

EFEITO DA ADIÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* E *Saccharomyces cerevisiae* AO LEITE INTEGRAL OU SUCEDÂNEO NO DESEMPENHO DE BEZERROS(AS) DA RAÇA HOLANDESA DURANTE E APÓS O ALEITAMENTO

PAULA MARQUES MEYER

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **ALEXANDRE VAZ PIRES**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Ciência Animal e Pastagens.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Março - 2000

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Meyer, Paula Marques

Efeito da adição de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* ao leite integral ou sucedâneo no desempenho de bezerros (as) da raça Holandesa durante e após o aleitamento / Paula Marques Meyer. - - Piracicaba, 2000.

89 p. : il

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000.
Bibliografia.

1. Aleitamento 2. Bezerro leiteiro 3. Desempenho animal 4. Leite integral 5. Nutrição animal 6. Probiótico 7. Sucadâneo do leite I. Título

CDD 636.2085

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

DEDICO

À minha mãe, que já partiu há tanto tempo, mas me deixou toda a sua vasta cultura, e por mais que eu tente, parece que nunca chegarei aos seus pés. E de quem herdei a personalidade, a perseverança e o caráter.

Ao meu pai, meu melhor amigo, quem na sua simplicidade e humildade, me ensinou acima de tudo, à respeitar ao próximo e à amar a terra e à todos os animais. Parece que aprendi bem a lição. Talvez bem até demais! Não é?

Aos meus irmãos Júnia, Lino e Cássio, as pessoas que mais me apoiaram e confiaram em mim e apostaram que, um dia, eu seria um "bom" alguém. E especialmente à minha irmã Júnia, quem me ensinou e até hoje me lembra que "sonhar não paga imposto", ainda...

Aos meus sobrinhos Walter, Gabriel, Laura e Beatriz, meus grandinhos e pequenininhos, dos quais nunca estou por perto, para vê-los crescer. Infelizmente...

À minha prima Andréia, quem sempre seguiu meus passos, e que daqui por diante caminhará ao meu lado.

**“Ando devagar porque já tive pressa
E levo este sorriso porque já chorei demais.
Hoje me sinto mais forte
Mais feliz, quem sabe,
Eu só levo a certeza
De que muito pouco sei,
Ou nada sei....”**

(Almir Sater e Renato Teixeira)

AGRADECIMENTOS

Ao professor, orientador e amigo Doutor Alexandre Vaz Pires, pela dedicação e orientação na execução deste trabalho; pela amizade, calma, e principalmente paciência nas horas difíceis e por ensinar que "à tudo se dá um jeito".

Ao professor Doutor Paulo Fernando Machado, pelo incentivo e ensinamentos, e por acreditar em minha capacidade de trabalho e me dar um grande voto de confiança ao aceitar em ser meu orientador no doutoramento.

Ao Doutor José Manuel Correia de Simas, pelas sugestões na elaboração da dissertação, e quem apesar do pouco convívio, me fez confiar em mim mesma.

Ao professor Doutor Wilson Roberto Soares Mattos pela amizade, e boa vontade em esclarecer minhas dúvidas e pelo sorriso sempre presente no rosto.

À professora Doutora Maria Cristina Stolf Nogueira e professor Doutor Irineu Umberto Packer pelo auxílio tão valioso na análise estatística, que foi seguido fielmente, e sem o qual não seria possível a elaboração desta dissertação.

À amiga Adriana Regina Bagaldo, por "tudo" que passamos juntas e pelo nosso amor aos animais, que tantas vezes nos fez sofrer. Que continuemos a ajudá-los sempre, com todo nosso coração.

Ao grande amigo Paulo Henrique Mazza Rodrigues, pelo carinho, paciência e "silêncio" com que sempre me tratou e por explicar 3, 4, 5 vezes as coisas mais simples e que mesmo assim eu demorava a entender. Muito obrigada!!!

Aos meus melhores amigos Lívio Nakano e Ana Cláudia Martins Ducatti, por tentarem entender a minha distância, ausência, angústia e estresse, destes 2 anos que passei por aqui.

Aos meus companheiros de todas as horas, Ariel, Gargamel, Calvin (tão distante), Félix (em memória), Adoniran Barbosa (em memória), Margarida e Maria Chiquinha por me darem tanto carinho e aceitarem que eu também lhes desse em troca. Eu lhes amo muito!!! E à todos, que **com certeza** ainda virão...

Ao amigo Carlos Cesar Alves do laboratório de Bromatologia da ESALQ/USP pela competência, paciência e calma que teve em me ensinar tudo o que eu precisava, e que realmente era muito.

À amiga e secretária Cleide Ely Martins do Departamento de Produção Animal, pela alegria e boa vontade comigo em todos os momentos.

À Fazenda Pinhalzinho por permitir a execução deste experimento e por me acolher durante um ano. Aos proprietários, em especial Sr Amaldo Lima, à todos os funcionários do escritório, em especial Sr Antônio, e à todos do estábulo, em especial Ana, Roque, Chico André e Jair, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho. À amiga Stela, quem cuidou da Adriana e de mim como se fosse nossa mãe, nos mínimos detalhes. À vocês, todo o meu carinho!

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e Universidade de São Paulo por me acolherem desde 1991. E espero que continuem me acolhendo por mais alguns anos.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de pós-graduação.

À Sul Mineira e Prolac, pelo fornecimento do concentrado e sucedâneo.

À Biotecnal, pelo fornecimento do probiótico.

À todos os bezerros do experimento, com os quais aprendi muito!!!! E dos quais cuidei como se fossem filhos.

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	ii
SUMÁRIO	iv
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMO	xii
SUMMARY	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Probiótico x Antibiótico.....	3
2.2 A microbiota intestinal e seu efeito protetor.....	4
2.3 Conceitos de probiótico.....	6
2.4 Composição de probióticos utilizados.....	7
2.5 Modo de ação do probiótico no organismo animal.....	8
2.6 Resultados práticos com probiótico.....	11
2.7 Características de um bom probiótico.....	12
2.8 A inconsistência da eficácia dos probióticos.....	14
2.9 Especificação de probiótico.....	15
2.10 Indicação dos probióticos.....	16
2.11 Características gerais de microrganismos.....	16
2.11.1 <i>Lactobacillus</i> sp.	16
2.11.2 <i>Enterococcus</i> sp.	17
2.11.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sp.	17
2.12 Uso de probióticos em bezerros.....	18
2.12.1 Uso de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Enterococcus faecium</i>	18
2.12.2 Uso de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	25
2.12.3 Uso de <i>Bacillus subtilis</i>	26

2.12.4	Uso de <i>Bifidobacterium</i> sp.	29
2.12.5	Uso de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1	Local e período de realização do experimento.....	32
3.2	Período, delineamento experimental e tratamentos.....	32
3.3	Manejo dos animais.....	33
3.3.1	Sistema de criação.....	33
3.3.2	Manejo Inicial.....	33
3.3.3	Aleitamento.....	33
3.3.4	Fornecimento de concentrado e água.....	35
3.3.5	Fornecimento e especificação do probiótico.....	37
3.3.6	Vacinações.....	38
3.4	Mensurações e amostragens.....	38
3.4.1	Pesagem dos animais.....	38
3.4.2	Consumo de concentrado.....	38
3.4.3	Amostragem dos alimentos.....	38
3.4.4	Avaliação das fezes.....	39
3.5	Processamento e análise das amostras.....	40
3.6	Análise estatística.....	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1	Desempenho pré-desmama.....	43
4.1.1	Ganho de peso diário.....	43
4.1.2	Consumo de concentrado e consumo de matéria seca total.....	48
4.1.3	Conversão alimentar.....	51
4.1.4	Peso vivo à desmama.....	54
4.1.5	Idade à desmama.....	56
4.1.6	Consistência das fezes.....	58
4.2	Desempenho pós-desmama.....	65
4.2.1	Ganho de peso diário.....	65
4.2.2	Consumo diário de matéria seca de concentrado.....	66
4.2.3	Conversão alimentar.....	67

	Página
4.2.4 Peso ao final do experimento.....	69
4.2.5 Consistência fecal.....	72
4.3 Taxa de mortalidade.....	76
5 CONCLUSÕES.....	78
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 01. Composição bromatológica do leite integral e do sucedâneo do leite	34
Tabela 02. Composição básica e eventuais substitutos do sucedâneo	35
Tabela 03. Composição do concentrado fornecido aos bezerros, com base na matéria seca.....	36
Tabela 04. Composição bromatológica do concentrado comercial fornecido aos animais.....	37
Tabela 05. Esquema da análise de variância em delineamento inteiramente ao acaso com peso ao nascer e data de nascimento do bezerro como covariáveis e sexo como fator de restrição	42
Tabela 06. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros até a desmama	57
Tabela 07. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros até a desmama	57
Tabela 08. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros até a desmama	63
Tabela 09. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros até a desmama	64
Tabela 10. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros após a desmama	71
Tabela 11. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros após a desmama	71

	Página
Tabela 12. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros após a desmama.....	75
Tabela 13. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros após a desmama.....	75
Tabela 14. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a taxa de mortalidade (TM).....	77
Tabela 15. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a taxa de mortalidade (TM).....	77

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01 - Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o ganho de peso (kg/dia) até a desmama.....	47
Figura 02 - Efeitos do fornecimento do probiótico e tipo de dieta líquida sobre o consumo de concentrado e matéria seca total (kg/dia) até a desmama.....	50
Figura 03 - Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a conversão alimentar até a desmama.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

