

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

EUGÊNIO YOKOYA

**Efeito da suplementação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> na prevenção  
e tratamento da diarreia e no desempenho de bezerros em  
aleitamento**

---

Pirassununga

2023

EUGÊNIO YOKOYA

**Efeito da suplementação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> na prevenção e tratamento da diarreia e no desempenho de bezerros em aleitamento**

**Versão Corrigida**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

EUGÊNIO YOKOYA

**Efeito da suplementação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> na prevenção e tratamento da diarreia e no desempenho de bezerros em aleitamento**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Data de aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Banca Examinadora

Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

Dr.(a) Brenda Barcelos

Instituição: MSD Saúde Animal

Dr. Flavio Perna Junior

Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Dr. (a) Gabriela Aferri

Instituição: Instituto de Zootecnia/APTA SAA

Prof.(a) Dr. (a) Priscila dos Santos Silva

Instituição: Faculdade Anísio Teixeira



Protocolo n<sup>o</sup> 323-2021

Governo do Estado de São Paulo  
Secretaria de Agricultura e Abastecimento  
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios  
Instituto de Zootecnia

## CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo intitulado **“EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO HOMEOPÁTICO CURSO ZERO NA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA DIARREIA E NO DESEMPENHO DE BEZERROS EM ALEITAMENTO”**, protocolo n<sup>o</sup> **“323-2021**, sob a responsabilidade de **Márcia Saladini Viera Salles, Luiz Carlos Roma Junior, Arlindo Saran Netto, Eugênio Yokoia**, que envolve a utilização de bovinos para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n<sup>o</sup> 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do INSTITUTO DE ZOOTECNIA, em reunião de **23/06/2021**.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica <input type="checkbox"/> Treinamento
Vigência do Projeto	28/07/2021 a 28/11/2021
Espécie/Linhagem	<i>Bos taurus taurus/holandes</i>
No. de Animais	À definir
Peso/Idade	30 à 60kg/01 a 70 dias
Sexo	À definir
Origem	CAPBC

José Evandro de Moraes  
Presidente CEUA-IZ

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

YOKOYA, EUGÊNIO

Y54 “Efeito da suplementação do homeopático Curso Zero® na prevenção e tratamento da diarreia e no desempenho de bezerros em aleitamento”/EUGÊNIO YOKOYA; orientador Arlindo Saran Netto. -- Pirassununga, 2023.

78 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. **1.** Homeopatia. **2.** Bezerros. **3.** Diarreia. **4.** Saúde. **5.** escure de fezes. I. Saran Netto, Arlindo, orient. II. Título.

Aos meus pais, Fumio e Toshie (*in memoriam*), a minha esposa Carolina e filhos (as), por todo apoio e esforço para me ajudarem durante toda a jornada até a conquista deste título...

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar sempre presente em minha vida, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao prof. Dr. Arlindo Saran Netto pela orientação, dedicação, paciência, e pela amizade construída. Iniciou na minha graduação e me aceitou orientar no doutorado. Aprendi muito e serei sempre grato.

À Marcia Saladini pela coorientação e paciência comigo, me ajudando em todo experimento.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização deste curso.

Ao prof. Luiz Coutinho pela colaboração nesta pesquisa.

As minhas colegas de orientação pelo companheirismo, e ajuda no experimento: Mellory e Larissa.

À Gabi, por toda amizade e ajuda antes, durante e após o experimento.

Ao Roma por ter aberto o IZ para a realização do experimento.

Ao Weber, que desde a graduação tem ajudado com grande dedicação e competência.

Aos estagiários externos do IZ. Muito obrigado por tudo.

Aos meus colegas de pós-graduação.

A minha grande amiga Helena. Palavras não são capazes de descrever o quanto sua amizade é importante para mim. Muito obrigado mesmo.

A Priscila pela amizade, e que no momento mais difícil me “deu a mão” e deixou tudo mais divertido e simples.

E a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Obrigado!

## RESUMO

YOKOYA, E. **Efeito da suplementação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> na prevenção e tratamento da diarreia e no desempenho de bezerros em aleitamento.** 2023. 77 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

O objetivo desta pesquisa foi verificar o efeito da suplementação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> na prevenção da diarreia e no desempenho de bezerros em aleitamento. Foram utilizados 24 bezerros holandeses recém-nascidos, saudáveis e distribuídos em 2 grupos; grupo Controle (CT, n=12) e grupo Curso Zero<sup>®</sup> (CZ, n=12). Os bezerros do tratamento CZ receberam 15mL do homeopático, via oral, antes da colostragem, e aos 7 dias de vida. Ambos os grupos de bezerros receberam o colostro da própria mãe, e a qualidade foi analisada através do refratômetro de brix. Os bezerros foram alojados em cabanas tropicais individuais e receberam 6L de leite, duas vezes ao dia durante 60 dias. Os bezerros de ambos os tratamentos tiveram acesso ao alimento sólido a partir da primeira semana de vida e água. Foram colhidas amostras de sangue nos dias 28 e 56 para análise hematológica, dosagem de NEFA e BHB. Ao nascimento, aos 07, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias de vida foram obtidas as medidas corporal e de desempenho, como peso, ganho de peso, altura de cernelha, perímetro torácico e o comprimento e diariamente foi realizada a avaliação de sanidade através do escore de secreção nasal, temperatura retal, escore fecal, secreção ocular e posicionamento da orelha, assim como, foi avaliado também o consumo de MS e eficiência alimentar. o 5º e 30º dias foram colhidas amostras de fezes para análise do microbioma. Os bezerros CZ apresentaram maior valor de VCM, contagem relativa de eosinófilos e maior temperatura retal. Não houve diferença entre os tratamentos em relação aos graus de escore de fezes e concentração de NEFA e BHB. Houve maior consumo de MS e altura de cernelha e menor eficiência alimentar dos bezerros CZ em comparação ao CT. O tratamento com o homeopático modificou o microbioma dos bezerros a nível de filo e gênero. O homeopático Curso Zero<sup>®</sup> influenciou em alguns parâmetros imunológicos e sanitários, e modificou precocemente o microbioma ruminal dos bezerros.

Palavras-Chave: Escore de Fezes. Homeopatia. Microbioma. Saúde.



## ABSTRACT

**YOKOYA, E. Effect of Curso Zero® homeopathic supplementation on the prevention and treatment of diarrhea and on the performance of suckling calves.** 2023. 77 f. Thesis. (PhD) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

The objective of this research was to verify the effect of supplementation with Homeopathic Curso Zero® in the prevention of diarrhea and in the performance of suckling calves. 24 healthy newborn crossbred calves were used and divided into 2 groups: Control group (CT, n=12) and Curso Zero® group (CZ, n=12). The calves of the CZ treatment received 15mL of the homeopathic, orally, before of the colostrum and 7 days of life. Both groups of calves received colostrum from their dams, and the quality was monitored using a brix refractometer. Calves were housed in individual tropical hutches and given 6L of milk twice daily for 60 days. Calves from both treatments had access to solid feed from the first week of life and water. Blood samples were collected on days 28 and 56 for hematological, analysis of NEFA and BHB dosage. At birth, at 07, 14, 21, 28, 35, 42, 49 and 56 days of life, body and performance measurements were collected, such as weight, weight gain, height at withers, contour and chest length, and daily the health was evaluated using the nasal discomfort score, rectal temperature, fecal score, ocular discomfort and ear positioning, in addition to DM consumption and food efficiency. On the 5th and 30th days, stool samples were collected for microbiome analysis. CZ calves had higher VCM value, relative eosinophil count and higher rectal temperature. There was no difference between treatments in terms of stool scores and concentration of NEFA and BHB. There was higher DM intake and withers height and lower feed efficiency of CZ calves compared to CT. Homeopathic treatment modified the microbiome of calves at the phylum and genus level. The homeopathic Curso Zero® influence on some immunological and health parameters, and early modified the ruminal microbiome of calves.

Keywords: Stool Score. Homeopathy. Microbiome. Health

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>11</b>
2.1 A IMPORTÂNCIA DA CRIAÇÃO DE BEZERRAS PARA A PRODUÇÃO DE LEITE NO PAÍS .....	11
2.2 ENFERMIDADES DE BEZERROS.....	14
2.3 DIARREIAS: O CONCEITO .....	14
2.4 IMUNIDADE DOS BEZERROS: DA PLACENTA AO COLOSTRO .....	22
2.5 O HOMEOPÁTICO CURSO ZERO®.....	28
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>32</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
4.1 ANIMAIS.....	33
4.2 INSTALAÇÕES DOS BEZERROS .....	34
4.3 MATERIAIS e PROCEDIMENTOS .....	35
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	45
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>47</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>6161</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>666</b>
<b>8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>677</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>766</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios na atividade leiteira é a criação de fêmeas para a reposição, que representa o futuro da produção em qualquer propriedade, fazendo-se necessário a adoção de manejos, alimentar e sanitário adequados; além das condições de bem-estar que contribuem para a produtividade, saúde e desenvolvimento destes animais. Neste sentido, para a obtenção de sucesso com a bovinocultura, a criação adequada de bezerras, assume suma importância na atividade, pois das fêmeas jovens, de potencial produtivo mais elevado é que teremos aquelas que substituirão as vacas mais velhas do rebanho, sendo, portanto, um ponto crucial para o bom desempenho de uma propriedade leiteira.

Cabe ressaltar aqui, que os cuidados com bezerros devem ser redobrados até a fase do desmame, pois, vários são os estudos que comprovam que é nesta fase que podem ser alcançadas elevadas taxas de morbidade e mortalidade devido a problemas sanitários; sendo mais frequentes as infecções de umbigo, diarreias, pneumonias, tristeza parasitária, verminoses, entre outras.

De modo geral, essas doenças cursam com um impacto negativo na criação, causando prejuízos extensos, diretos e indiretos, quer sejam por óbito ou por retardamento no desenvolvimento.

É sabido que, após o nascimento, os bezerros não apresentam imunidade inata, e, portanto, podem se expor a diversos patógenos causadores de enfermidades, nesta fase. É neste período que as boas práticas de nutrição e sanidade podem contribuir para o bom crescimento e desenvolvimento destes animais, durante todo o período de aleitamento e, prepará-los para o enfrentamento do desafio de adquirir um sistema de defesa eficiente nas primeiras semanas de vida até que seu desenvolvimento esteja estabelecido.

Neste contexto, na busca da saúde e bem-estar animal o uso de antibióticos, passou a ser muito utilizado na criação de bezerros, e necessário para a prevenção de septicemia ou doenças concomitantes, porém, este uso indiscriminado em algumas doenças não complicadas, demonstrou causar danos à mucosa intestinal, tornando a intervenção terapêutica pouco recompensadora.

Dentre as infecções citadas, as diarreias em bezerros estão entre as enfermidades mais importantes pois geram grandes prejuízos econômicos aos produtores, tanto pela perda de animais quanto pelo custo do tratamento. Os principais agentes envolvidos nas

diarreias são; bactérias (principalmente *Escherichia coli*), vírus (rotavírus e coronavírus) e parasitas (*Eimeria* spp e *Cryptosporidium* spp).

O tratamento convencional para as diarreias envolve o uso de antibióticos, podendo gerar custos elevados, deposição de resíduos no meio ambiente, além de aumentar a pressão de seleção de bactérias resistentes aos antimicrobianos. Contudo, na busca de tratamento alternativo, o presente estudo propôs o uso de um homeopático, Curso Zero<sup>®</sup> em bezerros e avaliou seus efeitos na incidência de diarreia, no desempenho e na saúde dos animais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A IMPORTÂNCIA DA CRIAÇÃO DE BEZERRAS PARA A PRODUÇÃO DE LEITE NO PAÍS

O setor leiteiro tem um importante papel na ordem econômica e social do agronegócio brasileiro, com uma participação significativa no PIB da pecuária.

Segundo os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística divulgados em setembro de 2021 sobre a Pesquisa Pecuária referente ao ano de 2020, todas as cadeias pecuárias apresentaram crescimento em relação a 2019, mesmo com a pandemia de covid-19 (IBGE, 2021).

O leite teve sua produção consolidada pelo terceiro ano consecutivo de crescimento. Em 2020, o setor atingiu a maior produção na série histórica, 35,4 bilhões de litros de leite em um único ano. Este montante segundo o IBGE (2021) representou avanço de 1,5% ante os 34,9 bilhões de litros produzidos em 2019.

Neste sentido, a cadeia produtiva do leite e derivados é um setor de grande importância econômica e social para o Brasil e recebe dedicação especial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Segundo este órgão, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, com mais de 34 bilhões de litros por ano, com produção em 98% dos municípios brasileiros, tendo a predominância de pequenas e médias propriedades, empregando perto de 4 milhões de pessoas (BRASIL, 2021).

O país conta com mais de 1 milhão de propriedades produtoras de leite e as projeções do agronegócio da Secretaria de Política Agrícola, estimam que, para 2030, irão permanecer os produtores mais eficientes, que se adaptarem à nova realidade de adoção de tecnologia, melhorias na gestão e maior eficiência técnica e econômica (BRASIL, 2021). No cenário para a produção de leite no Brasil na próxima década, de Vilela e Resende (2014), o Brasil assumiu a quinta posição no ranking dos países maiores produtores de leite do mundo e exibiu crescimento acima da média mundial. Fontes do IBGE (2006) e os achados de Zoccal et al. (2013) constataram que para este cenário, o setor produtivo contou com um universo de 1,3 milhão de propriedades leiteiras, distribuídas praticamente em todo o território nacional, sendo algumas mais e outras menos tecnificadas.

Em julho de 2021, o canal rural também divulgou que nas últimas cinco décadas, a produção de leite no Brasil cresceu sete vezes, saltando de 5 para quase 35 bilhões de

litros por ano, porém destacou que, apesar do país se consolidar como um dos cinco maiores produtores do mundo, esse volume é suficiente apenas para abastecer o mercado interno (CANAL RURAL, 2021).

Zwick (2014) em seu estudo sobre os aspectos ambientais da produção leiteira, em propriedades rurais familiares do noroeste do Rio Grande do Sul, reportou que nas últimas décadas a produção de leite no Brasil, passou por grandes transformações em virtude da nova realidade da econômica mundial, com adoção de modernas tecnologias, cumprimento de normas e leis ambientais e sanitárias . Já Wolf, em 2021, complementou que para conseguir uma maior qualidade, seria preciso investir em alguns pontos importantes; tais como melhoramento genético, passando por eficiência alimentar, reprodutiva e gestão (WOLF, 2021).

...Você tem que aprender a controlar seu custo de produção, senão não há valor remunerado pela matéria prima que vai alcançar talvez a ineficiência do sistema produtivo, diz o coordenador comercial de leite da Unium, Rogério Wolf.

Para além dos pontos fomentados por Wolf, e dos fatores regulamentados para obtenção de leite de boa qualidade, tem que se ressaltar todo o trabalho envolvido para a obtenção dentro do sistema de produção e, dentre os principais fatores de controle do produtor estão: os alimentos e água fornecidos aos animais, a genética, a mão-de-obra, a sanidade animal, higiene no manejo, e a criação de bezerras (SANTOS; LOPES, 2014; STEFFENS, 2018).

Da mesma forma, Salles (2016) colocou que a criação e a nutrição de bezerras jovens são importantes para o sistema produtivo porque tem impacto no potencial produtivo futuro de leite.

Neste contexto, e diante da importância para a produção leiteira, Santos e Lopes (2014) enfatizaram que:

[...] a criação de bezerras deve ser considerada como uma das principais atividades da fazenda produtora de leite, pois, a melhoria genética do rebanho depende do descarte de vacas velhas ou com problemas que diminuem a eficiência de produção e, sua substituição por animais jovens com potencial produtivo mais elevado (SANTOS; LOPES, 2014).

Para estes pesquisadores, a recria é:

uma fase onerosa ao sistema de produção, pois, durante esse período, o produtor despense muitos recursos que poderiam ser aplicados em outra área, como, por exemplo, aquisição de tecnologias, manejo de pastagem, melhoramento genético etc. (SANTOS; LOPES, 2014).

Portanto, é de se supor que a atividade de criação de animais de reposição ocupe uma área significativa do sistema de produção de leite.

Heinrichs (1993) coloca que essa categoria animal representa a segunda maior despesa na atividade leiteira, respondendo por, aproximadamente, 20% das despesas operacionais, ficando atrás apenas da alimentação das vacas em lactação. Diante deste cenário, minimizar os investimentos com as novilhas, mantendo a qualidade produtiva deve ser o principal objetivo do técnico e do pecuarista (HOFFMAN; FUNK, 1992).

Ademais, a pecuária leiteira por ser uma atividade de grande importância socioeconômica para o Brasil e, em sua prática utilizar os recursos naturais como matéria prima, tem recebido atenção no que tange ao seu manejo inadequado, por possibilitar a contaminação de água e prejudicar a manutenção da biodiversidade e o solo (ABRAHÃO; NATEL, 2022). Neste sentido, desde 2018, o MAPA estabeleceu novas regras para a produção de leite, visando elevar a produção, conferindo eficiência conforme os padrões mínimos de qualidade, que já são utilizados em outras partes do mundo, levando em consideração o bem-estar dos animais e a sustentabilidade do setor na pecuária leiteira. As Instruções Normativas (INs) números 76 e 77 estabeleceram novas bases, demandando que os produtores e indústrias de produtos lácteos se adequassem ao imposto (BRASIL, 2018).

Para auxiliar na melhoria da produção de leite o Serviço Nacional de Aprendizado Rural (SENAR) em 2020, ao tratar a temática de bovinocultura: Cria e Recria de Bezerras leiteiras, informou que, a criação de bezerras de reposição é um desafio para a maioria dos produtores, visto que é preciso conciliar facilidade de manejo, adequado ganho de peso e baixa mortalidade com baixo custo de criação. Para esta Instituição, as medidas de manejo devem visar: à prevenção de dificuldades ao parto, à adequada transferência de imunidade passiva e à prevenção de doenças. Estas medidas são necessárias para reduzir as taxas de adoecimento e mortalidade das bezerras tanto na fase de cria como na de recria (SENAR, 2020).

Ainda, deve-se considerar que a criação de animais de reposição deve, também, “priorizar a adoção de práticas de manejo e estratégias nutricionais que visem à obtenção do primeiro parto em torno dos 24 meses, o que minimiza o tempo necessário para que elas passem a fazer parte do rebanho produtivo” (SENAR, 2020).

Neste sentido, a criação de bezerros deve ser considerada uma das principais atividades em um sistema de produção de leite, pois representa possibilidade de aumento do rebanho e de melhoramento genético.

## 2.2 ENFERMIDADES DE BEZERROS

Segundo o boletim técnico do SENAR (2020),

[...] a criação de bezerros, apesar de sua importância, é uma etapa muitas vezes esquecida pelos produtores, devido aos custos elevados de aleitamento e mão de obra e às altas taxas de adoecimento e mortalidade, tornando-se uma atividade de alto risco financeiro (SENAR, 2020).

Dentre as principais enfermidades que mais prevalecem e oneram na criação de bezerras leiteiras estão a tristeza parasitária bovina, os distúrbios digestivos, diarreias, infecções respiratórias e as doenças do sistema nervoso central (ASSIS-BRASIL et al., 2013).

Deste modo, as elevadas taxas de ocorrência de doenças, como por exemplo as diarreias, comprometem a taxa de crescimento das bezerras, e prejudicam o alcance das metas reprodutivas e a produção de leite futura.

De fato, no Brasil, vários estudos apontam a diarreia como uma das principais causas de mortes em bezerros, tendo a pneumonia e a tristeza parasitária bovina como outras doenças que mais acometem as bezerras durante o período de aleitamento (BOTTEON et al., 2016; FRUSCALSO, 2018; SANTOS; BITTAR, 2015).

Portanto, no contexto desta pesquisa faremos nos próximos itens uma breve revisão de literatura daquela que é uma das enfermidades mais apontadas pelos pesquisadores e criadores de bovinos, ou seja, a diarreia; dando ênfase para aquelas de origem não relacionadas ao manejo, ou seja, de origem infecciosas.

## 2.3 DIARREIAS: O CONCEITO

O aumento do número de evacuações e a presença de fezes que variam de consistência levemente amolecida até líquida, além da perda de peso, desidratação e acidose metabólica são os sinais clínicos que descrevem os quadros de diarreia (MILLEMANN, 2009).

Para Luis Filipe Damé Schuch a diarreia dos bezerros é:

[...] uma enfermidade multifatorial, responsável por graves perdas econômicas, que ocorre nos primeiros meses de vida. O termo mais indicado para relatar a ocorrência da enfermidade seria diarreia aguda indiferenciada (DAI), uma vez que, através da observação clínica é impossível realizar um diagnóstico etiológico definitivo. A



enfermidade se caracteriza, clinicamente, por diarreia aquosa aguda e profusa, desidratação progressiva, acidose e morte (SCHUCH, 2001).

