



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DIÓGENES ADRIANO DUARTE SANTANA

**Avaliação de um probiótico comercial sobre a saúde gastrintestinal
de cordeiros**

***Evaluation of a commercial probiotic on the gastrintestinal health of
lambs***

CURITIBA

2021

DIÓGENES ADRIANO DUARTE SANTANA

**Avaliação de um probiótico comercial sobre a saúde gastrintestinal
de cordeiros**

***Evaluation of a commercial probiotic on the gastrintestinal health of
lambs***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de Patologia, Clínica e Cirurgia Veterinária, da Escola de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Tecnologia e Produção Animal Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff

Coorientadora: Prof. Dra. Cristina Santos Sotomaio

**CURITIBA
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Edilene de Oliveira dos Santos CRB 9 / 1636

S232a 2021	<p>Santana, Diógenes Adriano Duarte</p> <p>Avaliação de um probiótico comercial sobre a saúde gastrointestinal de cordeiros = Evaluation of a commercial probiotic on the gastrointestinal health of lambs / Diógenes Adriano Duarte Santana; orientador: Rüdiger Daniel Ollhoff; coorientadora: Cristina Santos Sotomaior. -- 2021 42 f. : il. ; 30 cm</p> <p>Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2021. Inclui bibliografias</p> <p>1. Veterinária. 2. Ovinos – Alimentação e rações. 3. Saccharomyces cerevisiae. 4. Saúde animal. 5. Alimentos – Aditivos. 6. Leveduras. I. Ollhoff, Rüdiger Daniel. II. Sotomaior, Cristina Santos. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.: V. Título.</p> <p>CDD 20. ed. – 636.089</p>
---------------	---



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Ciências da Vida
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

**ATA Nº 0156 E PARECER FINAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
CIÊNCIA ANIMAL DO ALUNO DIÓGENES ADRIANO DUARTE SANTANA**

Aos trinta e um dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e um, às 14:00 horas, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de defesa da dissertação do mestrando Diógenes Adriano Duarte Santana, intitulada: “**AVALIAÇÃO DE UM PROBIÓTICO COMERCIAL SOBRE A SAÚDE GASTROINTESTINAL DE CORDEIROS**”. O mestrando concluiu os créditos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração em Saúde, Tecnologia e Produção Animal, segundo os registros constantes na secretaria do Programa. Os trabalhos foram conduzidos pelo Professor orientador e Presidente da banca, Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff (PUCPR), auxiliado pelos Professores Doutores Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho (UNOPAR) e André Ostrensky (PUCPR). Procedeu-se a exposição da Dissertação, seguida de sua arguição pública e defesa. Encerrada a fase, os examinadores expediram o parecer final sobre a Dissertação, que foi considerada aprovada.

Prof. Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff (Presidente)

Assinatura _____

Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho (UNOPAR)

Assinatura _____

Prof. Dr. André Ostrensky (PUCPR)

Assinatura _____

Proclamado o resultado, o Presidente da Banca Examinadora encerrou os trabalhos, e para que tudo conste, eu Caroline Nocera Bertton, confiro e assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora.

Curitiba, 31 de março de 2021.

Caroline Nocera Bertton
Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Profa. Dra. Renata Ernlund Freitas de Macedo
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Escola de Ciências da Vida – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
Rua Imaculada Conceição, 1155 – Bairro Prado Velho – CEP: 80215-901 - Curitiba, PR - Brasil
Tel (41) 3271-2615
Email: ppgca@pucpr.br www.pucpr.br/ppgca

**Dedico este trabalho
a minha mãe Sandra Cândida Duarte
e minha tia Fatima Suely Duarte,
que sempre estiveram ao meu lado,
me apoiando e me incentivando.**

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff, pela confiança e incentivo.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da PUCPR, em especial a minha coorientadora Cristina Sotomaior e Gervasio Bechara, que promovem esforços em prol da pesquisa e do crescimento acadêmico dos alunos e da instituição.

Aos colegas de graduação, mestrado e doutorado por todo o auxílio prestado durante toda a condução do experimento, em especial à Marcella Machado, Bruno Zomkowski, Tharini Kaled, Matheus Borges, Bruno Oliveira, Maria Scheffer, Sthefany Santos, sem estas pessoas maravilhosas não seria possível o término deste estudo.

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná pelo recurso financeiro.

Aos funcionários do laboratório de patologia experimental da PUCPR, Caroline Paula e Seigo Nagashima.

À funcionária do laboratório de histopatologia da Clínica Veterinária Escola da PUCPR, Lucia Renzi.

Ao funcionário do setor da ovinocultura da Fazenda Experimental Gralha Azul - PUCPR, Delson Silva.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse concluir esta etapa.

SUMÁRIO

	Página
Dedicatória	v
Agradecimentos	vi
Sumário	vii
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	xi
Formato da dissertação	xii
Resumo	xiii
Abstract	xiv
Capítulo 1	1
Introdução e contextualização	1
Capítulo 2	4
Avaliação de um probiótico comercial sobre a saúde gastrintestinal de cordeiros.....	4
Resumo	4
1. Introdução.....	5
2. Materiais e método.....	6
2.1. Local.....	6
2.2. Animais.....	6
2.2.1. Critérios de inclusão e tratamento.....	6
2.3. Alimentação e manejo.....	7
2.4. Análises laboratoriais e de desempenho.....	9
2.4.1. Análises histológicas.....	9
2.4.2. Análises parasitológicas.....	9
2.4.3. Análises hematológicas e bioquímicas.....	10
2.4.4. Análises de desempenho dos cordeiros.....	11
2.5. Delineamento.....	12
3. Resultados.....	12
3.1. Análises bioquímicas e hematológicas.....	12
3.2. Análises histológicas.....	15
3.2. Análises parasitológicas.....	15
3.3. Análises de desempenho.....	17

4. Discussão.....	23
5. Conclusão.....	27
6. Referências.....	27
Capítulo 3	35
Conclusão/ Impacto e Perspectivas Futuras	35
Referências bibliográficas	36
Anexos	41

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 Médias e desvios-padrão da albumina de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental..... 13
- Figura 2.2 Médias e desvios-padrão do fibrinogênio de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental..... 13
- Figura 2.3 Médias e desvios-padrão da globulina de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental..... 13
- Figura 2.4 Médias e desvios-padrão da proteína total de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental..... 13
- Figura 2.5 Médias e desvios-padrão da proteína plasmática de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental. Asterisco (*) representa diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos..... 14
- Figura 2.6 Médias gerais e desvios-padrão do hematócrito durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos..... 14
- Figura 2.7 Médias e desvios-padrão do hematócrito de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental..... 14
- Figura 2.8 Corte histológico da túnica mucosa do abomaso de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico 15

(T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Coloração ácido periódico-Schiff (PAS), aumento de 20 vezes. LP: lâmina própria, VS: vesículas secretórias com muco (glicoproteínas).....

- Figura 2.9 Médias e desvios-padrão do OPG de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental..... 16
- Figura 2.10 Médias gerais e desvios-padrão do OPG de cordeiros durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos..... 17
- Figura 2.11 Distribuição porcentual do escore de diarreia (ED) de cordeiros durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos..... 19
- Figura 2.12 Distribuição porcentual do escore de diarreia (ED) de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental. Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos, para cada data avaliada..... 20
- Figura 2.13 Distribuição porcentual dos escores de condição corporal (ECC) de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental. Letras maiúsculas diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos, para cada data avaliada..... 21
- Figura 2.13 Distribuição porcentual comparativa dos escores de condição corporal (ECC) dos grupos controle (C), tratado 1 (T1G) e tratado 2 (T5G) durante os 84 dias do experimento..... 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Exemplos de probióticos bacterianos e com leveduras disponíveis no mercado brasileiro para utilização em ruminantes..	3
Tabela 2.1	Composição bromatológica da dieta basal dos cordeiros.....	8
Tabela 2.2	Composição microbiana do produto DBR Sacch® por quilo de produto.....	8
Tabela 2.3	Médias e desvios-padrão ($\bar{X} \pm S$) da largura em μm , das túnicas do abomaso de cordeiros, comparando os grupos controle (C - n=7), tratado 1 (T1G - n=6) e o tratado 2 (T5G - n=6).....	16
Tabela 2.4	Médias e desvios-padrão ($\bar{X} \pm S$) dos parasitos presentes no abomaso de cordeiros, comparando os grupos controle (C - n=7), tratado 1 (T1G - n=6) e o tratado 2 (T5G - n=7).....	18
Tabela 2.5	Médias e desvios-padrão ($\bar{X} \pm S$) das análises de desempenho de cordeiros, comparando os grupos controle (C - n=14), tratado 1 (T1G - n=14) e o tratado 2 (T5G - n=14) em função do período experimental.....	18

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma introdução geral, a contextualização do tema e os objetivos de estudo. O capítulo 2 é um artigo científico completo formatado nas normas da revista para o qual será submetido e com referências. O capítulo 3 finaliza esta dissertação com conclusões gerais, considerações finais e impacto e perspectivas do trabalho. As referências do capítulo 1 encontram-se ao final da dissertação.

RESUMO GERAL

A resistência aos antimicrobianos e anti-helmínticos representa um grande problema à saúde do ser humano e dos animais. Por isso, estão sendo pesquisadas alternativas para diminuir o uso destes medicamentos e que ao mesmo tempo na medicina veterinária melhorem a saúde e a produtividade animal. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de um probiótico comercial fornecido via oral sobre a saúde gastrointestinal de cordeiros. Durante 84 dias, 42 cordeiros (21 machos e 21 fêmeas) mestiços das raças Texel (n=20) e Ile de France (n=22), desmamados com aproximadamente $60,0 \pm 5,2$ dias de idade e pesos entre $22,8 \pm 3,2$ kg foram randomizados por sexo e peso em três grupos com 14 cordeiros cada, sendo: no grupo controle (C), os animais recebiam dieta basal sem suplementação de probiótico; no grupo tratado 1G (T1G), os cordeiros recebiam a dieta basal mais 1 g por animal por dia do aditivo probiótico misturado na ração; e, no grupo tratado 5G (T5G), os cordeiros recebiam a dieta basal mais 5 g por animal por dia do aditivo probiótico misturado na ração. Em relação ao grau de infecção parasitária, o grupo T1G ($609,2 \pm 118,6$ OPG) finalizou o experimento com menor ($P=0,05$) número de ovos por grama de fezes (OPG) em comparação aos grupos T5G ($813,2 \pm 121,2$ OPG) e controle ($958,2 \pm 118,6$ OPG). Os valores de hematócrito foram maiores ($P=0,058$) para o grupo T1G ($32,4 \pm 3,2\%$) do que para os grupos T5G ($32,1 \pm 4,0\%$) e controle ($31,4 \pm 4,3\%$). No geral, os valores de albumina, proteína total, globulina, proteína plasmática não se alteraram ($P>0,05$) entre os grupos experimentais. A suplementação com probiótico não afetou ($P>0,05$) o ganho médio diário de peso, escore de condição corporal, área de olho de lombo, gordura subcutânea, espessura das túnicas e a produção de muco do abomaso, assim como a quantidade de parasitos recuperados do abomaso entre os tratamentos. Os grupos tratados (T1G e T5G) apresentaram fezes mais consistentes ($P<0,05$) em comparação ao controle. O aditivo probiótico diminuiu a infecção parasitária gastrointestinal e melhorou a consistência fecal, promovendo um efeito benéfico sobre a saúde gastrointestinal de cordeiros.

Palavras-chave: Ovinos, *Saccharomyces cerevisiae*, saúde animal, aditivo alimentar, levedura.

ABSTRACT

Resistance to antimicrobials and anthelmintics represents a major problem for the health of humans and animals. Therefore, alternatives are being studied to reduce the use of these drugs and at the same time in veterinary medicine to improve animal health and productivity. The aim of the present study was to evaluate the effect of a commercial probiotic fed to the lambs upon gastrointestinal health. Over a period of 84 days, 42 lambs (21 males and 21 females) crossbred Texel and Ile de France, weaned at approximately 60.0 ± 5.2 days old and weighing 22.8 ± 3.2 kg were randomly allocated to three groups with 14 lambs each: control group (C), consuming a basal diet without probiotic supplementation; treated group 1G (T1G), with basal diet + 1 g/animal/day of the probiotic additive mixed in the feed; and treated group 5G (T5G), with basal diet + 5 g/animal/day of the probiotic additive mixed in the feed. The T1G group (609.2 ± 118.6 EPG) had a smaller ($P=0.05$) number of eggs per gram of feces (EPG) compared to the T5G (813.2 ± 121.2 EPG) and control (958.2 ± 118.6 EPG). The hematocrit values were higher ($P=0.058$) for the T1G group ($32.4 \pm 3.2\%$) than for the T5G ($32.1 \pm 4.0\%$) and control groups ($31.4 \pm 4, 3\%$). The values of albumin, total protein, globulin, plasma protein did not change ($P>0.05$) between the experimental groups. supplementation did not affect ($P>0.05$) the average daily gain, body condition score, rib eye area, subcutaneous fat, tunic thickness and the production of mucus from the abomasum and the amount of parasites recovered from the abomasum between treatments. The treated groups (T1G and T5G) had more consistent stools ($P<0.05$) compared to the control group. The probiotic additive decreased the gastrointestinal parasitic infection and improved the fecal consistency, promoting a beneficial effect on the gastrointestinal health of lambs.

Keywords: Sheep, *Saccharomyces cerevisiae*, animal health, feed additives, yeast

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO

O aumento da demanda por produtos de origem animal tem sido um grande desafio para a cadeia produtiva devido ao crescimento populacional mundial. Grandes avanços foram alcançados nas últimas décadas para atender essas exigências por recursos nutricionais, para isso houve melhorias na seleção genética, nutrição e na saúde dos animais (Thornton, 2010; Tona, 2018; Rexroad et al., 2019). Um dos principais problemas enfrentados pela ovinocultura que prejudicam o desenvolvimento dos animais é a verminose gastrointestinal (Echevarria et al., 1996; Waller, 2006; Oliveira et al., 2017). O controle das helmintoses com a utilização de produtos anti-helmínticos é o método mais empregado. Entretanto, o uso indiscriminado e repetitivo de tratamento tem como consequência a seleção de populações de helmintos resistentes aos diferentes fármacos disponíveis (Amarante et al., 1992; Torres-Acosta et al., 2012; Rose et al., 2015). Diante desse cenário, estão sendo pesquisados produtos alternativos, a exemplo de probióticos, que podem diminuir o uso destes medicamentos sozinhos ou em associação, para obter um efeito sinérgico e, conseqüentemente, melhorando a saúde e a produtividade animal (Allen et al., 2013; Silva et al., 2018).

O probiótico é um aditivo alimentar, constituído por microrganismos vivos não patogênicos presentes no ambiente e no trato gastrointestinal (GTI), e tem como objetivo melhorar o equilíbrio da flora intestinal do hospedeiro (Fuller, 1989). Em 2001, a *Food and Agriculture Organization* (FAO) e a *World Health Organization* (WHO), definiram que os probióticos são "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro" (FAO e WHO, 2001). De acordo com a regulamentação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil, a instrução normativa nº.13 de 30/11/2004, os simbióticos, prebióticos e probióticos passaram a ser considerados aditivos zootécnicos (Brasil, 2004).

As cepas probióticas não devem competir com os microrganismos da microbiota normal, em vez disso, devem interagir em simbiose (Musa et al., 2009). Os probióticos produzem ácidos lácticos e acéticos que reduzem o pH intestinal, tornando-o menos favorável para o crescimento do patógeno. Além disso, os probióticos impedem o crescimento de patógenos intestinais através da colonização

competitiva de locais de adesão intestinal e nutrientes (Parvez et al., 2006; Boirivant e Strober, 2007). Outras substâncias produzidas como o peróxido de hidrogênio, as bacteriocinas e os biosurfactantes também podem inibir o crescimento de microrganismos patogênicos (Chaucheyras-Durand e Durand, 2010).

