	107	11970	10185	10625	8722	11136	11690	3596	6420
MÉDIA		28	12	49	0	0	0	0	26	12310	12889	11992	10328	9774	7914	7802	7642

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Eosinófilo								Monócitos								Plaquetas							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo A	Lembrança	0	0	147	0					0	0	0	0					26	67	148	159				
	Cigano	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	548	465	71	18	466	37	304	790
	Campina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		434	387	340	418	461	113	335	
	Itália	0	354	0	0					0	0	0	0					418	303	471	391				
	Novela	348	0	0	0					0	0	0	0					274	251	645	447				
	Delicado	0	0	83	0					0	0	0	0					419	126	187	337				
	Robinho	162	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	419	59	188	256	372	241	543	99
	Rainha	525	0	0	0					0	0	0	0					418	311	172	584				
	Melodia	0	0	0	0					0	0	0	0					280	76	78	190				
	Suleka	187	205	474	0					0	0	0	0					49	25	30	69				
	Estrelinha	161	0	0	0					0	0	0	0					324	464	540	481				
	Rapadura	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	91	0	0	0	0	0	106	16	184	181	329	71	96	375
	Negrone	92	0	110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104	701	252	500	255	337	123	111	300
	Vanessa	0	184	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	170	19	180	337	376	173	229	189
	Realeza	0	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	837	724	1608	631	431	773	361	803
MÉDIA		98	57	54	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	17	362	236	356	317	396	219	283	426

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Leucócitos totais								Neutrófilos segmentados							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo B	Estrela	17100	18200	16800	16500	20900	19300	16000	15200	1368	910	1344	4785	13167	7527	1760	2340
	Jandaia	16800	16500	13200	16000	14200	16700	15000	15500	1848	2475	1188	4160	4686	6680	4650	4650
	Fantasia	13500	11900	11400	11600	9600	14000	11200	11500	1080	1071	2850	3828	3456	5180	3696	3450
	Caçula	13100	14900	15400	15900	15700	15500	14700	12700	2096	2235	4620	4929	4396	4960	4704	2540
	Soraya	9900	11400	10200	10600	9600	9500	9200	10200	990	1026	1122	3816	4032	6460	6348	4080
	Riqueza	19800	20600	20400	19300	16600	15500	16100	12400	1386	4326	3060	2123	5312	1705	2898	3200
	Assembléia	19900	17500	19100	20200	21100	22300	19100	19000	2786	2450	2292	5858	15614	5575	3056	3800
	Marreca	11500	13000	9400	9400	11000	11400	8100	9900	1495	650	752	4418	3080	3192	5913	2673
	Mancha	19900	15500	18000	15400	14600	18500	15000	15400	2786	465	2340	7392	5256	4070	3150	3234
	Soberana	12100	11600	10700	13700	13100	12400	14700	12100	1210	580	963	2192	262	2728	2940	2057
	Grandeza	15800	16800	14100	21700	21800	20600	21000	18000	1738	672	1269	5859	6976	6798	5250	3060
	Mascarado	13300	13400	12800	12900	13500	14900	13300	11700	2793	1742	3328	8385	5400	9089	4123	3393
	Pombinha	19000	18700	21100	18700	21300	24900	17900	15700	14630	2805	1688	11220	9372	11205	7697	4710
MÉDIA		15515	15385	14815	15531	15615	16577	14715	13792	2785	1647	2063	5305	6231	5782	4322	3322

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Neutrófilos bastonetes								Linfócitos típicos							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo B	Estrela	0	0	0	0	0	0	0	0	15732	17290	15456	11715	7733	11773	14430	13530
	Jandaia	0	0	264	0	0	0	0	0	14952	14025	11748	11840	9514	10020	10350	10695
	Fantasia	0	0	0	0	0	0	0	0	12420	10829	8436	7772	7104	8820	7504	7820
	Caçula	0	0	0	0	0	0	0	0	11004	12665	10626	10971	11304	10540	9996	9906
	Soraya	0	0	102	0	0	0	0	0	8910	10374	8976	6784	5568	2945	2852	6120
	Riqueza	0	0	0	0	0	0	0	0	18216	16274	17136	19177	12948	13795	13202	12200
	Assembléia	0	175	191	0	0	0	0	0	17114	14875	16617	14342	5486	16725	14134	15010
	Marreca	0	260	0	0	0	0	0	0	9890	12090	8551	4982	7920	8208	2187	7227
	Mancha	0	0	0	0	0	0	0	0	16915	15035	15300	8008	9344	14430	11850	12166
	Soberana	0	116	0	0	0	0	0	0	10890	10788	9737	11234	12838	9672	11760	10043
	Grandeza	0	0	0	0	0	0	0	0	14062	15960	12831	15841	14824	13802	15750	14400
	Mascarado	0	0	0	0	0	0	0	0	10241	11658	9344	6966	8100	5811	9177	8307
	Pombinha	0	187	211	0	0	0	0	0	4370	15708	19202	7480	11928	16185	10203	10990
MÉDIA		0	57	59	0	0	0	0	0	12670	13659	12612	10547	9585	10979	10261	10647