A diarreia é considerada uma síndrome, ou seja, uma junção de diversos sinais clínicos, ocasionada pela integração de fatores como imunidade, nutrição e agentes infecciosos. Essa síndrome tem sido apontada como a mais relevante enfermidade de bovinos jovens, afetando diretamente a quantidade e a qualidade da bezerrada (USDA, 2009; ZARZOSO; MARGUERITTE, 2001).

### 2.3.1 Fisiopatologia da diarreia

Os principais processos envolvidos na fisiopatologia da diarreia, envolve a secreção/hipersecreção intestinal, má absorção e má digestão de nutrientes podendo ocorrer de forma isolada ou, combinada com mais fatores desses mecanismos (FOSTER; SMITH, 2009).

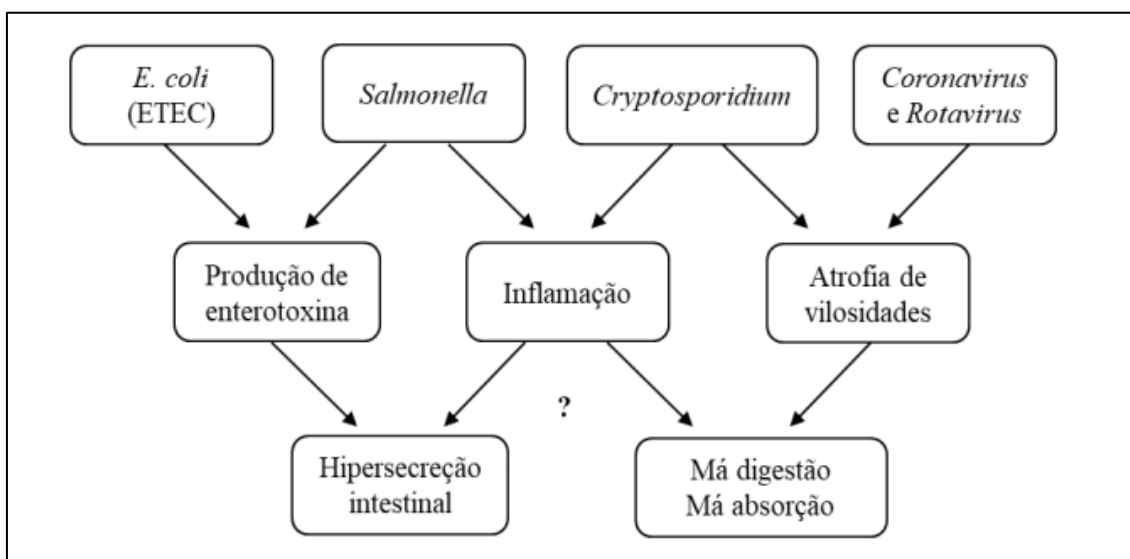
Smith (1996) destaca cinco mecanismos principais que explicam a patogenia das diarreias; a saber: o decréscimo ou dano da superfície absorptiva (má absorção), aumento do número de partículas osmoticamente ativas dentro do lúmen intestinal; aumento da secreção de solutos e água; anormalidades no trânsito intestinal e aumento da pressão hidrostática luminal.

Entre os agentes que podem estar envolvidos neste complexo destacam-se os de origem viral como rotavírus e coronavírus; os de origem bacteriana como *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* tipo C; e os protozoários como a *Eimeria*, *Giardia* e *Cryptosporidium* (BENESI, 1999; MELO, 2012), estes agentes podem causar diarreia isoladamente ou em associação (MODOLO et al., 1994).

Deste modo, a diarreia pode advir da ação de enterotoxinas produzidas pelos patógenos supracitados, e/ou pela ação de mediadores da inflamação como, por exemplo, as prostaglandinas, nas criptas da mucosa intestinal, provocam um aumento da secreção normal, causando um desequilíbrio nos processos fisiológicos de secreção e reabsorção intestinal (ARGENZIO, 1985). Pode também ocorrer danos na mucosa do intestino, causadas por infecções virais ou por protozoários, não alterando a secreção intestinal, mas diminuindo a absorção intestinal em decorrência destas lesões nas células intestinais, comprometendo a captação normal dos nutrientes, fluidos e eletrólitos. (FOSTER; SMITH, 2009).

Resumidamente, a fisiopatologia da diarreia neonatal de bezerros é complexa e mediada por enterotoxinas bacterianas, inflamação induzida por bactérias ou parasitas ou atrofia das vilosidades induzida por vírus ou protozoários (ARGENZIO, 1985). De Souza (2021) coloca que, estas condições levam a uma hipersecreção intestinal, ou má absorção devido à perda de células de absorção das vilosidades (Figura 1).

Figura 1 - Mecanismos de diarreia causada por patógenos entéricos comuns na diarreia neonatal de bezerros.



Fonte: De SOUZA, 2021

### 2.3.2 Microbioma fecal e seus principais agentes

O trato gastrointestinal (TGI) de ruminantes neonato é considerado estéril ainda dentro do útero, mas sendo colonizado durante as primeiras horas de vida por uma abundante população de bactérias após o nascimento (MALMUTHUGE et al., 2017).

Alipour et al. (2018) revelaram que a colonização por microorganismos começa no nascimento e é complementada durante a lactação, sendo a microbiota retal de bezerros recém-nascidos composta principalmente por *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* e *Bacteroidetes*, similares à microbiota oral da mãe em vez de à microbiota fecal ou vaginal, incluindo táxons intestinais típicos daquele ambiente.

O contato do bezerro neonato com a microbiota externa, como as bactérias consideradas colonizadoras pioneiras do gênero *Lactobacillus*, ocorre durante a passagem pelo canal do parto, com as fezes e saliva da vaca seguido pela ingestão do colostro, mas

pesquisas que visem identificar as vias de inoculação e seus fatores que alteram a diversidade desses microorganismos ainda são bastante escassas (REY et al., 2012). Em sequência, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. se instalam, além dos anaeróbios facultativos tais como as espécies de *Bifidobacterium*, presentes em contagens elevadas nos intestinos de neonatos com uma semana de idade (JOST et al., 2012).

Malmuthuge e Guan (2016), descreveram que o processo de colonização do trato gastrointestinal dos bezerros é bastante dinâmico e dependente de inúmeros fatores, mas sendo dominado pelos filos *Proteobacteria* (53%), seguido por *Firmicutes* (18%), *Actinobacteria* (20%) e *Bacteroidetes* (6%).

O intestino grosso dos bezerros é predominantemente habitado pelos filos *Bacteroidetes* em maior quantidade, seguido do filo *Firmicutes*, sendo que no intestino delgado, predomina, com mais de 95%, das bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* (MALMUTHUGE; GRIEBEL; GUAN, 2014).

Segundo Fruscalso et al. (2018), mais pesquisas são necessárias para identificar e caracterizar a microbiota do trato digestivo de bezerros e como os fatores nutricionais afetam o estabelecimento, a distribuição e a sobrevivência de comunidades de archaeas, bactérias, fungos e protozoário e que busquem evidenciar os benefícios da utilização de produtos alternativos aos antibióticos comerciais no controle de problemas sanitários que acometem os animais jovens, principalmente no período pré-desaleitamento, tais como a diarreia, a qual, juntamente com as doenças respiratórias, correspondem por aproximadamente 80% da morbimortalidade de bezerros durante este período de transição de fase da vida.

Algumas bactérias pertencentes aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* se estabelecem gradualmente e eventualmente, tornando predominantes à medida que o bezerro se desenvolve e consome mais alimentos sólidos (MALMUTHUGE et al., 2016). Bactérias do gênero *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecium* e algumas espécies de *Bacillus* agem como probióticos (BALLOU, 2011), apresentado um papel importante na produção de aminoácidos essenciais, vitaminas, substratos metabólicos benéficos, auxiliando no metabolismo de nutrientes (WU et al., 2016), e no sistema imunológico do hospedeiro modulando o sistema imunológico e a resposta inflamatória (OIKONOMOU et al., 2013; SIMONE et al., 1992).

A dinâmica entre microrganismos intestinais e sistema imunológico impedem a infecção por patógenos concorrentes em locais de ligação às células epiteliais, pois estimulam a resposta imunológica intestinal aos anticorpos IgA elevando a atividade

fagocítica de células leucocitárias e de macrófagos (FUKUSHIMA et al., 1998; GILL et al., 2000).

Ao analisar a mudança na microbiota intestinal, Candela et al. (2010) observaram que os microrganismos intestinais “ensinam” o sistema imunológico do hospedeiro a reconhecer quais microrganismos são benéficos, e, ao mesmo tempo, a manter uma rápida resposta a patógenos prejudiciais.

Virginio Junior (2021) demonstrou em seu trabalho que os *Bacteroidetes*, seguido por *Firmicutes* e *Proteobacteria*, colonizam o conteúdo ruminal de bezerros em aleitamento, sendo que o filo *Bacteroidete* aumentou de 45,7% às 2 semanas para 74,8% às 6 semanas de idade, apesar dos bezerros receberem a mesma dieta durante todo o período, e que os gêneros *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* e *Megamonas* foram associados a bezerros saudáveis e maior ganho de peso, enquanto bezerros diarreicos foram associados a *Escherichia*, *Shigella* e *Fusobacterium*.

A microbiota intestinal é dominada por poucos filos bacterianos, sendo os mais dominantes os *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (LEY et al., 2006), enquanto em nível de espécie e de cepas, a grande diversidade contribui para a grande variabilidade interindividual (DETHLEFSEN et al., 2006).

O desenvolvimento de técnicas moleculares que auxiliam a identificação de microrganismos tem facilitado o reconhecimento de grupos microbianos presente no sistema digestivo dos animais, impulsionando os estudos de caracterização de comunidades microbianas como um todo e permitindo que microrganismos presentes nas amostras possam ser classificados quanto a sua comunidade e determinado índice de diversidade microbiana (UYENO, SEKIGUCHI e KAMAGATA, 2010).

Através do conhecimento mais aprofundado, como o sequenciamento do gene que codifica o rRNA 16S (bacteriano), é possível estabelecer diferenças entre os animais frente ao tratamento proposto e analisar sua correlação entre grupos específicos de microrganismos e algumas variáveis como ganho de peso, consumo, eficiência alimentar alterações no sistema imune, podendo até mesmo orientar a elaboração de estratégias para promover a colonização de grupos microbianos ligados à saúde e desempenho de bezerros neonatos, especialmente criados em sistemas desafiadores (RITTI, 2021).

### **2.3.3 Tratamento das diarreias: alopatia X homeopatia**

Independente do patógeno ou do mecanismo envolvido, a diarreia traz como consequências a perda de água e eletrólitos (sódio, cloreto, potássio e bicarbonato) nas fezes, bem como diminuição da ingestão de leite (SOUZA, 2021). Como resultado ocorre hipovolemia, acidose metabólica, endotoxemia, hiponatremia, azotemia pré-renal, aumento das concentrações de lactato e balanço energético negativo (devido à anorexia e má absorção de nutrientes), que quando não corrigidos, em geral, acarretam a morte dos animais com diarreia grave (RADOSTITS et al., 2007; SMITH; BERCHTOLD, 2014).

De modo geral, o tratamento adjuvante para bezerro com diarreia deve ser realizado rotineiramente em todos os animais com sinais sistêmicos da doença, ou seja; sinais como febre, inapetência, desidratação ou letargia (CONSTABLE, 2009).

Existe uma vasta literatura sobre o tratamento de diarreia indiferenciada e, os tratamentos auxiliares com eficácia são bem documentados e incluem: administração parenteral de antimicrobianos com espectro de atividade predominantemente contra microrganismos Gram-negativos, administração parenteral de agentes anti-inflamatórios não esteroidais tais como meloxicam e flunixin meglumina e alimentação continuada de leite (CERBU et al., 2020; CONSTABLE, 2009; EIBL et al., 2021; TSUKANO et al., 2018).

Para as diarreias infecciosas o tratamento farmacológico também é bem disseminado e utilizado. Desta forma, para os quadros que envolvem a *Escherichia coli*, os fármacos comumente utilizados são aqueles com boa ação contra bactérias gram negativas, tais como: neomicina, gentamicina, amoxicilina, trimetoprim, enrofloxacina e norfloxacina (RIBEIRO et al., 2016), mas também são descritos na literatura o uso do ceftiofur intramuscular, sulfametoxazol associado ao trimetropin por via intravenosa ou intramuscular ou o florfenicol por via intramuscular (COURA, LAGE; HEINEMANN, 2014).

Já para os quadros que envolvem *salmonella* spp, o uso de fármacos lipossolúveis e com boa capacidade de perfusão são indicados. Os antimicrobianos mais utilizados são a Sulfadiazina ou trimetoprim (20mg /kg, BID ou SID), Ceftiofur (2 a 5 mg /kg, BID a SID) e Enrofloxacino (5 a 10mg /kg, IM, SC ou IV, SID). Todos por via por via parenteral (PAIXÃO et al., 2016).

Nos casos de vírus, como o rotavírus e coronavírus, o tratamento mais indicado é o sintomático com a administração de soros, antitérmicos e probióticos. Destaca-se ainda que em casos de surtos, há necessidade de vacinação dos animais. Em casos de infecções secundárias, recomenda-se a utilização de terapia antimicrobiana com sulfametoxazol

associado ao trimetoprim (ADAMS, 2004; OLIVEIRA, 2012; RADOSTITS; BLOOD, 1991; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2011).

As diarreias e as doenças respiratórias, por serem tidas como principais causas das elevadas taxas de morbidade e mortalidade, em fase de aleitamento de bezerros, encontram nos antibióticos uma ferramenta muito utilizada, por parte dos criadores, como medida de tratamento após manifestação clínica (IVES; RICHESON, 2015).

Os achados de Martin et. al. (2021) vão de encontro com os achados de Constable (2009) e, Ives e Richeson (2015). Esta pesquisadora coloca que “os antimicrobianos também têm sido usados ostensivamente para tratar ou prevenir a diarreia em bezerros” (MARTIN et al., 2021).

Da mesma forma, um estudo conduzido nos Estados Unidos da América (EUA) ao avaliar as práticas antimicrobianas em fazendas leiteiras, constatou que 83% dos animais foram tratados com antimicrobianos para diarreia, e 50% das diarreias de bezerros receberam mais de um tipo de antimicrobiano (WALKER et al., 2012). Este estudo também descobriu que 56% das propriedades usavam leite com antibióticos e 54% das propriedades usavam antimicrobianos para prevenir diarreia ou doença respiratória. Apenas 65% das fazendas tinham diretrizes escritas sobre o uso de antimicrobianos para tratar as principais doenças que afetam os bezerros.

De certa forma, a complexidade da etiologia da diarreia em bezerros neonatos tem sido base para questionamentos sobre o custo e benefício do uso de antimicrobianos na profilaxia desta doença e vêm despertando preocupações.

Constable (2009) demonstrou certa preocupação com o uso de antimicrobianos na criação de bezerras. Este autor observou que o uso de penicilina, cloranfenicol e neomicina aumentaram a incidência de diarreia em bezerros saudáveis, prejudicando a absorção intestinal e o desempenho. Outra preocupação foi apontada por Martins (2021), este pesquisador comentou que frequentemente, o leite com resíduos de antibióticos é ofertado para alimentar bezerros leiteiros na tentativa de mitigar as perdas econômicas, já que o leite produzido por vacas tratadas com antimicrobianos é proibido de ser comercializado para a indústria de laticínios durante o período de tratamento e carência.

Além dos efeitos dos antimicrobianos sobre a sanidade das bezerras leiteiras, a resistência bacteriana a determinados princípios ativos, também vem sendo objeto de preocupação a décadas, e, em dias atuais, é crescente, essa preocupação, principalmente no que tange à saúde pública (ÂNGULO et al., 2004; COX; POPKEN, 2006).

A preocupação atual com o uso de antimicrobianos para profilaxia e metafilaxia de doenças em bezerros recém-nascidos incentivou a comunidade científica a buscar explicações sobre seu real efeito no desenvolvimento desses animais e suas implicações para a saúde e bem-estar animal (BERGE et al., 2009; SMITH, 2015) bem como, a procura por tratamentos auxiliares e alternativos (CONSTABLE, 2009).

Neste panorama, a busca por alimentos mais saudáveis e com a ascendente preocupação com a segurança alimentar e meio ambiente, bem como do bem-estar animal, o perfil do consumo de leite vem se modificando e, a busca por produtos orgânicos vem recebendo destaque.

No Brasil, as recomendações da parte sanitária, nas produções de leite orgânico estão baseadas na prevenção e em alternativas terapêuticas, como por exemplo, o uso de fitoterápicos e homeopáticos, sendo permitido dois tratamentos com medicamentos alopáticos durante o período de 12 meses, que, por sua vez, devem ser notificados ao Organismo de Avaliação da Conformidade Orgânica (BRASIL, 2021). Na Europa o uso de fitoterápicos e de homeopáticos em detrimento ao uso de alopáticos é recomendado dentro do sistema de produção orgânico, desde que comprovada eficiência na prevenção e cura de afecções (COMMISSION REGULATION, 2008). Neste contexto, o uso de homeopatia, alvo de estudo deste estudo, pode ser considerada como uma terapia alternativa para a prevenção e/ou tratamento de diarreias.

Apesar de ser pouco conhecida, a homeopatia, no setor do Agronegócio vem ganhando destaque no Brasil e no mundo principalmente devido a seus benefícios e seu baixo custo. Trata-se de uma busca alternativa para prevenção e/ou cura, utilizando-se de medicamentos feitos com informações de origem animal, vegetal e mineral (PUHL et al., 2017).

Com o crescente aumento na demanda de alimentos de origem animal no mundo e mediante exigências de países consumidores na obtenção de alimentos livres de agrotóxicos, antibióticos e hormônios, torna-se necessário tratar os rebanhos com princípios que não agridam a natureza, levem em consideração o bem-estar animal e resultem no fornecimento de alimentos com qualidade. Muitas alternativas já foram propostas, como o uso de fitoterápicos, probióticos, prebióticos, simbióticos e homeopáticos (CHABEL et al., 2009).

Nos últimos anos houve incremento expressivo no número de trabalhos que procuram avaliar os efeitos de produtos homeopáticos, não com caráter curativo, mas sim

preventivo e zootécnico, isto é, na melhora da produção e produtividade dos rebanhos (ECCH, 2003).

Chabel et al. (2009), Glombowsky (2020), Menezes (2011), Pires (2005), e a Embrapa (2020), utilizam de preparações homeopáticas no controle de ecto e endoparasitas de rebanhos, e relataram os benefícios da homeopatia, frente a isenção de efeitos adversos, intoxicações e resíduos químicos nos produtos de consumo humano e no ambiente, menor custo, facilidade na administração, ação rápida e eficiente, redução do estresse e fortalecimento do sistema imunológico (RAYA; VON ANCKEN; COELHO, 2021).

#### 2.4 IMUNIDADE DOS BEZERROS: DA PLACENTA AO COLOSTRO

O sistema imunitário compreende a um conjunto de mecanismos de defesa e cura do organismo vivo, em geral sendo altamente competente e controlado, pois realiza sua função sem comprometer outros sistemas do corpo (OLIVEIRA, 2005).

Ao nascer, os bezerros não apresentam um sistema imune completamente desenvolvido, por isso, as respostas do sistema imune adaptativo ocorrem de maneira mais lenta e menos eficiente quando comparadas aos animais adultos, estando constantemente expostos a agentes responsáveis no desenvolvimento de doenças (CORTESE, 2009). Entretanto, as enfermidades que mais acometem os bezerros, não estão somente associadas a imaturidade do sistema imune adaptativo e a má colostragem, mas também a outros fatores de risco diretamente ligados tanto ao bezerro quanto à sua mãe, como cura do umbigo, clima, tipo de sistema, instalações, vacinações da mãe etc., os quais variam entre propriedades, podendo aumentar a mortalidade de bezerros neste período em até 75% (McGUIRK; COLLINS, 2004; VIEIRA et al., 2021).

Em bovinos, a placenta é classificada como sindesmocorial ou sinepiteliocorial, pois o epitélio coriônico do feto entra diretamente em contato com os tecidos uterinos maternos, havendo invasão de células fetais no tecido materno em pequena escala, mas havendo a necessidade da tolerância imunológica materna para que não aconteça a rejeição fetal (CATOIA et al., 2016).