A eficácia geral dos probióticos depende de fatores como a seleção ideal de cepas microbianas, a espécie e a idade do hospedeiro e o uso da dose adequada desse aditivo zootécnico (Bomba et al., 2002; Bomba et al., 2006). Os probióticos bacterianos têm sido eficazes em aves (Deng et al., 2012; Prado-Rebolledo et al., 2017; Alaqil et al., 2020), suínos (Modesto et al., 2009; Kritas et al., 2015; Hu et al., 2018) e bezerros pré-ruminantes (Timmerman et al., 2005; Bayatkouhsar et al., 2013; Ülger, 2019), enquanto leveduras probióticas como *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram melhores resultados em ruminantes adultos (Maamouri et al., 2014; Silva et al., 2018; Pinto et al., 2020).

As leveduras possuem um papel importante na diminuição do oxigênio do rúmen, o que aumenta a proliferação e a eficiência das bactérias anaeróbias, ajudando a reduzir a produção de lactato (Chaucheyras et al., 1996). *S. cerevisiae* com concentrações a partir de 10^5 unidades formadoras de colônia (UFC)/mL de líquido ruminal são suficientes para estimular o crescimento de microrganismos ruminais (Nocek et al., 2002). O efeito da suplementação com levedura é maior quando se utiliza uma dieta com maior proporção de concentrado (Desnoyers et al., 2009). Leveduras são capazes também de promover a estabilização do pH ruminal e aumentar a disponibilidade de proteína para a microbiota, o que resulta no aumento da ingestão de ração, levando a um maior ganho de peso corporal (Elghandour et al., 2020). A composição dos probióticos comerciais para ruminantes pode ser variável, mas de maneira geral a maioria contém leveduras em quantidades maiores com relação aos microrganismos bacterianos (Tabela 1).

Ovelhas suplementadas com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* obtiveram um aumento sobre a produção de leite, teor de gordura e de proteínas (Kritas et al., 2006). O mesmo efeito foi visto em cabras suplementadas com *Lactobacillus plantarum* PCA 236 (Maragkoudakis et al., 2010). Cabritos cresceram melhor quando receberam aditivos probióticos com uma mistura de *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus sporogenes* (Singh et al., 2015). Adicionando à dieta de cordeiros uma combinação em pó de inulina de *Agave tequilana* (Agave azul) e *Lactobacillus casei*, Ayala-Monter et al. (2019) aumentaram o ganho de peso e a melhoraram a saúde

intestinal de cordeiros durante o período pré-desmame. Este efeito foi principalmente devido à redução da incidência de coliformes e diarreias durante esta fase da vida dos cordeiros.

Tabela 1. Exemplos de probióticos bacterianos e com leveduras disponíveis no mercado brasileiro para utilização em ruminantes.

Produto	Espécie / cepa quando declarado	Quantidade de microrganismos	Indicação (todos <i>per os</i>)
A	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,3X10 ¹⁰ UFC/g	Ruminantes: 5 g/animal/dia.
B	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> /CNCM I-1077	4X10 ⁹ UFC/g a 10x10 ⁹ UFC/g	Gado de leite: 10 g/animal/dia Gado de corte: 8 g/animal/dia Gado jovem: 4 g/animal/dia Pequenos ruminantes: 4 g/animal/dia
C	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9x10 ⁶ UFC/g	Bovinos e Bubalinos: 5 a 10/animal/dia Pequenos ruminantes: 2,5 a 5 g/animal/dia
D	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8x10 ⁶ UFC/g 6x10 ⁶ UFC/g 6x10 ⁶ UFC/g 6x10 ⁶ UFC/g 5,2x10 ⁶ UFC/g 2,8x10 ⁶ UFC/g 1x10 ⁸ UFC/g	Pequenos ruminantes: 04 a 08 g/animal/dia
E	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Ruminobacter amylophilum</i> <i>Ruminobacter succinogene</i> <i>Succinovibrio dextrinosolve</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Enterococcus faecium</i>	1,5x10 ¹¹ UFC/g 6x10 ⁹ UFC/g 6x10 ⁹ UFC/g 8,8x10 ⁹ UFC/g 7x10 ⁹ UFC/g 7x10 ⁹ UFC/g 7x10 ⁹ UFC/g	Bovinos e Bubalinos: 5 a 10 gramas/animal/dia

UFC: Unidade Formadora de Colônia

Considerando que existem poucas informações na literatura sobre as ações do probiótico sobre a saúde dos pequenos ruminantes, objetivou-se no presente estudo, avaliar as ações do probiótico DBR SACCH® (*Ruminobacter amylophilum*, *Ruminobacter succinogenes*, *Succinovibrio dextrinosolvens*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre) na saúde gastrintestinal de cordeiros. Foram avaliadas possíveis ações sobre o desempenho produtivo e a saúde dos cordeiros, através de análises hematológicas e bioquímicas do sangue, parasitológicas das fezes e do abomaso, histológicas do abomaso, mensurações zootécnicas (peso, escore de condição corporal, área de olho de lombo e espessura subcutânea) e incidência de diarreia.

CAPÍTULO 2

Artigo científico a ser submetido para publicação no periódico *Small Ruminant Research*

Avaliação de um probiótico comercial sobre a saúde gastrointestinal de cordeiros

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de um probiótico comercial fornecido via oral sobre a saúde gastrointestinal de cordeiros. Durante 84 dias, 42 cordeiros (21 machos e 21 fêmeas) filhos de carneiro da raça Texel ou Ile de France, desmamados com aproximadamente $60,0 \pm 5,2$ dias de idade e pesos entre $22,8 \pm 3,2$ kg foram distribuídos de forma homogênea por sexo e peso em três grupos ($n=14$): grupo controle (C), os cordeiros recebiam dieta basal sem suplementação de probiótico; grupo tratado 1G (T1G), os cordeiros recebiam a dieta basal mais 1 g por animal por dia do aditivo probiótico misturado na ração; grupo tratado 5G (T5G), os cordeiros recebiam a dieta basal mais 5 g por animal por dia do aditivo probiótico misturado na ração. O grupo T1G ($609,2 \pm 118,6$ OPG) finalizou o experimento com menor ($P=0,05$) número de ovos por grama de fezes (OPG) em comparação aos grupos T5G ($813,2 \pm 121,2$ OPG) e controle ($958,2 \pm 118,6$ OPG). Os valores de hematócrito foram maiores ($P=0,058$) para o grupo T1G ($32,4 \pm 3,2\%$) do que para os grupos T5G ($32,1 \pm 4,0\%$) e controle ($31,4 \pm 4,3\%$). No geral, os valores de albumina, proteína total, globulina, proteína plasmática não se alteraram ($P>0,05$) entre os grupos experimentais. A suplementação com o probiótico não afetou ($P>0,05$) o ganho médio diário de peso, escore de condição corporal, área de olho de lombo, gordura subcutânea, espessura das túnicas e a produção de muco do abomaso e a quantidade de parasitos recuperados do abomaso entre os tratamentos. Os grupos tratados (T1G e T5G) apresentaram fezes mais consistentes ($P<0,05$) em comparação ao grupo controle. O aditivo probiótico diminuiu a infecção parasitária gastrointestinal e melhorou a consistência fecal, promovendo um efeito benéfico sobre a saúde gastrointestinal de cordeiros.

Palavras-chave: Ovinos, *Saccharomyces cerevisiae*, saúde animal, aditivo alimentar, levedura

1. INTRODUÇÃO

O mercado mundial de fármacos relacionados à saúde animal chegou a US\$ 29 bilhões em 2018 com uma estimativa de crescimento para alcançar mais de US\$ 41 bilhões em 2025 (GMI, 2018). Entretanto, a eficácia de determinados medicamentos está diminuindo, como por exemplo os antiparasitários, que estão sendo amplamente utilizados e muitas vezes mal empregados, causando resistência parasitária (Martínez-Valladares et al., 2015; Glover et al., 2017; Lambertz et al., 2019). Diante desse cenário estão sendo pesquisados produtos alternativos como os probióticos, que podem diminuir o uso destes medicamentos sozinhos ou em associação, para obter um efeito sinérgico e, conseqüentemente, melhorar a saúde e a produtividade de animais produtores de alimentos (Allen et al., 2013; Silva et al., 2018).

Probiótico é um aditivo alimentar, constituído por microrganismos vivos (viáveis) não patogênicos presentes no ambiente e no trato gastrintestinal (GTI) com o intuito de proporcionar benefícios à saúde do hospedeiro (Fuller, 1989; FAO e WHO, 2001). Os probióticos aumentam a capacidade digestiva estimulando a microbiota benéfica (Oyetayo et al., 2005; Uyeno et al., 2015), impedem a colonização pelos patógenos (Casas et al., 2000), restauram a microflora intestinal (Musa et al., 2009), estabilizam o pH, melhoram a imunidade e a absorção de nutrientes pela mucosa GTI (Timmerman et al., 2005; Uyeno et al., 2015; El-Sayed e Mousa, 2020).

As propriedades mais importantes das cepas bacterianas e de leveduras a serem consideradas para uso probiótico incluem: não ser patogênico; apresentar resistência aos processos tecnológicos; ser resistente ao suco gástrico e à bile; ter aderência ao tecido epitelial intestinal; ser capaz de manter-se no trato GTI por um determinado tempo; produzir substâncias antimicrobianas; modular respostas imunológicas e ter a capacidade de influenciar atividades metabólicas (Huis in't Veld e Shortt, 1996; Tannock, 1997; ICMR-DBT, 2011; FAO, 2016).

Estudos feitos em ovinos (Ayala-Monter et al., 2019) e caprinos (Salvedia et al., 2017) demonstraram que as formulações probióticas utilizadas nos respectivos experimentos melhoraram a conversão alimentar e aumentaram o ganho médio diário de peso desses animais. Efeitos benéficos no sistema imunológico foram vistos em cordeiros suplementados com diversas formulações probióticas usando *Saccharomyces cerevisiae* (Milewski et al., 2013) como um aumento no número de

eosinófilos (Pinto et al., 2020). Aumento no número de células do sangue, tanto vermelhas quanto brancas, de cordeiros foi verificado por El-Sayed e Mousa (2020) com uso de *Bacillus subtilis*.

Observou-se que probióticos contendo *Saccharomyces cerevisiae* reduziram significativamente o número de larvas de *Haemonchus contortus* em ovinos e caprinos (Silva et al., 2018; Pinto et al., 2020). Silva et al. (2018) verificaram uma redução do OPG (ovos por grama de fezes) em 60,3% no período D40-D46 e 58,1% no D48-D54, minimizando a possibilidade de espoliação por uma maior infecção e com isto garantindo a saúde e a produtividade das cabras.

Considerando-se que existem poucas informações sobre as ações de probióticos sobre a saúde dos pequenos ruminantes, incluiu-se o aditivo probiótico na alimentação de cordeiros para avaliar as possíveis ações sobre o desempenho produtivo e a saúde dos cordeiros, através de análises hematológicas e bioquímicas do sangue, parasitológicas das fezes e do abomaso, histológicas do abomaso, desempenho zootécnicos (peso, escore de condição corporal, área de olho de lombo e espessura subcutânea) e incidência de diarreia.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. Local

O projeto foi desenvolvido no Setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental Galha Azul (FEGA) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) em Fazenda Rio Grande, PR, no período de 27/07/2020 a 28/10/2020, aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais – PUCPR No. 01883 (anexo 1).

2.2. Animais

Foram utilizados 42 cordeiros mestiços das raças Texel (n=20) e Ile de France (n=22), entre machos (n=21) e fêmeas (n=21), desmamados com aproximadamente 60,0±5,2 dias de idade e peso médio de 22,8±3,2 kg.

2.2.1. Critérios de inclusão e tratamento

Foram incluídos no projeto cordeiros saudáveis, ou seja, que não apresentaram presença de alguma enfermidade aparente ao exame físico de triagem. Durante o transcorrer do experimento, cordeiros que apresentassem perda de peso com alta carga parasitária, i.e. contagem de ovos por grama de fezes (OPG) maior que 10.000 e hematócrito menor que 15%, eram imediatamente tratados com anti-helmíntico (Levamisol (Ripercol L 150 F®) 7.5 mg/kg) de forma convencional.

2.3. Alimentação e manejo

Os cordeiros tinham acesso ao pasto juntamente com as mães desde a primeira semana de vida. Além do pasto, os animais tinham acesso ao “creep feeding” *ad libitum*, com concentrado comercial de 14% de proteína bruta (PB). Os cordeiros foram desmamados com aproximadamente 60 dias e com peso mínimo de 20 kg. Após o desmame, além do pasto durante o dia, a dieta basal dos cordeiros foi constituída por silagem de milho à vontade e concentrado balanceado com base em 1,5% do peso vivo, segundo recomendações do NRC (1985). Os cordeiros tinham acesso a bebedouro e suplemento mineral ovino à vontade.

Antes de iniciar o experimento, os cordeiros foram adaptados à dieta e ao local experimental durante uma semana. Foi realizada avaliação do grau de parasitismo por meio de exames coproparasitológicos e todos os cordeiros foram tratados com anti-helmínticos (Levamisol (Ripercol L 150 F®) 7.5 mg/kg + Monepantel (Zolvix®) 2,5 mg/kg), antes do início do experimento para a padronização dos grupos experimentais.

Os cordeiros foram distribuídos homogeneamente por sexo e peso em três grupos com 14 cordeiros cada, sendo: 1) no grupo controle (C), os cordeiros recebiam dieta basal sem suplementação de probiótico; 2) no primeiro grupo tratado (T1G), os cordeiros receberam a dieta basal mais o aditivo probiótico na dose de 1 g por animal por dia misturado na ração previamente moída e 3) no segundo grupo tratado (T5G), os cordeiros recebiam a dieta basal mais o aditivo probiótico na dose de 5 g por animal por dia misturado na ração previamente moída. A dieta basal (tabela 1) foi fornecida em um trato matutino para os três grupos. O probiótico comercial utilizado neste experimento foi o DBR SACCH® (tabela 2) pertencente a empresa Imeve. As doses dos probióticos descritas acima foram adaptadas por inexistência de uma recomendação para ovinos.

Tabela 1. Composição bromatológica da dieta basal dos cordeiros.

Ingredientes	Quantidade
<i>Silagem de milho</i>	
Matéria Seca (%)	39,00
Proteína bruta (%)	6,20
Fibra detergente neutro (%)	40,40
Amido (%)	38,80
Extrato etéreo (%)	3,20
Matéria mineral (%)	2,80
Carboidrato não fibroso (%)	48,50
Nutrientes digestíveis totais (%)	69,00
Ração para ovinos manutenção / terminação (Coasul®)	
Proteína Bruta (%)	14,0
Extrato Etéreo (%)	2,5
Matéria mineral (%)	10,0
Fibra bruta (%)	14,0
Fibra detergente ácido (%)	14,0

Tabela 2. Composição microbiana do produto DBR Sacch® por quilo de produto.

Microrganismo	Quantidade/kg
<i>Ruminobacter amylophilum</i>	3,0 x 10 ¹² UFC
<i>Ruminobacter succinogenes</i>	3,0 x 10 ¹² UFC
<i>Bacillus cereus</i>	3,5 x 10 ¹² UFC
<i>Enterococcus faecium</i>	3,5 x 10 ¹² UFC
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	3,5 x 10 ¹² UFC
<i>Succinovibrio dextrinosolvens</i>	4,4 x 10 ¹² UFC
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7,5 x 10 ¹³ UFC

UFC – Unidade formadora de colônia

O período experimental abrangeu 84 dias. Durante este período, os cordeiros ficaram por 2 semanas em pastejo sobre azevém e aveia em um piquete coletivo de 0,4 hectares, para se infectarem naturalmente com parasitos GTI, e 2 semanas confinados, onde os cordeiros foram colocados em duplas em cada baia, segundo o tratamento e o peso. O volumoso (silagem de milho) era fornecido à vontade, permitindo-se 15 a 25% de sobras, que eram recolhidas e pesadas para serem ajustadas no dia seguinte. O concentrado foi ajustado semanalmente, conforme os

dados da pesagem dos animais, para ser fornecido na quantidade de 1,5% do peso vivo dos cordeiros. Após o período experimental, 20 cordeiros foram abatidos para a composição das análises histológicas.