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Eosinófilo								Monócitos								Plaquetas							
		inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120	inicial	15	30	45	60*	75	90	120
Grupo B	Estrela	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		153	313	368	356	497	155	679	
	Jandaia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	155	135	53	12	93	448	26	393	82
	Fantasia	0	0	114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	230	37	19	134	175	94	220	349	94
	Caçula	0	0	154	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	254	429	294	308	239	254	77	207	402
	Soraya	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95	0	0	138	25	39	80	199	100	45	175
	Riqueza	198	0	0	0	0	0	0	0	0	0	204	0	0	0	0	155	51	158	33	87	567	318	281	141
	Assembléia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	190	170	509	51	810	148	45	79	93
	Marreca	115	0	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	852	424	675	671	476	916	333	519
	Mancha	0	0	180	0	0	0	0	0	199	0	180	0	0	0	0	0	353	202	156	440	317	171	101	145
	Soberana	0	116	0	274	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	469	649	484	259	429	292	295	281
	Grandeza	0	0	0	0	0	0	0	0	0	168	0	0	0	0	0	540	92	93	213	136	533	440	287	393
	Mascarado	133	0	128	129	0	0	0	0	133	0	0	0	0	0	0	0	92	62	145	168	313	134	142	243
	Pombinha	0	0	211	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	157	845	238	94	491	66	156	606
MÉDIA		34	9	68	31	0	0	0	0	26	13	30	0	0	7	0	127	241	280	220	278	367	228	257	265

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Leucócitos totais								Neutrófilos segmentados							
		inicial	15	30	45	60	75	90	120	inicial	15	30	45	60	75	90	120
Grupo	Lembrança					17200	17800	16900	14300					11696	6052	4394	4004
	Itália					12900	19200	14500	19400					3870	6144	10585	5820
	Novela					17800	20000	20100	20700					12104	3600	16683	6831
	Delicado					9700	10200	7300	8400					7954	2856	1168	2520
	Rainha					21400	18200	12000	14100					7062	12740	2880	3525
	Melodia					15300	16100	17100	27400					5049	3220	4275	14522
A1	Suleka					21100	22000	15000	17100					9495	8800	4500	5472
	Estrelinha					12500	16700	12200	10400					5625	8851	6222	2080
MÉDIA						15988	17525	14388	16475					7857	6533	6338	5597

Tempo de ensaio (dias)		Neutrófilos bastonetes								Linfócitos típicos							
		inicial	15	30	45	60	75	90	120	inicial	15	30	45	60	75	90	120
Grupo	Lembrança					0	0	0	0					5504	11758	12506	10010
	Itália					0	0	0	194					9030	13056	3915	13386
	Novela					0	0	0	0					5696	16000	3417	13869
	Delicado					0	0	0	168					1746	7344	6132	5712
	Rainha					0	0	0	0					14338	5460	9000	10293
	Melodia					0	0	0	548					11781	12880	12825	12330
A1	Suleka					0	0	0	0					11605	12980	10500	11457
	Estrelinha					0	0	0	0					6625	7849	5978	8216
MÉDIA						0	0	0	114					8291	10916	8034	10659

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APENDICE D. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Eosinófilo								Monócitos								Plaquetas							
		inicial	15	30	45	60	75	90	120	inicial	15	30	45	60	75	90	120	inicial	15	30	45	60	75	90	120
Grupo A1	Lembrança					0	0	0	0					0	0	0	286					291	47	87	219
	Itália					0	0	0	0					0	0	0	0					945	237	489	261
	Novela					0	0	0	0					0	400	0	0					669	868	898	457
	Delicado					0	0	0	0					0	0	0	0					370	186	315	291
	Rainha					0	0	0	0					0	0	120	282					412	171	161	513
	Melodia					0	0	0	0					0	322	0	0					252	125	243	402
	Suleka					0	0	0	0					0	220	0	171					253	61	136	103
	Estrelinha					0	0	0	0					250	0	0	0					473	113	180	674
MÉDIA						0	0	0	0					31	118	15	92					458	226	314	365