Este modelo placentário dos bovinos é uma proteção para a maioria das agressões microbianas patogênicas que pode acometer o feto, mas também impede a passagem direta de imunoglobulinas durante a gestação, fazendo com que os recém-nascidos dependam exclusivamente dos anticorpos recebidos via colostro (TIZARD, 2017). Com



isso, os bezerros recém-nascidos dependem do consumo de colostro, caracterizado por apresentar altas concentrações de imunoglobulinas, para que haja transferência passiva de imunoglobulinas maternas, importantes para a proteção contra patógenos, até que o sistema imune do bezerro se torne completamente funcional (GODDEN, 2008). Em função disso, a transferência de imunidade passiva (TIP) através do consumo de colostro, não é devido a qualquer incapacidade do organismo em armar uma resposta imunológica, mas ao estado não estimulado do sistema de defesa (SILVA, 2019). Com isso o fornecimento adequado da quantidade de imunoglobulinas nas primeiras horas de vida, visa garantir a máxima absorção de células de defesa de origem exógena, pois, é nesse período que o recém-nascido, apresenta a habilidade única e temporária de absorver as células de defesa de forma não seletiva e intacta. (GODDEN, 2008).

Deste modo, o fornecimento de colostro nas primeiras horas de vida é essencial para que o animal receba imunidade, até que possa desenvolver seu sistema imunológico e ser capaz de sobreviver diante da exposição a agentes ambientais e patogênicos (CAMPOS; LIZIERE, 2005).

O colostro bovino é formado por uma mistura de secreções lácteas e constituintes do soro sanguíneo, rico em proteínas séricas e imunoglobulinas, acumuladas na glândula mamária, durante as últimas semanas de prenhez que antecede o parto (FOLEY; OTTERBY, 1978).

Os principais componentes do colostro são as citocinas, fatores antimicrobianos, nutrientes e as imunoglobulinas (Ig), entre as quais a IgG representa cerca de 65 a 90% do conteúdo total de Ig do colostro, e conferindo imunidade sistêmica ao neonato (SWENSON; REECE, 1993). O colostro é a primeira e mais importante fonte de nutrientes para o bezerro após o nascimento, pois possui muitos fatores de crescimento e hormônios que são importantes no desenvolvimento das funções e crescimento do trato digestório (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

As concentrações de muitos destes constituintes declinam substancialmente ao longo das primeiras ordenhas (chamado de leite de transição) atingindo baixas concentrações, como as encontradas no leite integral (GODDEN, 2008).

Assim, o colostro bovino produzido pela glândula mamária logo após o parto, apresenta composição nutricional e perfil imunológico diferente do leite integral. Também constitui o colostro a gordura e lactose, sendo fonte rica em energia necessária para o bezerro iniciar a termogênese e manter a temperatura corporal (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

A transferência de imunidade passiva (TIP), no qual ocorre a aquisição de imunoglobulinas colostrais pelo bezerro, é essencial durante os primeiros meses de vida, pois, apesar de produzirem anticorpos endógenos desde o período fetal, continuam susceptíveis a infecções durante as primeiras semanas de idade (GODDEN, 2008).

Cortese (2009) descreve que seis horas após o nascimento, apenas 50% da capacidade de absorção se mantém; com 8 horas é de 33% e com 24 horas é praticamente nula. Os anticorpos que não são absorvidos formam uma camada protetora no intestino, realizando uma proteção local, impedindo a ligação de microrganismos à parede intestinal e auxiliando no combate aos agentes infecciosos presentes no trato gastrointestinal de bezerros com 24 horas após o nascimento (HEINRICHS; JONES, 2003).

Segundo Faber et al. (2005), a longevidade de novilhas leiteiras pode ser afetada pela ingestão de colostro no nascimento, influenciando na idade ao primeiro parto e produção de leite na primeira e segunda lactação.

A TIP depende de diversos fatores, tais como a concentração de imunoglobulinas no colostro e o seu volume ingerido, o tempo entre o nascimento e a ingestão deste colostro, a qualidade sanitária do colostro e a capacidade de absorção das imunoglobulinas pelo animal (SILPER et al., 2012). Para uma eficiente TIP, o bezerro deve consumir em torno de 80-150 g de IgG/refeição no colostro o mais rápido possível após o parto e, em seguida, ser capaz de absorver com sucesso a quantidade suficiente dessas moléculas para sua circulação (GODDEN, 2008). Chigerwe et al. (2008) relatam que o bezerro recém-nascido deve ingerir nas 2 horas após o nascimento, 150 a 200 g de IgG colostrais para obter êxito na TIP.

Para a maioria dos autores, o valor ingerido é de no mínimo 100g de IgG durante as primeiras 12h de vida (MORIN et al., 2010) para uma eficiência próxima de 20 a 35% na absorção de IgG (QUIGLEY; DREWRY, 1998).

Wittum e Perino (1995), trabalhando com 263 bezerros colheram amostras de sangue 24 horas após o parto para a determinação da proteína sérica total e dos níveis de IgG, observaram que da mesma forma que bezerros com Falha na Transferência da Imunidade Passiva (FTIP) tiveram maior risco de morbidade e mortalidade antes do desmame, animais com concentração de proteína sérica total inadequada apresentaram maior taxa de morbidade quando comparado com aqueles com concentração de proteína sérica total adequada.

Para Godden (2008), além da concentração de IgG, outro fator que influencia a TIP é o volume de colostro ingerido pelo bezerro, sendo que no mínimo 3 litros de colostro

de boa qualidade aumenta a taxa de transferência passiva de imunoglobulinas quando realizada nas primeiras 4 horas de vida, e que a falha na transferência de imunidade pelo colostro se deve principalmente ao tempo, quando a primeira ingestão de colostro é realizada depois de 24 a 48 horas após nascimento.

Nas primeiras horas de vida, o abomaso dos bezerros recém-nascidos apresenta baixa produção de ácido clorídrico, pouca atividade da pepsina gástrica, presença de fator inibidor da tripsina e baixa atividade proteolítica intestinal, fazendo com que as imunoglobulinas fiquem protegidas do processo de digestão (COSTA, 2016).

A absorção das imunoglobulinas colostrais, ocorre no intestino delgado dos neonatos, passando do lúmen intestinal para o enterócito por pinocitose, e posteriormente, por exocitose para os vasos linfáticos (GODDEN, 2008; HOGAN et al., 2015).

Davis e Drackley (1998), usando como exemplo um bezerro de 40kg, cujo volume plasmático é de aproximadamente 6,5% do peso corporal, com isso tendo aproximadamente 2,6L de plasma, concluíram que para este animal alcançar as concentrações séricas de IgG de 10 mg/mL, deve-se multiplicar o volume de 2,6L de plasma x 10g de IgG/L = 26g de IgG. Os autores também reportaram eficiência aparente de absorção das IgG do colostro com 2 horas após o nascimento é de 25% em média, devendo este animal consumir na primeira hora de vida no mínimo 104g de IgG, ou seja, 26g de IgG ÷ 0,25 de absorção. Caso o colostro seja de boa qualidade, com níveis de IgG/L de 60 g por exemplo dividimos as 104g de IgG necessárias por 60g/L, devendo este animal consumir em média 1,73L de colostro. Já se o colostro for de qualidade menor com valor de 35g de IgG/L, este animal deveria consumir 2,97L de colostro (104g ÷ 35g/L = 2,97L de colostro). O objetivo dos cálculos apresentados pelos autores foi de demonstrar que para alcançar a adequada transferência de imunidade passiva deve se atentar ao volume de colostro ingerido, bem como a concentração de IgG, sendo que para se assegurar uma adequada transferência de imunidade passiva, o fornecimento de maiores volumes de colostro na primeira refeição é primordial.

Ao se pensar numa adequada transferência de imunidade passiva, pesquisas recentes vêm preconizando mudanças no fornecimento de colostro em bezerras recém-nascidas (GODDEN et al., 2019, LOMBARD et al., 2020).

Estas mudanças se referem:

- 1- Ao tempo para a primeira alimentação, que passou de até 6 horas para até 2 horas após o nascimento;
- 2- À dosagem de IgG, que passou de 150-200g para 300g;

3- Ao volume de fornecimento, que passou de 10% do peso ao nascer ( $\approx 4L$ ) para 10% do peso ao nascer ( $\approx 4L$ ) + 5% do peso ao nascer ( $\approx 2L$ ) até 6-8 horas.

Em relação ao conceito de qualidade, este continua sendo como aquele colostro com IgG superior a 50 mg/mL e menos que 100.000 UFC/mL, muito embora já existam indicações de que o ideal fosse fornecer colostro com mais de 80 mg/mL e menos de 50.000 UFC/mL (BITTAR, 2020).

#### **2.4.1 Métodos para avaliação da transferência de imunidade passiva**

Existe uma grande variedade de métodos para avaliar a qualidade do colostro, mas devemos lembrar que, estes métodos precisam ser aplicáveis a campo, e executados na própria fazenda (BIELMANN et al., 2010).

O método mais preciso para avaliar o conteúdo de imunoglobulinas do colostro é o ensaio de imunodifusão radial (RID) (FLEENOR; STOTT, 1980; RENAUD et al., 2018). Este ensaio é considerado como padrão para efeito de comparação com outros métodos, mas apresenta várias desvantagens como de ser um teste realizado somente em laboratório, exigindo cerca de 18 a 24h para a conclusão dos resultados, além de ser oneroso e pouco prático para a adoção nos sistemas de produção. (BIELMANN et al., 2010).

A avaliação prática do conteúdo de Ig do colostro pode ser através do uso do colostrômetro (densímetro) que se baseia em correlacionar a concentração de proteínas totais com a gravidade específica do colostro, uma vez que as proteínas totais representam 64% dos sólidos totais e as imunoglobulinas representam uma grande proporção desta proteína total, no entanto não é uma técnica analítica (FLEENOR; STOTT, 1980).

Calibrado em intervalos de 5 mg/mL, o colostrômetro classifica o colostro como fraco, quando  $Ig < 22$  mg/mL, moderado, para o intervalo de 22 – 50 mg/mL e excelente, para valores de Ig maiores que 50 mg/mL (PRITCHETT et al., 1994). Mas deve-se atentar a faixa de temperatura adequada para o teste ser realizado, que varia de 20 a 25°C, sendo assim o teste mais utilizado em fazendas, por ser de fácil e rápida execução (FLEENOR; STOTT, 1980; PRITCHETT et al., 1994).

Nos Estados Unidos, pesquisas revelaram que 13% do colostro que é fornecido através de sonda ou mamadeira é avaliado antes de fornecê-lo aos bezerros, sendo o colostrômetro utilizado como método mais comum (43,7%), seguido pelo método de avaliação visual (41,6%), enquanto que no Brasil, apenas 11% das propriedades avaliam

a qualidade do colostro, onde cerca de 33% utilizam o método de avaliação visual e 67% o colostrômetro, indicando que a avaliação do colostro ainda é um grande desafio no manejo dos animais (SANTOS; BITTAR, 2015).

Outro método utilizado para avaliar a qualidade do colostro, é através do refratômetro de brix, que mede a concentração de sólidos totais em líquidos, sendo bastante utilizado para avaliação da qualidade do colostro de bovinos, pois tanto o refratômetro óptico quanto o digital independente da temperatura, além de apresentar uma alta correlação com o método de ensaio de imunodifusão radial (RID), sendo considerado o valor limite inferior que indica que o colostro é de alta qualidade ( $> 50$  mg de IgG/mL), 21% de brix (QUIGLEY et al., 2013).

Contudo, novas pesquisas revelam que os valores de limite inferior da qualidade do colostro que mais correlacionam com as concentrações de IgG é de 80 mg/mL para o colostrômetro, e de 23% de para o refratômetro de Brix (BARTIER; WINDEYER; DOEPEL, 2015).

#### **2.4.2 Absorção da IgG**

A eficiência de absorção de Ig no colostro e proteção do neonato pode ser avaliada por medidas diretas através da dosagem sérica de IgG (GODDEN, 2008) ou indiretamente através da determinação de substâncias como a proteína sérica total, que apresenta alta correlação com a concentração de imunoglobulina (NAYLOR; KRONFELD, 1977).

Para avaliação da eficiência na TIP em bezerros recém-nascidos, o teste deve ser realizado entre 24 e 48 horas após a ingestão do colostro, pois após este período a absorção de macromoléculas colostrais já se encerra e a proteína total do soro sanguíneo se encontra estável, não sendo possível determinar se as frações proteicas avaliadas são de origem colostrálica ou endógena (SINGH et al., 2011).

Os testes utilizados para mensurar IgG diretamente do soro sanguíneo são a imunodifusão radial e o teste de ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), os testes indiretos utilizados para medir a concentração de imunoglobulinas totais ou outras proteínas associadas com a de IgG, são a de coagulação por glutaraldeído, refratometria, teste de precipitação do sulfato de zinco, precipitação com sulfato de sódio e atividade da enzima gamaglutamil transferase (GGT) (WEAVER et al., 2000).

Com exceção da refratometria, todos os outros métodos apresentam demora nos resultados, são onerosos e requer procedimentos laboratoriais, por isso se tornam difíceis

de utilizar a campo. Logo, o teste com uso do refratômetro é considerado uma técnica simples, rápida e barata, utilizada para avaliação da TIP, e que se baseia na quantidade de luz refratada quando um raio de luz atravessa a amostra de soro sanguíneo (SILPER et al., 2012).

A concentração de proteínas não imunoglobulinas no soro sanguíneo de bezerros recém-nascidos é praticamente constante, portanto, o resultado obtido da refratometria está diretamente relacionado as concentrações de imunoglobulinas transferidas para a circulação, cujos valores acima de 5,2 a 5,5 g/dL indicam sucesso na TIP (CALLOWAY et al., 2002).

O colostro bovino produzido pela glândula mamária logo após o parto, apresenta composição nutricional e perfil imunológico diferente do leite integral. Também constitui o colostro a gordura e lactose, sendo fonte rica em energia necessária para o bezerro iniciar a termogênese e manter a temperatura corporal (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

## 2.5 O HOMEOPÁTICO CURSO ZERO®

O Curso Zero® é o mais novo produto da Linha MD – Maxi Dosage da empresa Real H. É indicado para prevenção e tratamento da diarreia. Ele vem em frasco de plástico de 250 ml que acompanha uma seringa dosadora e medidas descritas na embalagem. Seu uso é de forma oral, diretamente na boca do animal. As dosagens para melhor resultado estão indicadas no quadro abaixo (Figura 2).

Figura 2 - Dosagens recomendadas para o uso do homeopático Curso Zero®

Doses Curativas:						
Modo de Uso	Bovinos Corte	Bovinos Leite	Equinos	Ovinos	Caprinos	Suínos
Nascimento a Desmama	20ml/dia, 2 dias seguidos	20ml/dia, 2/3 dias seguidos	20ml/dia, 2 dias seguidos	10ml/dia, 2 dias seguidos	10ml/dia, 2 dias seguidos	8 a 10ml/dia, 2 dias seguidos
Recrias e Adultos	40ml/dia, 2 dias seguidos	40ml/dia, 2 dias seguidos	40ml/dia, 2 dias seguidos	10 a 20ml/dia, 2 dias seguidos	12 a 20ml/dia, 2 dias seguidos	10 a 15ml/dia, 2 dias seguidos

Doses Preventivas:						
Modo de Uso	Bovinos Corte	Bovinos Leite	Equinos	Ovinos	Caprinos	Suínos
Ao nascer	12ml ao nascer	15ml ao nascer e 15ml no 7º dia	15ml ao nascer e 15ml no cio do potro	5ml ao nascer	5ml ao nascer	4ml ao nascer

Fonte: [www.agroline.com.br/produto/curso-zero---cura-diarreias-250-ml-real-h-107358](http://www.agroline.com.br/produto/curso-zero---cura-diarreias-250-ml-real-h-107358)

### 2.5.1 Composição do Curso Zero®

A composição do produto homeopático Curso Zero® da Real H para prevenção e tratamento de diarreias em bezerros é composta por: Mercurius vivus 7 CH; Croton tiglium 7 CH; Podophyllum peltatum 15 CH; Colochyntis 9 CH; Colibacilinum 9 CH; Veratrum álbum 9 CH; Veículo qsp 100g.

#### 2.5.1.1 Mercurius vivus

Princípio: Azougue Mercurius Vívus. Extraído do cinábrio, o mercurius é um mineral presente em fontes termais e vulcões, que se dissolve em ácido nítrico diluído formando partículas que seca e pulverizada são utilizadas na medicina homeopática (SFIEALY, 1999).

O mercurius é utilizado geralmente em estados infecciosos agudos em que as glândulas e suas secreções estejam infectadas por agentes diversos (FIAYFIELD, 1999). Para as enfermidades das mucosas e brônquios que causam corizas com abundante mucosidade; na pele que sangram facilmente, tais como as ulcerações varicosas, eczemas; para diarreias líquidas ou diarreias biliosas; para gonorreias ou blenorragias (TOLEDO, 1910).

#### 2.5.1.2 *Podophyllum peltatum*

Princípio: Mandrágora Americana. É uma planta originária da América do Norte, herbácea, que a partir do rizoma (caule subterrâneo da planta), se produz a tintura-mãe. Afeta principalmente o duodeno, intestino delgado, fígado e reto. Usado para enterite com cólica e vômitos de bile. Utilizado em sintomas com fezes aquosas com muco como geléia, sem dor; profusas, esguichantes e ofensivas (EGISTO, 2016).

#### 2.5.1.3 *Croton tiglium*

Princípio: Croton. É uma planta encontrada nos continentes africano, asiático e americano e usada para tratamento de uma ampla variedade de doenças. Muito utilizado em casos de diarreia, e nos problemas da pele. Em virtude de sua atuação ampla e intensa sobre a pele e as mucosas, provoca tanto irritação quanto inflamação com a formação de vesículas e descargas de muco pelas fezes (BENEZ, 2004).

#### 2.5.1.4 *Colocynthis*

Princípio: Pepino amargo. É uma planta de videira do deserto que cresce em solos arenosos e áridos. Nativo da Bacia do Mediterrâneo e da Ásia. Desenvolve a maioria dos seus sintomas no abdome e na cabeça, provocando fortes dores nos nervos, parecidos com choque elétrico, espasmo na bexiga, dores abdominais, podendo fazer o paciente dobrar-se todo (BENEZ, 2004).

#### 2.5.1.5 *Colibacillinum*

Princípio: *Escherichia coli*. É um preparado a partir do lisado obtido da cultura de *Escherichia coli*. Utilizado em caso de perda de memória, indeciso, irresoluto, grande timidez. Diminuição progressiva da resistência orgânica, com crises doloridas, especialmente intestinais, urinárias ou genitais (VIJNOVSKY, 1980).

#### 2.5.1.6 *Veratrum album*



Princípio: Heléboro Branco. É uma planta herbácea perene alta com folhas alternadas e pregueadas. Usado em quadro de colapso, com friagem extrema, cianose e fraqueza. Caracterizado por transpiração fria, violenta ânsia para vomitar com vômitos profusos, descarga intestinal e câimbra nas extremidades (BENEZ et al., 2004).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficiência do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> no controle de processos infecciosos de diarreia em bezerros durante a fase de aleitamento.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Verificar a atuação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> no desempenho de bezerros em fase de aleitamento.
- b) Verificar a atuação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> na imunidade e sanidade de bezerros.
- c) Verificar a atuação do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> no biograma fecal.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa de Bovinos de Leite - CPBL do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, São Paulo e encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Zootecnia, sob protocolo nº 323-2021, no período de julho a outubro de 2021.

### 4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 24 animais, machos e fêmeas recém-nascidos, de vacas bloqueadas por ordem de parto, com esquema vacinal em dia para Febre aftosa e Brucelose, mestiças Holandês x Jersey e da raça Holandesa, obtidos da criação do Centro de Pesquisa de Bovinos de Leite - CPBL do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, São Paulo.

Todas as vacas foram mantidas em piquete maternidade e tiveram parto assistido conforme o item 4.3.1.1. Após o nascimento, os bezerros foram alojados em baias individuais em galpão coberto até o 5º (quinto) dia de vida e depois transferidos para o bezerreiro a céu aberto com cama de areia, alocados em abrigos individuais (3,0 x 2,0 m) distanciados entre si por 2,0 m, providos de cochos e bebedouros.

Cada bezerro nascido foi separado aleatoriamente para atender aos dois grupos, controle e experimental Curso Zero<sup>®</sup>, até que se completassem 12 animais por grupo.

Os bezerros do grupo experimental receberam 15 ml do produto Curso Zero<sup>®</sup> ao nascimento, antes de ser fornecido o colostro, e mais 15 ml no 7º dia de vida, por via oral, com uso de seringa dosadora. Os bezerros do grupo controle receberam 15ml de soro fisiológico, por via oral, com uso de seringa dosadora, ao nascimento, antes do fornecimento do colostro, e mais 15ml no 7º dia de vida.

Na observação diária, o quadro clínico dos bezerros foi feito, atentando-se para quadros infecciosos que poderiam dar indícios de infecções por outros agentes patológicos que não são os determinantes de diarreia, como por exemplo os quadros de pneumonia e/ou tristeza bovina e, neste caso, animais com indícios destas patologias receberam atenção especial.