CA	- conversão alimentar (kg CMS/kg GP)
CA15	- conversão alimentar nos 15 dias após a desmama
CC	- consumo de matéria seca de concentrado
CC15	- consumo de matéria seca de concentrado nos 15 dias após a desmama
CMS	- consumo de matéria seca total
Contr.1	- efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias
Contr.2	- efeito de sucedâneo aos 3 contra sucedâneo aos 15 dias
CP	- com probiótico
CV	- coeficientes de variação
EE	- extrato etéreo
EPM	- erro padrão da média
FB	- fibra bruta
FDA	- fibra em detergente ácido
FDN	- fibra em detergente neutro
GP	- ganho de peso
GP15	- ganho de peso nos 15 dias após a desmama
ICF	- índice de consistência fecal
ID	- idade à desmama
IE1	- incidência do escore fecal 1
IE2	- incidência do escore fecal 2
IE3	- incidência do escore fecal 3
IE4	- incidência do escore fecal 4
MM	- matéria mineral
MO	- matéria orgânica
MS	- matéria seca
PB	- proteína bruta

PD	- peso à desmama
PFIM	- peso ao final do experimento
Prob(leite)	- efeito de probiótico dentro de dieta com leite
Prob(S15)	- efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 15 dias
Prob(S3)	- efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 3 dias
S15	- sucedâneo a partir dos 15 dias
S3	- sucedâneo a partir dos 3 dias
SEV	- severidade de diarreia
SP	- sem probiótico
TM	- taxa de mortalidade
UFC	- unidades formadoras de colônia
vs.	- versus

EFEITOS DA ADIÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* E *Saccharomyces cerevisiae* AO LEITE INTEGRAL OU SUCEDÂNEO NO DESEMPENHO DE BEZERROS (AS) DA RAÇA HOLANDESA DURANTE E APÓS O ALEITAMENTO

Autora: PAULA MARQUES MEYER

Orientador: Prof. Dr. ALEXANDRE VAZ PIRES

RESUMO

Setenta e nove bezerros da raça Holandesa recém-nascidos foram utilizados para avaliar os efeitos da adição de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* ao leite integral ou sucedâneo. Quarenta e quatro machos e 35 fêmeas foram distribuídos num delineamento inteiramente ao acaso, com um arranjo fatorial de tratamentos 3X2. Os fatores foram: 1- leite integral: sucedâneo ao 3º dia ou sucedâneo ao 15º dia de idade; 2- adição de probiótico: ausência de probiótico. O peso ao nascer e a data de nascimento no experimento foram utilizados como covariáveis e o sexo como fator de restrição. Os animais permaneceram no experimento durante o período compreendido entre o nascimento e 15 dias após a desmama. Concentrado inicial e água foram fornecidos "ad libitum" desde o primeiro dia de vida. Pesagens dos animais e da sobra de concentrado foram realizadas semanalmente. Amostras do leite integral foram coletadas duas vezes diariamente, e de concentrado e sucedâneo semanalmente. Os objetivos do presente estudo foram avaliar os efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros(as).

O fornecimento de probiótico a bezerros(as) aleitados(as) com sucedâneo a partir dos 3 dias de idade, melhorou o ganho de peso e conversão alimentar até a desmama, sendo que após a desmama melhorou a conversão alimentar. Os bezerros aleitados com

sucedâneo consumiram mais concentrado em relação aos que receberam leite integral, mas consumiram menos matéria seca total e apresentaram menor peso à desmama. Entretanto, após a desmama os bezerros que foram aleitados com sucedâneo consumiram menos concentrado do que os bezerros aleitados com leite integral. Quando o sucedâneo foi iniciado aos 3 dias de idade, os bezerros apresentaram maior consumo de concentrado e menor peso à desmama, menos diarreia até a desmama e melhor consistência fecal durante e após o aleitamento em relação aos bezerros aleitados com sucedâneo aos 15 dias. A idade à desmama, o ganho de peso após a desmama e peso ao final do experimento, assim como a taxa de mortalidade não foram afetados pelos fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida .

**EFFECTS OF *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* AND
Saccharomyces cerevisiae ADDITION TO WHOLE MILK OR MILK REPLACER
ON HOLSTEIN CALVES PERFORMANCE PRE AND POSTWEANING**

Author: PAULA MARQUES MEYER

Adviser: Prof. Dr. ALEXANDRE VAZ PIRES

SUMMARY

Seventy nine newborn Holstein calves were used to evaluate the effects of *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* and *Saccharomyces cerevisiae* addition to whole milk or milk replacer. Forty four males and 35 females were assigned at birth to a completely randomized design with a 3X2 factorial arrangement of treatments. Factors were: 1- whole milk: milk replacer at 3 days of age: milk replacer at 15 days of age; 2- probiotic supplemented vs. non supplemented. Birth weight and birth date were used as covariates and sex as a restriction factor. The animals remained on trial until 15 days after weaning. Starter and water were offered "ad libitum" from the first day of age. Calves and starter orts were weighed weekly. Whole milk was sampled daily and starter and milk replacer weekly. The objective of the present trial was to evaluate the effects of probiotic addition to different liquid diets.

Probiotic supplementation to calves fed milk replacer at 3 days of age improved preweaning daily body gain and feed conversion, and postweaning feed conversion. The milk replacer fed calves had higher starter intake, but lower dry matter intake and the lowest weight at weaning. However, milk replacer fed calves consumed less starter compared to whole milk fed calves. When milk replacer was started at 3 days, calves had higher starter intake, lower weight at weaning, less diarrhea preweaning and greater fecal consistency pre and postweaning than when milk replacer was started at 15 days. Weight

at weaning, post weaning daily body gain and weight at the end of trial, as well as, mortality rate were not affected by probiotic supplementation and liquid diet.

1 INTRODUÇÃO

Bactérias e microorganismos são de maneira geral associados com doenças, e no entanto apenas um pequeno número se enquadra nesta categoria. Muitas bactérias são benéficas e essenciais à manutenção da saúde animal, de modo que existe um balanço entre bactérias benéficas e patogênicas no trato intestinal, sendo que muitas interações simbióticas e competitivas ocorrem entre elas.

Os animais saudáveis, em geral, caracterizam-se por apresentar um bom funcionamento do aparelho intestinal, o que garante o equilíbrio da microbiota aí presente. Este fator é fundamental na utilização de nutrientes, para um bom desenvolvimento ou mesmo para incremento da produção. Um sistema saudável apresenta um predomínio de bactérias produtoras de ácido láctico, como os lactobacilos e estreptococos. No entanto, o aparente equilíbrio intestinal pode ser quebrado a qualquer hora, como naquelas ocasiões em que o animal fica estressado devido agressões decorrentes do manejo, variações climáticas ou alimentação. O fim deste equilíbrio oferece condições para que bactérias patogênicas se proliferem e provoquem doenças entre as quais a diarreia, causada pela *Escherichia coli*, que abre caminho para um leque de outras enfermidades. E é neste momento que os probióticos podem entrar em ação.

Em quase 20 anos não se ouviu uma voz contrária à dosificação de antibióticos em animais, até que surgiram as primeiras críticas feitas por profissionais ligados à produção animal e à saúde humana. O uso sem critérios e diário deste tipo de medicação acarreta não apenas a destruição das bactérias patogênicas, como também das benéficas. E além disso, a grande preocupação dos pesquisadores está relacionada ao fato de que as bactérias, devido ao emprego indiscriminado e abusivo de antibióticos, criam resistência que pode provocar a diminuição da eficiência do antibiótico, a transmissão para o

homem de bactérias resistentes, via consumo de carnes e derivados, e a permanência de resíduos não-degradáveis destes antibióticos e quimioterápicos nos alimentos de origem animal voltados ao consumo humano.

Os probióticos não são substitutos dos antibióticos e sim uma alternativa eficaz e econômica para que os antibióticos sejam utilizados quando realmente necessários. Fuller (1989) definiu os probióticos como "suplementos alimentares à base de microrganismos vivos, que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o balanço da microbiota intestinal". Deste modo, os probióticos têm efeito exclusivo contra os distúrbios gastrointestinais.

O bezerro sofre maior risco de vida nas primeiras semanas de vida, quando tem de vencer hostilidades do meio ambiente. Em geral, índices de mortalidade de até 5% são considerados normais, do nascimento aos 3 meses de vida (Roy, 1970). Segundo Lucci (1989), a diarreia dos neonatos é a maior causa de perda de bezerros novos. Seu tratamento geralmente é difícil por ser raro diagnosticar-se o fator causal com precisão e rapidez. Deste modo, os probióticos podem substituir os antibióticos apenas nas seguintes situações: como promotores de crescimento, inibindo o desenvolvimento de bactérias gram-negativas, e no tratamento de diarreias alimentares e/ou bacterianas quando utilizados no início do aparecimento dos sintomas. Quando o desequilíbrio é muito agudo, se faz necessário o tratamento mais drástico proporcionado pelo uso de antibióticos. Neste caso, o uso associado com probiótico é aconselhável como fator de repovoamento da microbiota intestinal, depois do saneamento promovido pelos antibióticos.

O presente trabalho teve por finalidade estudar os efeitos da adição do probiótico constituído por *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* ao leite integral ou sucedâneo de leite, na alimentação de bezerros(as) sobre os seguintes parâmetros: ganho de peso, consumo de concentrado e de matéria seca, conversão alimentar, idade e peso à desmama e ao final do experimento, ocorrência de diarreia e mortalidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Probiótico x Antibiótico

A disponibilidade dos antibióticos nos anos de 1950 resultou em seu difundido uso como agentes terapêuticos e promotores de crescimento para animais domésticos. Desde aquele tempo, tem crescido a preocupação de que o uso dos antibióticos como promotores de crescimento, resultem no desenvolvimento de populações de bactérias resistentes, o que faz do uso subsequente dos antibióticos uma dificuldade para terapia. O seu uso como suplemento alimentar animal foi reduzido em 1969, quando as recomendações resultaram na restrição do uso de antibióticos promotores de crescimento para apenas aqueles que não eram usados no tratamento de doenças. Desde então, os antibióticos permitidos e outros suplementos alimentares químicos têm sido amplamente usados. Recentemente, contudo, eles têm sido usado sob exames cuidadosos e renovados devido a grupos de pressão “anti-aditivo”.