2.4. Análises laboratoriais e de desempenho

2.4.1. Análises histológicas

Para a verificação da ação do probiótico sobre a mucosa abomasal, foram colhidos dos cordeiros abatidos (C=7 animais, T1G=6 animais e T5G =7 animais) fragmentos de tecido do fundo abomasal para análise histológica. Os fragmentos foram imediatamente colhidos após o abate e, em seguida, as amostras foram armazenadas em recipientes contendo formol a 10% para sua fixação durante 24 a 48 horas. Posteriormente, as peças com espessura de 2 cm de largura x 2 cm comprimento x 0,5 cm de espessura foram processadas no laboratório de patologia da Clínica Veterinária Escola (CVE) da PUCPR. Os fragmentos de tecidos foram desidratados em concentrações crescentes de álcool (70-100%), diafanizados em xilol e incluídos em parafina a 58-60°C. Os blocos de parafina foram levados ao micrótomo rotativo para a obtenção de cortes histológicos com 5 µm de espessura (Bancroft e Stevens, 1996; Tehrani et al., 2012; Nobrega et al., 2014). Em seguida, todos os fragmentos foram corados de acordo com a técnica de hematoxilina-eosina (HE) e com ácido periódico-Schiff (PAS). Os fragmentos de abomaso foram avaliados em triplicata para observar possíveis alterações na produção de muco e verificar os aspectos morfométricos das células do tecido. As variáveis estudadas foram: altura dos estratos do tecido (lâmina própria, submucosa, túnica muscular e serosa) e a espessura total da parede. As mensurações foram feitas com dez repetições para cada camada de tecido e por fragmento dos indivíduos de cada grupo experimental (Franco et al., 2017). As lâminas histológicas foram escaneadas utilizando o microscópio automatizado Axio Scan.Z1© na objetiva de 20x disponível no Laboratório de Patologia Experimental da PUCPR. As mensurações dos tecidos foram feitas pelo software computacional Zen 2.6 blue edition® e o muco gástrico foi avaliado e quantificado pelo software Image-Pro Plus versão 4.5® (Motta Junior et al., 2020).

2.4.2. Análises parasitológicas

Os exames coproparasitológicos foram realizados no dia 0 (D₀), dia 14 (D₁₄), dia 28 (D₂₈), dia 42 (D₄₂), dia 56 (D₅₆), dia 70 (D₇₀) e dia 84 (D₈₄) em todos os cordeiros. As colheitas de fezes foram feitas individualmente, direto da ampola retal dos animais e, em seguida, armazenadas em sacos plásticos identificados para cada animal. As amostras foram armazenadas em uma geladeira a 8 °C por 24 horas e após foi realizado a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), sensível para 50 OPG (Gordon e Whitlock, 1939). Para a composição dos valores de OPG, foram contabilizados somente os ovos de *Strongylidae*. As coproculturas com identificação de larvas foram realizadas no início do experimento a partir de um pool de amostras de fezes (Roberts e O'Sullivan, 1950). Os animais também foram avaliados semanalmente pelo método Famacha[®], que consiste em identificar o grau de anemia pela cor da mucosa ocular, sendo considerado Famacha[®] 1 (F1) e 2 (F2) sem sinais de anemia, Famacha[®] 3 (F3) levemente anêmico e o Famacha[®] 4 (F4) e 5 (F5) indicativos de anemia intensa (Van Wyk e Bath, 2002). As amostras de fezes colhidas para o OPG foram aproveitadas para fazer o escore de diarreia (ED) dos animais, variando de 0 (consistência normal - sibilas bem formadas e pouco úmidas) a 4 (consistência aquosa (diarreia clínica) (Rosalinski-Moraes et al., 2012).

Ao final do experimento contou-se os parasitos presentes no abomaso a partir do conteúdo colhido dos animais abatidos. Para a obtenção das amostras, cada abomaso foi colocado em um recipiente, onde foi lavado lentamente com água em temperatura ambiente com o auxílio de pissetas plásticas, para remoção de todo o conteúdo e desprendimento dos parasitos presentes na mucosa. Em seguida, 1 L do lavado abomasal obtido foi transferido para novo recipiente, onde 10% desse volume total foi retirado e, na sequência, foi feita a identificação e a contagem de parasitos abomasais (Ueno e Gonçalves, 1998). Os resultados das contagens de OPG foram correlacionados ao percentual de parasitos retirados do abomaso dos cordeiros. Para maior organização dos dados, as larvas imaturas dos parasitos (larvas de 4 e 5 estágios do ciclo do parasito) foram agrupadas para a análise estatística.

2.4.3. Análises hematológicas e bioquímicas

Foram realizados exames hematológicos e bioquímicos no D₀, D₁₄, D₂₈, D₄₂, D₅₆, D₇₀ e D₈₄ em todos os animais. Para os exames hematológicos, foi realizado o

hematócrito (Ht) a partir de 4 mL de sangue colhidos por venopunção da jugular externa dos cordeiros utilizando seringas e agulhas descartáveis e tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para mensurar o volume globular pelo método de micro-hematócrito (Jain, 1986; Bassert e Thomas, 2017). Para os exames bioquímicos, foram avaliados: a concentração de proteína plasmática (PP) mensurada no plasma obtido na mensuração do hematócrito em g/dL com auxílio de um refratômetro clínico; no plasma avaliou-se ainda o fibrinogênio (Fb) mensurado em g/dL utilizando o método de precipitação térmica (Bassert e Thomas, 2017); albumina (Alb), proteínas totais (PT) e globulinas (Gb – calculada pela subtração do valor da Alb e PT) do soro sanguíneo mensuradas em g/dL, que foram analisadas por fotometria no aparelho Selectra ProS[®], localizado no laboratório de análises clínicas da CVE - PUCPR e, por fim, foi realizado mensalmente o teste de glutaraldeído a partir de 2 mL de sangue venoso (Doll et al., 1985; Bernarski et al., 2019).

2.4.4. Análises de desempenho dos cordeiros

Para avaliar o ganho médio diário de peso (GMD), os cordeiros foram individualmente pesados semanalmente com o auxílio de uma balança digital (YDTech TCS-300, carga máxima de 300 kg com erro máximo de 2g) que foi adaptada para esses animais, com a utilização de uma gaiola para contenção física dos cordeiros.

Avaliou-se o escore de condição corporal (ECC) de todos os cordeiros no D₀, D₁₄, D₂₈, D₄₂, D₅₆, D₇₀ e D₈₄, com classificação de 1 a 5 (Russel et al., 1969; Scott, 2015).

A área de olho-de-lombo (AOL) e a espessura de gordura subcutânea (GSC) foram avaliadas no D₀ e D₈₄ e mensuradas com auxílio de um ultrassom da marca Hitachi[®], modelo Eub-405, com um transdutor linear de 12 cm de comprimento na frequência de 5 Mhz. Antes da captação das imagens, foi feita a tricotomia e limpeza da área de medição, aproximadamente a 12 cm em relação à linha mediana dorsal, no 12^o espaço intercostal. Posteriormente, o transdutor foi posicionado perpendicularmente ao comprimento do músculo *longissimus dorsi*, com a finalidade de mensurar a AOL e a espessura de GSC (Cartaxo et al., 2011; McManus et al., 2013).

2.5. Delineamento

O delineamento experimental seguiu o de blocos casualizados. A análise fatorial foi realizada na seguinte condição: três tratamentos por sete tempos por 14 repetições para as análises bioquímicas, hematológicas e parasitológicas; três tratamentos por três replicações por sete repetições para as análises histológicas. Os valores de OPG foram analisados usando transformação logarítmica na base 10 ($x + 1$). Para a análise estatística dos dados foi realizado o teste de normalidade d'Agostino e Pearson, seguido do Anova e teste de Duncan para as amostras bioquímicas, hematológicas, parasitológicas, histológicas e de desempenho; para as análises de ED e ECC foram realizadas o teste t não paramétrico seguido do teste Mann-Whitney (Wilcoxon). Por fim, os dados foram apresentados em média e desvio padrão com um nível de significância adotado de 95% ($P \leq 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Análises bioquímicas e hematológicas

Não houve diferença entre as médias ($P > 0,05$) das análises bioquímicas (Figuras 1, 2, 3 e 4) quando comparados entre os grupos avaliados, exceto para PP no D₇₀ (Figura 5), com o grupo T1G com os menores valores séricos ($5,4 \pm 0,2$ g/dL; $P = 0,016$) em relação ao grupo C ($5,7 \pm 0,2$ g/dL) e T5G ($5,8 \pm 0,4$ g/dL). Observou-se um aumento ($P < 0,05$) dos valores séricos de Gb e de PT nos grupos T1G e C em função do dia, entretanto, esses resultados não foram vistos no grupo T5G.

Durante os 84 dias do período experimental, observou-se que o grupo C ($31,4 \pm 4,3\%$) apresentou a menor ($P = 0,058$) porcentagem de Ht quando comparado com o grupo T1G ($32,4 \pm 3,2\%$), enquanto o grupo T5G ($32,1 \pm 4,0\%$) se manteve semelhante aos outros grupos (Figura 6). O Ht diminuiu ($P < 0,05$) em todos os grupos experimentais em função do tempo (Figura 7). O teste de glutaraldeído se manteve negativo entre os grupos experimentais, ou seja, não foi detectado nenhum processo inflamatório através deste teste nos cordeiros estudados.

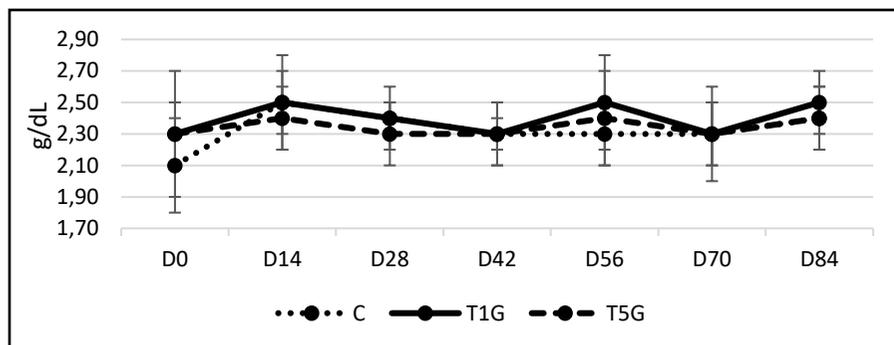


Figura 1. Médias e desvios-padrão da albumina de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental.

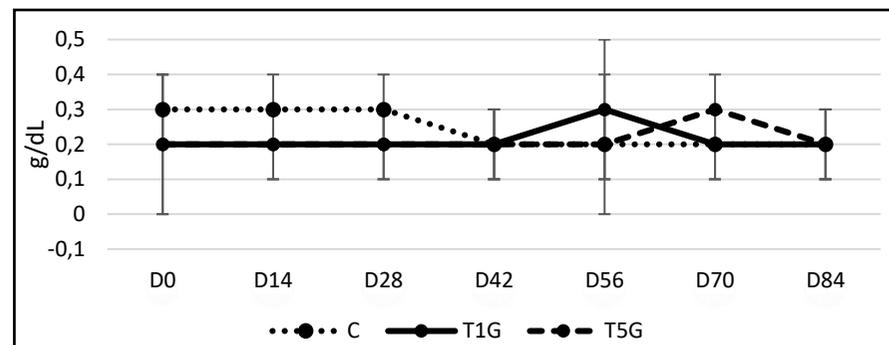


Figura 2. Médias e desvios-padrão do fibrinogênio de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental.

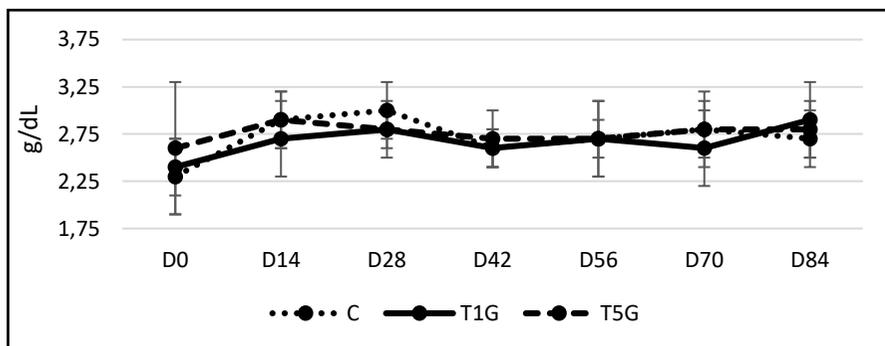


Figura 3. Médias e desvios-padrão da globulina de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental.

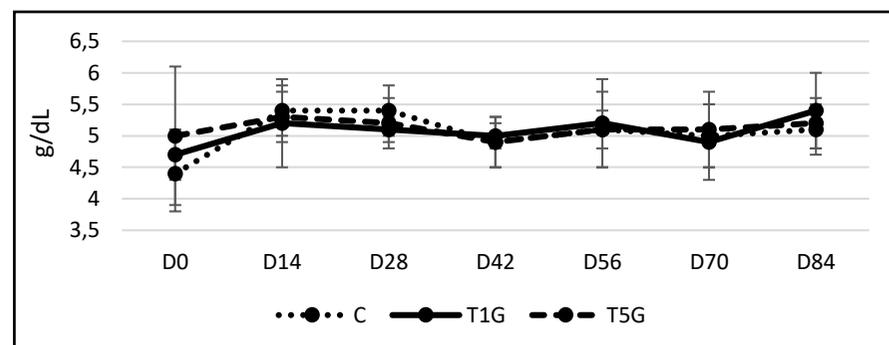


Figura 4. Médias e desvios-padrão da proteína total de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental.

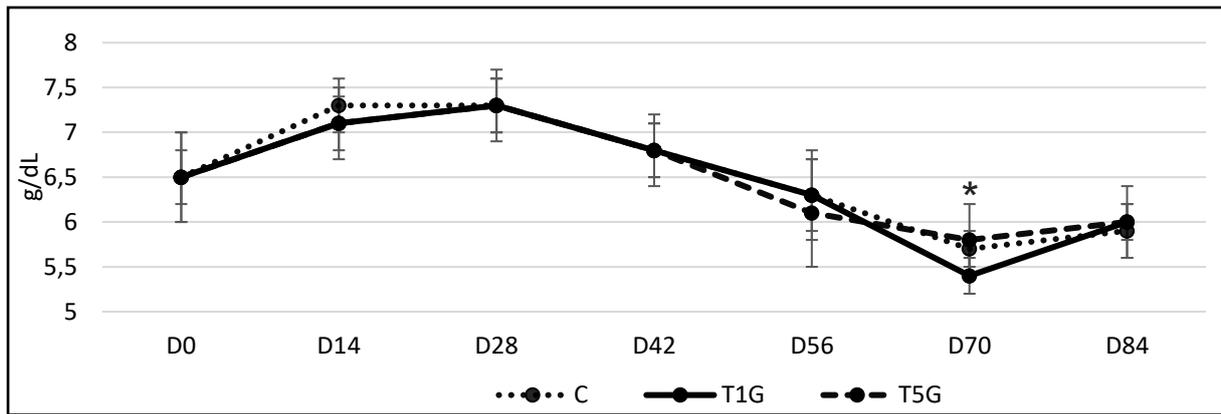


Figura 5. Médias e desvios-padrão da proteína plasmática de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental. Asterisco (*) representa diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos.