## 4.2 INSTALAÇÕES DOS BEZERROS

Os bezerros inicialmente foram alojados em baias individuais (Figura 3 e 4) em galpão coberto até o 5º (quinto) dia de vida e depois transferidos para o bezerreiro a céu aberto (Figura 5) onde foram individualizados (3,0 X 2,0m) e distanciados entre si por 2,0m, estas instalações eram providas de cochos e bebedouros.

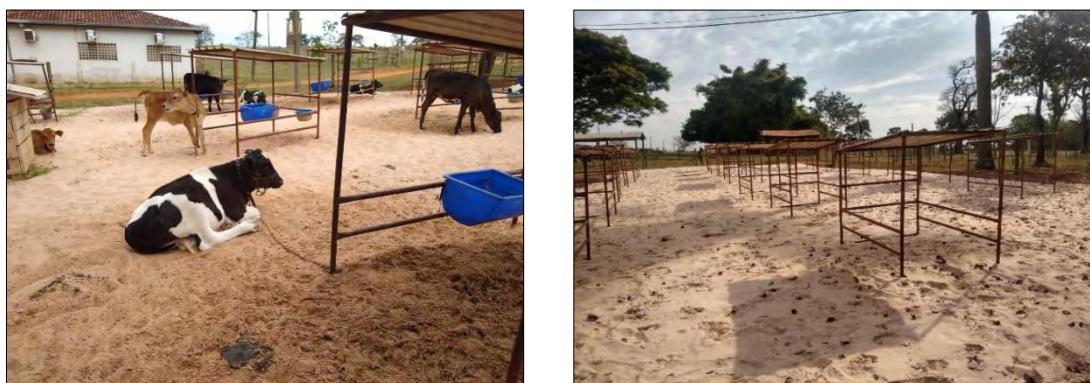
As camas das baias individuais foram compostas de maravalha de madeira e limpa diariamente pela manhã (Figura 5A). Nos abrigos tropicais a céu aberto com cama de areia (Figura 5B), a limpeza do ambiente foi realizada duas vezes ao dia e sempre que necessário.

Figura 3 - baias individuais



Fonte: Proprio do autor

Figura 4 - bezerreiros a céu aberto, providos de cochos e bebedouros.



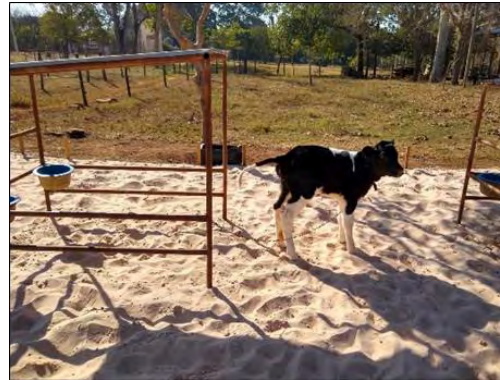
Fonte: Própria autoria

Figura 5 – Bezerreiros com cama de maravalha de madeira (A) e dos abrigos tropicais com cama de areia (B).

(A)



(B)



Fonte: Própria autoria

## 4.3 MATERIAIS e PROCEDIMENTOS

### 4.3.1 Manejo Zootecnico das vacas e seus bezerros até o desaleitamento

#### 4.3.1.1 No pré-parto

Foram realizados manejos zootecnicos em vacas durante o pré-parto; ou seja, elas foram alocadas em piquetes maternidade e observadas a cada três horas para verificação de sinais do parto.

Todos os partos foram assistidos e foi permitido a interação materno-filial até que o bezerro ficasse em pé, mas não ingerisse o colostro.

#### 4.3.1.2 Período neonatal até o desmame

Durante este periodo foram realizados:

##### 4.3.1.2.1 *Desinfecção dos umbigos*

A cura do umbigo e ou desinfecção do cordão umbilical ocorreu rapidamente logo apos o nascimento, duas vezes ao dia até a queda do cordão umbilical. Neste procedimento foi utilizado uma solução alcóolica de iodo a 10%, para desinfetar e desidratar o umbigo.

Imediatamente após o nascimento, o cordão umbilical dos bezerros foi verificado e cortado de modo que ficasse com até 10 cm de comprimento e posteriormente realizou a

assepsia com solução de iodo. A cura de umbigo ocorreu imergindo o coto umbilical até a sua base na solução de iodo durante aproximadamente 30 segundos. A frequência da cura do umbigo foi de 2 vezes por dia, até o dia em que o umbigo secasse e se desprendesse do abdômen. Para a conservação da tintura de iodo e garantia o seu desempenho, foi utilizado um recipiente do tipo copo sem retorno (Figura 6) para evitar que a sujidade do ambiente fosse para a solução de iodo.

Figura 6 – recipiente com solução de iodo.



Fonte: Própria autoria

#### ***4.3.1.2 Colostragem***

Após a cura do umbigo, foi ofertado aos recém nascidos o colostro; de sua mãe, na proporção de 10% do seu peso corporal até a segunda hora de vida, anotando-se o consumido (TIZARD, 2017).

Para este procedimento o colostro foi verificado em relação a sua qualidade utilizando-se o refratometro de Brix óptico (Figura 7) (QUIGLEY et al.,2013).

Figura 7 - Refratometro de Brix óptico



Fonte: Própria autoria

Neste equipamento, a avaliação do colostro foi feita colocando-se uma gota do colostro no prisma do refratômetro para obtenção de leitura da amostra. Antes deste procedimento este aparelho foi previamente calibrado com água destilada.

A cada avaliação foi realizada a limpeza do prisma, com água destilada e papel macio, para evitar que eventuais resíduos comprometessem a próxima leitura.

#### **4.3.1.2.3 Alimentação dos bezerros: Leite; Concentrado e Feno.**

Após a colostragem os animais passaram a receber leite de transição, em duas refeições, no volume de 3 litros por refeição (2 x ao dia).

O leite foi fornecido em duas refeições diárias (8h manhã e 15h tarde) com 3 litros/refeição, por meio de mamadeira, totalizando 6L de leite integral por dia. O leite fornecido foi obtido imediatamente após a ordenha de vacas híginas e aquecido em banho maria entre 38 e 40°C para fornecimento. A partir do 4º dia, o leite foi ofertado em balde convencional até os 60 dias quando se deu o processo de desaleitamento.

Os bezerros tiveram acesso a água *ad libitum* desde o primeiro dia de vida, sendo esta retirada somente uma hora antes e após o aleitamento. Os bebedouros foram lavados duas vezes ao dia.

O concentrado foi fornecido desde o primeiro dia de vida e formulado para atender às exigências nutricionais de bezerros leiteiros para propiciar um ganho de peso de até 0,60

kg/dia, conforme estimativas do NRC (2001) (Tabela 1), e, foi fornecido uma vez ao dia no período manhã, iniciando com 150g/dia, e pesando-se a sobra do dia anterior, para ajuste do consumo, a fim de se obter sobras mínimas de 10% do ofertado.

Tabela 1- Ingredientes da ração<sup>1</sup>

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Fubá de milho	35
Farelo de trigo	20
Farelo de soja	40
Núcleo leite	5

Fonte: Departamento de Zootecnia - Laboratório de Nutrição

<sup>1</sup> Composição do Núcleo Leite (MINERTHAL):

Composição: Calcio (min) 210 g, Calcio (max) 270 g, Fosforo (min.) 50g, Sódio (min.) 55g, Vit.A (min.) 333.330 U.I., 25-hidroxitamina D3 (min.) 33.330 U.I., Vitamina E (min) 1210 U.I., virginiamicina 400 mg, Cobalto (min.) 25 mg, Cobre (min.) 840 mg, Flúor (max.) 500 mg, Iodo (min.) 50 mg, Manganes (min.) 2.500 mg, Selênio (min.) 25 mg, Zinco (min.) 3.360 mg, monensina 600mg, magnésio 15g.

A partir do 30º dia de vida os animais receberam feno de *coast cross* picado em partículas grandes na proporção de 10% do concentrado oferecido, mantendo a relação volumoso-concentrado em 10:90. O ajuste e fornecimento foram diários, sendo oferecido simultaneamente ao concentrado e após o aleitamento.

O leite, o concentrado e o feno foram amostrados a cada 15 dias para determinação de valor nutricional. O leite foi analisado para gordura, proteína, lactose, Extrato Seco Desengordurado (ESD) Sais, Crioscopia e Contagem de Células Somáticas (CCS).

O feno e o concentrado foram analisados quanto ao teor de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo (EE), extrativo não nitrogenado (ENN), Fibra em Detergente Ácido (FDA); Fibra em Detergente Neutro livre de cinzas (FDNc) (Tabela 2); lignina, PIDA (Proteína Indigestível em Detergente Ácido), PIDN (Proteína Indigestível em Detergente Neutro) e amido. Ainda, nas sobras de feno e concentrado foram determinados o teor de matéria seca para estimativa do consumo de cada alimento.



Tabela 2- Análise bromatológica dos alimentos Concentrado e Feno

AMOSTRA	MS	MM	PB	FB	EE	ENN	FDA	FDN
<b>Feno</b>	92,91	6,84	7,62	38,60	0,85	46,10	43,78	73,56
<b>Concentrado</b>	92,45	8,00	26,54	3,75	1,98	59,74	7,31	20,10

Fonte: Departamento de Zootecnia - Laboratório de Nutrição

#### ***4.3.1.2.4 Oferta de homeopático Curso Zero<sup>®</sup> para bezerros experimentais e soro fisiológico para bezerros do grupo controle.***

O produto Curso Zero<sup>®</sup>, se apresenta na forma líquida em frasco plástico de 250 ml, com seringa dosadora, para a administração via oral.

Os bezerros do grupo experimental receberam 15 ml do produto ao nascimento, antes de ser fornecido o colostro, e mais 15 ml no 7º dia de vida, por via oral, com uso de seringa dosadora. Os bezerros do grupo controle receberam 15ml de soro fisiológico, por via oral, com uso de seringa dosadora, ao nascimento, antes do fornecimento do colostro, e mais 15ml no 7º dia de vida.

#### ***4.3.1.2.5 Peso e ganho de peso do nascimento aos 56 dias de idade***

Para este procedimento utilizou-se a balança mecânica no nascimento do bezerro, e as pesagens subsequentes foram realizadas semanalmente, todas as segundas feiras, independente do dia do nascimento dos recém nascidos. Os animais foram pesados sem jejum e no mínimo duas horas após o aleitamento do dia 0 ao dia 56 de vida (Figura 8). O peso corporal também foi estimado utilizando uma fita métrica (Auster Nutrição Animal) contornando o perímetro torácico do animal.

Figura 8 - Pesagem de bezerro em balança mecânica e fita métrica



Fonte: Própria autoria

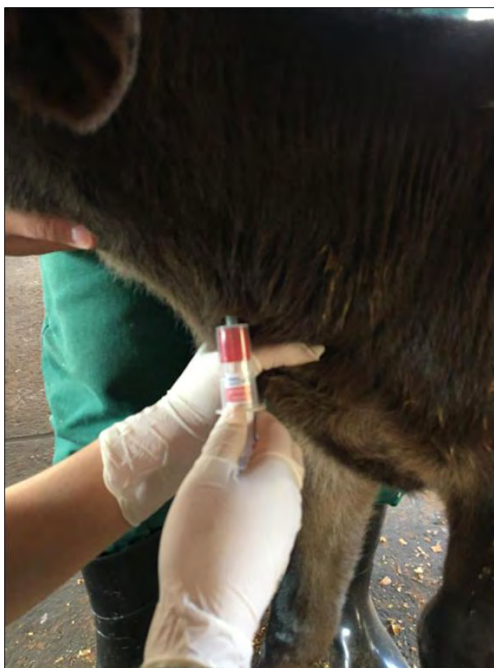
### **4.3.2 Procedimentos para avaliação de imunidade e desempenho animal**

#### *4.3.2.1 Imunidade*

##### *4.3.2.1.1 Coleta de sangue*

O método utilizado foi o de venopunção da veia jugular externa (Figura 9). Neste procedimento, foi realizado a assepsia com álcool 70% no local da punção, com utilização de tubos para coleta a vácuo (Vacunteiner®) com e sem ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA), para obtenção de plasma e soro.

Figura 9 - Coleta de sangue, por venopunção



Fonte: Própria autoria

As amostras foram coletadas 48 horas após o nascimento dos bezerros e no 3°, 28° e 56° dia de experimento.

Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em isopor e uma parte foi encaminhada ao Laboratório de Referência em Qualidade do Leite do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa/SP, onde foram centrifugadas para obtenção de soro e plasma, e acondicionadas em *ependorffs* e, armazenadas em freezer ( $-20\text{ C}^\circ$ ) para análises bioquímicas. Outra parte das amostras coletadas em tubos com EDTA (Figura 10) foram acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo reciclável, e encaminhadas para o laboratório comercial “ANIMALAB - auxílio em diagnóstico veterinário” na cidade de Americana, para análise de hemograma completo.

Figura 10 - Sangue em tubo contendo EDTA



Fonte: Própria autoria

As coletas dos dias 28 e 56 dias de vida também foram destinadas ao laboratório de Metabolismo Animal de Piracicaba para análise de metabolitos sanguíneos.

#### 4.3.2.1.2 Refratometro de Brix em soro para avaliação de TIP

Uma alíquota de soro, à temperatura ambiente das amostras de sangue coletadas 48 horas após o nascimento dos bezerros, foi colocada sobre o prisma do refratometro de brix, contra a luz para a observação da escala dentro do equipamento, para obtenção de leitura, na linha que divide a área clara e a escura. O valor de Grau Brix em soro adotado para o uma boa transferência de imunidade passiva foi de 23°.

#### 4.3.2.1.3 Exames clínicos

O exame clínico dos animais foi realizado após a alimentação matinal e, no caso de alguma característica anormal, repetido no período da tarde. Neste procedimento medição de temperatura retal, anotações de escores para secreção nasal, secreção ocular e posicionamento de orelhas foram devidamente anotados para a checagem de saúde do animal (Quadro 1).

O sistema de escore adotado foi o da Universidade de Wisconsin com escala de 0 a 3 (Anexo A).

Quadro 1 - Ficha de observação diária para anotações do quadro clínico dos bezerros controle e que receberam homeopático Curso Zero<sup>®</sup>, do nascimento ao desmame.

<b>ID:</b>	<b>DATA</b>		
<b>LOTE:</b>	Temp. Retal		
<b>Observações</b>	ESCORE Fezes		
<b>Data de nascimento;</b>	ESCORE Nasal		
	ESCORE de orelha		
<b>Tratamento:</b>	Mucosa		
	Diagnóstico		
<b>TIP:</b>	<b>Tratamento:</b>		
	<b>Tratamento:</b>		

Fonte: Própria autoria

#### 4.3.2.1.4 Incidência de diarreias

A incidência ou não de diarreia foi realizada através da observação diária das fezes dos bezerros. No presente estudo, foi considerado diarreia, quando o bezerro(a) apresentou escore fecal igual a 3 no modelo sugerido por Larson et al. (1977) por um período de 3 dias consecutivos e, neste caso, terapia de suporte com soro caseiro foi realizada para manter a hidratação (Anexo B).

#### ***4.3.2.1.5 Exames complementares***

Os exames complementares foram realizados nas amostras de sangue coletadas nos dias 3, 28 e 56 de idade dos bezerros.

Para as análises de ureia, albumina, proteína total e glicose foram utilizados kits Comerciais Labtest, Brasil (Uréia Ref. 104-4; Proteínas Totais Ref. 99-100; Albumina Ref. 19/250; Glicose Ref. 133-1/500; Calibra H Ref. 80-1; Qualitrol 1H Ref. 71-1) e classificados em cruces ((+), +, ++, +++). As análises foram realizadas pelo Laboratório Clínico Veterinário, da Universidade de São Paulo, faculdade de zootecnia e engenharia de alimentos, unidade didática clínico-hospitalar de Pirassununga /SP.

Para determinação dos parâmetros hematológicos, foram coletadas 12 mL de sangue em tubos com EDTA e analisados no equipamento BC2800 Mindray, seguindo os protocolos do laboratório comercial “ANIMALAB - auxílio em diagnostico veterinário” na cidade de Americana.

Para dosagem dos metabolitos sanguíneos ácidos graxos não esterificados (NEFA) e  $\beta$  hidroxibutirato (BHBA), as amostras de soro colhidas nos dias 28<sup>o</sup> e 56<sup>o</sup>, foram determinadas por meio dos kits da RANDOX Laboratories (Life Sciences Ltda - Crumlin, Uk) utilizando o equipamento Sistema Automático para Bioquímica (SBA – 200, CELM, Barueri, SP, Brasil).

#### ***4.3.2.1.6 Coleta e análise do microbioma de fezes***

Amostras fecais foram coletadas no dia 5 após o nascimento e posteriormente no dia 30. As amostras foram coletadas manualmente, de forma asséptica, diretamente do reto dos animais, utilizando-se uma luva de látex para cada animal, evitando-se contaminação cruzada das amostras. Cerca de 2mg de fezes foram colhidos, acondicionadas em

*eppendorfs*, e congeladas imediatamente a  $-20^{\circ}\text{C}$  e encaminhadas para a empresa NGS Soluções Genômicas em Piracicaba/SP.

Para este procedimento foram selecionados 12 animais aleatoriamente para a realização do estudo de microbioma, sendo 6 para o grupo controle, e 6 para o grupo tratamento homeopático com Curso Zero<sup>®</sup>.

Para a extração do DNA das amostras de fezes, foi usada 0,220 mg do conteúdo da amostra bruta, utilizando o kit de extração MagMAX Mechanical Lyses e o kit MagMAX CORE (Thermo Scientific) e seguindo o protocolo do fabricante. Para o preparo de biblioteca e sequenciamento foi realizado seguindo as recomendações Illumina.

A concentrações das mesmas foram quantificadas em espectrofotômetro modelo NanoDrop<sup>®</sup> ND-2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, EUA) em  $\text{ng}/\mu\text{L}$  das amostras. Para a amplificação das amostras de DNA é feita uma reação de PCR com os primers específicos para o gene 16S rRNA (região V3-V4) utilizando  $1\ \mu\text{L}$  de DNA,  $0,2\ \mu\text{M}$  de cada primer, 2x PCRBioSystems Master Mix, água ultra pura para volume final de  $25\ \mu\text{L}$ . Os produtos dessa amplificação são checados quanto a sua qualidade através de eletroforese em gel de agarose a 1,5%, em uma reação de PCR (index Nextera XT *Index Primer 1* (N7xx) e Nextera XT *Index Primer 2* (S5xx), com os produtos da PCR 16S V3-V4 purificados.

Uma segunda purificação é feita desse produto de PCR com as beads AMPure XP Beads (Beckman Coulter, Life Sciences) e os produtos dessa amplificação depois da purificação são visualizados em gel de agarose 1,5%.

Os produtos da PCR da ligação dos adaptadores são quantificados em NanoDrop e depois normalizados todos para uma mesma concentração. É feito um *pool* equimolar com todas as amostras. O pool é quantificado por qPCR para validar e determinar a concentração final do pool em nM. O kit utilizado foi o KAPA Library Quantification kit for Illumina (*Roche*).

O sequenciamento foi realizado no equipamento MiSeq da Illumina V2 (Illumina, San Diego, CA, EUA) para a região hipervariável V3-V4 do gene 16S rRNA e as leituras produzidas foram de  $2 \times 250\ \text{pb}$ .

#### 4.3.2.2 Desempenho dos bezeros

Todos os bezerros foram pesados semanalmente, do dia do nascimento até os 56 dias de vida e o desempenho foi avaliado conforme os parâmetros abaixo descritos:

#### **4.3.2.2.1 Ganho de peso semanal e total;**

Foi realizada a pesagem semanal dos bezerros do nascimento até os 56 dias de vida, totalizando 8 coletas: semana 1 (0-7 dias); semana 2 (7-14 dias); semana 3 (14-21 dias); semana 4 (21-28 dias); semana 5 (28-35 dias); semana 6 (35-42 dias); semana 7 (42-49 dias) e semana 8 (49-56) dias de vida. As medidas calculadas para obtenção do ganho de peso total e sua porcentagem foram através das eq (1) e eq (2):

Ganho de peso = peso final – peso inicial	(1)
---	-----

% ganho de peso = $\frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{peso inicial}} \times 100$	(2)
--	-----

#### **4.3.2.2.2 Medidas corporais dos bezerros**

O crescimento dos bezerros foi estimado utilizando uma fita métrica e régua para a tomada das medidas corporais aos 7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias e 35 dias de idade, onde obteve-se a altura da cernelha (ac) como demonstrado na form. 1, comprimento do corpo (cc), como demonstrado na form. 2 e altura de garupa (ag), como demonstrado na form. 3.