Existe também uma reação contra o uso de antibióticos como agentes terapêuticos por causa das indisposições intestinais que freqüentemente seguem o tratamento oral com estes agentes. Apesar de serem efetivos na cura das doenças para as quais eles são prescritos, o efeito sobre a microbiota nativa intestinal pode persistir após o término do tratamento (Fuller, 1989).

A preocupação crescente sobre se o uso de antimicrobianos, especialmente antibióticos à base de fluoroquinolona, em produtos de origem animal apresenta risco para a saúde humana, continua a chamar a atenção de especialistas em saúde humana e animal, da indústria animal e autoridades. Os antimicrobianos são ferramentas valiosas contra doenças infecciosas para ambos, humanos e animais, e portanto devem ser usadas

prudente e especificamente. De acordo com Muirhead (1997), o uso excessivo de antimicrobianos, especialmente como promotores de crescimento em animais destinados ao consumo humano, apresenta um risco crescente para a saúde humana e deveria ser reduzido. O autor ainda sugere que práticas saudáveis na criação animal podem reduzir a necessidade do uso de antibióticos e que os antibióticos nunca devem ser usados como substitutos para uma higiene inadequada.

A possibilidade da diminuição ou término do uso dos antibióticos como promotores de crescimento para animais de produção e a preocupação sobre os efeitos colaterais do seu uso como agentes terapêuticos, têm produzido um clima nos quais ambos, consumidores e fabricantes, estão procurando alternativas. Probióticos estão sendo considerados para preencher este papel e alguns produtores já os estão usando em preferência aos antibióticos (Fuller, 1989).

Segundo Speck (1976), o fornecimento dos lactobacilos resultou do aumento do uso de antibióticos. Enquanto a terapia com antibióticos frequentemente diminui a população de lactobacilos no trato intestinal com o conseqüente desconforto intestinal, o provimento de *Lactobacillus acidophilus* ao trato intestinal resulta em um retorno acelerado à normalidade na microbiota intestinal e subsequente conforto corporal.

De acordo com Abe et al. (1995), os antibióticos são comumente usados em suplementos alimentares para animais. Uma das razões principais para o seu uso na alimentação, é seu efeito protetor contra infecções causadas por bactérias patogênicas. Espera-se que o uso dos probióticos melhore o ganho de peso corporal, a conversão alimentar e a saúde dos animais, porque estes promovem a estabilidade de uma microbiota intestinal benéfica e inibem o crescimento das bactérias patogênicas.

2.2 A microbiota intestinal e seu efeito protetor

A sobrevivência dos organismos probióticos no intestino depende de possuírem fatores de colonização que lhes permite resistir aos mecanismos antibacterianos (químicos e físicos) que operam no intestino.

A microbiota estável que se desenvolve no intestino ajuda os animais a resistir às infecções, particularmente no trato gastrointestinal. O fenômeno tem sido descrito por vários autores e recebido tais designações: antagonismo bacteriano (Freter, 1956), interferência bacteriana (Dubos, 1963), resistência à colonização (Van der Waaij et al., 1971), e exclusão competitiva (Lloyd et al., 1977). A melhor evidência para este efeito protetor da microbiota intestinal origina-se da observação que animais livres de germes são mais susceptíveis à doença do que os animais convencionais com a microbiota intestinal equilibrada (Fuller, 1989).

A microbiota protetora que se estabelece sozinha no intestino é muito estável, mas pode ser influenciada por alguns fatores ambientais e da dieta. Os três mais importantes são: higiene excessiva, terapia com antibióticos e estresse (Fuller, 1989). Sob condições ideais, quando a microbiota intestinal nativa está completa, ela está disponível para carrear estas funções de proteção contra doenças e digestão de nutrientes. Infelizmente, existem circunstâncias onde a microbiota intestinal se torna esgotada ou perturbada e é sob estas condições, que os suplementos probióticos têm seu efeito máximo. A higiene excessiva por sua vez, afeta desfavoravelmente a microbiota intestinal, o que para as pessoas envolvidas em criação de animais jovens, pareceria infringir as regras de uma boa criação. Apesar da higiene poder ser um meio de prevenir o contato com patógenos, também pode impedir que animais jovens adquiram sua microbiota protetora (Fuller, 1986). Em épocas de estresse, tal como a desmama, o balanço da microbiota intestinal também pode se tornar perturbado e desordens na função digestiva são prováveis de ocorrer (Sissons, 1989).

Segundo Savage (1972), os microrganismos associados ao trato intestinal são divididos em dois grupos. Os microrganismos autóctones são aqueles que são nativos e colonizam uma região particular do trato intestinal após o nascimento, se multiplicam a altos níveis logo após a colonização, permanecendo por toda a vida nos hospedeiros saudáveis e bem nutridos. Os microrganismos não-autóctones da microbiota nativa colonizam o trato intestinal dos animais vivendo em uma determinada área, mas podem não estar em todos os indivíduos de uma determinada espécie. Assim, certas bactérias

parecem ser específicas para uma determinada espécie de hospedeiro por toda a vida e ser independentes dos fatores ambientais.

Os microrganismos vivendo em íntima relação com o hospedeiro podem produzir efeitos fisiológicos que envolvem o meio dentro do trato intestinal em diferentes lugares, bem como as interações dos diferentes microrganismos da microbiota. Estes efeitos podem ser sutis ou óbvios, dependendo das condições individuais dentro de cada hospedeiro. As interações fisiológicas com a sua biota autóctone deve ter conseqüências importantes para a saúde e bem estar do animal (Savage, 1972).

2.3 Conceitos de probiótico

A palavra “probiótico” criada por Parker em 1974, foi derivada de duas palavras gregas significando “a favor da vida” e contrasta com uma palavra mais familiar “antibiótico” que significa “contra a vida”. Paradoxalmente, o efeito probiótico pode ser dependente da atividade antibiótica das bactérias dentro dos suplementos probióticos. De acordo com a definição original de Parker, probióticos são “organismos e substâncias que contribuem para o balanço microbiano intestinal”. Esta definição abrangia culturas microbianas, células microbianas e metabólitos microbianos e este último grupo incluía preparações de antibióticos comerciais. Esta definição era muito ampla e se pretendeu assim apenas incluir as suspensões de culturas microbianas e produtos brutos de cultura microbiana. O termo “probiótico” generalizou-se como "suplementos alimentares para animais", mas que também incluía o uso de iogurte para consumo humano (Fuller, 1986). O seu uso em animais visa a melhoria da saúde e do desempenho do animal, enquanto que em humanos, a preocupação está voltada para a saúde e o bem estar geral.

Segundo o conceito mais recente de Fuller (1988 e 1989), probióticos são “suplementos alimentares à base de microorganismos vivos, que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o balanço da microbiota intestinal”. A base do conceito de utilização de probióticos é a manipulação da microbiota intestinal, que influencia benéficamente a saúde do animal hospedeiro e também melhora sua nutrição e crescimento.

2.4 Composição de probióticos utilizados

Os probióticos podem ser apresentados aos animais sob várias formas. O tipo de preparação dependerá do tipo de uso pretendido. Eles podem ser incluídos no alimento peletizado ou produzidos na forma de cápsulas, pasta, pó ou grãos, os quais podem ser fornecidos para os animais diretamente ou indiretamente, através de seu alimento (Fuller, 1989).

Os probióticos atualmente utilizados são freqüentemente bactérias que não se originam das espécies hospedeiras às quais eles serão fornecidos. Existe ultimamente um movimento, a favor da introdução do conceito de especificidade do hospedeiro dentro do projeto dos probióticos. Este avanço enfoca a importância da habilidade do microrganismo em colonizar o intestino do animal que o está ingerindo (Fuller 1988). Duas características importantes à este respeito são: *a)* aderência ao epitélio intestinal que pode permitir a colonização de organismos de crescimento lento e, *b)* capacidade de crescer no ambiente intestinal. Um colonizador de sucesso deve ser capaz de utilizar os substratos disponíveis e resistir a agentes antibacterianos presentes no meio (Fuller, 1986).

Quase todos os probióticos atualmente contêm lactobacilos e/ou enterococos, sendo que poucos contêm bifidobactérias. Preparações de probióticos podem consistir de estirpes simples ou pode conter até 8 estirpes. A atração pelas preparações de múltiplas estirpes se deve ao fato delas serem ativas contra uma gama mais ampla de condições e dentro de uma gama maior de espécies animais.

Fuller (1989) descreve as espécies atualmente usadas em preparações comerciais de probióticos: *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *Enterococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Bifidobacterium* sp. e *Escherichia coli*. Com duas exceções, estas são todas cepas intestinais. As duas exceções, *L. bulgaricus* e *E. thermophilus*, são organismos produtores de iogurte.

Lactobacilos e enterococos são os grupos geralmente mais utilizados na produção de probióticos. A justificativa para o uso de lactobacilos se origina de estudos que

mostram que quando a microbiota intestinal se desenvolve após o nascimento, à medida que os lactobacilos aumentam, outros componentes da microbiota diminuem (Smith, 1965). Já é sabido que as bactérias produtoras de ácido lático são capazes de produzir uma ampla gama de substâncias anti-bacterianas, que podem operar no intestino suprimindo o crescimento de bactérias depressoras de crescimento ou patógenos como *Escherichia coli* (Fuller, 1988). Este efeito inibitório foi encontrado também por Paulo (1991) sobre *E. coli* enteropatogênica de origem suína.

Alguns probióticos contêm *Bacillus subtilis* utilizado combinado com outros microrganismos, ou isolado e às vezes associado a leveduras e enzimas.

2.5 Modo de ação do probiótico no organismo animal

Os efeitos benéficos dos probióticos podem ser mediados por um efeito antagônico direto contra grupos específicos de organismos, resultando na redução de suas células viáveis, através da produção de compostos antibacterianos, competição por nutrientes ou por sítios de adesão no intestino. Os efeitos benéficos ainda podem ser sobre o metabolismo microbiano, aumentando ou diminuindo a atividade enzimática, ou ainda pela estimulação da imunidade do hospedeiro, aumentando os níveis de anticorpos ou a atividade dos macrófagos (Fuller, 1989).