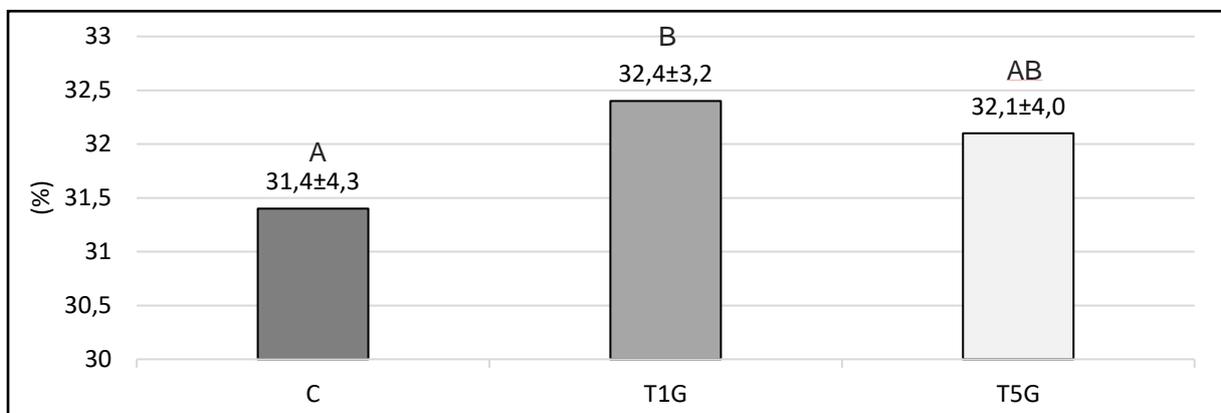


Figura 6. Médias gerais e desvios-padrão do hematócrito durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos.

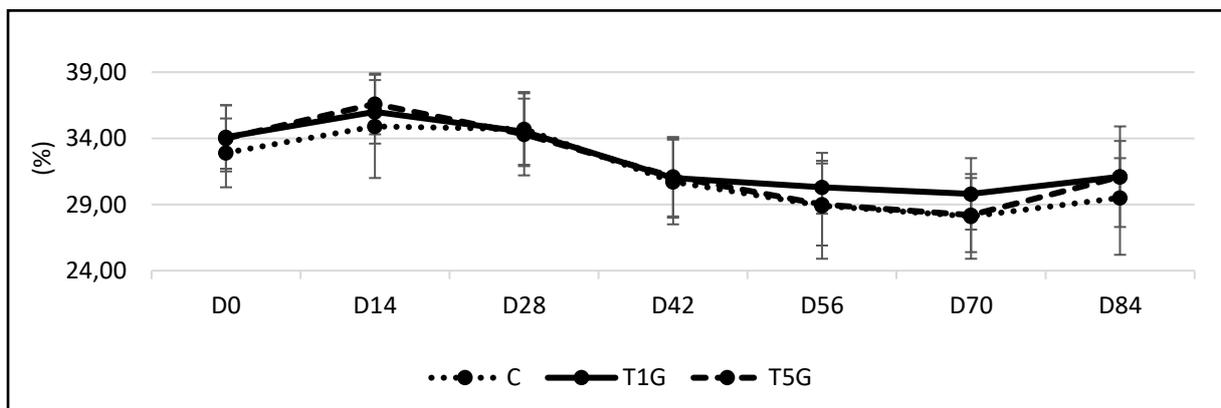


Figura 7. Médias e desvios-padrão do hematócrito de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental.

3.2. Análises histológicas

As médias e desvios-padrão dos parâmetros histológicos são apresentados na Tabela 3. A espessura das túnicas do abomaso foi semelhante ($P < 0,05$) entre os tratamentos. A porcentagem do muco produzido na área capturada do abomaso não diferiu ($P = 0,272$) entre os grupos avaliados (Tabela 3 e Figura 8). A porcentagem do muco produzido na área capturada do abomaso não diferiu ($P = 0,272$) entre os grupos avaliados, sendo $47,7 \pm 2,6$; $47,3 \pm 2,7$ e $45,9 \pm 2,5$ respectivamente para os grupos C, T1G e T5G.

Tabela 3. Médias e desvios-padrão ($\bar{X} \pm S$) da largura em μm , das túnicas do abomaso de cordeiros, comparando os grupos controle (C - $n=7$), tratado 1G (T1G - $n=6$) e o tratado 5G (T5G - $n=6$).

	C	T1G	T5G	p
Mucosa	751,7 \pm 121,3	869,8 \pm 83,5	755,3 \pm 236,0	0,354
Submucosa	352,9 \pm 93,1	376,8 \pm 233,1	356,0 \pm 108,4	0,957
Muscular	630,7 \pm 78,1	665,8 \pm 204,2	632,7 \pm 163,0	0,904
Serosa	164,3 \pm 69,5	128,8 \pm 37,4	107,7 \pm 26,5	0,147
Total	1907,1 \pm 244,0	2053,3 \pm 363,0	1858,3 \pm 317,7	0,533

p: valor estatístico da Anova/Duncan entre grupos.

T1G – cordeiros recebiam 1 g de probiótico DBR SACCH®.

T5G – cordeiros recebiam 5 g de probiótico DBR SACCH®.

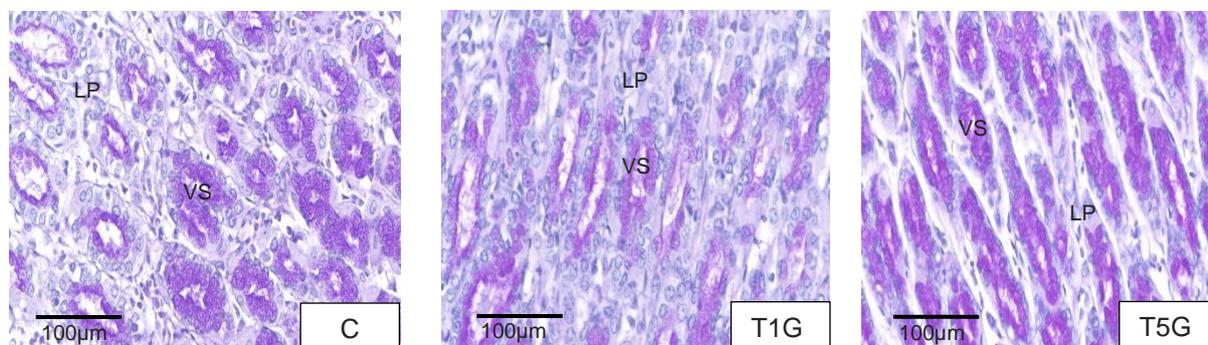


Figura 8. Corte histológico da túnica mucosa do abomaso de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Coloração ácido periódico-Schiff (PAS), aumento de 20 vezes. LP: lâmina própria, VS: vesículas secretórias com muco (glicoproteínas).

3.2. Análises parasitológicas

Nas culturas de larvas, a maior porcentagem de larvas foi do gênero *Haemonchus* sp., com 96%, 93,8% e 98%, para os grupos C, T1G e T5G, respectivamente. Também foram observadas larvas de *Trichostrongylus* sp., na proporção de 4%, 6,2% e 2%, para os grupos C, T1G e T5G, respectivamente. Os

exames coproparasitológicos revelaram a presença de ovos de *Strongyloides*, *Moniezia* e oocistos de *Eimeria*. Houve um aumento significativo ($P < 0,05$) nas médias do OPG a partir do D₄₂ para todos os grupos experimentais (Figura 9). Na média de todo o período experimental, o grupo T1G (609,2±118,6) obteve o menor OPG ($P = 0,05$), seguido pelo grupo T5G (813,2±121,2) e o grupo C (958,2±118,6) que permaneceu com OPG mais alto entre os tratamentos (Figura 10). Observou-se que a medida em que a média do OPG aumentava, os valores médios de PP, com $r = -0,622$ ($P < 0,001$) e do hematócrito com $r = -0,623$ ($P < 0,001$) diminuía. O Famacha[®] em todos os grupos se manteve entre F1 e F2, com exceção de um cordeiro do grupo controle que apresentou F4. A quantidade da população de parasitos presentes no abomaso não se alterou ($P > 0,05$) entre os grupos experimentais (Tabela 4). Houve uma correlação alta positiva ($r = 0,8683$; $P < 0,001$) entre o OPG e a população de parasitos no abomaso.

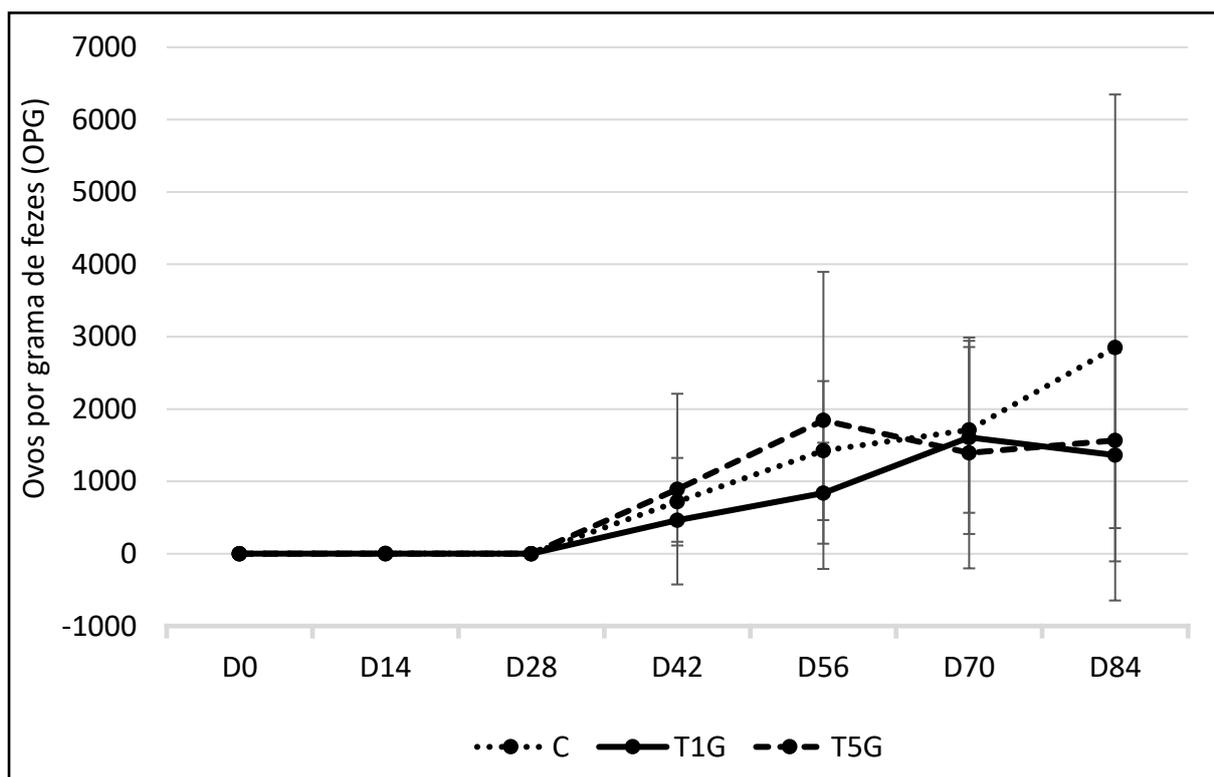


Figura 9. Médias e desvios-padrão do OPG de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental.

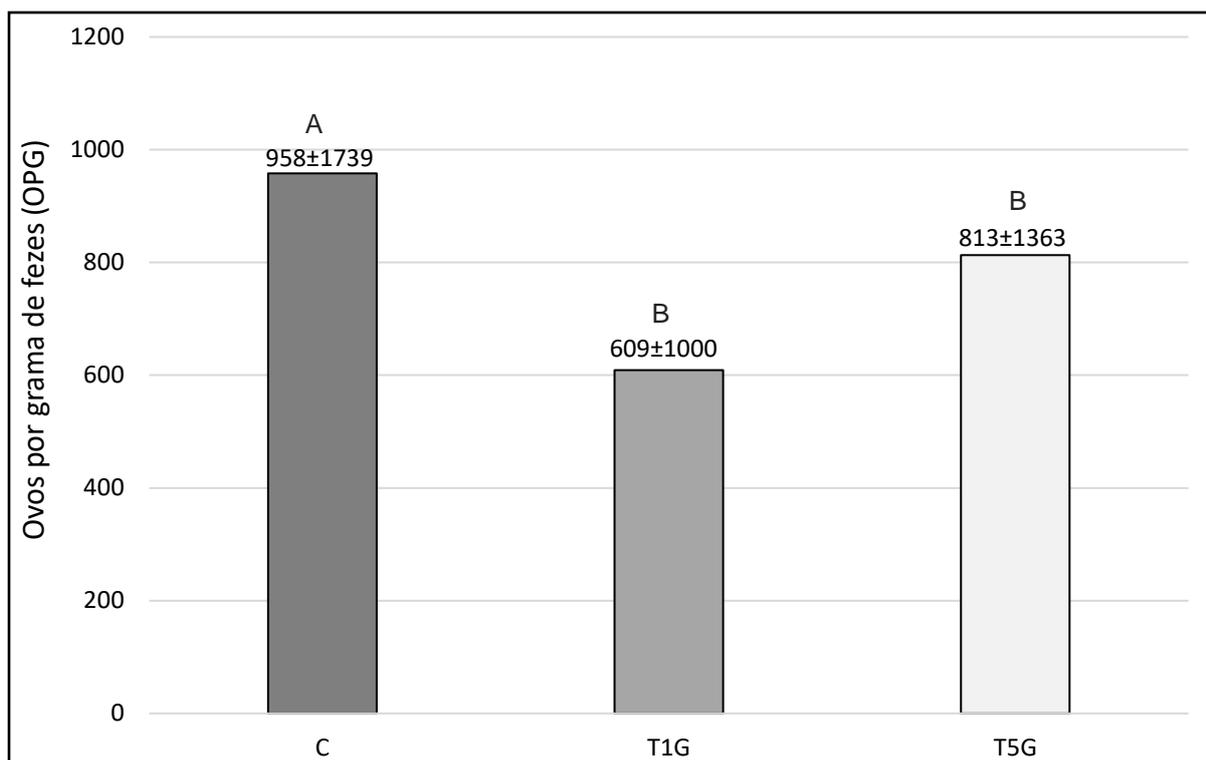


Figura 10. Médias gerais e desvios-padrão do OPG de cordeiros durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos.

Tabela 4. Médias e desvios-padrão ($\bar{X} \pm S$) dos parasitos presentes no abomaso de cordeiros, comparando os grupos controle (C - n=7), tratado 1G (T1G - n=6) e o tratado 5G (T5G - n=7).

	C	T1G	T5G	p
L4 + L5*	1188,6±1359,5	806,7±919,4	618,6±473,1	0,560
Haemonchus sp. fêmea	1595,7±1233,7	1388,3±1370,1	1078,6±990,39	0,724
Haemonchus sp. macho	1388,6±1107,1	1206,7±1256,3	1021,4±868,51	0,818
Trichostrongylus sp. fêmea	75,7±35,5	93,3±86,4	41,4±30,8	0,242
Trichostrongylus sp. macho	155,7±148,5	85,0±92,7	80,0±2288,1	0,406
Total de parasitos	4404,3±2814,0	3580,0±3491,8	2840,0±1084,2	0,603

*L4 - A larva de 4 estágio do ciclo do parasito, L5 - A larva de 5 estágio do ciclo do parasito.

p: valor estatístico da Anova/Duncan entre grupos.

T1G – cordeiros recebiam 1 g de probiótico DBR SACCH®.

T5G – cordeiros recebiam 5 g de probiótico DBR SACCH®.

3.3. Análises de desempenho

O peso, a AOL e a GSC não diferiram ($P > 0,05$) entre os grupos experimentais no período de 84 dias; entretanto, observou-se um aumento ($P < 0,05$) dos seus valores quando comparados nos grupos em função do tempo. A suplementação com o probiótico não afetou o GMD entre os grupos durante o período experimental (Tabela 5). A raça e o sexo não influenciaram ($P > 0,05$) sobre o peso dos animais avaliados.

Tabela 5. Médias e desvios-padrão ($\bar{X}\pm S$) das análises de desempenho de cordeiros, comparando os grupos controle (C – n=14), tratado 1G (T1G – n=14) e o tratado 5G (T5G – n=14) em função do período experimental.