Ac = distância entre o solo e a cernelha com os animais em superfície plana	(1)
---	-----

Cc = linha reta entre a articulação escápulo-umeral e a tuberosidade coxal do fêmur	(2)
---	-----

Ag = distância entre o solo e a tuberosidade sacral do fêmur com os animais em superfície plana	(3)
---	-----

## **4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O presente trabalho adotou o delineamento inteiramente casualizado. Foi realizado o teste de ANOVA pelo pacote estatístico do Statistical Analysis System (SAS, 2008). Os dados foram previamente tratados respeitando as premissas de normalidade dos resíduos pelo procedimento Shapiro-Wilk univariante do SAS e homogeneidade das variâncias.

Para análise do efeito dos tratamentos homeopático Curso Zero<sup>®</sup> (CZ) e controle (CT) sobre as variáveis hematológicas, temperatura retal, NEFA, BHBA, consumo total de MS e variáveis de desenvolvimento dos bezerros foram realizadas análises de variância usando o procedimento mixed do SAS, sendo que o tratamento foi considerado como efeito fixo, dia da coleta como medida repetida no tempo e animal como efeitos aleatórios. As interações entre tratamentos e dias de coletas sobre as variáveis citadas acima também foram testadas no modelo.

Para análise do efeito dos tratamentos CZ e CT sobre o score de secreção nasal e score fecal, foram realizadas as análises de variância usando o procedimento freq do SAS.

Para os efeitos que apresentaram resultados significativos nas análises de variância ( $P < 0,05$ ), foram realizadas comparações entre as médias pelo teste de Fisher quando os dados que apresentaram distribuição normal e pelo teste de Kruskal-Wallis quando os dados não apresentaram distribuição normal. Os resultados das análises estatísticas são apresentados nesta tese, como média e erro padrão médio.

Os dados do microbioma foram analisados utilizando um pacote de código aberto implementado na linguagem R, do programa DADA2 (R Core Team, 2019) para para modelagem e gerar variantes exatas da sequência de amplicons (ASVs; Amplicon Sequencing Variants) (WANG et al., 2007). O pacote DADA2 tem um pipeline previamente publicado (CALLAHAN et al., 2016) e completo implementado para transformar os arquivos do sequenciador em sequências de amostras inferidas, desmembradas, e sem quimeras.

A função assignTaxonomy toma como entrada um conjunto de sequências (ASVs) a serem classificadas e um conjunto de treinamento de sequências de referência com taxonomia conhecida, e atribui taxonomias. Foi utilizado como referência, o banco de dados GTDB (Genome Taxonomy Database) versão r89 (PARKS et al., 2017).

As classificações taxonômicas geradas pelo DADA2, e suas quantificações, foram importadas para o programa phyloseq (MCMURDIE e HOLMES, 2013), que é uma ferramenta para importar, armazenar, analisar e exibir graficamente dados complexos de sequenciamento filogenético que já foram agrupados em ASVs e implementado no R. Este pacote apresenta ferramentas disponíveis em R para ecologia e análise filogenética, e foi utilizado para produzir gráficos de alta qualidade. As análises de diversidade Alpha e Beta, foram também realizadas no pacote phyloseq, conforme descrito por Callahan et al. (2016)



Foram filtradas as ASVs que não foram classificadas em pelo menos até o nível de família, e ASVs assinaladas como mesmo gênero foram aglomeradas. Após a aplicação destes filtros, foram obtidas as tabelas de contagens brutas de abundância e de abundância relativa.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 HEMOGRAMA DOS BEZERROS

Na avaliação do eritograma, (Tabela 3) os valores encontrados ficaram dentro da faixa de normalidade estabelecida por Jain (1986) (Tabela 4) e Kaneko et al. (2008) utilizados pela maioria dos laboratórios de patologia clínica veterinária.

Em relação aos índices hematimétricos, a concentração de hemoglobina celular média (CHCM) e o volume corpuscular médio (VCM), somente o VCM foi significativamente maior nos bezerros do tratamento controle do que nos bezerros do tratamento Curso Zero<sup>®</sup>, (Tabela 3), com exceção do volume corpuscular médio (VCM) que foi significativamente maior nos bezerros do tratamento controle do que nos bezerros do tratamento Curso Zero<sup>®</sup>.

Tabela 3 - Avaliação dos parâmetros do eritograma dos bezerros dos tratamentos controle e

Eritograma	Curso Zero <sup>®</sup>		EPM	Valor de P
	TRATAMENTO CT	CZ		
Eritrócitos (milhões/mm <sup>3</sup> )	8,24	8,57	0,22	0,30
Hematócrito (%)	33,69	33,80	0,93	0,93
Hemoglobina (g/dL)	10,91	11,44	0,23	0,11
VCM (fl)	41,13 <sup>a</sup>	39,65 <sup>b</sup>	0,49	0,03
CHCM (%)	33,81	34,31	0,21	0,10
PTN plasmática	6,68	6,81	0,11	0,41

CT: controle; CZ: curso zero<sup>®</sup>; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; PTN: proteína; EPM: erro-padrão médio. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas (P < 0.05).

Tabela 4 – Valores de referência do eritrograma de bovinos

BOVINO	
Eritrograma	Valores
Eritrócitos ( $\times 10^6$ )	5.0 – 10.0
Hemoglobina (g/dL)	8.0 – 15.0
VG (%)	24 – 46
HGM (pg)	11 – 17
VGM (fl)	40 – 60
CHGM (%)	30 – 36

Fonte: Schalm's Veterinary Hematology (1986).

Em relação ao leucograma, os valores encontrados estiveram dentro dos parâmetros fisiológicos normais (Tabela 5), mas foi observado que o tratamento Curso Zero ( $1,16 \pm 0,15$ ) influenciou significativamente ( $p = 0,03$ ) a contagem de eosinófilos quando comparado ao tratamento controle ( $0,71 \pm 0,15$ ). E, quando avaliada a interação entre os tratamentos e os dias de vida dos bezerros, observou-se efeito significativo em todas as variáveis do leucograma (Tabela 6).

De 3 aos 56 dias do nascimento, os neutrófilos segmentados diminuíram enquanto os linfócitos aumentaram, mantendo-se ambos dentro do intervalo de referência estabelecido para bovinos, mesmo com variações nos resultados observados por diferentes autores (JAIN, 1986; KANEKO et al., 2008; WEISS & WARDROP, 2010).

Tabela 5 - Valores de referência do leucograma de bovinos

Leucograma	Valores
Leucócitos Totais ( $\text{mm}^3$ )	4 – 12
Bastonetes ( $\mu\text{L}/\%$ )	0 – 120 / 0 – 2
Neutrófilos ( $\mu\text{L}/\%$ )	600 – 4.000 / 15 – 45
Linfócitos ( $\mu\text{L}/\%$ )	2.500 – 7.500 / 45 – 75
Eosinófilos ( $\mu\text{L}/\%$ )	0 – 2.400 / 0 – 20
Monócitos ( $\mu\text{L}/\%$ )	25 – 840 / 2 – 7
Basófilos ( $\mu\text{L}/\%$ )	0 – 200 / 0 – 2
Fibrinogênio Plasmático (mg/dL)	300 – 700
Proteína Total (g/dL)	7.0 – 8.5
Plaquetas ( $\times 10^3$ )	100 – 800
Reticulócitos (%)	

Fonte: Schalm's Veterinary Hematology (1986).

Tabela 6- Avaliação dos parâmetros do leucograma na interação entre os tratamentos controle e Curso Zero, e os dias 03, 28 e 56 de vida dos bezerros.

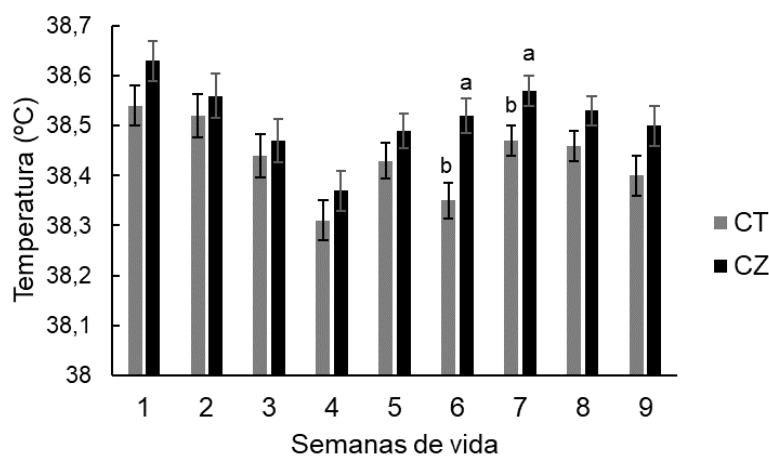
Eritograma	CT			CZ			EPM	Valor de P		
	3	28	56	3	28	56		T	D	T*D
Eritrócitos (milhões/mm <sup>3</sup> )	8,2	8,27	8,27	8,78	8,46	8,48	0,39	0,3	0,93	0,85
Hematócrito (%)	35,33	33,83	31,91	34,33	34,41	32,66	1,63	0,93	0,27	0,83
Hemoglobina (g/dL)	10,44	11,35	10,95	11,53	11,55	11,23	0,40	0,11	0,47	0,48
VCM (fL)	42,5 <sup>a</sup>	40,85 <sup>ab</sup>	40,04 <sup>ab</sup>	39,22 <sup>ab</sup>	40,78 <sup>ab</sup>	38,95 <sup>b</sup>	0,85	0,03	0,19	0,16
CHCM (%)	32,98 <sup>b</sup>	34,29 <sup>ab</sup>	34,15 <sup>ab</sup>	33,64 <sup>b</sup>	33,82 <sup>ab</sup>	35,48 <sup>a</sup>	0,37	0,1	0,001	0,06
PTN plasmática	7,26 <sup>a</sup>	6,52 <sup>ab</sup>	6,26 <sup>b</sup>	7,13 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	6,2 <sup>b</sup>	0,18	0,41	<.0001	0,09

CT: controle; CZ: curso zero<sup>®</sup>; T: Efeito simples de tratamento; D: dias do tratamento; T\*D: interação tratamento e dias do tratamento; EPM: erro-padrão médio. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

## 5.2 TEMPERATURA RETAL DOS BEZERROS

Houve efeito significativo ( $p < .0001$ ) do tratamento Curso Zero<sup>®</sup> ( $38,52 \pm 0,08$ ) na temperatura dos bezerros em comparação ao tratamento controle ( $38,44 \pm 0,08$ ). Quando comparado o efeito dos tratamentos durante as 9 semanas de vida, observou-se que os bezerros do tratamento Curso Zero<sup>®</sup> apresentaram uma temperatura retal significativamente maior nas semanas 6 e 7 ( $38,52 \pm 0,04$ ;  $38,57 \pm 0,03$ , respectivamente) em comparação aos bezerros do tratamento controle ( $38,35 \pm 0,04$ ;  $38,47 \pm 0,03$ , respectivamente) (Figura 11)

Figura 11 - Comparação da temperatura retal dos bezerros do tratamento controle e Curso Zero® nas semanas 1- 9 de vida.

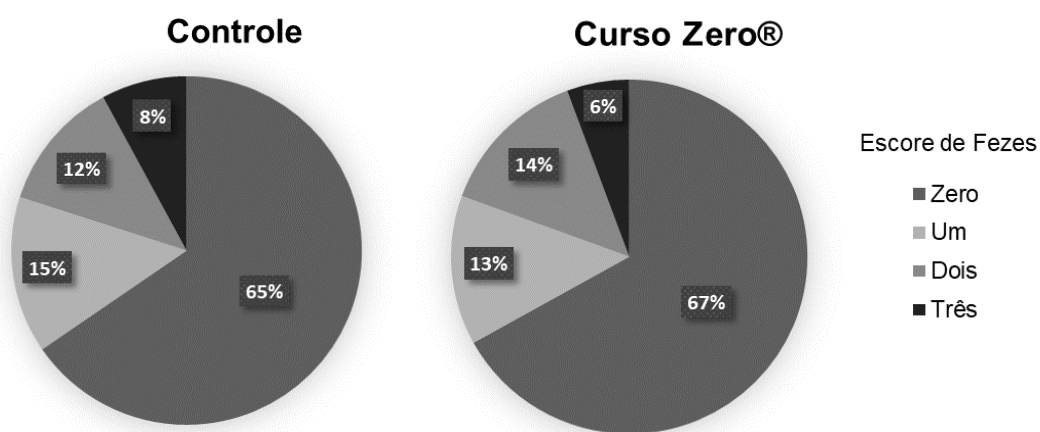


CT: controle; CZ: curso zero®. Fonte: Própria autoria

### 5.3 AVALIAÇÃO DO ESCORE DE FEZES DOS BEZERROS

Não foi observada diferença significativa entre a frequência de bezerros dos tratamentos CT e CZ que apresentaram escores zero ( $p = 0,52$ ), um ( $p = 0,59$ ), dois ( $p = 0,32$ ) e três ( $p = 0,07$ ) de fezes (Figura 12)

Figura 12 - Comparação da porcentagem de bezerros dos tratamentos controle e Curso Zero® que apresentaram diferentes escores (zero, um dois e três) de fezes.

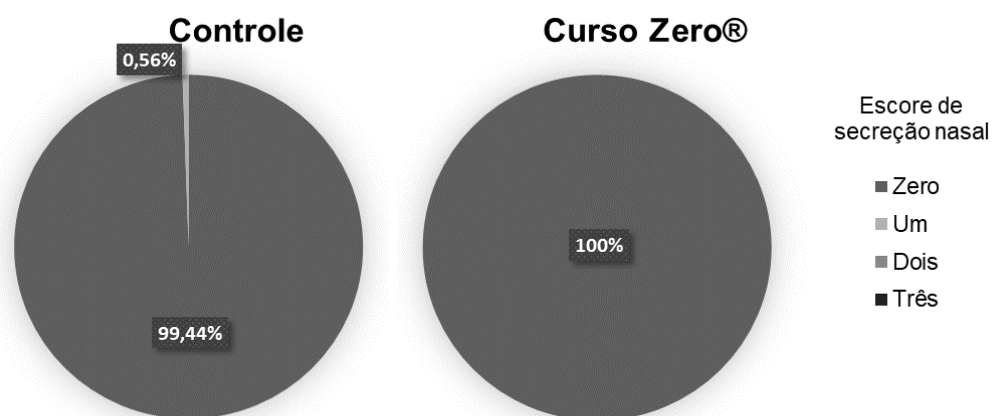


Fonte: Própria autoria

#### 5.4 ESCORE DE SECREÇÃO NASAL

Houve efeito significativo do tratamento Curso Zero® na porcentagem de bezerros que apresentaram escore zero ( $p = 0,04$ ) e um ( $p = 0,04$ ) de secreção nasal em comparação ao tratamento controle (Figura 13). Não houve casos de bezerros com secreção nasal escores dois e três.

Figura 13 - Comparação da porcentagem de bezerros que apresentaram secreção nasal escores zero, um, dois e três dos tratamentos controle e Curso Zero®.



Fonte: Própria autoria

Todos os bezerros de ambos os tratamentos apresentaram escore 0 (zero) para as variáveis de secreção ocular e posicionamento da orelha.

#### 5.5 NEFA e BHB

Não houve diferença significativa entre os tratamentos controle e Curso Zero® em relação a concentração de BHB e NEFA (Tabela 7).

Tabela 7 - Comparação da concentração de NEFA e BHB plasmático entre os bezerros dos tratamentos controle (CT) e Curso Zero® (CZ).

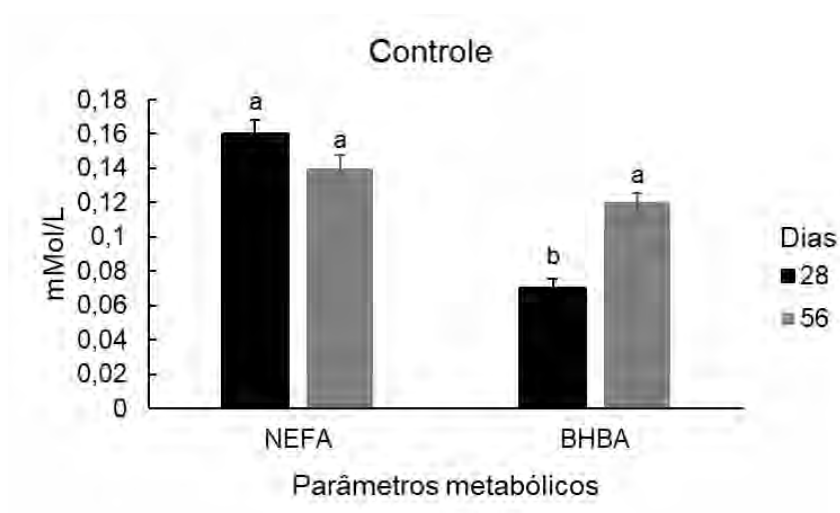
Variável	Tratamento		EPM	Valor de P
	CT	CZ		

NEFA (mMol/L)	0,15	0,14	0,01	0,29
BHBA (mMol/L)	0,1	0,1	0,01	0,78

CT: controle; CZ: curso zero®; NEFA: ácidos graxos não-esterificados; BHBA: β- hidroxibutirato; EPM: erro-padrão médio.

Quando avaliado o efeito dos dias dentro de cada tratamento, observou-se que os bezerros do tratamento controle apresentaram concentrações significativamente maiores ( $p < 0,001$ ) de BHB ( $0,12 \pm 0,006$  mMol/L) no dia 56 do que no dia 28 ( $0,07 \pm 0,006$  mMol/L), no entanto, não houve diferença significativa ( $p = 0,13$ ) na concentração de NEFA entre os dias 28 ( $0,16 \pm 0,01$  mMol/L) e 56 ( $0,14 \pm 0,01$  mMol/L) (Figura 14).

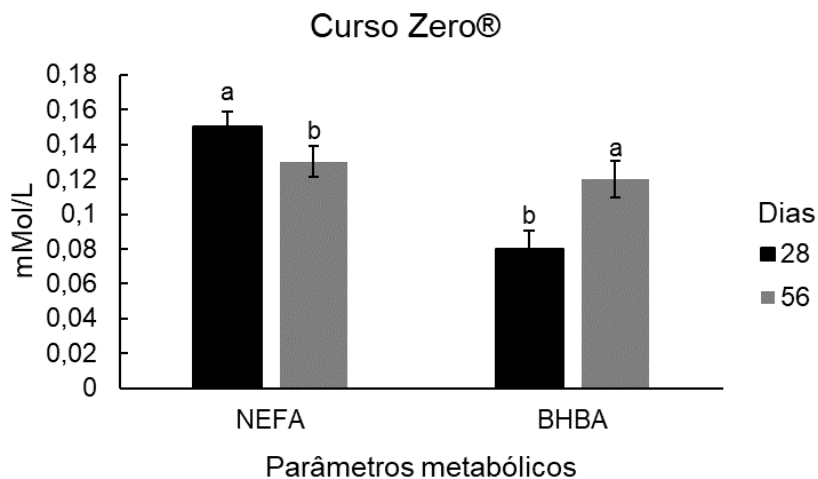
Figura 14 - Concentração de BHB e NEFA dos bezerros do tratamento controle nos dias 28 e 56 de vida.



NEFA: ácidos graxos não-esterificados; BHBA: β- hidroxibutirato; EPM: erro-padrão médio. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Fonte: Própria autoria

O mesmo padrão foi observado em relação a concentração de BHB nos bezerros do tratamento Curso Zero®, que foi significativamente maior ( $p = 0,01$ ) no dia 56 ( $0,12 \pm 0,01$  mMol/L) do que no dia 28 ( $0,08 \pm 0,01$  mMol/L). No entanto, a concentração de NEFA que foi significativamente maior ( $p = 0,04$ ) no dia 28 ( $0,15 \pm 0,01$  mMol/L) do que no dia 56 ( $0,13 \pm 0,01$  mMol/L) (Figura 15)

Figura 15 - Concentração de BHB e NEFA dos bezerros do tratamento Curso Zero® nos dias 28 e 56 de vida.



NEFA: ácidos graxos não-esterificados; BHBA:  $\beta$ - hidroxibutirato; EPM: erro-padrão médio. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Fonte: Própria autoria

## 5.6 INGESTÃO DE ALIMENTO LÍQUIDO E SÓLIDO

Houve efeito do tratamento no consumo de matéria seca total ( $p = 0,007$ ), onde consumo dos bezerros CZ ( $1,55 \pm 0,03$  Kg) foi significativamente maior do que dos bezerros CT ( $1,43 \pm 0,03$  Kg). Não houve efeito de interação entre os tratamentos e os dias ( $p = 0,14$ ).

Ao comparar os tratamentos durante os dias, observou-se que apenas no dia 49 houve uma diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8 - Médias por semana do consumo diário da dieta para os tratamentos

Consumo de MS total (kg/dia)	Tratamento		EPM	Valor de P
	CT	CZ		
7	0,69	0,69	0,01	0,95
14	0,8	0,89	0,03	0,07
21	0,9	1,01	0,06	0,25

continuação

continua

Consumo de MS total (kg/dia)	Tratamento		EPM	Valor de P
	CT	CZ		
28	1,13	1,28	0,11	0,31
35	1,16	1,36	0,14	0,34
42	1,83	1,80	0,14	0,89
49	2,27 <sup>b</sup>	2,81 <sup>a</sup>	0,13	0,02
56	2,65	2,60	0,16	0,85

CT: controle; CZ: curso zero<sup>®</sup>; EPM: erro-padrão médio. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas (P < 0.05).