De acordo com Sissons (1989), vários mecanismos sobre como as bactérias produtoras de ácido lático podem inibir a colonização do intestino pelos coliformes têm sido investigados. Entre estes mecanismos estudados, estão os seguintes:

- Inibição de proliferação de bactérias patogênicas pela produção de ácidos orgânicos, redução do pH e produção de substâncias antibióticas.

O crescimento de bactérias de fermentação láctica está usualmente associado à produção de grande quantidade de ácidos orgânicos (principalmente lactato e acetato) e redução do potencial de oxiredução (Sharpe, citado por Chaves, 1997). Mantendo o pH baixo, há produção secundária de produtos metabólicos (peróxido de hidrogênio,

diacetil, amônia e ácido graxos) e proteínas antimicrobianas (bacteriocinas) (Vincent et al., 1959) – que são inibidoras de certos esporos e bactérias patogênicas (Daeschel, citado por Chaves, 1997).

Bacteriocinas são substâncias que atuam como antibióticos, mas de espectro bastante limitado, uma vez que têm efeito sobre estirpes da mesma espécie ou de espécies próximas. Embora só recentemente tenham sido estudadas em bactérias lácticas, a razão porque as bacteriocinas são produzidas parece intimamente ligada a questões de ecologia microbiana. O que merece ser estudado e o que tem chamado a atenção de pesquisadores é que em bactérias lácticas, as estirpes capazes de produzir bacteriocinas, embora apresentem um tempo de geração maior do que estirpes da mesma espécie sensíveis a ela, são resistentes a situações de estresse e adversas a um crescimento normal. Parece que estas culturas resistiriam melhor às barreiras naturais encontradas no trato intestinal (Ferreira, 1988).

O ácido láctico exerce ação bactericida ou bacteriostática sobre diversos organismos, particularmente sobre bactérias esporulantes. A atividade bactericida é dependente da concentração hidrogeniônica (pH 4,2) e da concentração do ácido láctico (Rasic & Kurmann, citados por Chaves, 1997).

De acordo com Macias et al. (1993), bactérias produtoras de ácido láctico têm uso potencial na prevenção de diferentes infecções, pois ao alimentar ratos com leite fermentado a partir de lactobacilos, estes mostraram uma resistência mais alta à infecções por *E. coli* e *Listeria*.

Lactobacilos também são conhecidos por produzir peróxido de hidrogênio, que tem ação bactericida *in vitro* ou podem ativar o sistema lactoperoxidase-tiocianato (LP). Uma estirpe de *Lactobacillus lactis*, selecionada com base em sua capacidade de produção de peróxido de hidrogênio, foi relatada por ativar o sistema LP no abomaso de bezerros. A sobrevivência significativa de bactérias coliformes somente ocorreu quando o equilíbrio do sistema LP foi invertido pela adição de um agente redutor (Reiter et al., 1980).

- Antagonismo competitivo.

Sissons (1989) relata que a aderência à parede intestinal é essencial para que estirpes de *E. coli* que produzem enterotoxinas possam induzir diarreia. Deste modo, a competição dos lactobacilos com os coliformes pelos pontos de aderência na superfície intestinal é uma hipótese atrativa e importante. Acredita-se assim que é esta ligação que auxilia a sua proliferação e reduz a remoção peristáltica destes organismos probióticos. Ainda segundo Sissons (1989), os movimentos peristálticos do intestino removem grande parte destes coliformes que não aderem à superfície intestinal. Existe também certa competição nutricional entre microorganismos probióticos e patogênicos ou indesejáveis. A colonização da parede intestinal por bactérias patogênicas geralmente resulta na destruição das microvilosidades intestinais, diminuindo desta forma, a capacidade de absorção de nutrientes. Wilson & Perini (1988) relatam que apesar de outros mecanismos não poderem ser excluídos, a competição por componentes não identificados da microbiota intestinal e por carboidratos específicos é pelo menos parcialmente responsável pela supressão de *Clostridium difficile* no ceco de ratos normais.

- Neutralização de toxinas ou inibição da produção de substâncias tóxicas ao organismo animal.

Pesquisas com *Lactobacillus bulgaricus* em suínos mostraram que este microorganismo produz um metabólito capaz de neutralizar o efeito de enterotoxinas produzidas por coliformes. Leitões alimentados com uma cultura de *L. bulgaricus* (tomados não-viáveis com ácido láctico), e artificialmente desafiados com *E. coli*, cresceram mais e apresentaram menos diarreia comparados aos animais-controle (Mitchell e Kenworth, 1976). Atividade anti-enterotoxigênica também foi constatada em experimentos com bezerros (Schwab et al., 1980).

Hill et al. (1970a) comentam que coliformes e outras bactérias no intestino de suínos tem a habilidade de descarboxilar aminoácidos, podendo produzir aminas que

têm propriedades tóxicas, ou talvez causar efeitos farmacológicos subclínicos. Apesar da toxicidade *in vivo* não ter sido demonstrada, a maior produção de aminas no trato intestinal de leitões jovens foi observada pouco antes da desmama, a qual coincidiu com o começo da diarreia (Hill et al., 1970b).

- Estímulo ao sistema imunológico e a produção de vitaminas.

Por ocasião da desmama, a imunidade resultante da exposição do intestino a uma variedade de antígenos, como bactérias patogênicas e proteínas dietéticas, é importante para a defesa de animais jovens contra infecções entéricas. A ingestão de *Lactobacillus acidophilus* por animais livres de germe elevou os níveis de proteínas totais do soro e de leucócitos (Pollmann et al., 1980).

Perdigon et al. (1990), em seus estudos, demonstraram a importância do prévio fornecimento de algumas bactérias produtoras de ácido láctico na proteção contra *Salmonella typhimurium* pelo aumento da imunidade da mucosa intestinal. Eles também demonstraram que o fornecimento de *Lactobacillus casei* pode induzir a uma melhora da resposta anti-enteropatogênica, controlando e prevenindo desordens entéricas no uso humano e veterinário.

2.6 Resultados práticos com probiótico

Segundo Fuller (1989), os resultados práticos com probióticos se manifestam sobre:

- promoção de crescimento dos animais domésticos: os probióticos têm sido usados como promotores de crescimento para substituir o uso de antibióticos. Contudo, existem poucos trabalhos publicados de experimentos de campo bem controlados;
- efeito sobre infecções intestinais;
- diminuição da intolerância à lactose em humanos;
- alívio da constipação;
- inibição da síntese de colesterol;

- atividades anti-tumorais: segundo Friend & Shahani (1984) e Ferreira (1988), as propriedades dos lactobacilos contra os tumores se dão através da inibição da carcinogênese, pela inativação ou inibição da formação de compostos carcinogênicos no trato intestinal (colo); da inibição da proliferação das células do tumor; dos efeitos sobre os reparos de DNA produzidos por células carcinogênicas e pelo aumento da capacidade imunológica do hospedeiro.

2.7 Características de um bom probiótico

Fuller (1989) relata que resultados positivos com probióticos podem ser demonstrados experimentalmente, apesar da variação apresentada pelos resultados obtidos em testes de campo. Um dos problemas seria a própria natureza do fenômeno. A variação é grande, pois o probiótico opera revertendo os fatores de estresse que podem estar presentes ou não. Um outro problema que têm ocorrido com algumas das preparações comerciais é o mau controle de qualidade.

Ainda segundo o autor, as características de um bom probiótico são:

- deve ser capaz de aderir ao epitélio intestinal;
- a estirpe deve ser capaz de exercer um efeito benéfico sobre o animal hospedeiro, aumentando o crescimento ou a resistência às doenças;
- deve ser não-patogênico e não-tóxico;
- deve ser apresentado na forma de células viáveis, de preferência em grandes números, apesar de não ser conhecida a dose mínima efetiva;
- deve ser capaz de sobreviver e ser funcional no ambiente intestinal, além de ser resistente ao pH baixo e aos ácidos orgânicos;
- deve ser estável e capaz de permanecer viável por longos períodos sob armazenagem e condições de campo, uma vez que são conservados principalmente por congelamento (Gontijo, 1992);
- deve ser cultivável em escala industrial.

Tal probiótico com todas estas características tem vantagens consideráveis sobre suplementos antibacterianos atualmente em uso. Eles não induzem resistência a

antibióticos, não comprometendo assim uma futura terapia, quando esta se faz necessária. Eles não são tóxicos e portanto não produzem efeitos colaterais indesejáveis quando forem fornecidos e, em caso de produtos animais, não produzirão resíduos tóxicos na carcaça. Contudo, a evidência disponível sugere que mesmo com uma seleção cuidadosa da estirpe baseada na adesão epitelial, taxa de crescimento e antagonismo bacteriano *in vitro*, os efeitos produzidos depois do término do tratamento são apenas de duração limitada.

A produção de um probiótico capaz de colonizar permanentemente o intestino e assim necessitar apenas uma administração limitada seria ideal, mas este fato é difícil de ser alcançado na prática. Parece portanto, que o melhor método de administração é o fornecimento contínuo. Isto assegura que o probiótico esteja presente no intestino em grandes números e seja capaz de metabolizar e produzir seus efeitos probióticos. Contudo, mesmo com a administração contínua, é importante a seleção de estirpes com a máxima habilidade de sobreviver no intestino, e recomenda-se também prestar atenção aos fatores de colonização, tais como adesão epitelial e taxa de crescimento (Fuller, 1989).

Quando os microorganismos são utilizados com a finalidade de repor a microbiota intestinal, há necessidade de que sobrevivam às barreiras naturais existentes. Até ao trato intestinal, várias são as barreiras que deverão transpor, dentre estas pode-se citar o suco gástrico, cujo poder inibitório se resume principalmente ao pH e na concentração do ácido clorídrico, e também a presença de enzimas como a lisozima, que atua de maneira deletéria sobre certos grupos de microorganismos (Klaenhammer, 1982). No trato intestinal os microorganismos, além de resistirem a estas barreiras naturais, precisam também ser resistentes aos sais biliares, para que possam se estabelecer, desenvolver e promover as modificações esperadas neste ambiente com baixas tensões superficiais (Gilliland et al., 1984).