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados * Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APÊNDICE E. Peso de animais desmamados submetidos a diferentes tratamentos

Animais		Estimativa de peso vivo dos animais (kg)		
		Tempo de ensaio (dias)		
		inicial	60*	120
Grupo A	Lembrança	141		
	Cigano	127	151	131
	Campina	127	144	113
	Itália	87		
	Novela	121		
	Delicado	130		
	Robinho	200	209	218
	Rainha	114		
	Melodia	151		
	Suleka	127		
	Estrelinha	200		
	Rapadura	137	141	131
	Negrone	127	137	148
	Vanessa	124	144	141
	Realeza	93	117	101
	MÉDIA	134	149	140
Grupo B	Estrela	96	111	116
	Jandaia	169	191	194
	Fantasia	117	151	131
	Caçula	117	130	125
	Soraya	137	162	151
	Riqueza	84	111	110
	Assembléia	84	121	131
	Marreca	181	188	199
	Mancha	111	144	113
	Soberana	130	146	131
	Grandeza	151	166	175
	Mascarado	151	162	151
	Pombinha	158	151	154
	MÉDIA	130	149	145
Grupo A1	Lembrança		160	154
	Itália		101	119
	Novela		114	122
	Delicado		137	134
	Rainha		137	125
	Melodia		177	175
	Suleka		137	141
	Estrelinha		204	198
	MÉDIA		146	146

Grupo A - Animais tratados com closantel no início dos ensaios; Grupo B - Animais tratados com probióticos em dias alternados; Grupo A1 - Animais tratados com o closantel no início dos ensaios e após 60 dias tratados com os probióticos em dias alternados

* Subdivisão do grupo A, com a formação do grupo A1;

APÊNDICE F. Contagem de OPG nas fezes de animais em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos

Animais		Valores de OPG - Tempo de ensaio (dias)			
		30	60	90	120
Grupo 1	Barca	1600	50	4500	100
	Lara	1650	0	4750	150
	Caiana	0	0	2500	50
	Argola	100	0	3850	150
	Gaivota	850	0	3700	400
	MÉDIA	840	10	3860	170
Grupo 2	Jardineira	NC	100	1550	1700
	Fartura	1450	750	200	2000
	Pousada	300	†	†	†
	Paola	900	NC	NC	550
	Bruna	500	350	450	1950
	MÉDIA	788	400	733	1550
Grupo 2	Pirata	0	2050	7750	150
	Malvina	0	550	2550	150
	Rackeley	50	650	700	150
	Lady	0	1000	2300	1500
	Itaúna	0	950	850	100
	MÉDIA	10	1040	2830	410

Grupo 1 - grupo controle - animais sem tratamento controlado; Grupo 2 - Animais tratados com probióticos Nos 5 primeiros dias de vida; Grupo 3 - animais tratados com probióticos em dias alternados;
 NC = Não Coletado
 † Animal morto por piroplasmos

APÊNDICE F. Eritrograma de bezerros em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de ensaio (dias)		Hemácia				Hematócrito			
		30	60	90	120	30	60	90	120
Grupo 1	Barca	2,47	5,41	4,84	4,87	21	25,3	20,5	20,9
	Lara	3,17	4,13	4,70	5,59	21	22	27,5	24,2
	Caiana	3,79	5,03	4,95	4,36	15,5	23,7	20,9	18,3
	Argola	4,60	4,78	4,72	4,85	37,1	25,7	20,4	20,6
	Gaivota	4,51	3,59	2,96	3,67	39	14,4	15	20,8
	MÉDIA	3,71	4,59	4,43	4,67	26,72	22,22	20,86	20,96
Grupo 2	Jardineira	2,4	3,45	3,66	4,1	22,5	19,5	16,4	17,9
	Fartura	4,57	3,71	4,15	4,94	36,9	18,2	23,8	22,5
	Pousada	5,03	†	†	†	38,1	†	†	†
	Paola	4,26	3,83	4,72	4,39	33,1	23,5	20,2	18,1
	Bruna	3,98	3,62	4,87		30,9	25,1	24,7	
	MÉDIA	4,05	3,65	4,35	4,48	32,30	21,58	21,28	19,50
Grupo 3	Pirata	2,47	4,53	5,34	4,66	23,7	23,6	23,9	19,6
	Malvina	3,63	4,56	4,6	4,24	32,4	21,5	23,2	19,7
	Rackeley	6,51	2,77	5,85	5,06	52,2	21,5	28,6	23,4
	Lady	4,8	2,23	4,5	5,09	34,5	18	29,8	25,9
	Itaúna	3,48	3,3	4,13	4	30	16,4	21	17,9
	MÉDIA	4,18	3,52	4,81	4,59	34,56	20,20	25,30	21,30