## 5.7 DESEMPENHO DOS BEZERROS

Para as variáveis relacionadas as medidas corporais, observou-se que os bezerros CZ foram significativamente maiores (altura da cernelha) do que os bezerros CT (Tabela 9), no entanto não houve influência do tratamento nas demais medidas como circunferência do tórax e o comprimento do corpo. Já em relação ao desempenho, os bezerros CT apresentaram uma eficiência alimentar significativamente melhor do que os bezerros CZ, mas não houve diferença estatística em relação ao ganho médio diário, e houve uma tendência dos bezerros CZ serem mais pesados que os bezerros CT.

Tabela 9 - Medidas corporais dos bezerros nos tratamentos controle (CT) e Curso Zero<sup>®</sup>

Variáveis de desempenho	Tratamento		EPM	Valor de P
	CT	CZ		
Altura da cernelha (cm)	74,39 <sup>b</sup>	76,76 <sup>a</sup>	0,64	0,009
Circunferência do tórax (cm)	24,92	25,41	0,29	0,24
Comprimento do corpo (cm)	66,27	67,96	1,00	0,23
Eficiência alimentar	0,48 <sup>a</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,02	0,02
Peso (kg)	57,58	62,19	1,69	0,05
Ganho médio diário	0,86	0,89	0,03	0,45

CT: controle; CZ: curso zero<sup>®</sup>; EPM: erro médio padrão. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas (P < 0.05).

Ao comparar o peso dos bezerros durante os 56 dias de vida, observou-se que nas duas primeiras semanas de vida não houve efeito do tratamento sobre o peso, no entanto, a partir dos 21 dias de vida até os 56 dias de vida, os bezerros CZ estavam significativamente mais pesados do que os bezerros CT (Tabela 10).



Tabela 10 - Comparação do peso dos bezerros dos tratamentos controle (CT) Curso Zero<sup>®</sup> (CZ) do 7<sup>o</sup> ao 56<sup>o</sup> dia de vida.

Peso (kg/dia)	Tratamento		EPM	Valor de P
	CT	CZ		
7	38,72	38,9	1,33	0,92
14	44,95	47,78	1,56	0,21
21	48,97 <sup>b</sup>	54,86 <sup>a</sup>	1,31	0,005
28	54,6 <sup>b</sup>	60,73 <sup>a</sup>	1,43	0,007
35	59,68 <sup>b</sup>	66,6 <sup>a</sup>	1,55	0,005
42	65,65 <sup>b</sup>	73,05 <sup>a</sup>	1,67	0,007
49	71,4 <sup>b</sup>	81,8 <sup>a</sup>	1,65	0,0004
56	78,6 <sup>b</sup>	88,74 <sup>a</sup>	1,58	0,0004

CT: controle; CZ: curso zero<sup>®</sup>; EPM: erro médio padrão. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

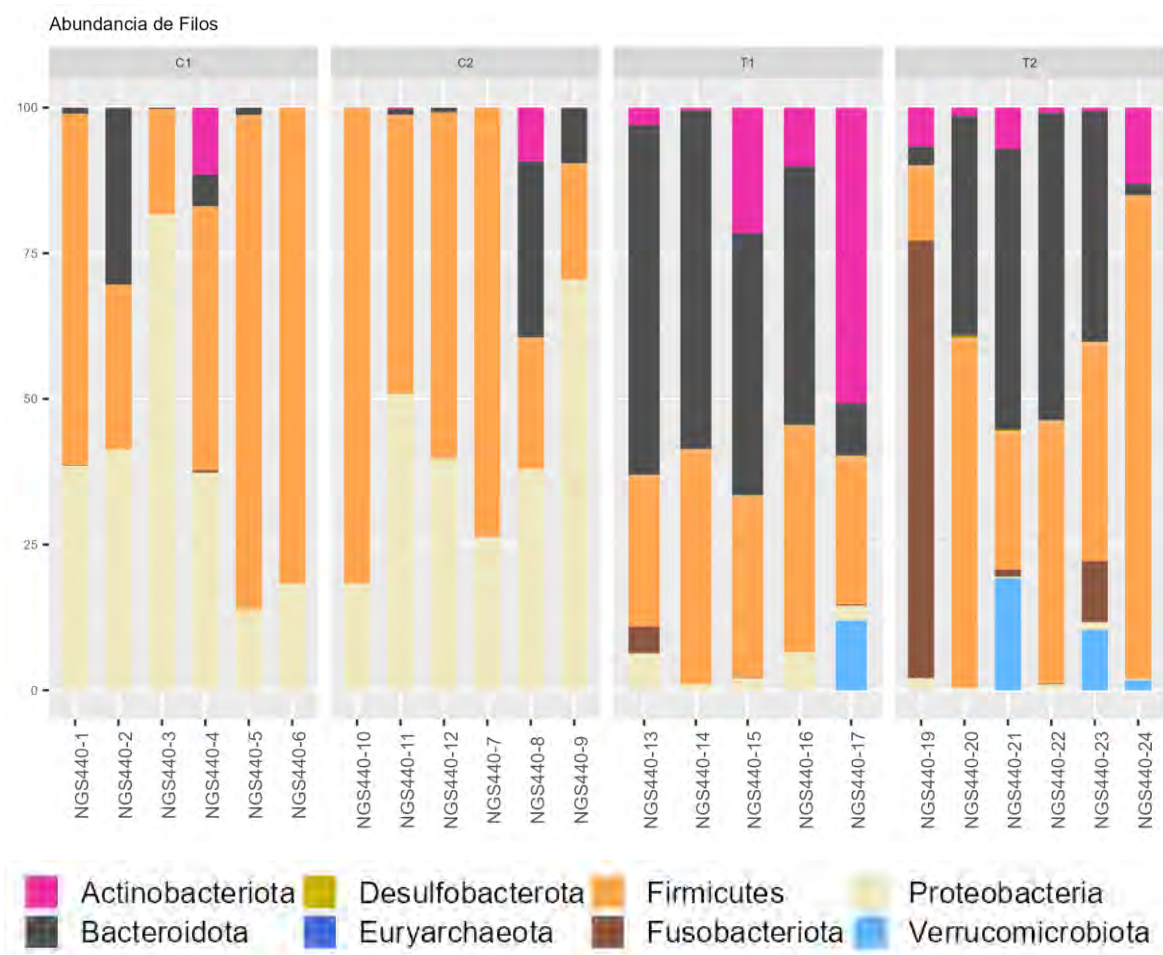
## 5.8 CARACTERIZAÇÃO DO FILO MICROBIANO

Nas amostras fecais dos bezerros dos tratamentos controle e Curso Zero<sup>®</sup>, nos 5<sup>o</sup> e 30<sup>o</sup> dia de vida, foram identificados 8 filios de microrganismos predominantes, sendo 7 filios bacterianos e 1 filo de archaea.

Ao comparar os tratamentos (Figura 17), observou-se uma variação na composição do microbioma, onde o microbioma dos bezerros CZ é composto principalmente pelos filios de archaea *Euryarchaeota*, bactérias *Desulfobacterota*, bactéria *Actinobacteriota*, bactérias *Verrucomicrobiota* e bactérias *Fusobacteriota*, enquanto o microbioma dos bezerros CT há maior presença do filo de bactérias *Firmicutes* e *Proteobacteria*.

Ao comparar a composição do microbioma no 5<sup>o</sup> e 30<sup>o</sup> dias, observa-se que não há variação na diversidade filios, no entanto, ocorre uma mudança na proporção, principalmente no microbioma dos bezerros CZ, com aumento da presença dos microrganismos pertencentes aos filios *archaea Euryarchaeota*, bactérias *Desulfobacterota*, bactérias *Verrucomicrobiota* e bactérias *Fusobacteriota* no 30<sup>o</sup> dia em comparação ao 5<sup>o</sup> dia. Já o microbioma dos bezerros CT mantém uma proporção similar entre o 5<sup>o</sup> e 30<sup>o</sup> dias de vida.

Figura 17. Abundância relativa bacteriana a nível de filo em amostras de feccais de bezerros.

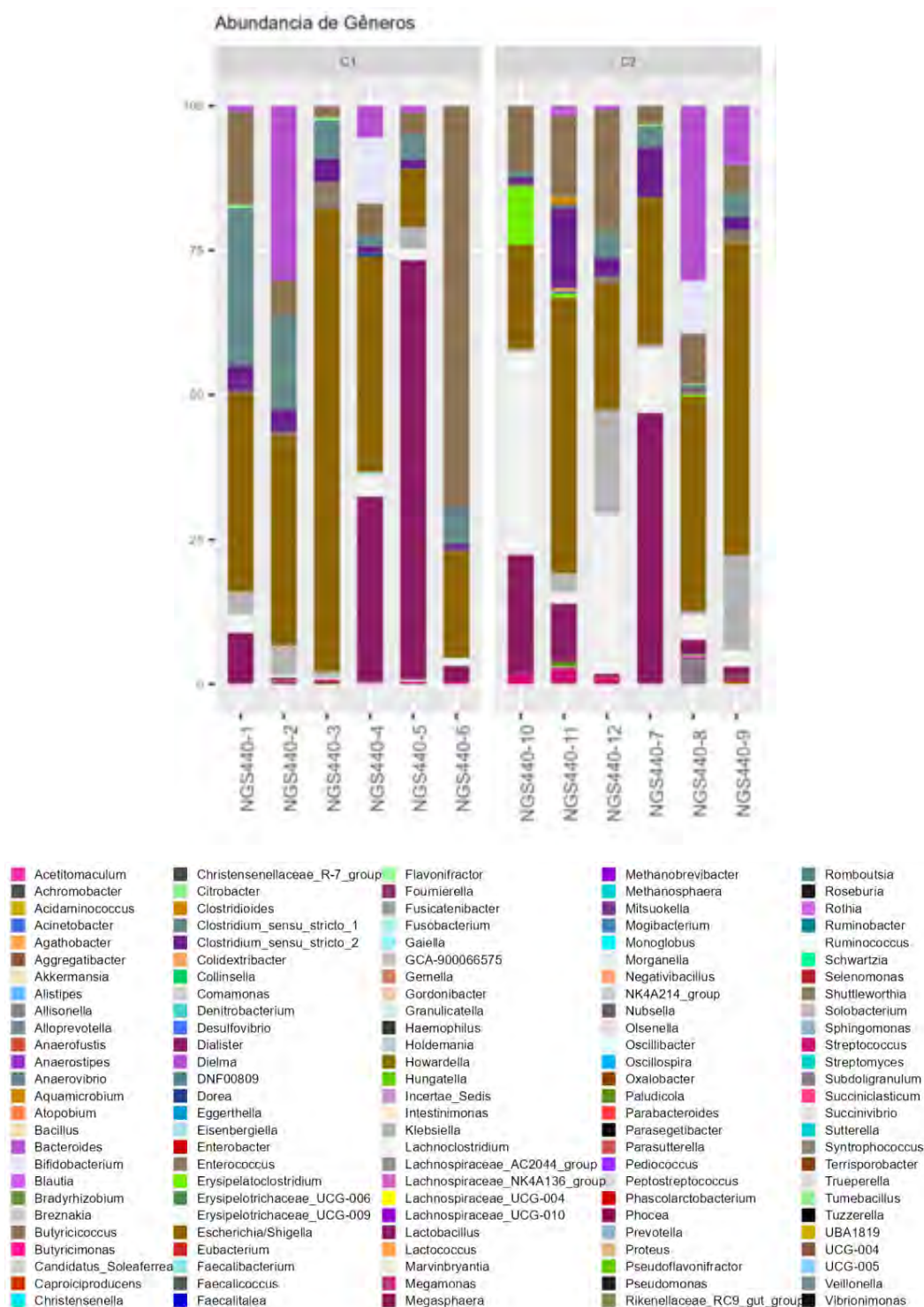


\*C1= Grupo controle no 5º dia, C2= Grupo controle no 30º dia; T1= Grupo Curso Zero® no 5º dia; T2= Grupo curso zero® no 30º dia. Cada barra representa a identificação da amostra analisada: NGS440-X, onde X é o animal.

## 5.9 CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO DOS MICRORGANISMOS

Em relação ao gênero das bactérias, foram identificados 130 gêneros bacterianos, sendo que os mais prevalentes tanto no 5º quanto no 30º dia, foram *Escherichia/Shigella* (32,36% e 35,18% respectivamente), mas se alteraram em relação a população de outros microorganismos *Lactobacillus* (27,12% no 5º dia e 12,96% no 30º dia), *Butyricoccus* (17,63% no 5º dia e 10,69% no 30º dia) e *Clostridium* (8,68 no 5º dia e 2,49% no 30º dia) (Figura 18).

Figura 18 - Abundância diferencial em gêneros bacterianos do controle do 5° e 30° dia em amostras de fezes.

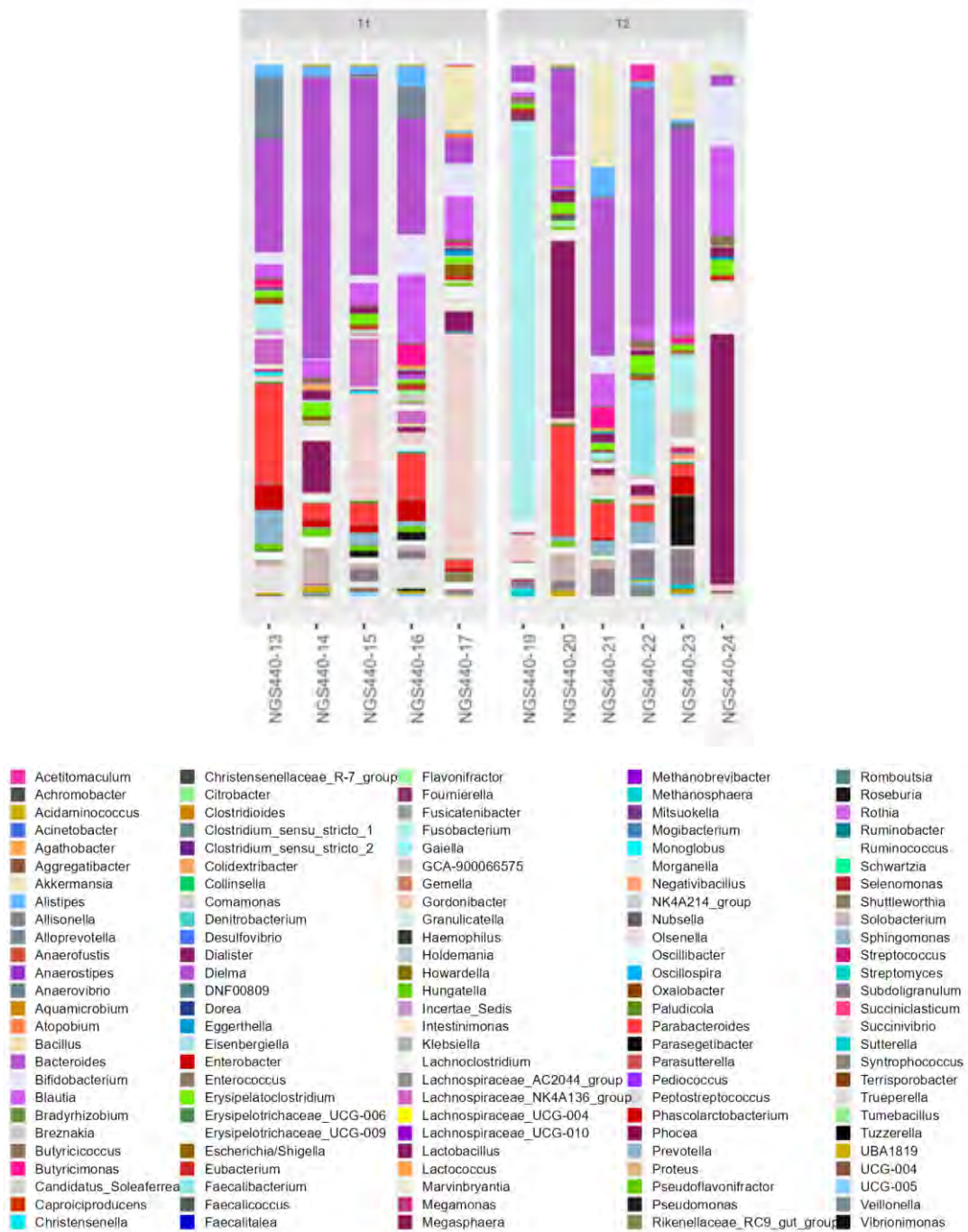


Cada barra representa a identificação da amostra analisada: NGS440-X, onde X é o animal. Fonte: Própria autoria

Já no tratamento Curso Zero, tanto no 5° quanto no 30° dia, os gêneros mais prevalentes foram *Bacterioides* (26,15% e 21,62% respectivamente), mas se alteraram

também em relação a população de outros microrganismos como *Olsenella* (12,78% no 5º dia e 1,93% no 30º dia), *Parabacterioides* (7,78% no 5º dia e 4,96% no 30º dia) e *Blautia* (6,19% no 5º dia e 5,70% no 30º dia) (Figura 19).

Figura 19 - Abundância diferencial em gêneros bacterianos do tratamento Curso Zero no 5º e 30º dia em amostras de fezes.

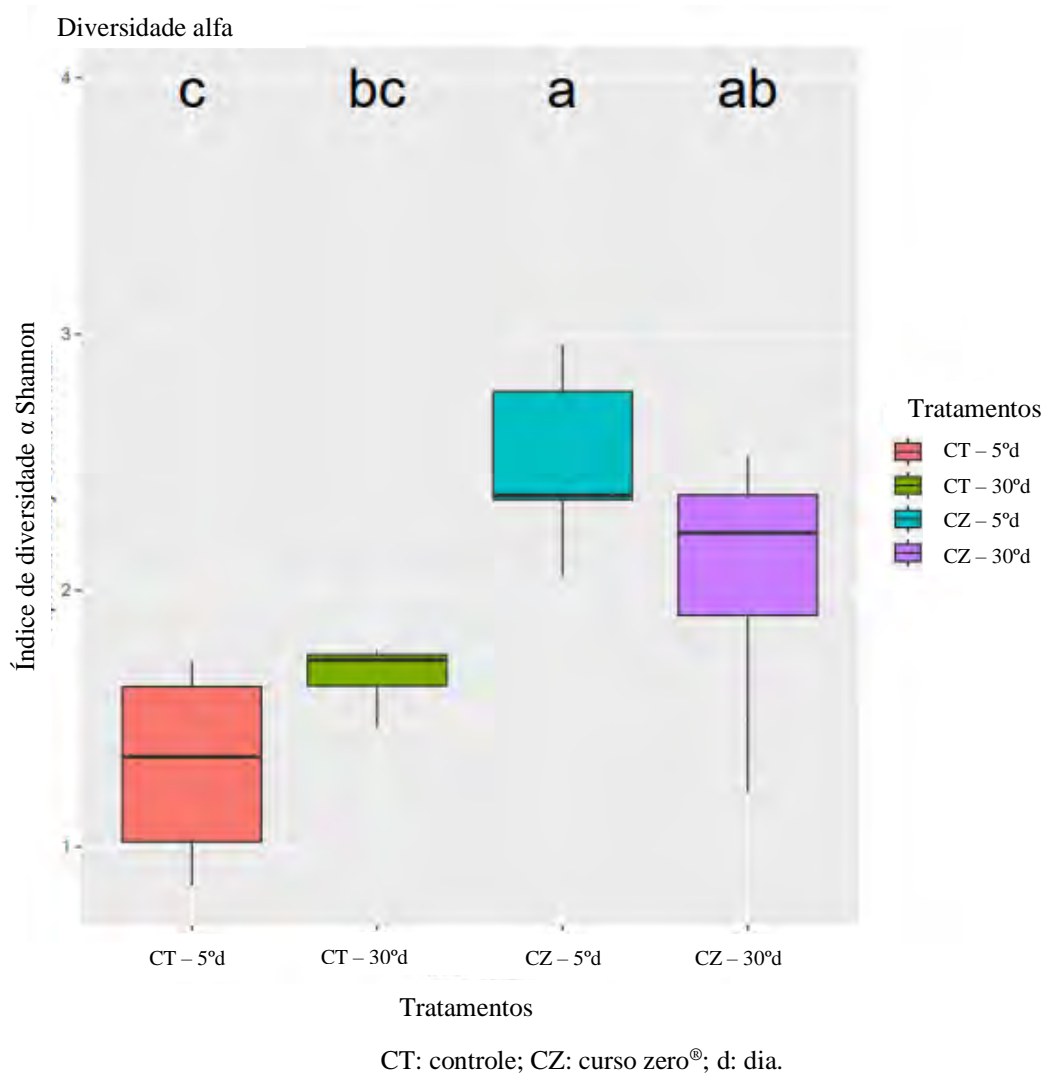


Cada barra representa a identificação da amostra analisada: NGS440-X, onde X é o animal. Fonte: Própria autoria

## 5.10 ÍNDICES DE DIVERSIDADE

Os dados da sequência de amplicons do gene 16S rRNA, foram utilizados para análise do perfil microbiano. Em relação ao efeito do tratamento Curso Zero em comparação ao controle, observou-se que a maior diversidade alfa (Shannon) ocorreu em animais tratados no 5º dia e menor no grupo controle do mesmo período. Mas no 30º dia houve semelhança entre a diversidade  $\alpha$  para a comunidade microbiana de ambos os tratamentos (Figura 20).