2.8 A inconsistência da eficácia dos probióticos

Sissons (1989) comenta sobre a existência de uma abundância de literatura comercial, que afirma que o fornecimento de probiótico a suínos, faz com que estes superem desordens provenientes de estresse e melhoram as taxas de crescimento.

Infelizmente, experimentos científicos usando organismos probióticos têm freqüentemente falhado em demonstrar os efeitos benéficos pela alteração do balanço entre as bactérias produtoras de ácido láctico e coliformes; pelo controle da diarreia, ou pela melhoria no desempenho do crescimento (Hill et al., 1970(a); Pollmann et al., 1980).

Em uma revisão sobre a eficácia dos probióticos, Fuller (1986) propôs várias razões pelas quais os organismos probióticos poderiam fracassar e não alcançar respostas benéficas. Estas incluem a não aderência ao tecido epitelial gástrico e intestinal, a incapacidade de crescer no ambiente intestinal e a falta de especificidade com o hospedeiro.

- Crescimento na dieta e digesta.

Para os microorganismos sobreviverem e crescerem no intestino, eles precisam ser tolerantes à bile. Uma comparação entre a habilidade de várias estirpes de *Lactobacillus acidophilus* de crescer em um meio de cultura com e sem suco biliar mostrou considerável variação entre as estirpes (Gilliland et al., 1984). A adição da bile ao meio de cultura resultou na diminuição da taxa de crescimento de todas as estirpes testadas. Estudos subsequentes *in vivo* de duas estirpes de *L. acidophilus* mostraram que a tolerância à bile estava ligada com o grande número de lactobacilos encontrado no jejuno de bezerros.

- Importância da contagem fecal.

Pesquisadores freqüentemente usam as mudanças relativas nas contagens fecais de lactobacilos e coliformes para avaliar a eficácia do probiótico. Mas segundo Pollmann et al. (1980), as medidas fecais não são indicadores satisfatórios do comportamento destes organismos em outros locais do trato gastrointestinal.

- Danos aos tecidos causados por reações aos antígenos da dieta.

Evidências de reações inflamatórias do intestino a antígenos da dieta foram relatadas em bezerros alimentados com substitutos do leite (Sissons et al., 1984). É possível que as bactérias produtoras de ácido láctico não sejam capazes de aderir às células epiteliais danificadas pelas respostas imunes contrárias. Assim, estudos de colonização dos probióticos deveriam levar em conta as interações da dieta na superfície da mucosa (Sissons, 1989).

2.9 Especificação de probiótico

Segundo Sissons (1989), a boa colonização do trato gastrointestinal pelas bactérias probióticas, exige que os organismos tenham vários atributos. As principais características incluem a capacidade de adesão às células epiteliais e o rápido crescimento numa digesta de composição continuamente variável. Os estudos até agora sugerem que espécies simples de bactérias não sejam capazes de crescer em ambos, estômago e intestino, apesar de que seja possível para alguns microorganismos sobreviver nestes ambientes diferentes. É portanto desejável selecionar várias espécies ou estirpes de bactérias, de acordo com sua capacidade de se multiplicar em diferentes regiões do trato digestivo.

No estômago, um organismo deve aderir às células epiteliais da região não secretora; secretar quantidades adequadas de ácido láctico para reduzir o pH da digesta gástrica a um pH menor que 4,5; resistir às concentrações fisiológicas de ácido clorídrico e crescer rapidamente na digesta que contém uma variedade de alimentos intactos e parcialmente digeridos. Para uma boa colonização do intestino, os organismos probióticos devem se ligar às células epiteliais e tolerar altas concentrações de bile no intestino delgado proximal e ácidos orgânicos voláteis no intestino grosso. Também, por causa do trânsito relativamente rápido através do intestino delgado, o organismo deverá se multiplicar rapidamente na digesta intestinal.

Pesquisas indicam que algumas estirpes de *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium* tem se apresentado apropriados em crescer no intestino delgado

(Fuller, 1986). Segundo Reiter et al. (1980), outra espécie que merece consideração é *Lactobacillus lactis*, uma vez que este organismo apresenta potencial para produzir peróxido de hidrogênio. O *Lactobacillus lactis*, de acordo com Muralidhara et al. (1977), também pode prevenir a proliferação de coliformes e controlar diarreia em leitões jovens.

2.10 Indicação dos probióticos

De acordo com Paulo (1993), o probiótico pode ser indicado nos seguintes casos:

- recomposição da microbiota intestinal, quando o animal é submetido a tratamentos por antibióticos e quimioterápicos;
- controle das diarreias neonatais e pós-desmama de suínos originadas por bactérias enteropatogênicas;
- combate de salmonelas e outros organismos agentes de infecções intestinais em aves;
- melhoria do estado geral de saúde do animal;
- redução de substâncias tóxicas no trato intestinal produzidas pelos elementos putrefativos;
- promoção do crescimento por aumentar a conversão alimentar dos animais;
- nos casos de diarreias, anomalias intestinais agudas ou crônicas, recomenda-se aumentar a dosagem.

2.11 Características gerais de microrganismos

2.11.1. *Lactobacillus* sp.

Os *Lactobacillus* sp. pertencem ao grupo das bactérias produtoras de ácido láctico (Davis, 1955). Segundo Sorrels & Speck (1970), são comumente presentes em alimentos, produtos lácteos e matéria vegetal, assim como na boca e no trato gastrointestinal de todos mamíferos.

Morfológicamente, os *Lactobacillus* sp. variam de bastonetes longos e delgados a cocobacilos curtos, não patogênicos e não formadores de esporos. São gram-positivos, tornando-se gram-negativos com a idade da cultura e com a acidez produzida no meio de cultura, sendo quase todas as espécies imóveis. Produzem mais de 85% de ácido láctico a partir da glicose e também uma certa percentagem de ácido acético, etanol e dióxido de carbono (Rogosa, 1974).

2.11.2 *Enterococcus* sp.

Os *Enterococcus* sp. são bactérias esféricas que normalmente se apresentam em formação de cadeia, os quais convertem os açúcares metabolizados pelos mesmos em ácido láctico. Kawai et al., citados por Stewart & Chesson (1993), afirmam que o local predominante de colonização pelos *Enterococcus* sp. é o trato digestivo posterior.

Os *Enterococcus* sp. são gram-positivos, imóveis, não formam esporos, sendo que a temperatura e o pH ideais para crescimento é de 37°C e 7,2 a 7,6 respectivamente, e são facultativos quanto à presença de oxigênio (Guerreiro et al., 1974).

A espécie de *Enterococcus* comumente comercializada como probiótico é a *Enterococcus faecium* e segundo, Lewenstin et al. (1979), esta espécie é considerada não patogênica e dentro da faixa de pH, normalmente encontrada no trato digestivo inferior, apresenta um intervalo de geração semelhante ao da *E. coli*, sendo deste modo três vezes mais rápida do que o *Lactobacillus acidophilus*.

2.11.3. *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura é um microrganismo predominantemente unicelular e apresenta um grau de complexidade intermediário entre as bactérias e os fungos filamentosos. Desta forma, esta única célula têm capacidade de existência independente, onde todas as reações químicas essenciais à sua sobrevivência, reprodução e transmissão de suas características hereditárias são executadas harmoniosamente (Vassalo, 1995).

Segundo Kilberg (1972), a *Saccharomyces cerevisiae* tem a habilidade de crescer em altas temperaturas e condições adversas, possuem um alto conteúdo protéico, apresentam intervalo de geração muito curto, podendo dobrar sua massa em um intervalo de tempo de 1-3 horas.

De acordo com Cruz (1990), o interesse dos pesquisadores em incluir as leveduras na ração animal deve-se ao seu alto teor protéico, vitamínico e baixo custo.

2.12 Uso de probióticos em bezerros

Nota-se uma grande escassez de trabalhos sobre o uso de probióticos para bezerros leiteiros e ultimamente poucas pesquisas têm sido apresentadas.

Nos trabalhos publicados, os probióticos utilizados variam bastante de gêneros e espécies de microrganismos. De maneira geral, o produto, comercial ou não, é composto por uma mistura destes microrganismos, e não apenas por uma única espécie.

2.12.1 Uso de *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium*

De um modo geral, os probióticos fornecidos a bezerros leiteiros que apresentam *Enterococcus faecium* em sua composição, estão associados a *Lactobacillus acidophilus*. Portanto, estes dois microrganismos serão revisados em conjunto, sendo às vezes difícil distinguir seus modos de ação, uma vez que não foram encontradas publicações apenas sobre *Enterococcus faecium*.

Os benefícios potenciais dos lactobacilos foram enfatizados por Speck (1976), incluindo a supressão do crescimento de coliformes, implantação no trato intestinal, decréscimo de problemas gastrointestinais e diarreia. Segundo o autor, a ocorrência dos lactobacilos no trato intestinal começa no momento do nascimento e continua através da vida do hospedeiro, mas alguns fatores influenciam esta presença.

Morrill et al. (1977) objetivaram determinar quais eram as vantagens do fornecimento de antibióticos para bezerros, num rebanho com uso prolongado de baixos níveis de antibióticos na dieta, e assim, examinar os efeitos da alimentação com leite

fermentado com duas espécies de organismos *Lactobacillus* e determinar se estes organismos poderiam ser usados para substituir os antibióticos nas dietas de bezerros jovens. Neste experimento, bezerros da raça holandesa foram destinados ao nascimento a quatro tratamentos diferentes recebendo: leite pasteurizado ou leite inoculado, cada um com ou sem antibiótico. O leite inoculado foi preparado pela inoculação de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus lactis* no leite pasteurizado e incubado a 37°C por 24 horas, e então refrigerado a 10°C até a sua utilização. Os bezerros alimentados com antibióticos receberam 83 mg de oxitetraciclina no leite, uma vez ao dia. A duração do teste foi de 5 semanas. Neste experimento, a oxitetraciclina aumentou o ganho de peso dos animais. Pelos dados, não foi possível determinar o modo de ação.