		D0	D84	p ¹	Geral
GMD* (kg)	C		0,210± 0,102		0,178±0,125
	T1G		0,166± 0,095		0,173±0,117
	T5G**		0,237± 0,121		0,199±0,129
	p ²		0,225		0,691
Peso (kg)	C	27,3±3,8 ^b	41,8±4,2 ^a	0,000	34,5±8,3
	T1G	27,4±3,8 ^b	41,5±5,7 ^a	0,000	34,5±8,6
	T5G**	27,4±3,8 ^b	41,9±5,9 ^a	0,000	34,4± 8,8
	p ²	0,995	0,976		0,986
AOL (cm2)	C	5,6±1,0 ^b	7,0±1,0 ^a	0,002	6,3±1,2
	T1G	6,0±1,0 ^b	7,8±1,4 ^a	0,000	6,9±1,5
	T5G**	5,6±1,1 ^b	7,4±1,4 ^a	0,000	6,5±1,5
	p ²	0,559	0,274		0,177
GSC* (mm)	C	2,9±0,8 ^b	9,4±1,5 ^a	0,000	6,1±3,5
	T1G	3,0±0,8 ^b	9,1±2,1 ^a	0,000	6,0±3,5
	T5G**	2,6±0,6 ^b	8,3±1,8 ^a	0,000	5,5±3,2
	p ²	0,328	0,318		0,619

*GMD = ganho médio diário de peso, AOL = área de olho de lombo, GSC = gordura subcutânea.

Letras diferentes: comparação nos grupos em função do tempo.

T1G – cordeiros recebiam 1 g de probiótico DBR SACCH®.

T5G – cordeiros recebiam 5 g de probiótico DBR SACCH®.

p¹: valor estatístico da Anova/Duncan nos grupos em função do período experimental.

p²: valor estatístico da Anova/Duncan entre grupos.

**n=13 partir do D₄₂.

Na avaliação do escore de diarreia (ED), observou-se durante o período experimental que os grupos T1G e T5G apresentaram maiores proporções de ED 0 ($P<0,05$) em relação ao grupo C (Figura 11). No D₁₄, as proporções dos ED foram distintas ($P<0,05$) entre o grupo T1G e o grupo C, mas ambas semelhantes ao T5G ($P>0,05$). Neste mesmo dia o grupo T1G apresentou as maiores proporções de fezes normais (ED 0) comparativamente (Figura 12). O ED 4 (diarreia clínica) não foi observado em nenhum grupo durante o período experimental.

Na avaliação do ECC, observou-se durante o período experimental uma elevação na proporção de animais com ECC 3,0 e 3,5 e, conseqüentemente, houve uma redução da porcentagem de animais que estavam com ECC 2,5. Não houve diferença estatística ($P>0,05$) nas proporções de ECC entre os grupos avaliados, exceto o grupo T1G no D₄₂ e D₇₀ que apresentou a maior proporção ($P<0,05$) do ECC 3,5 em relação aos grupos C e T5G (Figura 13). A distribuição do ECC durante os 84 dias não diferiu pelo tratamento (Figura 14).

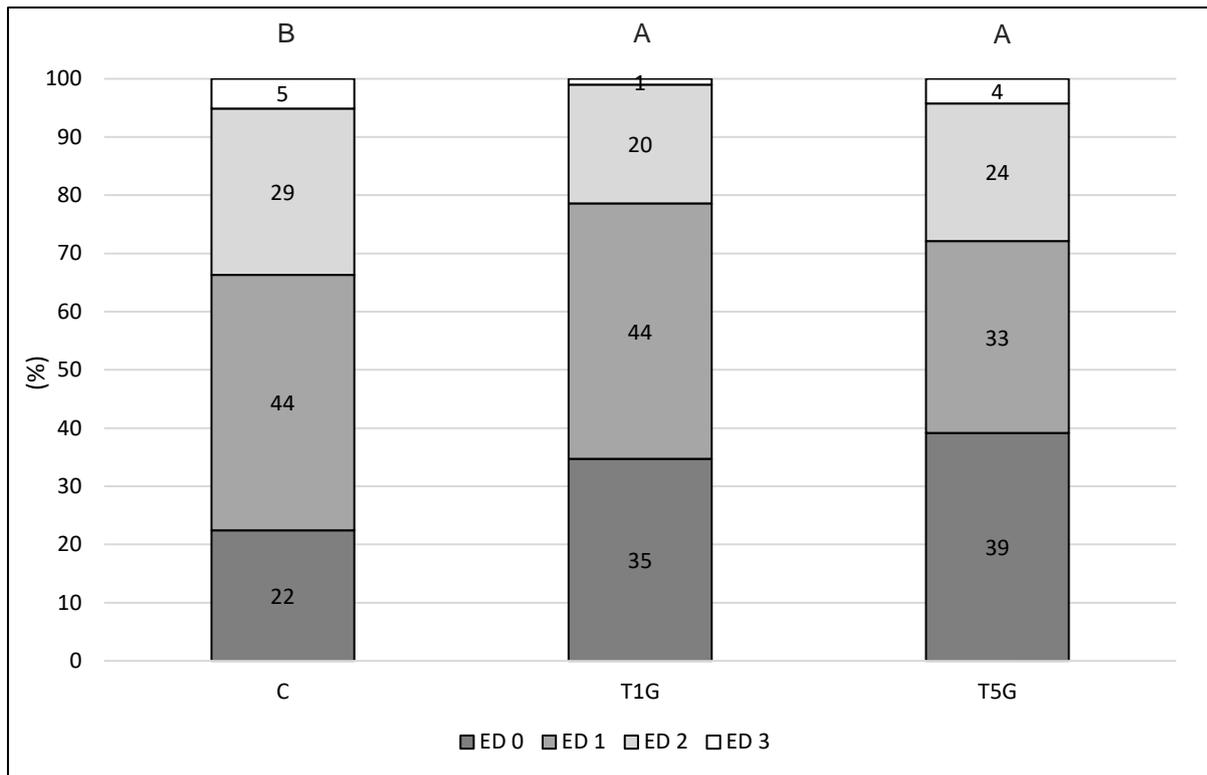


Figura 11. Distribuição porcentual do escore de diarreia (ED) de cordeiros durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos.

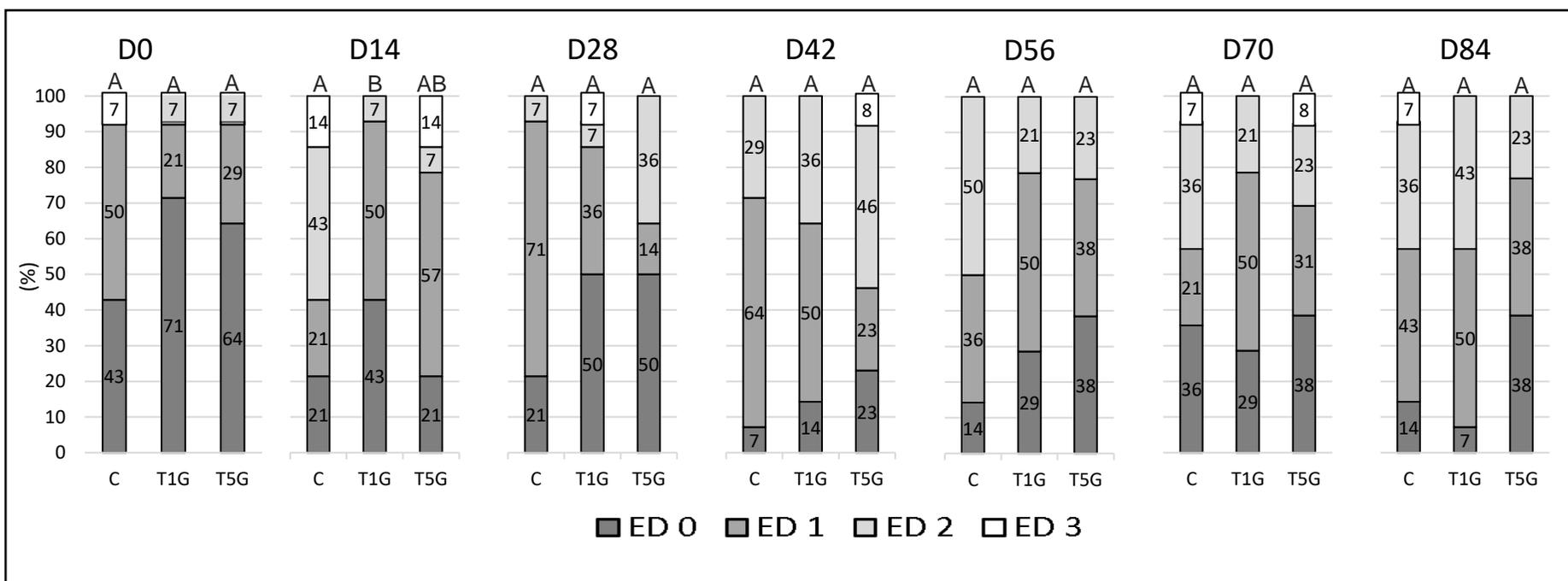


Figura 12. Distribuição percentual do escore de diarreia (ED) de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental. Letras diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos, para cada data avaliada.

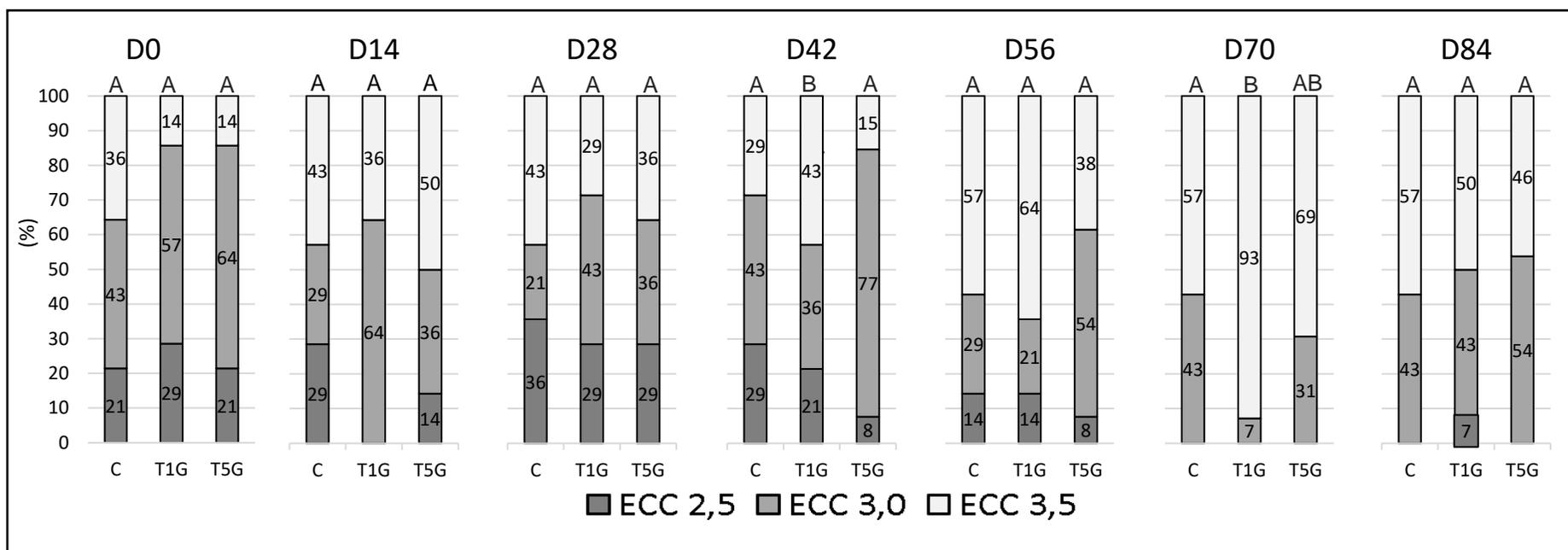


Figura 13. Distribuição percentual dos escores de condição corporal (ECC) de cordeiros, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G) em função do período experimental. Letras diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos, para cada data avaliada.

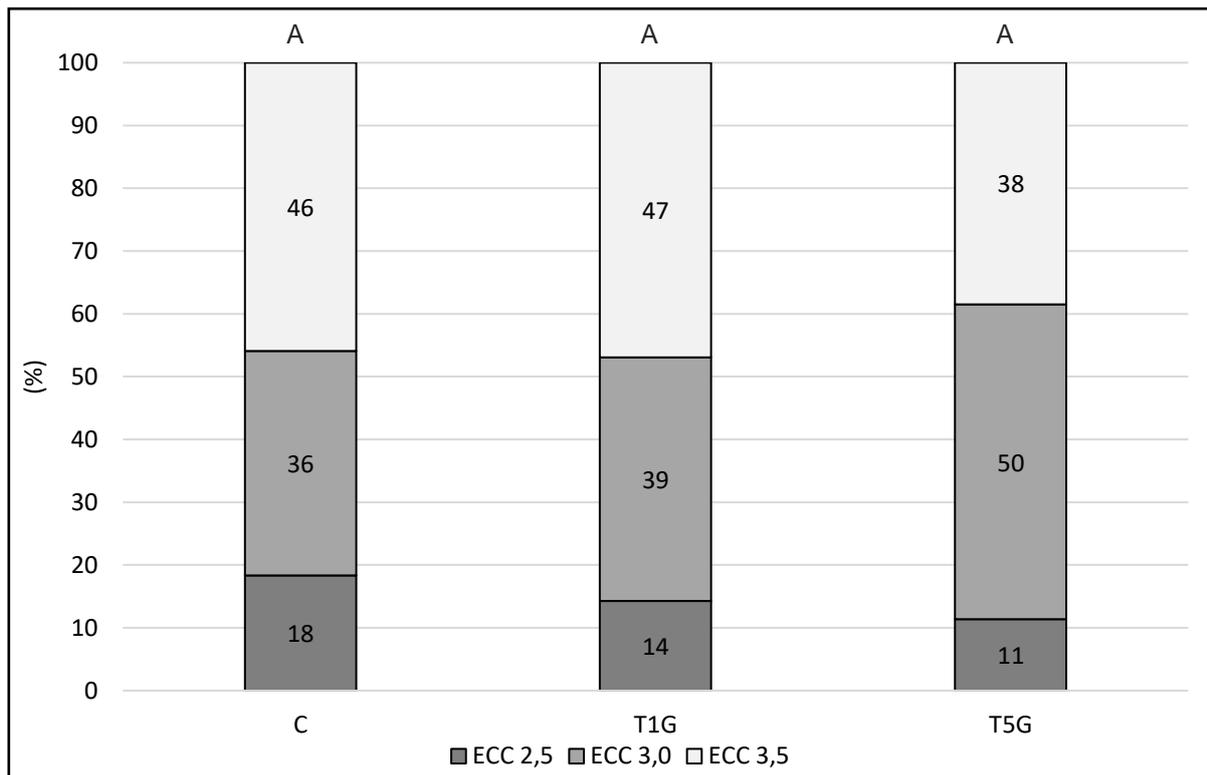


Figura 14. Distribuição percentual dos escores de condição corporal (ECC) de cordeiros durante 84 dias, comparando os grupos controle (C), tratado com 1 g de probiótico (T1G) e o tratado com 5 g de probiótico (T5G). Letras diferentes representam diferença estatística ($P \leq 0,05$) entre os grupos.

4. Discussão

Nos últimos anos, diversos estudos demonstraram que os probióticos podem ser uma alternativa para diminuir o uso de anti-helmínticos que estão a cada vez mais perdendo a eficácia (Avila et al., 2012; Moura et al., 2017; Silva et al., 2018; Solano-Aguilar et al., 2018; Pinto et al., 2020) e foram observados também vários mecanismos que podem beneficiar a saúde do TGI do hospedeiro (Fooks e Gibson, 2002; Guillot, 2003; Timmerman et al., 2005; Grecco et al., 2006; Candela et al., 2008). No presente experimento, alguns dos parâmetros avaliados demonstraram estes possíveis efeitos benéficos descritos na literatura.