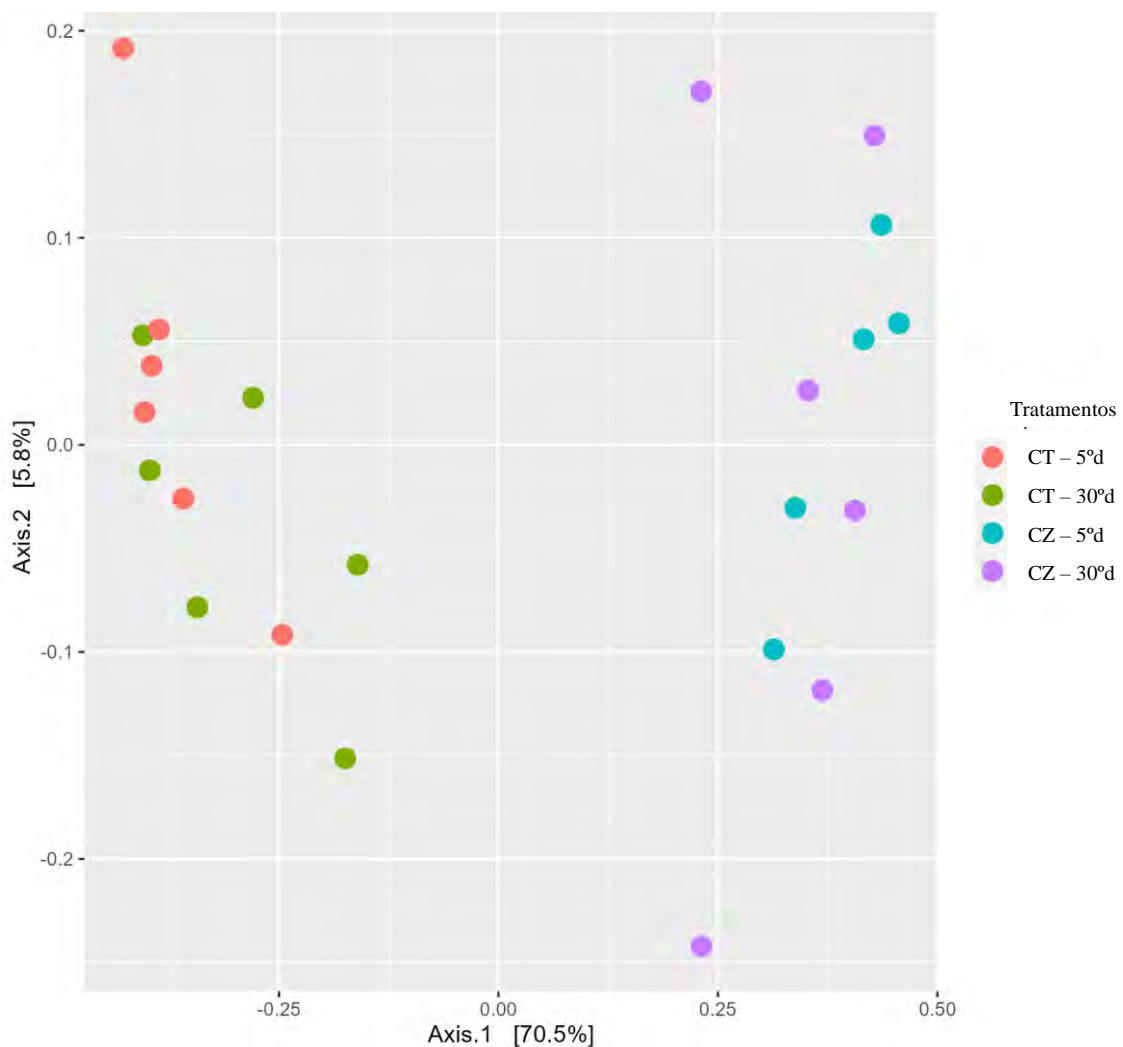
Figura 20 - Índices de diversidade de Shannon em amostras fecais de bezerros dos tratamentos controle e Curso Zero no 5º e 30º dias de vida.



Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0.05$ ). Fonte: Própria autoria

A diversidade  $\beta$  foi apresentada diferente comportamento entre os tratamentos controle e Curso Zero no 5º e 30º dias (Figura 21), onde apesar de haver um agrupamento em ambos os tratamentos, no tratamento Curso Zero alguns animais apresentaram a diversidade microbiana mais dispersas que os bezerros CT.

Figura 21 - Estrutura da comunidade microbiana em amostras fecais de bezerros controle e Curso Zero. Escalonamento multidimensional (MDS) mostrando a métrica de distância UniFrac ponderada (parentesco relativo dos membros da comunidade, incorporando distâncias filogenéticas entre organismos).



CT: controle; CZ: curso zero<sup>®</sup>; d: dia. Médias marcadas com letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0.05$ ). Fonte: Própria autoria

## 6 DISCUSSÃO

A determinação da saúde dos bezerros é estabelecida por meio de diversas ferramentas, entre elas a utilização dos parâmetros hematológicos (BENESI et al., 2012). No presente estudo, ao ser avaliado o perfil eritrocitário, apenas o VCM apresentou diferença significativa entre os tratamentos, no entanto, o aumento apresentado pelos bezerros CZ em relação aos bezerros CT permanecem dentro dos valores de referência para espécie bovina (BENESI et al., 2012; MOHRI et al., 2007; THRALL et al., 2015). O VCM é uma das medidas mais utilizadas no laboratório para classificar o tipo de anemia por representar o tamanho dos eritrócitos que por sua vez é influenciado pela deficiência de ferro ou regeneração eritrocitária acelerada (THRALL et al., 2015).

Já no leucograma, foi observado que o tratamento com a homeopatia Curso Zero<sup>®</sup> elevou significativamente a contagem de eosinófilos em relação ao controle. Este medicamento tem como um dos objetivos ser imunoestimulador, favorecendo a eficiência do sistema imunológico frente aos desafios que o indivíduo possa ser submetido. A função dessa célula de defesa está relacionada a desafios parasitários, em especial os parasitas gastrointestinais (THRALL et al., 2015). Apesar de não ter sido realizado exames parasitológicos dos animais, podemos sugerir que em relação aos eosinófilos o sistema imunológico dos bezerros CZ estava mais hábil em defender o organismo contra os parasitas gastrointestinais que o dos bezerros CT. Segundo Jones e Alisson (2007), nos ruminantes mais jovens, os neutrófilos são as células de defesa dominantes, ocorrendo uma redução gradativa com o avançar da idade e aumento da contagem de linfócitos, mantendo uma relação neutrófilos/linfócitos de 1:2. Resultados apresentados no presente estudo, foi possível observar a redução gradativa dos neutrófilos e aumento dos linfócitos com o avançar dos dias nos bezerros de ambos os tratamentos, sendo que aos 56 dias de vida os bezerros CZ apresentaram uma relação neutrófilos/linfócitos de 1/2,5 enquanto nos bezerros CT esta relação ainda era de 1/1,8.

Outra medida sanitária avaliada foi a temperatura retal dos bezerros. No presente trabalho observou-se que os bezerros CZ apresentaram a temperatura retal estatisticamente maior que os bezerros CT. Embora tenha sido observada esta diferença, a temperatura dos bezerros de ambos tratamentos estavam dentro dos parâmetros de normalidade para a espécie (FEITOSA, 2014), o mesmo ocorreu nas semanas 6 e 7.

A diarreia está entre uma das enfermidades que mais comprometem o desenvolvimento e a sobrevivência dos bezerros (HORDOFA et al., 2021; MARCÉ et al., 2010). Diversos fatores infecciosos ou não podem ser elencados como causadores da doença podendo agir de forma isolada ou associada (BENESI, 1999; MELO, 2012; MODOLO et al., 1994), além disso as características das fezes auxiliam no direcionamento da identificação do agente causador (BARROW et al., 2010; MARQUES, 2006; QUINN et al., 2005).

O medicamento homeopático utilizado no presente estudo tem como uma das finalidades promover a proteção da mucosa do trato gastrointestinal dos bezerros, afim de minimizar a susceptibilidades desses animais aos agentes etiológicos, entretanto, quando avaliada a ocorrência de diarreia através da classificação do escore de fezes em 0 (zero), 01 (um), 02 (dois) e 03 (três), não foi observada diferença entre os bezerros CZ e CT. Com estes resultados é possível sugerir que não há diferença na utilização do medicamento de forma preventiva contra os agentes causadores da diarreia.

Entretanto, nenhum dos animais CZ apresentaram escore 01 (um) de secreção nasal, que já é considerada uma apresentação levemente anormal de acordo com o guia de escore de saúde da Universidade de Wisconsin (MCGUIRK, 2008), o que nos leva a sugerir também que de certa forma a administração preventiva do homeopático Curso Zero<sup>®</sup> melhora o status sanitário do animal, minimizando a possibilidade de desenvolvimento de uma enfermidade respiratória, já que esta também é considerada uma das principais complicações neonatais (HORDOFA et al., 2021; MARCÉ et al., 2010).

O NEFA é utilizado como marcador de mobilização energética, onde fatores estressantes, como os desafios sanitários, favorecem a mobilização da gordura corporal elevando as concentrações desses componentes (MARCATO et al., 2018; MELENDEZ et al., 2020). No presente estudo os bezerros de ambos os tratamentos apresentaram as concentrações de NEFA similares aos apresentados por Marcato et al. (2018) quando avaliou potenciais biomarcadores da saúde e do desenvolvimento de bezerros. No entanto, quando comparado o perfil apresentado pelo bezerros CZ nos dias 28 e 56 de vida, em relação aos bezerros CT, é possível observar que os bezerros CZ apresentam uma redução significativa nas concentrações de NEFA aos 56 dias em comparação aos 28 dias, enquanto, os bezerros CT mantem a concentração desse componente em ambos os dias, sendo possível sugerir que de certa forma o homeopático utilizado pode influenciar na redução da mobilização de gordura por ter ação desestressora.



Já em relação ao BHB, o mesmo perfil de aumento das concentrações do dia 28 para o dia 56 foi observado nos bezerros de ambos os tratamentos. O BHB também é utilizado como biomarcador do metabolismo energético (MARCATO et al., 2018). O rúmen é considerado o principal órgão envolvido na síntese do BHB, que por sua vez, através do ácido butírico, precursor do BHB, favorece o desenvolvimento das papilas do epitélio ruminal tornando o órgão fisiologicamente funcional (BIONAZ et al., 2020). O desenvolvimento ruminal ocorre nos primeiros estágios da vida do animal e é influenciado pela alimentação, composição da microbiota ruminal e produção dos ácidos graxos voláteis, sendo que estes fatores são interdependentes (RINCKER et al., 2011). No presente estudo, os bezerros foram estimulados a ingerir o alimento sólido desde os primeiros dias de vida, o que favoreceu o desenvolvimento ruminal e consequentemente a aumento da produção de BHB ao longo dos dias.

O consumo de MS foi similar e progressivo em ambos os tratamentos, havendo um aumento do consumo pelos bezerros CZ apenas no dia 46, que pode ter sido influenciado pelas condições climáticas e coleta das amostras. Por ter sido um aumento pontual, não é possível afirmar que essa diferença foi ocasionada pelo uso do homeopático. Por outro lado, o tratamento pode ter influenciado no desenvolvimento dos bezerros CZ, pois os mesmos eram significativamente mais altos e com uma tendência a serem mais pesados do que os bezerros CT, que, em contrapartida, apresentaram melhor eficiência alimentar. Essas variações entre os dados do consumo e desenvolvimento dos bezerros aumentam os questionamentos quanto a ação do homeopático sobre estas variáveis, sendo necessário mais estudos com este propósito.

As bactérias são os mais predominantes e diversificados grupos dentro do TGI desempenhando vários papéis importantes, incluindo a modulação do sistema imunológico (BAUER et al., 2006) e o metabolismo de nutrientes (HUNGATE, 1966). Além das bactérias, as archaeas metanogênicas também podem colonizar o TGI logo após o nascimento (GAGEN et al., 2012; GUZMAN et al., 2015).

A predominância dos filos de *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Actinobacteriota* já foi observada em diversos estudos com recém-nascidos incluindo crianças, potros, suínos e bezerros (COSTA et al., 2016; MACKENZIE et al., 2015; MALMUTHUGE et al., 2013; OIKONOMOU et al., 2013)

Bactérias dos filos *Fusobacteriota* e *Proteobacteria* presentes durante o período de aleitamento sugere um aumento da capacidade de utilização de carboidratos que atingem o

intestino grosso, incluindo celulose, hemicelulose, e amido, provavelmente oriundos do concentrado fornecido na dieta (DIAS et al., 2017; GUPTA et al., 2017; ZHANG et al., 2017)

O filo *Proteobacteria* é um dos primeiros microorganismos a colonizar o trato gastrointestinal dos mamíferos, e desempenham um papel fundamental na preparação deste ambiente para subsequente colonização pelos microorganismos anaeróbios estritos, necessários para um trato gastrointestinal saudável (SHIN et al., 2015).

O filo *archaea Euryarchaeota* desempenha uma importante função no rúmen maduro pela remoção contínua de gases e restringindo o crescimento microbiano e a degradação de carboidratos em níveis elevados (WOLIN et al., 1997).

O filo *Desulfobacterota* é composto de vários gêneros capazes de reduzir compostos de enxofre, e da degradação de butirato por meio da via de beta-oxidação de butirato (HAO et al., 2020). Especificamente, os filos Bacteroidetes e Desulfobacterota participam do equilíbrio da reação catabólica de lesões inflamatórias (GEERLINGS et al., 2018).

O filo *Verrucomicrobia* é representado pelo gênero *Akkermansia*.

Em relação ao gênero das bactérias, foram identificados 130 gêneros bacterianos, sendo os gêneros *Escherichia/Shigella*, *Lactobacillus*, *Butyricoccus* e *Clostridium* entre os mais prevalentes. O mesmo foi achado em trabalhos realizados por Alipour (2018) onde um único genótipo do gênero *Escherichia/Shigella* gerou 68% de todos os reads nas amostras de 24 horas e de 7 dias em fezes de bezerros. Este gênero de bactéria anaeróbica facultativa, torna o ambiente intestinal adequado para a colonização de micróbios intestinais anaeróbios, sendo um dos principais motivos para diminuição da diversidade microbiana (NAKAMURA et al., 2017; OIKONOMOU et al., 2013), e podendo explicar a suscetibilidade dos bezerros à diarreia causada por *E. coli* (COELHO et al., 2020; IZZO et al., 2011).

O gênero *Lachnospirillum* é conhecido por constituir uma parte significativa da microflora intestinal humana (LOPETUSO et al., 2013) podendo exercer efeitos anti-inflamatórios e desempenhar um papel na homeostase por meio de seus componentes e metabólitos, principalmente o butirato, mantendo a saúde intestinal (DANDACHI et al., 2021). Os gêneros de *Lactobacillus* e *Lachnospirillum* presentes nestes períodos, ajudam a minimizar e controlar os efeitos de patógeno oportunistas. Apesar de observarmos que ocorre a diminuição do gênero *Lactobacillus*, o gênero *Lachnospirillum* aumenta conforme a idade dos animais avança, ajudando na diminuição do pH intestinal e inibindo o

crescimento de organismos como *E. coli* que não se desenvolve bem em ambientes ácidos (CASTRO et al., 2016)

O gênero *Clostridium* presente em baixa abundância, exerce funções importantes no ambiente intestinal desses animais (JAMI e MIZRAHI, 2012). Este gênero está associado a enterotoxemia dos ruminantes sendo uma infecção intestinal aguda, geralmente fatal, que culmina com toxemia sistêmica (LOBATO et al., 2006).

Tomassini (2015) em seu estudo, descreve que o gênero *Butyricoccus* foi mais abundante nas fezes de bezerros saudáveis. Uma característica deste gênero é a capacidade de produzir butirato, fonte de nutrientes para os colonócitos intestinais, além de ser considerado benéfico para a maturação imunológica da mucosa intestinal (FURUSAWA et al., 2013).

O gênero *Klebsiella*, que pertence à mesma família, Enterobacteriaceae, e como a *Escherichia / Shigella*, são patogênicos oportunistas em humanos e estão associadas com aumento da taxa de mortalidade por infecção, no entanto, infecções em bezerros causadas por *Klebsiella* não têm sido relatadas com frequência, podendo ocorrer naturalmente em bezerros e podem ser responsáveis por alguma mortalidade (GLANTZ et al., 1969; KOMATSU et al., 2021). No presente estudo, observamos mudanças na abundância relativa de *Klebsiella*, aumentando de 2,25% no d 5, para 4,69% no d 30, podendo estar associada ao aumento de *Escherichia/Shigella* e assim explicando alguns quadros de suscetibilidade dos bezerros à diarreia.

O aumento de bactérias do gênero *Bacterioides* e *Fusobacterium*, sugere um aumento da capacidade de utilização de carboidratos oriundos do concentrado fornecido, já que são considerados microorganismos fermentadores de carboidratos. (DIAS et al., 2017)

O aumento de *Lactobacillus* foi associado ao aumento de resistência à infecções e a doenças diarreicas, pois estimulam o sistema imunológico da mucosa (ABE et al., 1995; MACFARLANE et al., 2008).

O gênero *Olsenella* são encontrados em ambientes saudáveis do rúmen bovino (TAJIMA et al., 2000). Além desses gêneros, outros também são considerados como essenciais para a homeostase do ambiente intestinal, tais como bactérias dos gêneros *Akkermansia*, associado ao aumento da barreira da mucosa e utilizado como biomarcador de saúde intestinal, *Blautia* como produtoras de butirato com propriedades anti-inflamatórias e servindo de biomarcadores e o gênero *Parabacterioides*, microorganismo relacionado a

digestão de fibras e outros carboidratos, produção de butirato e diminuição da expressão gênica de fatores relacionados a processos inflamatórios (DERRIEN et al., 2017; SAKAMOTO et al., 2018; TAYLOR et al., 2020; VALLES-COLOMER et al., 2019; VIRGÍNIO JÚNIOR, 2020).

A diversidade bacteriana está associada a um intestino saudável (YOUMANS et al., 2015). Oikonomou et al. (2013) compararam em seu trabalho o microbioma fecal em bezerros com e sem diarreia, apresentando a menor diversidade bacteriana intestinal os animais que apresentaram diarreia, correlacionando também com a diversidade bacteriana intestinal e o ganho de peso desses animais.

O diferente comportamento da diversidade  $\beta$  entre os tratamentos controle e Curso Zero no 5º e 30º dias pode ter ocorrido pela maior riqueza de grupos microbianos, pois este tipo de diversidade compreende como uma medida de semelhança entre as amostras na composição microbiana onde a tendência com o avanço na idade dos animais é de que a diversidade alfa da microbiota intestinal aumente e a diversidade beta diminua com o tempo.

O homeopático Curso Zero<sup>®</sup> foi fornecido como forma preventiva e não de curativa, esse fator pode ter influenciado na diminuição das diferenças entre os tratamentos.

Outro ponto a ser considerado é o momento da administração no modo preventivo que torna pouco eficiente se a propriedade não tem um manejo reprodutivo, visto que a primeira dose deve ser realizada antes da primeira mamada do colostro.