O fornecimento do leite inoculado com *Lactobacillus* aparentemente não foi benéfico. Ao contrário, os bezerros que receberam leite inoculado consumiram menos ração inicial, e houve uma tendência, apesar de estatisticamente não significativa, deles ganharem menos peso e terem fezes mais soltas. Nas circunstâncias deste experimento, eles assumiram que nenhum dos dois organismos foi benéfico. Deste modo, eles concluíram que a rotina de fornecimento de culturas de *Lactobacillus* para bezerros não é aconselhável e que baixos níveis de antibiótico na dieta antes da desmama pode aumentar o consumo de alimentos e ganho de peso (mesmo que por uso prolongado). E que, quando as doenças digestivas não são problemáticas, o uso de antibióticos pode não se justificar economicamente. O mesmo resultado já tinha sido encontrado por Morrill et al. (1974).

Resultados semelhantes também foram encontrados por Hatch et al. (1973), onde observou-se que o fornecimento de organismos *Lactobacillus acidophilus* não foi benéfico aos bezerros. No entanto, seus procedimentos experimentais foram diferentes, uma vez que eles forneceram uma preparação seca diretamente aos bezerros, enquanto que os autores do trabalho anterior inocularam previamente o leite com as bactérias.

Alguns trabalhos sugerem uma especificidade do hospedeiro entre as estirpes de *Lactobacillus acidophilus*, com respeito ao seu estabelecimento em determinadas espécies. Portanto, Gilliland et al. (1980), utilizando bezerros recém-nascidos compararam a capacidade do *Lactobacillus acidophilus*, isolado do trato intestinal

humano e do trato intestinal de bezerro, em influenciar o número de bactérias coliformes e lactobacilos que aparecem nos intestinos de bezerros leiteiros jovens.

O grupo controle de bezerros recebeu leite integral pasteurizado não contendo lactobacilos. Os bezerros do segundo grupo receberam leite integral pasteurizado contendo células de *Lactobacillus acidophilus* C-28 (isoladas do intestino de bezerros jovens), e bezerros de um terceiro grupo receberam leite similar contendo células de *L. acidophilus* NCFM (isoladas do trato intestinal humano). O teste durou 14 dias, a partir do terceiro dia de vida. Amostras fecais foram coletadas de cada bezerro nos dias 1, 7 e 14. Os resultados mostraram que houve uma tendência dos lactobacilos aparecerem em número maior nos intestinos e fezes de bezerros que receberam *Lactobacillus acidophilus* C-28 do que de bezerros que receberam a estirpe NCFM ou leite controle. O efeito do fornecimento de leite contendo a estirpe C-28 foi ainda mais aparente quando as identidades dos lactobacilos nas fezes foram comparadas. Desta forma, bezerros que receberam *L. acidophilus* C-28 exibiram significativamente mais *L. acidophilus* em suas fezes do que os bezerros que receberam a estirpe NCFM ou leite controle. Isto indica que *L. acidophilus* de origem de bezerro se estabilizou mais efetivamente no trato intestinal do bezerro do que o de origem humana. A falta de estabelecimento do *L. acidophilus* NCFM nos bezerros pode ter sido devido a falta de compatibilidade com o trato intestinal destes animais. Contudo, o autor sugere que a fonte de *L. acidophilus* deveria ser considerada cuidadosamente na seleção de uma cultura como adjunto dietético, para funcionar eficientemente no trato intestinal.

Por causa da popularidade dos probióticos em sistemas de alimentação animal, várias formas deste produto têm surgido, os quais consistem em produtos contendo lactobacilos viáveis (vivos) e não viáveis (mortos). O uso de probióticos viáveis, geralmente tem sido favorecido pela capacidade destas bactérias em colonizar com sucesso o trato intestinal (Roach et al., citados por Higginbotham & Bath, 1993). O fornecimento de lactobacilos viáveis tiveram resultados positivos em alguns estudos (Bechman et al., 1977 e Gilliland et al., 1980), mas não em outros (Jenny et al., 1991 e Morrill et al., 1977). O mecanismo de ação do probiótico não viável não é entendido. Alguns de seus benefícios podem ser mediados pelo animal hospedeiro via um

metabólito que, quando consumido, pode efetuar alguma melhoria na população da microbiota intestinal, alterar a atividade metabólica da microbiota intestinal, neutralizar enterotoxinas de bactérias patogênicas ou ser utilizada diretamente pelo animal (Schwab et al., 1980). Por causa da variação dos modos de ação de probióticos viáveis e não viáveis, produtores de leite estão confusos sobre quais formas de probióticos podem ser mais eficazes.

Por esta razão, dois experimentos de campo foram conduzidos por Higginbotham & Bath (1993), para avaliar a eficiência de probióticos viáveis e não viáveis para bezerros jovens. No primeiro experimento, a eficácia de um probiótico não viável foi investigado, utilizando-se 116 bezerros da raça holandesa. A dieta líquida que os bezerros receberam era uma combinação de sucedâneo e leite de descarte. Os bezerros tratados receberam individualmente uma dose diária de 6 ml (10^8 células de *Lactobacillus acidophilus*/ml) de um probiótico não viável (nome comercial Fast Start). O tratamento foi iniciado com os bezerros aos 2 dias de idade e continuou até os 64 dias. Eles foram pesados em intervalos mensais para determinar o ganho médio de peso e suas fezes foram observadas duas vezes ao dia, durante os primeiros 30 dias de vida. No segundo experimento, foi avaliada a eficácia de probióticos viáveis e não viáveis para bezerros recém-nascidos. Utilizou-se bezerros da raça holandesa, que foram divididos em 3 grupos: 1) controle, 2) PV - probiótico viável (nome comercial All-Lac 20); e 3) PNV - probiótico não viável (nome comercial Fast Start). O grupo PV recebeu não menos que 10^9 células de *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium*. O grupo PNV recebeu 12 ml do produto Fast Start ao nascimento, que continha 10^8 células de *Lactobacillus acidophilus* não viável/ml, e 6 ml do mesmo produto diariamente depois disso. Os bezerros permaneceram no teste por aproximadamente 36 dias. Amostras de fezes foram coletadas de 10 bezerros por grupo experimental, previamente ao tratamento, aos 7, 14 e 28 dias para determinação da contagem de coliformes totais, lactobacilos e enterococos.

Sob as condições destes experimentos, o uso de probióticos viáveis e não-viáveis não afetou significativamente o desempenho dos bezerros. Segundo os autores, as razões para esta ausência de resposta permaneceram obscuras, e devido ao fato de que os dois

experimentos foram conduzidos em clima quente, fatores ambientais podem ter mascarado os benefícios do fornecimento de probióticos. Contudo, pelo fato das altas temperaturas ambientais poderem causar efeitos estressantes sobre os bezerros, o fornecimento de probiótico poderia ser uma ajuda durante estas condições. Neste estudo, o uso do leite que continha vários antibióticos pode ter atrapalhado a eficácia do fornecimento dos microorganismos. Em um prévio estudo *in vitro* (Quinlan, 1990), antibióticos como penicilina, clortetraciclina, e tilosina tenderam a inibir o crescimento de uma cultura mista de *Lactobacillus acidophilus* e *Enterococcus faecium* similarmente àqueles usados no grupo PV do experimento anterior. Conclui-se que, se o leite contendo antibióticos for utilizado em combinação com probiótico viável para bezerros, os produtores de leite podem não alcançar os benefícios potenciais de um fornecimento de probiótico, por causa de sua possível sensibilidade ao antibiótico. Portanto, são necessárias pesquisas mais aprofundadas para explorar a interação entre os antibióticos e os aditivos alimentares microbianos.

Entretanto, Ruppert et al. (1994) também conduziram seus experimentos durante o verão, adicionando à dieta dos bezerros (sucedâneo à 10% do peso corporal) um probiótico (nome comercial Fastrack) contendo uma combinação de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus cerevisiae*. Estes relataram que os bezerros que receberam probiótico, sob condições de estresse no período de verão, expressaram um desempenho melhor, apresentando maior ganho de peso em relação ao grupo controle, enquanto que no período da primavera não houve diferença significativa entre os grupos.

Já, em um outro estudo conduzido por Cruywagen et al. (1996), os autores recomendam o uso profilático de probióticos apenas durante as duas primeiras semanas de vida, especialmente para os bezerros que recebem apenas sucedâneo, ou para os bezerros criados sob condições de manejo inadequadas. Neste experimento, o probiótico usado continha também uma combinação de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus cerevisiae* e *Enterococcus faecium*. Um grupo recebeu apenas sucedâneo e um outro grupo o probiótico adicionado ao sucedâneo. O período experimental foi de 6 semanas, sendo que os bezerros foram pesados semanalmente.

Como os bezerros são vulneráveis e bastante suscetíveis a doenças durante as primeiras semanas de vida, o efeito benéfico aparente do probiótico durante as duas primeiras semanas deste teste apoiaria a recomendação do uso profilático do probiótico para bezerros com menos de duas semanas de idade. Uma vez que o ganho de peso médio diferenciou-se ($P < 0,01$) durante a segunda semana de vida, resultou assim em uma diferença em ganho de peso corporal para as duas primeiras semanas. Os bezerros que receberam apenas sucedâneo perderam 4% do peso corporal inicial durante as duas primeiras semanas, mas os bezerros que receberam probiótico quase mantiveram completamente o peso e perderam apenas 0,8% do peso corporal inicial durante o mesmo estágio. A perda de peso durante a primeira ou segunda semana de vida é um fenômeno freqüentemente observado para os bezerros que são alimentados com sucedâneo (Jaster et al., 1990). A digestibilidade de nutrientes não foi medida neste experimento, portanto o aparente efeito benéfico do probiótico não pôde ser explicado. Neste estudo, o probiótico não teve efeito sobre o peso corporal na desmama, eficiência alimentar ou saúde geral dos bezerros. Não houve diferenças entre os grupos sobre a aparência geral ou resposta ao tratamento para diarreia.