O valor de Ht foi menor para o grupo C ($31,4 \pm 4,3$) em relação ao grupo T1G ($32,4 \pm 3,2$) e T5G ($32,1 \pm 4,0$) no período de 84 dias. Estes valores médios de Ht não consideram os animais como anêmicos, pois segundo Birgel (2013), os ovinos começam a apresentar sinais de anemia quando o Ht está abaixo de 25%. Ao longo do experimento, alguns animais apresentaram Ht abaixo de 22% que é compatível com F3 (levemente anêmico); entretanto, durante a avaliação, estes mesmos animais estavam apresentando F1 (sem sinais de anemia), o que significa que a perda de sangue através do parasitismo, que foi constatada pelo hematócrito, não foi verificada pelo Famacha[®]. Cintra et al. (2018) observaram que o sistema Famacha[®] tem baixa sensibilidade para o diagnóstico clínico de anemia em cordeiros em crescimento e não deve ser usado isoladamente para o controle de *H. contortus* em ovinos nesta faixa etária.

Em geral, os resultados dos parâmetros bioquímicos não se alteraram entre os grupos experimentais, exceto a PP no D₇₀ para o grupo T1G, que obteve o menor valor sérico em comparação aos outros grupos avaliados no mesmo dia. Isso foi esperado, porque a diminuição da concentração de PP e Ht é inversamente proporcional ao aumento do OPG em ovinos naturalmente infectados com nematódeos GTI (Amarante et al., 1999; Rocha et al., 2005). A ausência de efeitos da suplementação de probióticos nas concentrações de PT, Alb e Gb está de acordo com El-Katcha et al. (2016) e Saleem et al. (2017), que relataram que não houve diferenças significativas nestes parâmetros em cordeiros suplementados com probióticos contendo cepas do gênero *Pediococcus* sp.. Entretanto, Abdel-Salam et al. (2014), utilizando cordeiros com aproximadamente seis meses de idade pelo mesmo período do presente estudo, observaram que as concentrações sanguíneas de Alb e Gb eram

maiores quando estes animais recebiam probióticos à base de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*. Esta diferença entre o presente estudo e de Abdel-Salam et al. (2014) pode ser devido a idade dos cordeiros, número e raça dos cordeiros utilizados no experimento, composição e quantidade de microrganismos probióticos ou composição da dieta dos animais.

Durante os 84 dias de experimento, os grupos T1G e T5G apresentaram os menores valores médios de OPG comparativamente ao grupo C, entretanto a quantidade de parasitos recuperados no abomaso não diferiu entre os grupos avaliados. Estes resultados podem sugerir que a presença do “pool” de microrganismos probióticos deste estudo poderia possivelmente atuar sobre a oviposição das fêmeas de *H. contortus*, sendo este o parasito predominante nas análises coproparasitógicas. Estes resultados poderiam sugerir um efeito do probiótico sobre a oviposição das fêmeas de *H. contortus*, conforme já descrito por Silva et al. (2018) e Pinto et al. (2020), quando avaliaram o efeito do *S. cerevisiae* e observaram uma diminuição da postura de ovos de fêmeas de parasitos. Este efeito ocorreria pelo estímulo do sistema imune causado por esta levedura, aumentando a contagem de linfócitos T e ativando direta e/ou indiretamente os eosinófilos com atuação sobre o comprimento do parasito e sobre a ovipostura de *H. contortus* (Rowe et al., 2008; Wojcik, 2010; Hernández et al., 2017, Pinto et al. 2020). Observou-se que esta levedura está presente em maior quantidade em relação aos outros microrganismos da formulação probiótica utilizada neste experimento, o que poderia motivar o protagonismo de sua ação sobre a microbiota gastrintestinal (Desnoyers et al., 2009).

Antes de iniciar o experimento, todos os grupos foram previamente tratados com anti-helmíntico comercial, conseqüentemente houve um período de aproximadamente 28 dias sem a presença de ovos nas fezes destes animais. Portanto, os resultados acima descritos poderiam ter maiores variações entre os grupos se o período experimental se prolongasse, excluindo-se o mês inicial sob efeito do anti-helmíntico convencional.

A presença dos parasitos no abomaso é acompanhada por alterações morfológicas na mucosa do hospedeiro, como hiperplasia de células, dano epitelial superficial e perda de células parietais produtoras de ácido (Murray et al., 1970; Snider et al., 1988; Rinaldi et al., 2011). O muco produzido no trato GTI forma a primeira linha de defesa contra possíveis infecções por parasitos, por exemplo; entretanto, a atuação

do muco na resposta aos parasitos do abomaso ainda é pouco conhecida (Rinaldi et al., 2011). Não se observou diferença no tamanho das tûnicas do abomaso ou na produção de muco entre os grupos analisados, mas outros experimentos demonstraram que o aumento na produção de muco (glicoproteína) GTI pode estar relacionada à capacidade do hospedeiro de eliminar os nematoides presentes neste ambiente (Li et al., 2009; Menzies et al., 2010; Hoang et al., 2010; Takeda et al., 2010). A quantidade de muco inalterada, assim como a presença da mesma quantidade de parasitos no abomaso, indicam que o probiótico usado não parece ter agido sobre esse tecido. Igualmente, o parasitismo não foi intenso o suficiente para causar alterações inflamatórias graves na parede abomasal, pois as globulinas e fibringeno mensurados permaneceram em níveis fisiológicos, sendo refletido também no teste de glutaraldeido, que permaneceu negativo durante todo o período experimental.

O uso do probiótico na dieta dos cordeiros não alterou o GMD neste estudo. Da mesma forma, Kazemi-Bonchenari et al. (2013) observaram que a suplementação com um probiótico composto por *Enterococcus faecium* (Biomin®IMBO) não teve nenhum efeito significativo no ganho médio diário de peso de cordeiros. Kamal et al. (2013), trabalhando com um menor número de cabritos (n=20), maior tempo de experimento (120 dias) e com somente uma espécie de microrganismo probiótico (*Saccharomyces cerevisiae* nCDC-49 - $5,6 \times 10^9$ UFC), obtiveram resultados positivos no GMD. El-Sayed e Mousa (2020) também encontraram efeitos positivos no GMD, com o mesmo número de animais usados por Kamal et al. (2013), entretanto com uma formulação diferente, composta por *Bacillus subtilis* ($8,4 \times 10^6$ CFU), sorbitol, vitamina B1 e glicose, em um menor tempo experimental de 30 dias. As diferenças, tanto em espécie de animal quanto em composição e quantidade dos microrganismos probióticos usados e a duração dos estudos, dificultam uma comparação, porém os resultados positivos sobre o ganho de peso prevalecem (Khalid et al., 2011).

O ECC é uma avaliação subjetiva do estado corporal de ovinos correlacionada a sua reserva de gordura e constitui uma estimativa do seu estado nutricional (Russel et al., 1969; Scott, 2015). Observou-se nos três grupos um aumento dos valores do ECC geral dos cordeiros ao longo das semanas analisadas. Entretanto, ao todo os grupos foram similares no ganho de ECC, justificado pelo fornecimento de uma dieta equilibrada, conseqüentemente atendendo à demanda nutricional dos cordeiros. Baines et al. (2011) demonstraram um aumento significativo na condição corporal de 140 cabras suplementadas com 7g Dairyman's Choice™ (*Bacillus subtilis*, *Bacillus*

licheniformis, metabólitos de levedura, vitaminas e minerais) por 28 dias. Entretanto, Dabir et al. (2016) não observaram um efeito sobre a condição corporal de 27 ovelhas suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* sc47 durante 90 dias. Estas diferenças de resultados do ECC entre a literatura o presente estudo pode ser devido à influência da idade do animal. No animal jovem, deposita-se pouca gordura, ficando o crescimento limitado a outros tecidos e, na fase adulta, há diminuição da porcentagem de músculo e aumento na de gordura (Théiriez et al., 1980).

AOL e GSC estão diretamente relacionadas ao grau de rendimento da carcaça (Williams, 2002). No presente estudo não foram observadas diferenças nas mensurações de AOL e GSC entre os grupos avaliados. Whitley et al. (2009) relataram que a AOL e a GSC não foram influenciadas pelo tratamento composto por *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium* em caprinos. Os achados do presente estudo indicam que a suplementação probiótica utilizado neste experimento não influenciou no desenvolvimento muscular e de gordura mensurados, possivelmente porque os ganhos no desempenho produtivo não foram expressivos o suficiente para se refletirem nesses tecidos, intimamente relacionados ao estágio de maturidade do cordeiro e a sua predisposição genética (Sena et al., 2016).

Na avaliação geral (Figura 11), a consistência fecal foi afetada pelos tratamentos com diferenças ($P < 0,05$) nas proporções entre o grupo C e os outros dois grupos tratados com probióticos, mas sem diferenças ($P = 0,897$) entre os dois grupos tratados. Apesar de haver alteração na consistência fecal, não houve casos de diarreia clínica (ED 4) em nenhum grupo experimental. Na Figura 12 foi visto que no D₁₄ houve uma diferença estatística ($P < 0,05$) entre as proporções do grupo C e T1G do ED, isto pode ser devido a adaptação dos animais nas primeiras duas semanas do experimento, no qual o grupo T1G apresentou um melhor desempenho neste período de adaptação alimentar, pois obteve a maior proporção de animais com ED 0 em relação ao grupo C. Timmerman et al. (2005) observaram em seu estudo que bezerros suplementados com probióticos tiveram menor incidência de diarreia. Do mesmo modo, Grecco et al. (2006) relataram um melhor controle da diarreia em cordeiros que receberam uma dieta composta por *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Saccharomyces cerevisiae*. Estes resultados podem ser justificados pelo fato que os microrganismos probióticos possuem mecanismos que impedem a colonização de patógenos no TGI, sendo pela produção de bacteriocinas, estimulação do sistema imunológico do animal ou pela competição por locais de adesão e nutrientes, podendo

influenciar positivamente na consistência fecal destes animais (Fuller, 1992; Fooks e Gibson, 2002; Guillot, 2003; Candela et al., 2008).

5. Conclusão

O probiótico avaliado à base de *Ruminobacter amylophilum*, *Ruminobacter succinogenes*, *Succinovibrio dextrinosolvens*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* diminuiu a infecção parasitária gastrintestinal e melhorou a consistência fecal, promovendo um efeito benéfico sobre a saúde gastrintestinal de cordeiros. O probiótico não influenciou o ganho de peso, área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e o escore de condição corporal.

6. Referências

Abdel-Salam, A.M., Zeitoun, M.M., Abdelsalam, M.M., 2014. Effect of synbiotic supplementation on growth performance, blood metabolites, insulin and testosterone and wool traits of growing lambs. *J. Biol. Sci.* 14, 292–8. <https://doi.org/10.3923/jbs.2014.292.298>.

Afonso, E.R., Parazzi, L.J., Marino, C.T., Maria, S., Martins, M.K., Araujo, L.F., 2013. Probiotics association in the suckling and nursery in piglets challenged with *Salmonella typhimurium*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 56, 249-258. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000200010>.

Allen, H.K., Levine, U.Y., Looft, T., Bandrick, M., Casey, T.A., 2013. Treatment, promotion, commotion: Antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends Microbiol.* 21, 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.11.001>.

Amarante, A.F.T., Craig, T.M., Ramsey, W.S., El-Sayed, N.M., Desouki, A.Y., Bazer, F.W., 1999. Comparison of naturally acquired parasite burdens among Florida Native, Rambouillet and crossbreed ewes. *Vet. Parasitol.* 85, 61–69. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00103-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00103-X)

Ávila, F.A., Paulillo, A.C., Schocken-Iturrino, R.P., Lucas, F.A., Orgaz, A., Quintana, J.L., 2000. Avaliação da eficiência de um probiótico no controle de diarreia e no ganho de peso de bezerros. *Arq. Br. Med. Vet. Zootec.* 52, 41-46. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352000000100011>.

Avila, L.F.D.C., Conceição, F.R., De Lima Telmo, P., Dutra, G.F., De los Santos, D.G., Martins, L.H.R., Berne, M.E.A., Silva, P.E. and Scaini, C.J., 2012. *Saccharomyces*

boulardii reduces infection intensity of mice with toxocariasis. *Vet. Parasitol.* 187, 337-340.

Ayala-Monter, M.A., Hernández-Sánchez, D., González-Muñoz, S., Pinto-Ruiz, R., Martínez-Aispuro, J.A., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., Gloria-Trujillo A., 2019. Growth performance and health of nursing lambs supplemented with inulin and *Lactobacillus casei*. *AJAS.* 32, 1137-1144. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0630>.

Azzaz, H.H., Aziz, H.A., Farahat, S.A., Murad, H.A., 2015. Impact of Microbial Feed Supplements on the Productive Performance of Lactating Nubian Goats. *Global Vet.* 14, 567-575.

Baines, D.D.S., Erb, S.L., Turkington, T.K., Kuldau, G., Juba, J., Sumarah, M.W., Mazza, A., et Masson, E., 2011. Characterization of Haemorrhagic Enteritis in Dairy Goats and the Effectiveness of Probiotic and Prebiotic Applications in Alleviating Morbidity and Production Losses. *Fungal Gen. Biol.* 1, 1-8. <https://dx.doi.org/10.4172/2165-8056.1000102>.

Bancroft., J.D., Stevens, A., 1996. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 4th Edition, Churchill Livingstone, Nova York.

Bassett, J.M., Thomas, J.A., 2017. *McCurnin's Clinical Textbook for Veterinary Technicians*, 9th Edition, London: Elsevier Health Sciences, 1121-1125.

Bayatkouhsar, J., Tahmasebi, A.M., Naserian, A.A., Mokarram, R.R., Valizadeh, R., 2013. Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.015>.

Bernarski, E.E., Silva, K.G., Nascimento, L.V., Weber, S.H., Sotomaior, C.S., Filho, I.R.B., Starke, A., Ollhoff, R.D., 2019. The glutaraldehyde test and its use in dairy cattle. *Semina: Cien, Agr.* 40, 1891-1900. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n5p1891>.

Birgel, D. B., 2013. *Estudo das anemias em ovinos decorrente a verminose gastrintestinal*. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Candela, M., Perna, F., Carnevali, P., Vitali, B., Ciati, R., Gionchetti, P., Rizzello, F., Campieri, M., Brigidi, P., 2008. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: Adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int. J. Food. Microbiol.* 125, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.012>.

Cartaxo, F.Q., Sousa, W.H., Cezar, M.F., Costa, R.G., Cunha, M.G.G., Neto, S.G., 2011. Características de carcaça determinadas por ultrassonografia em tempo real e pós-abate de cordeiros terminados em confinamento com diferentes níveis de energia na dieta. *R. Bras. Zootec.* 40, 160-167. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982011000100023>.

Casas, I.A., Dobrogosz, W.J., 2000. Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad spectrum protection against disease in humans and animals.

Microb. Ecol. Health Dis. 12, 247-285. <https://doi.org/10.1080/08910600050216246-1>.

Casey, P.G., Gardiner, G.E., Casey, G., Bradshaw, B., Lawlor, P.G., Lynch, P.B., Leonard, F.C., Stanton, C., Ross, R.R., Fitzgerald, G.F., Colin, H., 2007. A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enteric Serovar typhimurium*. Appl. Environ. Microbiol. 73, 1858-1863. <https://doi.org/10.1128/AEM.01840-06>.

Cintra, M.C.R., Ollhoff, R.D., Sotomaior, C.S., 2018. Sensitivity and specificity of the FAMACHA© system in growing lambs. Vet. Parasitol. 251, 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.005>.

Dabiri, N., Yazdi, A.B., Hemati, B., Bahrani, M., Mahdavi, A., Raghebian, M. Hajimohammadi, A., 2016. Effect of different Levels of Biosaf Probiotic in Diet of Late Pregnant and Lactating Iranian Zandi Ewes, on Growth Performance and Immune System of their Lambs. J. Fisheries Livest. Prod. 4, 207 <https://dx.doi.org/10.4172/2332-2608.1000207>.

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. JDS. 92,1620-1632. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1414>.

Doll, K., Schillinger, D., Klee, W., 1985. Der Glutaraldehyd-Test beim Rind - seine Brauchbarkeit für Diagnose und Prognose innerer Entzündungen. Zbl. Vet. Med. A. 32, 581-593. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1985.tb01978.x>.