Grupo 1 - grupo controle - animais sem tratamento controlado; Grupo 2 - Animais tratados com probióticos nos primeiros 5 dias de vida; Grupo 3 - Animais tratados com probióticos em dias alternados;

† Animal morto por piroplasmos

APÊNDICE F. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Hemoglobina				VCM				HCM			
		30	60	90	120	30	60	90	120	30	60	90	120
Grupo 1	Barca	7,3	13,9	11,6	16,1	40	47	43	43	30	26	24	33
	Lara	7,4	10	9,5	13,9	48	53	42	43,8	23	24	20	23,8
	Caiana	10,7	12,6	9,3	11,5	41	47	42	41,8	28	25	19	26,1
	Argola	12,8	11,8	10,2	14,2	43	54	43	42,6	28	25	22	29,2
	Gaivota	13,4	9,9	6	8,1	42	40	52	56,8	30	28	20	22
	MÉDIA	10,32	11,64	9,32	12,76	42,8	48,2	44,4	45,6	27,8	25,6	21	26,82
Grupo 2	Jardineira	7,5	6,8	9,1	9,8	45	57	44,9	46	31	20	24,8	23
	Fartura	12,3	7,2	9,8	10,9	43	49	56,1	46	27	19	23,6	22
	Pousada	12,7	†	†	†	44	†	†	†	25	†	†	†
	Paola	11,7	7,2	11,8	11,5	42	62	42,8	41	27	19	25	26
	Bruna	10,3	7,9	10,7		42	70	50,9		26	22	21,9	
	MÉDIA	10,90	7,28	10,35	10,73	43,20	59,50	48,68	44,33	27,20	20,00	23,83	23,67
Grupo 3	Pirata	7,9	9,8	12,1	12,3	78,2	52,3	45	42	31,9	21,6	23	26
	Malvina	10,8	10,8	10,8	10	41,1	47,2	51	47	29,7	23,6	23	24
	Rackeley	17,4	7,2	12,8	11,5	46,5	77,8	49	46	26,7	25,9	22	23
	Lady	11,5	6,8	10,7	10,7	42,6	80,9	66	51	23,9	26,9	24	21
	Itaúna	10	6,2	8,5	8,5	40,9	49,3	51	45	28,7	24,6	21	21
	MÉDIA	11,26	8,00	10,85	10,62	47,79	62,43	51,65	45,89	27,73	23,51	22,68	23,11

Grupo 1 - grupo controle - animais sem tratamento controlado; Grupo 2 - Animais tratados com probióticos nos 5 primeiros dias de vida; Grupo 3 - Animais tratados com probióticos em dias alternados;

† Animal morto por piroplasmos

APÊNDICE G. Leucograma de bezerros em aleitamento submetidos a diferentes tratamentos

Tempo de ensaio (dias)		Leucócitos totais				Neutrófilos segmentados				Neutrófilos bastonetes			
		30	60	90	120	30	60	90	120	30	60	90	120
Grupo 1	Barca	22700	23800	28600	24700	7945	9282	21450	11362	0	0	0	0
	Lara	18900	17500	20100	19400	4725	6825	14070	3686	0	0	0	388
	Caiana	10700	21400	14700	22400	4601	14980	8967	6944	0	0	0	0
	Argola	14800	43700	66600	62300	4588	15732	23310	32396	0	0	0	623
	Gaivota	12600	16500	19600	19600	1890	11385	19175	1764	0	0	0	196
	MÉDIA	15940	24580	29920	29680	4749,8	11640,8	17394,4	11230,4	0	0	0	241,4
Grupo 2	Jardineira	13300	19100	69900	54900	3990	9550	32154	31524	0	0	0	0
	Fatura	10300	18800	32400	35600	5150	11280	7452	14952	0	376	0	0
	Pousada	12400	†	†	†	4464	†	†	†	0	†	†	†
	Paola	13000	13000	26000	32800	7800	8970	7800	21320	0	0	0	328
	Bruna	21500	43600	31800	-	9245	17440	10176	-	0	0	0	-
	MÉDIA	14100	23625	40025	41100	6129,8	11810	14395,5	22598	0	94	0	109
Grupo 3	Pirata	51600	20800	40000	30600	21156	4784	22800	12852	1032	208	0	0
	Malvina	11000	16700	13900	15200	3960	7849	9730	8208	220	167	0	0
	Rackeley	16700	16200	17800	15000	2672	2268	11570	8250	0	324	0	0
	Lady	10000	13200	15700	15500	4300	3036	7065	6820	100	0	0	0
	Itaúna	6700	25300	34600	14000	3484	8096	10380	7420	0	0	0	0
	MÉDIA	19200	18440	24400	18060	7114,4	5206,6	12309	8710	270,4	139,8	0	0