Já os resultados de Alves et al. (1997) diferem dos resultados anteriores obtidos por Cruywagen et al. (1996), levando em conta que os dois experimentos utilizaram sucedâneo em seus tratamentos. Neste estudo, os tratamentos foram os seguintes: 1- leite integral; 2- leite integral + probiótico; 3- sucedâneo e 4- sucedâneo + probiótico. Os resultados mostraram que não houve efeito do probiótico quando utilizado junto ao leite integral, mas a associação sucedâneo + probiótico prejudicou o desempenho dos animais, uma vez que os animais deste tratamento apresentaram menores ($p < 0,01$) ganhos de peso e piores conversões alimentares no período de 1 a 5 semanas de idade. No período de 5 a 9 semanas, não houve diferença para o ganho de peso, embora a conversão alimentar tenha sido pior ($p < 0,01$) para os animais recebendo probiótico no sucedâneo.

Oropeza-Aguilar et al. (1998), com o objetivo de avaliar o efeito de um probiótico comercial sobre a ocorrência de diarreia em bezerros, testaram diferentes concentrações de lactobacilos: 0 (tratamento 1); $0,5 \times 10^7$ UFC (unidades formadoras de

colônia) (tratamento 2); $1,0 \times 10^7$ UFC (tratamento 3) e 1.5×10^7 UFC (tratamento 4). Os tratamentos duraram todo o período de aleitamento, sendo que não foram encontradas diferenças estatísticas para ganho de peso e ocorrência de diarreia entre tratamentos. Em outro estudo conduzido por Harp et al. (1996), em uma propriedade onde a criptosporiose era endêmica, foi administrado a um grupo de bezerros um probiótico a base de bactérias produtoras de ácido láctico, por dez dias a partir do nascimento. Seus resultados também mostraram que não houve diferença estatística entre os grupos sobre a incidência de diarreia e contagem de oócitos de *Cryptosporidium parvum*.

Owen & Larson (1984) também não relataram efeitos pronunciados ao utilizar um produto a base de *Lactobacillus* (nome comercial Probiocin), apesar da boa saúde geral dos bezerros.

Em outro estudo, o fornecimento de colostro fermentado diminuiu a incidência de diarreia em bezerros jovens (Daniels et al., 1977). As razões para o decréscimo da diarreia não são claras. Uma hipótese é que os lactobacilos no colostro fermentado aderem ao trato intestinal e o colonizam, inibindo assim o crescimento de coliformes, tanto por propriedades bactericidas pela produção de ácidos, quanto por outros mecanismos desconhecidos. Segundo Bechman et al. (1977), o fornecimento de uma cultura viável de *Lactobacillus acidophilus*, melhorou a conversão alimentar e reduziu a incidência de diarreia em bezerros leiteiros. Deste modo, o objetivo do estudo de Ellinger et al. (1980) foi o de observar as mudanças na microbiota fecal de bezerros que receberam colostro naturalmente fermentado e o leite tratado com cultura de *Lactobacillus acidophilus* de origem humana. Os resultados obtidos não mostraram diferenças significativas, quanto ao número de coliformes nas fezes, apesar das contagens tenderem a ser mais baixas dos bezerros que receberam dietas fermentadas e dietas suplementadas com *Lactobacillus acidophilus*. Os bezerros que receberam a dieta com *Lactobacillus acidophilus* tiveram um decréscimo linear em coliformes, sugerindo uma ação antagônica em relação aos coliformes ou uma possível implantação de lactobacilos no trato intestinal. Deste modo, os resultados deste estudo sugerem uma

possível relação entre os números de lactobacilos e coliformes nas fezes, particularmente com bezerros que receberam a cultura de *Lactobacillus acidophilus*.

Em um recente experimento sobre o fornecimento de *Lactobacillus acidophilus* para bezerros, Chaves (1997) avaliou os efeitos sobre o número fecal de lactobacilos e coliformes totais, condições das fezes, consumo alimentar, ganho de peso, digestibilidade aparente, teste de xilose e vários constituintes sanguíneos. O fornecimento do *Lactobacillus acidophilus* (LT 516) para bezerros com até 56 dias de idade, criados sob boas condições sanitárias, permitiu concluir que: 1) não houve diferença na contagem fecal de lactobacilos facultativos e coliformes totais; 2) os desempenhos zootécnicos dos animais foram satisfatórios em consumo alimentar, digestibilidade aparente e ganho de peso e 3) os animais tratados com LT 516 apresentaram menor número de coliformes totais no intestino delgado. Os autores então concluíram que o uso de *Lactobacillus acidophilus* não foi vantajoso em criações sob boas condições sanitárias.

Ao fornecer um probiótico comercial contendo lactobacilos no momento da desmama (aos 73 dias de idade) para bezerros de corte, Moletta & Perotto (1998) obtiveram bons resultados. Os pesquisadores verificaram que a administração de probiótico reduziu significativamente o número de animais que manifestaram diarreia, de 73,66% para 52,66%, bem como também constataram uma diminuição no número de dias com diarreia para aqueles animais que manifestaram a doença, que foi de 3,2 dias contra 4,2 dias no grupo testemunha. Mas não constataram efeito do probiótico sobre o ganho de peso durante o período imediatamente após o seu fornecimento, ou seja nos 28 dias que os animais ficaram confinados, nem sobre o ganho de peso durante o período total de avaliação, que foi até 242 dias de idade.

2.12.2 Uso de *Lactobacillus bulgaricus*

Schwab et al. (1980) investigaram os efeitos da adição líquida de um produto de fermentação do soro do leite como fonte não viável de *Lactobacillus bulgaricus* (PFL) nas dietas de bezerros jovens sobre a saúde geral e incidência de diarreia, ganhos de

peso corporal, consumo de alimentos, digestibilidade de nutrientes, balanço de nitrogênio e os números de coliformes e lactobacilos fecais. Dois experimentos examinaram a relação entre a dose e a resposta do fornecimento de PFL com (teste 1) e sem (teste 2) o uso profilático de antibióticos na dieta; e um terceiro experimento (teste 3) determinou os efeitos do fornecimento de 0 ou 12 ml/dia de PFL para os bezerros recebendo antibiótico contidos no sucedâneo e uma ração inicial não medicada.

Os resultados sugerem que o fornecimento do produto de fermentação com *Lactobacillus bulgaricus* não viável para bezerros, iniciando-se do 2^o ao 9^o dias de idade, melhoram, sob certas condições dietéticas e ambientais, os ganhos de peso e o consumo de alimento *ad libitum*, particularmente durante o período que antecede ao desmame. O mecanismo de ação do PFL, contudo, não é entendido. As contagens de coliformes e lactobacilos fecais não foram afetadas pelo tratamento, sugerindo que PFL não altera a microbiota do intestino. A digestibilidade dos nutrientes e a utilização de nitrogênio determinadas nas semanas 8 e 10 de idade não foram afetadas.

Os resultados de Davis & Woodward (1978 e 1979) não mostraram evidências de melhoria no crescimento, bem-estar e consumo de alimento pelos bezerros. A discrepância entre estes resultados experimentais e os do estudo anterior, sugere a necessidade de um trabalho mais profundo, antes que o fornecimento rotineiro de fontes não viáveis de *Lactobacillus bulgaricus* (PFL) possa ser recomendado.

2.12.3 Uso de *Bacillus subtilis*

Apesar dos lactobacilos e enterococos serem as espécies mais comumente usadas na produção de probióticos, *Bacillus subtilis* podem ser incluídos como um dos componentes em alguns produtos, (Fuller, 1989 e Sissons, 1989).

Jenny et al. (1991) investigaram os efeitos da adição de *Bacillus subtilis* ao sucedâneo de bezerros desmamados precocemente sobre o desempenho geral, a saúde e os números de organismos seletos fecais. Oitenta e quatro bezerros da raça holandesa foram destinados a três grupos com diferentes tratamentos: 1) nível zero-controle; 2) 10 g de uma mistura de concentrado de culturas microbianas contendo *Lactobacillus*

acidophilus, *Lactobacillus lactis* e *Bacillus subtilis* (nome comercial Biomate FG); ou 3) 10 g de um concentrado de *Bacillus subtilis* (Biomate 2B). Todos os animais foram desmamados abruptamente na quarta semana de idade e mantidos em suas baias individuais até 6 semanas de idade para determinar o desempenho após a desmama. O consumo de sucedâneo e ração inicial foram observados diariamente, como também a incidência e a duração das desordens de saúde. Temperaturas corporais foram tomadas diariamente durante as 4 semanas. Alturas da cernelha foram tomadas e amostras fecais foram coletadas para determinação das contagens de coliformes, *Lactobacillus* e *Bacillus*.

Apesar das taxas de ganho não diferirem significativamente, os bezerros que receberam sucedâneo contendo o concentrado de *Bacillus subtilis* mostraram um ganho maior durante as quatro primeiras semanas. Esta tendência permaneceu durante o período imediato após a desmama, nas semanas 5 e 6. Apesar de não significativo, a eficiência alimentar favoreceu os bezerros que receberam o concentrado de *Bacillus subtilis*. Os bezerros deste grupo apresentaram inicialmente altura maior da cernelha, do que aqueles que receberam o concentrado de mistura microbiana. Apesar de algumas diferenças terem sido notadas na condição das fezes e na temperatura corporal, é improvável que os tratamentos tiveram algum efeito adverso na saúde dos bezerros, pois o consumo e o ganho de peso foram adequados e a saúde geral de todos os bezerros foi boa. Contagens de bacilos e coliformes foram mais altas ($P < 0,05$) na 6ª semana de idade em bezerros que receberam concentrados microbianos quando comparados com os bezerros controle. Sob as condições deste estudo, o uso de concentrados microbianos não apresentou efeito significativo sobre o desempenho dos bezerros. Contudo pode haver uma ligação entre a contagem fecal mais alta de bacilos em bezerros que receberam concentrado microbiano e sua tendência para uma maior taxa de ganho de peso no período imediato após a desmama.