El-Katcha, M.I., Soltan, M.A., Essi, M.S., 2016. Effect of *Pediococcus* spp. supplementation on growth performance, nutrient digestibility and some blood serum biochemical changes of fattening lambs. Alex J. Vet. Sci. 49, 44–54. <https://doi.org/10.5455/ajvs.210911>.

El-Sayed, A.A., Mousa, A.S., 2020. Effects of administration of probiotic on body growth and hematobiochemical profile in growing Barki lambs. Comp. Clin. Pathol. 29, 297–303. <https://doi.org/10.1007/s00580-019-03057-z>.

FAO (Food and Agriculture Organization). Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation by adav S. Bajagai, Athol V. Klieve, Peter J. Dart and Wayne L. Bryden. Editor Harinder P.S. Makkar. FAO Animal Production and Health Paper. Rome, 2016,179.

FAO (Food and Agriculture Organization); WHO (World Health Organization). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2001.

Fooks, L.J., Gibson, G.R., 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. Br. J. Nutr. 88:39-49. <https://doi.org/10.1079/BJN2002628>.

Franco, A., Masot, J., 2017. Redondo, E., Comparative analysis of the merino sheep and Iberian red deer abomasum during prenatal development. Anim. Sci. J. 88, 1575-1587. <https://doi.org/10.1111/asj.12783>.

- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Microbiol.* 66, 365-378.
- Fuller, R., 1992. The effect of probiotics on the gut micro-ecology of farm animals. In: *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Boston: Springer. 1, 171-192. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3522-5_7.
- Glover, M., Clarke, C., Nabb, L., Schmidt, J., 2017. Anthelmintic efficacy on sheep farms in south-west England. *Vet. Rec.* 180, 378. <https://doi.org/10.1136/vr.104151>.
- GMI (Global Market InsigHts)., 2018. Animal Drugs Market. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/animal-drugs-market> (Accessed 28 Mar. 2020).
- Gordon, H.M.cL., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *CSIR.* 12, 50-52.
- Goto, H., Qadis, A.Q., Kim, Y.H., Ikuta, K., Ichijo, T., Sato, S., 2016. Effects of a bacterial probiotic on ruminal pH and volatile fatty acids during subacute ruminal acidosis (SARA) in cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 78, 1595-1600. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0211>.
- Grecco, F.C.A.R., Luca, R., Júnior, L.A.L., Silva, L.C., Zundt, M., 2006. Desempenho de cordeiros Suffolk confinados e suplementados com probióticos. *UNOPAR Cient., Cienc. Biol. Saúde.* 8, 71-76.
- Guillot, J.F., 2003. Probiotic feed additives. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 26, 52-55.
- Hernández, J.N., Meeusen, E., Steer, M., Rodríguez, F., Piedrafita, D., González, J.F., 2017. Modulation of *Haemonchus contortus* infection by depletion of $\gamma\delta$ + T cells in parasite resistant Canaria Hair Breed sheep. *Vet. Parasitol.* 237, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.021>.
- Hoang, V.C., Williams, M.A., Simpson, H.V., 2010. Monosaccharide composition of fundic and duodenal mucins in sheep infected with *Haemonchus contortus* or *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.* 170, 253-261. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.014>.
- Huis in't Veld, J., Shortt, C., 1996. Selection criteria for probiotic micro-organisms. In: Leeds AR & Rowland IR (Eds) *Gut Flora and Health - Past, Present and Future*. London: The Royal Society of Medicine Press, 19-26.
- ICMR-DBT (Indian Council of Medical Research - Department of Biotechnology), 2011. ICMR-DBT guidelines for evaluation of probiotics in food. *Indian J. Med. Res.* 134, 22-25.
- Jain, N.C., Schalm, O.W., 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th Ed. Philadelphia, Lea & Febiger.
- Kamal, R., Dutt T., Singh, M., Kamra, D.N., Patel, M., Choudhary, I.C., Agrawal, N., Kumar, S., Islam, M., 2013. Effect of live *Saccharomyces cerevisiae* (nCDC-49) supplementation on growth performance and rumen fermentation pattern in local goat. *J. Appl. Anim. res.* 41, 285-288. <https://doi.org/10.1080/09712119.2013.782865>

- Kazemi-Bonchenari, M., Ghasemi, H.A., Khodaei-Motlagh, M., Khaltabadi-Farahani, A.H., Ilani, M., 2013. Influence of feeding synbiotic containing *Enterococcus faecium* and inulin on blood metabolites, nutrient digestibility and growth performance in sheep fed alfalfa-based diet. *Sci. Res. Essays*. 8, 853-857.
- Khalid, M.F., Shahzad, M.A., Sarwar, M., Rehman, A.U., Sharif, M., Mukhtar, N., 2011. Probiotics and lamb performance: A review. *African Journal of Agricultural Research*. 6, 5198-5203.
- Lambertz, C., Pouloupoulou, I., Wuthijaree, K., Gauly, M., 2019. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes in sheep raised under mountain farming conditions in Northern Italy. *Vet. Rec. Open*. 6, e000332. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2018-000332>.
- Li, R.W., Li, C., Elsasser, T.H., Liu, G., Garrett, W.M., Gasbarre, L.C., 2009. Mucin biosynthesis in the bovine goblet cell induced by *Cooperia oncophora* infection. *Vet. Parasitol.* 165, 281-289. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.008>.
- Mahyuddin, P., and Widiawati, Y., 2010. Effect of Combined Probiotics (*Saccharomyces Cerevisiae* + *Candida Utilis*) and Herbs on Carcass Characteristics of Swamp Buffalo. *Anim. Prod.* 12, 69-73.
- Martínez-Valladares, M., Geurden, T., Bartram, D.J., Martínez-Pérez, J.M., Robles-Pérez, D., Bohórquez, A., Florez, E., Meana, A., Rojo-Vázquez, F.A., 2015. Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in Spain. *Vet. Parasitol.* 211, 228-233. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.05.024>.
- Mcmanus, C., Paim, T.P., Louvandini, H., Dallago, B.S.L., Dias, L.T., Teixeira, R.A., 2013. Avaliação ultrasonográfica da qualidade de carcaça de ovinos santa inês. *Ci. Anim. Bras.* 14, 8-16. <https://doi.org/10.5216/cab.v14i1.12336>.
- Menzies, M., Reverter, A., Andronicos, N., Hunt, P., Windon, R., Ingham, A., 2010. Nematode challenge induces differential expression of oxidant, antioxidant and mucous genes down the longitudinal axis of the sheep gut. *Parasite Immunol.* 32, 36-46. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2009.01156.x>.
- Milewski, S., Wójcik, R., Zaleska, B., Małaczewska, J., Tański, Z., Siwicki, A.K., 2013. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* dried yeast on the meat performance traits and selected indicators of humoral immunity in lambs. *Acta Vet. Brno.* 82, 147-151. <https://doi.org/10.2754/avb201382020147>.
- Motta Junior, J.D.S., Miggiolaro, A.F.R.D.S., Nagashima, S., de Paula, C.B.V., Baena, C.P., Scharfstein, J., de Noronha, L., 2020. Mast Cells in Alveolar Septa of COVID-19 Patients: A Pathogenic Pathway That May Link Interstitial Edema to Immunothrombosis. *Front. Immunol.* 11, 2369. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.574862>.
- Moura, M.Q., Da Silva, T.W., Jeske, S.T., De Castro, L.M., Pinto, N.B., Da Costa, A.L., Leivas Leite, F.P. and Berne, M.E.A., 2017. Evaluation of the transcription of

interleukin-12 in the intestinal mucosa of mice subjected to experimental toxocariasis and supplemented with *Saccharomyces boulardii*. *Vet. Parasitol.* 242, 59.

Murray, M., Jennings, F.W., Armour, J., 1970. Bovine ostertagiasis: structure, function and mode of differentiation of the bovine gastric mucosa and kinetics of the worm loss. *Res. Vet. Sci.* 11, 417-27. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)34269-3](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)34269-3)

Musa, H.H., We, S.L., Zhu, C.H., Seri, H.I., Zhu, G.Q., 2009. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Adv.* 8, 313-321.

Nobrega, G.H., Cezar, M.F., Sousa, O.B., Filho, J.M.P., Sousa, W.H., Cunha, M.G.G., 2014. Regime alimentar para ganho compensatório de ovinos em confinamento: desempenho produtivo e morfometria do rúmen e do intestino delgado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 66, 1522-1530. <https://doi.org/10.1590/1678-6812>.

NRC (National Research Council). *Nutrient Requirements of Sheep*. 6th Edition, Washington, DC: The National Academies Press. 1985.

Oetzel, G.R., Emery, K.M., Kautz, W.P., Nocek, J.E., 2007. Direct-fed microbial supplementation and health and performance of pre- and postpartum dairy cattle: a field trial. *J. Dairy Sci.* 90, 2058-2068. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-484>.

Oyetayo, V.O., Oyetayo, F.L., 2005. Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *Afr. J. Biotech.* 4, 123-127.

Paz, I.C.L.A., Almeida, I.C.L., Veja, L.T., Milbradt, E.L., Borges, M.R., Chaves, G.H.C., Ouros, C.C., Silva, M.I.L., Caldara, F.R., Filho, R.L.A., 2019. Productivity and Well-Being of Broiler Chickens Supplemented With Probiotic. *J. Appl. Poult. Res.* 28, 930-942. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz054>.

Pinto, N.B., Gaspar, E.B., Minho, A.P., Domingues, R., de Moura, M.Q., Junior, A.S.V., Capella, G.A., Dos Santos, P.A., da Costa, CM., Leite, F.P.L., 2020. *Saccharomyces cerevisiae* (YT001) supplementation for the control of *Haemonchus contortus* and modulation of the immune response of sheep. *Benef Microbes.* 27, 175-181. <https://doi.org/10.3920/BM2019.0120>.

Qadis, A.Q., Goya, S., Ikuta, K., Yatsu, M., Kimura, A., Nakanishi, S., Sato, S., 2014. Effects of a bacteria-based probiotic on ruminal pH, volatile fatty acids and bacterial flora of Holstein calves. *J. Vet. Med. Sci.* 76, 877-85. <https://doi.org/10.1292/jvms.14-0028>.

Rinaldi, M., Dreesen, L., Hoorens, P.R., Li, R.W., Claerebout, E., Goddeeris, B., Vercruysse, J., Van Den Broek, W., Geldhof, P., 2011. Infection with the gastrointestinal nematode *Ostertagia ostertagi* in cattle affects mucus biosynthesis in the abomasum. *Vet. Res.* 11, 61. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-61>.

Roberts, F.H.S., O'Sullivan, P.J., 1950. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. *Aust. J. Agr. Res.* 1, 99-102. <https://doi.org/10.1071/AR9500099>.

- Rocha, R.A., Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., 2005. Resistance of Santa Inês and Ile de France suckling lambs to gastrointestinal nematode infections. *Ver. Br. Parasitol. Vet.* 14, 17-20.
- Rosa, G.T., Pires, C.C., Silva, J.H.S., M.O.S., Colomé, L.M., 2002. Composição tecidual da carcaça e de seus cortes e crescimento alométrico do osso, músculo e gordura da carcaça de cordeiros da raça texel. *Acta Scientiarum.* 24, 1107-1111.
- Rosalinski-Moraes, F., Fernandes, F.G., Munaretto, A., Oliveira, S., Wilmsen, M.O., Pereira, M.W., Meirelles, A.C.F., 2012. Método Famacha ©, escore corporal e de diarreia como indicadores de tratamento anti-helmíntico seletivo de ovelhas em reprodução. *Biosci. J.* 28, 1015-1023.
- Rowe, A., McMaster, K., Emery, D., Sangster, N., 2008. *Haemonchus contortus* infection in sheep: parasite fecundity correlates with worm size and host lymphocyte counts. *Vet. Parasitol.* 153, 285-93. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.040>.
- Russel, A.J.F., Doney, J.M., Gunn, R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72, 451-454. <https://doi.org/10.1017/S0021859600024874>.
- Saleem, A.M., Zounouy, A.I., Singer, A.M., 2017. Growth performance, nutrients digestibility, and blood metabolites of lambs fed diets supplemented with probiotics during pre- and post-weaning period. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 30, 523-530. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0691>.
- Salvedia, C.B., Supungco, E.P., 2017. Effect of probiotic supplementation on weight gain, blood biochemical and hematological indices of crossbred dairy goat kids. *Glob. Adv. Res. J. Agric Sci.* 6:128–33.
- Scott, P.R., 2015. *Sheep medicine*, 4th Edition, Boca Raton, Florida.
- Sena, L.S., Santos, G.V., Torres, T.S., Júnior, A.S., Neto, A.A.R., Sarmiento, J.L.R., Biagiotti, D., 2016. Genetic parameters for carcass traits and body size of meat sheep. *Semina: C. Agr.* 37, 2477-2486. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n4Supl1p2477>.
- Silva, N.C., Lima, A.S., Silva, C.R., Brito, D.R., Cutrim-Junior, J.A., Milhomem, M.N., Costa-Junior, L.M., 2018. In vitro and in vivo activity of hydrolyzed *Saccharomyces cerevisiae* against goat nematodes. *Vet. Parasitol.* 254, 6-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.034>.
- Snider, T.G. 3rd., Williams, J.C., Knox, J.W., Marbury, K.S., Crowder, C.H., Willis, E.R., 1988. Sequential histopathologic changes of type I, pre-type II and type II ostertagiasis in cattle. *Vet. Parasitol.* 27, 169-79. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90072-6](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90072-6).
- Solano-Aguilar, G., Shea-Donohue, T., Madden, K.B., Quinoñes, A., Beshah, E., Lakshman, S. and Urban, J.F., 2018. Bifidobacterium animalis subspecies lactis modulates the local immune response and glucose uptake in the small intestine of juvenile pigs infected with the parasitic nematode *Ascaris suum*. *Gut Microbes.* 9, 422-436.

- Takeda, K., Hashimoto, K., Uchikawa, R., Tegoshi, T., Yamada, M., Arizono, N., 2010. Direct effects of IL-4/IL-13 and the nematode *Nippostrongylus brasiliensis* on intestinal epithelial cells in vitro. *Parasite Immunol.* 32, 420-429. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2010.01200.x>.
- Tannock, G.W., 1997. Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Tibtech.* 15, 270-274. [https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(97\)01056-1](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(97)01056-1).
- Tehrani, A., Javanbakht, J., Jani, M., Sasani, F., Solati, A., Rajabian, M., 2012. Histopathological Study of *Haemonchus contortus* in Herrik Sheep Abomasum. *J. Bact. Parasitol.* 3, 144. <https://doi.org/10.4172/2155-9597.1000144>.
- Thérier, M., Tissier, M., Robelin, J. 1980. The chemical composition of the intensively fed lamb. *Anim. Prod.* 32, 29-37. <https://doi.org/10.1017/S0003356100024739>.
- Timmerman, H.M., Mulder, L., Everts, H., van Espen, D.C., Van der Wal, E., Klaassen, G., Rouwers, S.M., Hartemink, R., Rombouts, F.M., Beynen, A.C., 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J. Dairy Sci.* 88, 2154-2165. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72891-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72891-5).
- Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1998. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4.ed. Tóquio, Japan International Cooperation Agency.
- Uyeno, Y., Shigemori, S., Shimosato, T., 2015. Effect of Probiotics / Prebiotics on Cattle Health and Productivity: Mini review. *Microbs. Environ.* 30, 126-132. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14176>.
- Van Wyk, J.A., Bath, G.F., 2002. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Vet. Res.* 33, 509-529. <https://doi.org/10.1051/vetres:2002036>.
- Whitley, N.C., Cazac, D., Rude, B.J., Jackson-O'Brien, D., Parveen, S., 2009. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. *J Anim Sci.* 87, 723-8. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1031>.
- Williams, R., 2002. Ultrasound applications in beef cattle carcass research and management. *J. Anim. Sci.* 80, E183–E188. https://doi.org/10.2527/animalsci2002.80E-Suppl_2E183x.
- Wojcik, R., 2010. Effect of brewers' yeast (*saccharomyces cerevisiae*) extract on selected parameters of humoral and cellular immunity in Lambs. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 54, 181-187.