## **7 CONCLUSÃO**

O homeopático Curso Zero<sup>®</sup> apresentou-se de forma eficiente em causar modificações nos microbiomas fecais durante o período de aleitamento. O produto resulta em maior diversidade e uniformidade da microbiota intestinal de bezerros, quando comparado ao grupo controle. Assim, existem diferenças na colonização inicial do TGI dos animais, sugerindo que poderia auxiliar na eficiência alimentar, mas não se diferenciando em relação a incidência de diarreia em bezerros.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, F.; N. ISHIBASHI; S. SHIMAMURA. Effect of Administration of Bifidobacteria and Lactic Acid Bacteria to Newborn Calves and Piglets. **Journal. Dairy Science**, v. 78, p. 2838–2846, 1995.
- ABRAHÃO, J. A.; NATEL, A. S. Indicadores de sustentabilidade ambientais na pecuária leiteira: revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e6211527883-e6211527883, 2022.
- ADAMS, H. R. Farmacologia e Terapêutica em Veterinária. 8ed., Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 834-836, 1991.
- ARGENZIO, R. A. Pathophysiology of Neonatal Calf Diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.1, n.3, p. 461-469, 1985.
- ASSIS-BRASIL N. D. *et al.* Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 423-430, 2013.
- BARROW, P. A. *et al.* Salmonella. In: GYLES, C. L. *et al.* **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. cap. 14, p. 231-267.
- BARTIER, A. L.; WINDEYER, M. C.; DOEPEL, L. Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 1878-1884, 2015.
- BENESI, F. J. Síndrome diarreica dos bezerros. **Revista CRMV-ES**, v. 2, n. 3, p. 10-13, 1999.
- BENESI, F. *et al.* Eritrograma de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 357-360, 2012.
- BENEZ, S.M. *et al.* Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas: teoria e prática. 2ª edição. Ribeirão Preto: TECMEDA, 2004.
- BERGE, A. C. B. *et al.* Targeting therapy to minimize antimicrobial use in preweaned calves: Effects on health growth, and treatment cost. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4707-4714, 2009.
- BIELMANN, V. *et al.* Colostragem: você já readequou seu manejo? **Milkpoint**. 2010. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/carla-bittar/voceja-adequou-seu-manejo-para-as-novas-recomendacoes-de-colostragem-220297/>> Acesso em: 20 abr. 2022.
- BIONAZ, M. *et al.* Advances in fatty acids nutrition in dairy cows: from gut to cells and effects on performance. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 11, p. 110, 2020.

BIRGEL JUNIOR, E.H. et al. Valores de referência de eritrograma de bovinos da raça Jersey criados no estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n. 2, p. 1-9, 2001a.

BIRGEL JUNIOR, E.H. et al. Valores de referência de 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, 2001b.

BOTTEON, R. C. C. M. *et al.* Enfermidades por Coronavírus. *In*: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. cap. 56, p. 613-616.

BRASIL, **Farmacopéia Homeopática Brasileira**. 3ª edição. 2021, p 1-364.

BRASIL. **Normativa no 77, de 26 de novembro de 2018**. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2018/12/INSTRU%C3%87%C3%83O-NORMATIVA-N%C2%BA-77.2018.pdf>. Acesso em: 20 out. 2022.

CALLAHAN, B. J. *et al.* Bioconductor Workflow for Microbiome Data Analysis: from raw reads to community analyses. **F1000Research**, v. 5, p. 1492, 2016.

CALLOWAY, C. D. *et al.* Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 11, p. 1605-8, 2002.

CAMPOS, O. F. de; LIZIERE, R. S. Alimentação e manejo de bezerras de reposição em rebanhos leiteiros. Coronel Pacheco: EMBRAPA/CNPGL, 1995.

CANAL RURAL Destaque na produção mundial de leite, Brasil ainda tem dificuldade para exportar. **Mercado & Economia**. 2021. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/noticias/leite-brasil-maiores-produtoresdificuldade-exportar/>. Acesso em: 18 out. 2022.

CATOIA, J. *et al.* Imunofenotipagem dos linfócitos positivos para indoleamina 2,3 dioxigenase (IDO) em cultura de células de placenta bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 345-350, 2016.

CERBU, C. *et al.* The use of activated micronized zeolite clinoptilolite as a possible alternative to antibiotics and chestnut extract for the control of undifferentiated calf diarrhea: an in vitro and in vivo study. **Animais**, v. 10, p. 12. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/12/2284>. Acesso em: 20 abr. 2022.

CHABEL, J. C. *et al.* Efeito de um complexo homeopático" Homeobase Convert H<sup>®</sup>" em ovinos sob condições de restrição alimentar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 5, p. 412-423, 2009.

CHIGERWE, M. *et al.* Effect of colostrum administration by use of oroesophageal intubation on serum IgG concentrations in Holstein bull calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 9, p. 1158-1163, 2008.

CONSTABLE, P.D. Treatment of Calf Diarrhea: Antimicrobial and Ancillary Treatments. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, p. 101–120, 2009.

CORTESE, V. S. Neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, n. 1, p. 221-227, 2009.

COSTA, J. F. R. **Influência dos leucócitos do colostro no desenvolvimento microbiota intestinal, resposta imune inata e incidência de diarreias em bezerros recém-nascidos**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

COURA, F. M.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B. Patotipos de Escherichia coli causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 811-818, 2014.

COX JR, L. A.; POPKEN, D. A. Quantificando os potenciais impactos na saúde humana do uso de antibióticos em animais: enrofloxacina e macrolídeos em galinhas. **Análise de Risco: An International Journal**, v. 26, p. 135-146, 2006.

DAVIS, C. L.; DRACKLEY, J. K. The development, nutrition, and management of the young calf. Ames: IOWA STATE UNIVERSITY PRESS, 1998.

DE SOUZA, L. A. **Transferência de Imunidade Passiva, Desenvolvimento e Resposta Clínica ao Tratamento da Diarreia com Solução Eletrolítica Oral e Parenteral em Bezerros Mestiços, do Nascimento aos 25 dias de Idade**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/229743/1/Dissertacao-Luciana-coorientadora-Mariana-Magalhaes-Campos.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2022.

EC, C. Commission regulation (EC) no 889/2008 of 5 September laying down detailed rules for the implementation of council regulation (EC) n° 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and co. **Official Journal Of the European Union**, v. L250, p.1-84, 2008.

ECCH. **The homeopathic treatment of animals in Europe**. 2ª edição. Nortfolk, 2003.

EGISTO, E. G. J. **Medicamentos Homeopáticos de A a Z**. 3ª edição. São Paulo, 2016.

EIBL, C. *et. al.* The Antibiotic Treatment of Calf Diarrhea in Four European Countries: A Survey. **Antibiotics**, v. 10, p. 910, 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA [EMBRAPA]. Embrapa Pecuária Sudeste usa homeopatia para a redução de medicamentos no rebanho leiteiro. **EMBRAPA**, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/51146079/embrapa-pecuariasudeste-usa-homeopatia-para-reducao-demedicamentos-no-rebanho-leiteiro>>. Acesso em: 19 dez. 2021.

FABER, S.N. *et al.* Effects of colostrum ingest on lactational performance. **Professional Animal Scientist**, v. 21, p. 420- 425, 2005. Disponível em: [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31240-7](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31240-7). Acesso em: 20 abr. 2022.

FEITOSA F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 3ª. ed. - São Paulo: Roca, 2014.

FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G. & JAIN, N. C. . **Schalm's veterinary hematology** (5a.ed). Lippincott Williams and Wilkins. 2000

FOLEY, J.A.; OTTERBY, D.E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 61, p. 1033–1060, 1978.

FOSTER, D. M.; SMITH, G. W. Pathophysiology of diarrhea in calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, p. 13-36, 2009.

FRUSCALSO, V. **Caracterização socioambiental dos sistemas de criação de bezerras leiteiras no Rio Grande do Sul**. 2018. Tese (Doutorado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

GLOMBOWSKY, P. **Homeopatia veterinária: princípios e vantagens**. 2020. Disponível em: <https://www.organicahomeopatia.com.br/blog/homeopatia-veterinaria-principiose-vantagens>. Acesso em: 22 de abril de 2022.

GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 24, p. 19-38, 2008.

GODDEN, S. M., J. E. LOMBARD; A. R. WOOLUMS. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 35, p. 535-556, 2019.

HEINRICHS A.J. Raising dairy replacements to meet the needs of the 21st century. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3179-87, 1993.

HEINRICHS, A.; C. Jones. Effects of increasing dietary protein on nutrient utilization in heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2170–2177, 2003.

HOFFMAN P.C., FUNK D.A. Applied dynamics of dairy replacement growth and management. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2504-16, 1992.

HOGAN, I. *et al.* Comparasion of rapid laboratory tests for failure of passiva transfer in the bovine. **Irish Veterinary Journal**, v. 3, p. 1-10, 2015.

HORDOFA, D. *et al.* Incidence of morbidity and mortality in calves from birth to six months of age and associated risk factors on dairy farms in Hawassa city, southern Ethiopia. **Heliyon**, v. 7, p. 1-10, 2021.



Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE]. Censo agropecuário 2006. **IBGE**, Rio de Janeiro. 2006. Disponível em:  
<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/>>.  
Acesso em: 01 jan. 2022.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE]. Estatística da Produção Pecuária 2020. **IBGE**, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em:  
[https://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/abate-leite-couro-ovos\\_202004caderno.pdf](https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_202004caderno.pdf). Acesso em: 01 jan. 2022.

IVES, S.E.; RICHESON, J.T. Use of antimicrobial metaphylaxis for control of bovine respiratory disease in high-risk cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 31, n.3, p. 341-35, 2015.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221 p.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 23, p. 377-402, 2007.

KANEKO, J. J., HARVEY, J. W. & BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. (6a.ed., 932p.) 2008. Academic Press.

LARSON, L. L., OWEN, R. D., ALBRIGHT, R. D., APPLEMAN, R. C., LAMB, AND L. D. MULLER. 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**. 60:989-991.

LOMBARD, J. *et al.* Consensus recommendations on calf- and herd-level passive immunity in dairy calves in the United States. **Journal of Laticínios**, v. 103, p. 7611-7624, 2020.

SCHUCH, L. F. D. Diarreia dos Bezerros: Etiologia, Patogenia E Epidemiologia. *In*: Riet-Correa, F.; Schild, A.L.; Méndez, M.C.; Lemos, R.A.A. *et al.* Doenças de ruminantes e equinos. São Paulo: Livraria Varela, 2001. Vol. I. p.408 – 421.

MARCATO, F. *et al.* Evaluating potential biomarkers of health and performance in veal calves. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 2018, p. 1-18, 2018.

MARCÉ, C. *et al.* Dairy calf housing systems across Europe and risk for calf infectious diseases. **Animal**, v. 4, 9. 1588-1596, 2010.

MARQUES, D. **Criação de Bovinos**. Belo Horizonte: CONSULTORIA VETERINÁRIA E PUBLICAÇÕES, 2006, p. 417-430.

MARTIN, C. C. *et al.* Effect of prophylactic use of tulathromycin on gut bacterial populations, inflammatory profile and diarrhea in newborn Holstein calves. **Research in Veterinary Science**, v. 136, p.268-276, 2021.

MCGUIRK, S.M.; COLLINS M. Managing the production, storage and delivery of colostrum. **Veterinarian Clinical North American Food Animal Practice**, Maryland Heights, v. 20, p. 593–603, 2004.

MCGUIRK S.M. Disease management of dairy calves and heifers. **The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 24, p. 139–53, 2008.

MCMURDIE, P.J.; HOLMES S; PHYLOSEQ, A. N. R. Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **PLoS One**, v. 8, p. e61217, 2013.

MENEZES, M. J. R. de. **A homeopatia na promoção do bem-estar animal**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Instituto Hahnemanniano do Brasil, Rio de Janeiro, 2011.

MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhoea. **Revue de Medicine Veterinaire**. v. 160, p. 404-409, 2009.

MOHRI, M. et al. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. **Research in Veterinary Science**, v. 83, p. 30-39, 2007.

MORIN, D. *et al.* Effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostrum, IgG concentration in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 237, p. 420-428, 2010.

NAYLOR, J.M.; KRONFELD, D.S. Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: Comparison with the zinc turbidity test and single radial immunodiffusion. **American Journal of Veterinary Research**, v. 38, p. 1331-1334, 1977.

National Research Council [NRC]. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. **National Academy Science**, Washington: DC, 2001.

OLIVEIRA S.M. **Triagem de Medicamentos Homeopáticos que ativam Macrófagos com Detecção e Quantificação de Ifn- $\gamma$ , Il-4 e NO**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Paraná, para obtenção do grau de Mestre). Curitiba, 2005.

OLIVEIRA, M. C. de S. Cuidados com bezerros recém-nascidos em rebanhos leiteiros. **Circular Técnica 68**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2012.

PAIXÃO, T. A.; PINTO, J. P. A. N.; SANTOS, R. L. Enfermidades pelo gênero *Salmonella*. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 2016. cap. 45, p. 478-493.

PARKS, D.H. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, v. 30, p. 3123–3124, 2017.

- PIRES, M. de F. A. A homeopatia para animais. **Comunicado técnico 46**. Embrapa: Juiz de Fora, 2005.
- PRITCHETT, L.C. *et al.* Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G1 concentrations in Holstein Colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1761-1767, 1994.
- PUHL, V. J. *et al.* Uso da homeopatia na produção de leite orgânico. **Anais**. 13° ENCITEC, CRIAR INOVAR EMPREENDER, 2017.
- QUIGLEY, III, J. D.; J. J. Drewry. Nutrient and immunity transfer from cow to calf preand postcalving. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.2779–2790, 1998.
- QUIGLEY, J. D. *et al.* Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2059-2065, 2013.
- QUINN, P. J. *et al.* **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: ARTMED, 2005. p. 122-127.
- RADOSTITS O. M. *et al.* **Clínica Veterinária - Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos e Caprinos**. ROCA, 2020.
- RADOSTITS, O. M.; BLOOD D. C. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 1991. p.521-541.
- RAYA, L. M.; VON ANCKEN, A. C.B.; DE PAULA COELHO, C. The history of homeopathic science and research in the world and in Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, p. 14101-14122, 2021.
- RIBEIRO, M. G.; LEITE, D. S.; SIQUEIRA, A. K. Enfermidades por *Escherichia coli*. In: MEGID, J; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. cap. 25, p. 243-273.
- SALLES, M.S.V. *et al.* Mapping the body surface temperature of cattle by infrared thermography. **Journal of Thermal Biology**, v. 62, p. 63–69, 2016.
- SANTOS, G.; BITTAR, C. M. M. Um levantamento das práticas de manejo de bezerras leiteiras em algumas regiões produtoras do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, p. 361-370, 2015.
- SANTOS, G.; LOPES, M. A. Custos de produção de fêmeas bovinas leiteiras do nascimento ao primeiro parto. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, p. 11-19, 2014.
- SCHUCH, L. F. D. Diarreia dos Bezerros. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de Ruminantes e Equinos**. São Paulo: VARELA, 2001, vol. 1, p.408.
- Serviço Nacional de Aprendizagem Rural [SENAR]. Bovinocultura: cria e recria de bezerras leiteiras. Brasília: Senar, 2020.

SILPER, B. F. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 281-285, 2012.

SILVA, A. P. **Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros colostrados com colostro materno ou com diferentes doses de substituto de colostro e seus efeitos na saúde e desempenho**. Tese (Mestrado em Ciências). Piracicaba-Universidade de São Paulo. São Paulo, 2019.

SINGH, A.K. *et al.* Bovine colostrum and neonate immunity: a review. **Agricultural Reviews**, v. 32, p. 70-90, 2011.

SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Mosby, 1996.

SMITH, G.W.; BERCHTOLD, J. Fluid therapy in calves fluid therapy calves diarrhea strong ion acidosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 30, p. 409-427, 2014.

SMITH, G. Antimicrobial decision making for enteric diseases of cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, 2015.

SOUZA, L. A. **Transferência de imunidade passiva, desenvolvimento e resposta clínica ao tratamento da diarreia com solução eletrolítica oral e parenteral em bezerros mestiços, do nascimento aos 25 dias de idade**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

SPINOSA, H. S; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 2011. p. 552-554.

STEFFENS, J. Y. L. **A Bovinocultura Leiteira no Município de Salvador das Missões - RS**. 2018. Trabalho de Graduação de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2018.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 1993.

TIZARD, I. **Imunologia veterinária**. 10ª edição. Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2019. 552p

TOLEDO, J. A. **Estudiate a ti mismo**. Buenos Aires: CASA JACOBO PEUSER, 1910.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

TSUKANO, K. *et al.* Advantage of parenteral nutrition for diarrheic calves. **The Journal of Veterinary Medical science**, v. 80, p.1808–1812, 2018.

United States Department of Agriculture [USDA]. Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States, 2007. Fort Collins: USDA, 2009.

VIEIRA, F.S.; GOMES, R.S. Diarreia em bezerros: etiologia, tratamento e fatores imunológicos. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**. v.4, p. 5061-5102, 2021.

VILELA, D.; DE RESENDE, J. C. Cenário para a produção de leite no Brasil na próxima década. *In*: Simpósio sobre sustentabilidade da pecuária leiteira na região sul do Brasil, 2014, Maringá. **Anais**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2014.

WALKER, W L. *et al.* Characteristics of dairy calf ranches: morbidity, mortality, antibiotic use practices, and biosecurity and biocontainment practices. **Journal of Dairy Science**, n. 95, p. 2204-2214, 2012.

WANG, Q. *et al.* Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. **Applied and Environmental Microbiology Journal**, n. 73, p. 5261–5267, 2007.

WEAVER, D.M. *et al.* Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, p. 569-577, 2000.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J.. Schalm's veterinary hematology. 6.ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010, 1206p.

WITTUM, T. E.; PERINO, L. J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, p. 1149-1154, 1995.

WOLF, R. **Destaque na produção mundial de leite, Brasil ainda tem dificuldade para exportar**, 2021. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/noticias/leite-brasil-maiores-produtoresdificuldade-exportar/>. Acesso em: jul. 2022.





ZARZOSO, R. J.; MARGUERITTE, J.A. Avaliação de uma estratégia vacinal para prevenir a diarreia em bezerros recém-nascidos. **A Hora Veterinária**, n.120, p.25-27, 2001.

ZOCCAL, R. **Conjuntura do Mercado Lácteo**. Centro de Inteligência do Leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2013. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/content/conjuntura-do-mercado-1%C3%A1lcteo>. Acesso em: 18 ago. 2022.









ZWICK, R. A. **Aspectos ambientais da produção leiteira em propriedades rurais familiares do noroeste do Rio Grande do Sul**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2014.

## ANEXOS

## ANEXO A - Guia de escore de saúde (Universidade de Wisconsin)

Guia de escore de saúde (Universidade de Wisconsin)				
ESCORE	0 NORMAL	1 LEVEMENTE ANORMAL	2 ANORMAL	3 SEVERAMENTE ANORMAL
<b>TEMPERATURA RETAL</b>	37,7 °C - 38,2 °C	38,3 °C - 38,8 °C	38,9 °C - 39,3 °C	≥ 39,4°C
<b>TOSSE</b>	Ausente	Presente e única quando estimuladas	Presente e repetidas, quando estimuladas ou, ocasionais quando espontâneas	Presente, repetidas e espontâneas
<b>SECREÇÃO NASAL</b>	Serosa (aspectos de soro ou lagrima) 	Pouca quantidade, unilateral 	Excessiva, mucosa (aspecto de clara de ovo) e bilateral 	Abundante, mucopurulenta (catarro), bilateral 


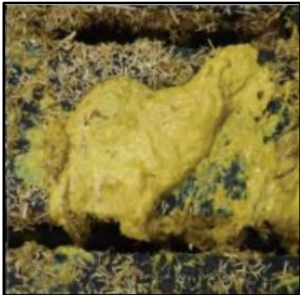
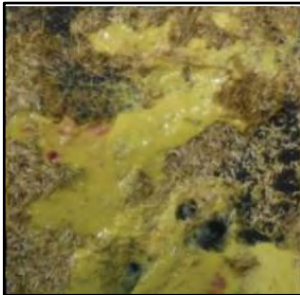
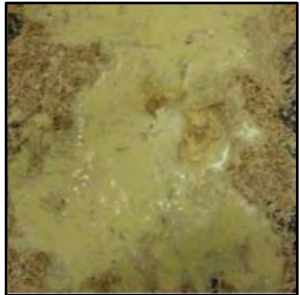
Continua

Continuação	0		1		2		3	
ESCORE	NORMAL		LEVEMENTE ANORMAL		ANORMAL		SEVERAMENTE ANORMAL	
SECREÇÃO OCULAR	Serosa		Pouca quantidade		Moderada quantidade, bilateral		Intensa quantidade, bilateral	
								
POSICIONAMENTO DAS ORELHAS	Normal		Balançar das orelhas ou da cabeça		Ligeiramente pendente, unilateral		Pendentes intensivamente, bilateral ou torção de cabeça	
								

Fonte: adaptado de McGuirk (2008)

## ANEXO B - Escores de pontuação da consistência Fecal

---

<b>Escores de pontuação da consistência Fecal</b>				
	<b>0 - NORMAL</b>	<b>1 - MACIA</b>	<b>2 - LÍQUIDA</b>	<b>3 - AGUADA</b>
	firme, com a forma original ligeiramente distorcida após caírem ao chão	não mantém a forma, pilhas que se espalham ligeiramente	espalha-se prontamente	consistência líquida, respingos
<b>ESCORE FECAL</b>				

---

Fonte: Larson et al. (1977)