Grupo 1 - grupo controle - animais sem tratamento controlado; Grupo 2 - Animais tratados com probióticos nos 5 primeiros dias de vida; Grupo 3 - Animais tratados com probióticos em dias alternados;

† Animal morto por piroplasmos

APÊNDICE G. Continuação

Tempo de ensaio (dias)		Eosinófilos				Linfócitos típicos				Monócitos			
		30	60	90	120	30	60	90	120	30	60	90	120
Grupo 1	Barca	0	0	0	0	14755	14280	7150	13338	0	238	0	0
	Lara	0	0	0	0	13986	10675	6030	14162	189	0	0	0
	Caiana	0	0	0	0	6099	5992	4704	15008	0	428	147	448
	Argola	0	0	0	0	10212	27531	41958	28658	0	437	1332	0
	Gaivota	0	0	0	0	10584	5115	10325	17640	126	0	0	0
	MÉDIA	0	0	0	0	11127,2	12718,6	14033,4	17761,2	63	220,6	295,8	89,6
Grupo 2	Jardineira	0	0	0	0	9177	9359	37746	23376	133	191	0	0
	Fatura	0	0	0	0	5047	7144	24948	20292	103	0	0	356
	Pousada	0	†	†	†	7936	†	†	†	0	†	†	†
	Paola	0	130	0	0	5070	3770	17940	11152	130	130	260	0
	Bruna	0	0	0		12255	26610	21624		0	0	0	
	MÉDIA	0	32,5	0	0	7897	11721	25565	18273	73,2	80,3	65	119
Grupo 3	Pirata	0	0	0	0	29412	15184	16800	17748	0	624	400	0
	Malvina	0	0	0	0	6600	8684	4031	6992	220	0	139	0
	Rackeley	0	162	0	0	13360	13446	8010	6750	668	0	0	0
	Lady	100	0	314	0	5500	10164	8164	8680	0	0	157	0
	Itaúna	67	0	0	0	3149	17204	23528	6580	0	0	692	0
	MÉDIA	33,4	32,4	62,8	0	11604,2	12936,4	12106,6	9350	177,6	124,8	277,6	0

Grupo 1 - grupo controle - animais sem tratamento controlado; Grupo 2 - Animais tratados com probióticos nos 5 primeiros dias de vida; Grupo 3 - Animais tratados com probióticos em dias alternados;

† Animal morto por piroplasmos

APÊNDICE G. Peso das bezerras em fase de aleitamento submetidas a diferentes tratamentos

Tempo de ensaio (dias)		Plaquetas			
		30	60	90	120
Grupo 1	Barca	608	260	320	280
	Lara	208	158	600	695
	Caiana	215	668	466	554
	Argola	591	662	217	665
	Gaivota	319	67	254	187
	MÉDIA	388,2	363	371,4	476,2
Grupo 2	Jardineira	97	184	801	620
	Fartura	195	454	142	565
	Pousada	330	†	†	†
	Paola	280	158	638	243
	Bruna	293	207	538	
	MÉDIA	239	250,75	529,75	476
Grupo 3	Pirata	230	142	251	915
	Malvina	586	990	249	783
	Rackeley	698	248	605	659
	Lady	909	304	278	255
	Itaúna	452	256	302	407
	MÉDIA	575	388	337	603,8

Grupo 1 - grupo controle - animais sem tratamento controlado;

Grupo 2 - Animais tratados com probióticos nos 5 primeiros dias de vida;

Grupo 3 - Animais tratados com probióticos em dias alternados;

† Animal morto por piroplasmos