CAPÍTULO 3

CONCLUSÃO/ IMPACTO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O uso de probiótico pode ser uma alternativa para diminuir a utilização de medicamentos antiparasitários, que estão cada vez mais perdendo a eficácia. Neste estudo, observou-se que o uso do probiótico DBR SACCH® nos dois grupos tratados, resultou em uma redução no número de OPG dos nematoides GTI e manteve as melhores proporções de ED, ou seja, houve uma melhora na consistência fecal destes cordeiros. Os parâmetros bioquímicos, histológicos e mensurações zootécnicas não se alteraram com esta suplementação probiótica. Este estudo acrescentou informações relevantes sobre o efeito do produto DBR SACCH® sobre a incidência de diarreia e infecção parasitária em cordeiros, o que poderá contribuir para estudos futuros complementares.

Visando um melhor entendimento sobre a ação dos probióticos sobre o desempenho e saúde gastrintestinal dos cordeiros, sugere-se que novas abordagens sejam necessárias para estudar a eficácia deste aditivo, tais como:

- Aumentar o tempo de administração do produto, para que se possa observar maiores efeitos no desempenho zootécnico e de saúde dos animais.
- Estudar a resposta imune através do leucograma, dosando citocinas e anticorpos específicos.
- Verificar efeitos sobre outros tecidos do trato gastrintestinal, como por exemplo o rúmen e o intestino delgado.
- Padronização da raça e sexo.
- Aumentar o número de animais para cada grupo experimental.
- Introduzir uma infecção parasitaria experimental, controlando a ingestão de larvas L3 pelos animais.
- Recuperação de parasitos presentes em todo trato gastrintestinal.

Referências bibliográficas

Alaqil AA, Abbas AO, El-Beltagi HS, El-Atty HKA, Mehaisen GMK, Moustafa ES. Dietary Supplementation of Probiotic *Lactobacillus acidophilus* Modulates Cholesterol Levels, Immune Response, and Productive Performance of Laying Hens. *Animals (Basel)*. 2020;6;10(9):1588.

Allen HK, Levine UY, Looft T, Bandrick M, Casey TA. Treatment, promotion, commotion: Antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends Microbiol*. 2013;21:114-119.

Amarante AFT, Barbosa MA, Oliveira MR, Carmello MJ, Padovani CR. Efeito da administração de Oxfendazol, Ivermectina e Levamisole sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. *Braz. J Vet Res Anim. Sci*. 1992;38(29):31-38.

Ayala-Monter MA, Hernández-Sánchez D, González-Muñoz S, Pinto-Ruiz R, Martínez-Aispuro JA, Torres-Salado N, Herrera-Pérez J, Gloria-Trujillo A. Growth performance and health of nursing lambs supplemented with inulin and *Lactobacillus casei*. *AJAS*. 2019;32(8):1137-1144.

Bayatkouhsar J, Tahmasebi AM, Naserian AA, Mokarram RR, Valizadeh R. Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and *lactobacilli* of young dairy calves. *Anim Feed Sci Technol*. 2013;186:1-11.

Boirivant M, Strober W. The mechanism of action of probiotics. *Curr Opin Gastroenterol*. 2007;23,679–692.

Bomba A, Jonecová Z, Košćová J, Nemcová R, Gancarčíková S, Mudroňová D, Buleca V, Lazar G, Pošivák J, Mareková M. The improvement of probiotics efficacy by synergistically acting components of natural origin: A review *Biologia*. 2006;61, 729–734.

Bomba A, Nemcová R, Mudroňová D, Guba P. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Sci Technol*. 2002;13,121–126.

Brasil. Instrução normativa Nº 13, de 30 de novembro de 2004. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Brasília, DF, 2004.

Chaucheyras F, Fonty G, Gouet P, Bertin G, Salmon JM. Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell® SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can J Microbiol.* 1996;42(9):927-933.

Chaucheyras-Durand F, Durand H. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef Microbes.* 2010;1,3–9.

Deng W, Dong XF, Tong JM, Zhang Q. The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poult Sci.* 2012;91(3):575-82.

Desnoyers M, Giger-Reverdin S, Bertin G, Duvaux-Ponter C, Sauvant D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *JDS.* 2009;92(4):1620-1632.

Echevarria F, Borba MFS, Pinheiro AC, Waller PJ, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brasil. *Vet Parasitol.* 1996;62:199-206.

Elghandour M, Tan Z, Abu Hafsa S, Adegbeye M, Greiner R, Ugbogu E, Cedillo Monroy J, Salem A. *Saccharomyces cerevisiae* as a probiotic feed additive to non and pseudo-ruminant feeding: a review. *J Appl Microbiol.* 2020;128:658-674.

FAO (Food and Agriculture Organization); WHO (World Health Organization). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2001.

Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Microbiol.* 1989;66:365-378.

Hu S, Cao X, Wu Y, Mei X, Xu H, Wang Y, Zhang X, Gong L, Li W. Effects of probiotic *Bacillus* as an alternative of antibiotics on digestive enzymes activity and intestinal integrity of piglets. *Front Microbiol.* 2018;9(2427):1–9.

Huis in't Veld J, Shortt C. Selection criteria for probiotic micro-organisms. In: Leeds AR & Rowland IR (Eds) *Gut Flora and Health - Past, Present and Future*. London: The Royal Society of Medicine Press; 1996; 19-26.

ICMR-DBT (Indian Council of Medical Research - Department of Biotechnology). ICMR-DBT guidelines for evaluation of probiotics in food. *Indian J Med Res.* 2011;134(1):22-25.

Kritas SK, Govaris A, Christodoulopoulos G, Burriel AR. Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. *J Vet Med A*. 2006;53(4):170–173.

Kritas SK, Marubashi T, Filioussis G, Petridou E, Christodoulopoulos G, Burriel AR, Tzivara A, Theodoridis A, Pískoriková M. Reproductive performance of sows was improved by administration of a sporing bacillary probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102). *J Anim Sci*. 2015;93:405–413.

Maamouri O, Selmi H, M'hamdi N. Effects of Yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) Feed Supplement on Milk Production and its Composition in Tunisian Holstein Friesian Cows. *SAB*. 2014;45(3):170-174.

Maragkoudakis PA, Mountzouris KC, Rosu C, Zoumpopoulou G, Papadimitriou K, Dalaka E, Hadjipetrou A, Theofanous G, Strozzi GP, Carlini N, Zervas G, Tsakalidou E. Feed supplementation of *Lactobacillus plantarum* PCA 236 modulates gut microbiota and milk fatty acid composition in dairy goats - a preliminary study. *Int J Food Microbiol*. 2010;141:S109–S116.

Modesto M, Aimmo MRD, Stefanini I, Trevisi P, Filippi S, De Casini L, Mazzoni M, Bosi P, Biavati B. A novel strategy to select Bifidobacterium strains and prebiotics as natural growth promoters in newly weaned pigs. *Livest Sci*. 2009;122:248–258.

Musa HH, Wu S, Zhu C, Seri H, Zhu G. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *J Anim Vet Adv*. 2009;8:313–321.

Niciura SCM, Moraes CV, Cruvinel GG, Alemán Gainza Y, Albuquerque ACA, Santana RCM, Tholon P, Tizioto PC, Chagas ACS, Esteves SN, Benavides MV, Amarante AFT. Análise genômica da resistência ao monepantel e investigação epigenética em *Haemonchus contortus*. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento - Embrapa Pecuária Sudeste*. 2018;43:1-94

Nocek JE, Kautz WP, Leedle JA, Allman JG. Ruminant supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 2002;85(2):429-33.

Oliveira PA, Ruas JL, Riet-Correa F, Coelho ACB, Santos BL, Marcolongo-Pereira C, Sallis ESV, Schild AL. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. *Pesq Vet Bras*. 2017;37:797-801.

Parvez S, Malik KA, Kang SAh, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol.* 2006;100:1171–1185.

Pinto NB, Gaspar EB, Minho AP, Domingues R, de Moura MQ, Junior ASV, Capella GA, Dos Santos PA, da Costa CM, Leite FPL. *Saccharomyces cerevisiae* (YT001) supplementation for the control of *Haemonchus contortus* and modulation of the immune response of sheep. *Benef Microbes.* 2020;27(2):175-181.

Prado-Rebolledo OF, Delgado-Machuca JJ, Macedo-Barragan RJ, Garcia-márquez LJ, Morales-Barrera JE, Latorre JD, Hernandez-Velasco X, Tellez G. Evaluation of a selected lactic acid bacteria-based probiotic on *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* colonization and intestinal permeability in broiler chickens. *Avian Pathol.* 2017;46(1):90–94.

Rexroad C, Vallet J, Matukumalli LK, Reecy J, Bickhart D, Blackburn H, Boggess M, Cheng H, Clutter A, Cockett N, Ernst C, Fulton JE, Liu J, Lunney J, Neiberghs H, Purcell C, Smith TPL, Sonstegard T, Taylor J, Telugu B, Eenennaam AV, Tassell CPV, Wells K. Genome to Phenome: Improving Animal Health, Production, and Well-Being - A New USDA Blueprint for Animal Genome Research 2018-2027. *Front Genet.* 2019;10:327.

Rose H, Rinaldi L, Bosco A, Mavrot F, de Waal T, Skuce P, Charlier J, Torgerson PR. Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. *Vet Rec.* 2015.

Silva NC, Lima AS, Silva CR, Brito DR, Cutrim-Junior JA, Milhomem MN, Costa-Junior LM. In vitro and in vivo activity of hydrolyzed *Saccharomyces cerevisiae* against goat nematodes. *Vet Parasitol.* 2018;254:6-9.

Singh B, Jingar SC, Singh N, Kumar A, Bugaliya HL. Effect of dietary supplementation of probiotics on juvenile growth and economics of goat production. *J Bio Innov.* 2015;4(2):44-48.

Tannock GW. Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Tibtech.* 1997;15:270-274.

Thornton PK. Livestock production: recent trends, future prospects. *Phil Trans R Soc B.* 2010;365(1554):2853–2867.

Timmerman HM, Mulder L, Everts H, van Espen DC, Van der Wal E, Klaassen G, Rouwers SM, Hartemink R, Rombouts FM, Beynen AC. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J Dairy Sci.* 2005;88:2154-2165.

Tona, G. Current and Future Improvements in Livestock Nutrition and Feed Resources In: Yucel B, Taskin T. *Animal Husbandry and Nutrition*, IntechOpen, 2018, pp. 147-169.

Torres-Acosta JFJ, Mendoza-de-Gives P, Aguillar-Caballero AJ, Cuellar-Ordaz JA. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Vet Parasitol.* 2012;189:89-96.

Ülger Ý. Effects of pre-weaning probiotic treatments on growth performance and biochemical blood parameters of Holstein calves. *Indian J Anim Res.* 2019;(53):644-647.

Waller PJ. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. *Vet Parasitol.* 2006;139:1-14.

ANEXO (S)



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA

TÍTULO DA PESQUISA	EFEITO DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO NO DESEMPENHO E SAÚDE DE CORDEIROS EM CRESCIMENTO E NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA RUMINAL		
Nº DO PARECER / VERSÃO	01883 – Versão I		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL	Cristina Santos Sotomaior		
ESPECIE DO ANIMAL	Ovis aries	Nº DE ANIMAIS	42
NOME COMUM DO ANIMAL	Ovinos	Nº SISBIO (animais de vida livre)	Não se aplica
SEXO / IDADE / PESO	60 dias, com cerca de 20 kg	ATIVIDADES (animais de vida livre)	Não se aplica
ORIGEM DO ANIMAL	FEGA	GP TAXONÔMICOS (animais de vida livre)	Não se aplica
DATA DE INÍCIO DA PESQUISA	Abril de 2020	LOCAL (IS) (animais de vida livre)	Não se aplica
DATA DE TÉRMINO DA PESQUISA	Março de 2022	Nº SISGEN	Não se aplica
APRESENTAÇÃO DO PROJETO	<p>Demanda dos consumidores por produtos de origem animal de alta qualidade (em termos de saúde, segurança e respeito ao bemestar animal) está aumentando (Caroprese et al., 2016). Os ovinocultores enfatizam a produção de carne, o que exige alta produtividade do rebanho, principalmente no que se refere à reprodução, visando aumentar a taxa de parição, de fecundação, o ganho de peso e a diminuição da taxa de mortalidade dos cordeiros (Mori et al., 2006). Para que esses objetivos sejam alcançados é essencial que a nutrição seja adequada, gerando uma melhor fermentação ruminal, minimizando distúrbios ruminais e excluindo patógenos (Seo et al., 2010). O emprego de técnicas corretas no manejo nutricional, sanitário e melhorias nos índices reprodutivos devem ser metas a serem alcançadas para que a ovinocultura cresça e atinja os índices desejados (Garcia et al., 2003; Medina e Natel, 2010). Os parasitos gastrointestinais são considerados uma das principais causas de redução da lucratividade da indústria de ruminantes devido ao comprometimento do ganho de peso corporal e à produção de leite e lã (Lins et al. 2020).</p>		
OBJETIVO DA PESQUISA	<p>O objetivo geral deste projeto é avaliar os efeitos sobre o desempenho produtivo, qualidade da microbiota ruminal e grau de infecção parasitária de cordeiros submetidos à inclusão de probióticos na dieta. Objetivos específicos são: Avaliar os efeitos da inclusão de probióticos na dieta de cordeiros desmamados nos parâmetros de desempenho animal: ganho médio diário (GMD), consumo de matéria seca (CMS), conversão alimentar (CA) e rendimento de carcaça. Avaliar os aspectos clínicos dos cordeiros por meio de análises hematológicas e bioquímicas. Verificar se os probióticos modificaram a mucosa ruminal e abomasal de cordeiros. Avaliar os efeitos da inclusão de probióticos na dieta de cordeiros desmamados, na contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Avaliar o efeito do probiótico sobre o grau de infecção parasitária de cordeiros naturalmente infectados. Avaliar o efeito do probiótico na incidência de diarreia. Avaliar os efeitos da inclusão de probióticos na dieta de cordeiros desmamados no microbioma ruminal e fecal. Comparar o microbioma ruminal com o microbioma fecal.</p>		

RISCOS E ATITUDES MITIGATÓRIAS	Os ovinos são animais acostumados ao trato diário e habituados à rotina de pesagem, colheita de fezes, avaliação do escore corporal e Famacha sendo, portanto, de fácil manejo. As colheitas de sangue não são empregadas com frequência, contudo, para realização deste procedimento os animais serão contidos manualmente em estação, por pessoas treinadas (médico veterinário), e a colheita de sangue será rápida e simples, provocando dor/estresse leve aos animais. O pessoal envolvido na manipulação dos animais é habituado ao manejo com a espécie e foram devidamente treinados, e assim, o risco físico aos pesquisadores envolvidos durante o manejo dos cordeiros será mínimo. Serão realizadas ações preventivas para que os animais não manifestem dor e estresse, tais como: contenção animal adequada, colheita de amostras por médico veterinário treinado e com experiência na área. Caso o animal manifeste estresse ou dor, a colheita será imediatamente suspensa. Não se justifica o uso de fármacos de controle de dor, uma vez que as colheitas são pouco invasivas e a aplicação do fármaco (injetável) ocasionaria mais estresse e dor do que a própria colheita da amostra.
CONSIDERAÇÕES SOBRE A PESQUISA	Pesquisa relevante.
CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA	Todos os termos de apresentação obrigatória foram submetidos e estão de acordo.
RECOMENDAÇÕES	Os riscos para os pesquisadores são mínimos, apenas descrever quais são; mencionar stress leve no item 27; mencionar o probiótico no item 38.
CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES	Nada a declarar.
CONSIDERAÇÕES FINAIS	O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 6.899/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA sendo aprovado pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado. Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar uma emenda à CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização.
SITUAÇÃO DO PARECER	APROVADO

CURITIBA, 18 de JUNHO de 2020

PROF. DR. SÉRGIO LUIZ ROCHA

Coordenador CEUA-PUCPR

A validade deste documento pode ser confirmada pelo e-mail ceua@pucpr.br informando o número do parecer.

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil

Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br