De acordo com Quintero-Gonzalez et al. (1994), o experimento com o mesmo produto comercial Biomate FG foi realizado e resultados semelhantes foram obtidos. Os tratamentos até a desmama foram os seguintes: T1) dieta a base de colostro, T2) colostro + Biomate FG até a desmama, T3) mistura de 50% de colostro e 50% de

sucedâneo do leite + Biomate FG, e T4) colostro + *Lactobacillus acidophilus*. Não foram detectados efeitos significativos sobre o crescimento dos bezerros, eficiência alimentar ou sobre os parâmetros sanguíneos, com exceção à glicose que foi significativamente mais alta para os tratamentos T2 e T4 na desmama.

Gonçalves et al. (1997), testando um probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus lactis* e *Bifidobacterium lifidem*, também não detectaram diferenças estatísticas sobre o ganho de peso diário e altura da cernelha. Não observaram nenhum caso de diarreia ou mortalidade de bezerros em nenhum dos tratamentos, admitindo assim que estes resultados poderiam estar relacionados ao bom estado de saúde dos animais, devido às boas condições ambientais sanitárias e também provavelmente por apresentarem uma microbiota intestinal adequada.

Outro experimento para avaliar os efeitos do fornecimento de um probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis* e *Bacillus subtilis* (Biomate FG) foi conduzido por Morrill et al. (1995). O objetivo era de ajudar a conter os tipos de microorganismos prejudiciais, tentando estabilizar e manter os tipos benéficos no intestino, uma vez que os animais receberam sucedâneo com antibiótico (clortetraciclina). Segundo os autores, o delineamento experimental em blocos pelo peso corporal usado neste experimento não permitiu uma avaliação dos efeitos do antibiótico; contudo, os bezerros freqüentemente apresentam um desempenho melhor quando eles recebem antibióticos (Morrill et al., 1977), especialmente se os bezerros forem transportados por uma distância considerável, fato este que ocorreu neste experimento. De acordo com os resultados obtidos, os autores afirmam que se os antibióticos proporcionam um benefício, os probióticos proporcionam um benefício igual, pois o desempenho dos bezerros que receberam sucedâneo controle (com antibiótico) e daqueles que receberam o sucedâneo com probiótico (sem antibiótico) não diferiram.

Roach & Bringe (1989), utilizando duas estirpes de *Bacillus subtilis* para bezerros, notaram apenas uma pequena melhoria na prevenção da morbidade.

2.12.4 Uso de *Bifidobacterium* sp.

Abe et al. (1995) investigaram os efeitos da administração oral de bifidobactérias (*Bifidobacterium pseudolongum*) e bactérias produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus acidophilus*) sobre bezerros recém-nascidos. Este estudo examinou se a administração destas bactérias seria efetiva em promover o crescimento de bezerros criados sob condições comerciais (com emprego de sucedâneo). Dois experimentos foram realizados para determinar: 1) os efeitos da administração de *Bifidobacterium pseudolongum* M-602 ou *Lactobacillus acidophilus* e 2) os efeitos sobre os bezerros da administração de probióticos sob condições de alimentação sem antibióticos.

Os efeitos destas bactérias sobre o ganho de peso corporal, consumo de matéria seca e conversão alimentar entre os grupos tratados e o controle foram significativos, indicando que as estirpes testadas foram úteis como probióticos. Mas os dados revelam que não houve diferença entre o grupo que recebeu *Bifidobacterium pseudolongum* M-602 e o que recebeu *Lactobacillus acidophilus*. Os autores consideraram que os efeitos benéficos resultam de uma melhoria das condições intestinais, pois a condição das fezes foi melhor para os grupos que receberam probióticos do que para o grupo controle, apesar de não estatisticamente significativo. Sem antibióticos, os efeitos destes probióticos sobre a incidência de diarreia foram especialmente mais pronunciados.

A administração do probiótico foi tão efetiva quanto à de antibióticos para a proteção contra a diarreia causada por bactérias patogênicas. Sem antibióticos, a taxa de sobrevivência do grupo que recebeu probióticos foi imensamente melhorada sobre a do grupo controle. Segundo os autores, este resultado mostra que a microbiota microbiana benéfica do intestino fornece proteção aos animais hospedeiros contra infecções por bactérias patogênicas. Uma razão para estes resultados positivos pode ser o fato de que as bactérias que induzem os efeitos nocivos no hospedeiro não sejam capazes de colonizar a superfície intestinal, uma vez que as bactérias administradas já tenham colonizado espessamente a superfície. Neste estudo, os efeitos das bactérias *Bifidobacterium pseudolongum* e *Lactobacillus acidophilus* foram similares, sendo ambas efetivas na promoção de crescimento dos bezerros. Sendo assim, os autores

concluíram que os probióticos devem ser administrados o mais rápido possível após o nascimento.

Segundo Verdes & Ioanid (1995), a administração de leite de vaca desnatado fermentado por uma cepa de *Bifidobacterium bifidum*, durante os 8 primeiros dias de vida de bezerros, reduziu significativamente a morbidade e mortalidade causadas por gastroenterite do grupo tratado.

2.12.5 Uso de *Saccharomyces cerevisiae*

Devido ao uso de fungos (bolores e leveduras) como probiótico, tem-se usado o termo “Direct Fed Microbials” (microorganismos fornecidos via alimento) em substituição à palavra probiótico.

Cole et al. (1992) conduziram estudos para determinar os efeitos da cultura de levedura sobre a saúde e o desempenho de bezerros sob estresse. Esta cultura foi composta por células vivas de *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados dos experimentos usando a cultura de leveduras em dietas de bezerros sob estresse foram altamente variáveis, do mesmo modo que os resultados usando animais não estressados. Sob algumas circunstâncias, a cultura de leveduras pareceu ter efeitos benéficos sobre a saúde e o desempenho dos bezerros estressados. Contudo, as corretas circunstâncias (meio ambiente, concentrações de minerais e leveduras normais da dieta) ainda precisam ser determinadas. O fornecimento das leveduras aos bezerros estressados não afetou significativamente os seus desempenhos. Já o fornecimento aos bezerros mórvidos reduziu o número de dias de tratamento com antibióticos e aumentou o consumo de alimento. De acordo com os autores, estes efeitos podem ter sido, em parte, devido aos efeitos benéficos sobre o metabolismo mineral (ferro e zinco) e de nitrogênio.

Em outro estudo, Malik & Sharma (1998) forneceram uma mistura probiótica composta por *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus acidophilus* na proporção de 1:1 por 14 semanas. Os resultados mostram que o grupo tratado apresentou maior ganho de peso diário (466,2 vs. 376,5 g - $p < 0.05$) e consumo maior de matéria seca total. A incidência de diarreia foi diminuída em 35,6% no grupo tratado em relação ao grupo

controle. Quando o fornecimento do probiótico foi cessado, o ganho de peso diário e a incidência de diarreia foram similares em ambos grupos, durante as 14 semanas subsequentes. Os pesquisadores então concluíram que a suplementação de mistura probiótica melhora o crescimento de bezerros pré-ruminantes.

Rameshwar et al. (1998), utilizando bezerros cruzados com peso inicial de 88 kg e por volta de 3-4 semanas de idade, administraram ao grupo tratado 10 ml de uma suspensão contendo células vivas (5×10^9 cél./ml) de *Saccharomyces cerevisiae*. Após um estudo de crescimento de 122 dias, foram conduzidos testes de metabolismo. Não foram detectadas diferenças significativas entre consumo de alimentos, digestibilidade de nutrientes, conversão alimentar e retenção de nitrogênio entre os grupos tratado e controle.

Tendo em vista o potencial para a utilização do probiótico em bezerros e que os resultados de experimentos conduzidos são contraditórios, adicionando probiótico à dieta líquida de bezerros, espera-se que estes apresentem melhor desempenho zootécnico comparados aos que não receberam.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e período de realização do experimento

O experimento foi conduzido no bezerreiro da Fazenda Pinhalzinho, no município de Araras, São Paulo, no período de 17 de março a 7 de novembro de 1998.

3.2 Período e delineamento experimental e tratamentos

Foram utilizados 79 bezerros(as) da raça Holandesa com peso médio 35,85kg ($\pm 5,19$), sendo 44 machos e 35 fêmeas, que permaneceram no experimento durante o período compreendido entre o nascimento e 15 dias após a desmama. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente ao acaso, com arranjo fatorial de tratamentos 3X2, correspondendo ao tipo de dieta líquida (leite integral, sucedâneo ao 3º dia ou sucedâneo ao 15º dia de idade), na presença ou ausência do probiótico. O peso ao nascer e data de nascimento dos bezerros foram utilizados como covariáveis e o sexo como fator de restrição.

Os tratamentos utilizados foram:

- 1- Leite integral sem adição de probiótico (LSP).
- 2- Leite integral com adição de probiótico (LCP).
- 3- Sucédâneo iniciado ao 3º dia de idade sem adição de probiótico (S3SP).
- 4- Sucédâneo iniciado ao 3º dia de idade com adição de probiótico (S3CP).
- 5- Sucédâneo iniciado ao 15º dia de idade sem adição de probiótico (S15SP).
- 6- Sucédâneo iniciado ao 15º dia de idade com adição de probiótico (S15CP).

3.3 Manejo dos animais

3.3.1 Sistema de criação

Todos os animais foram mantidos em baias individuais, de modo a evitar o contato direto entre eles. As baias individuais apresentavam piso em ripado de madeira com as seguintes dimensões: 1,0m (altura) X 1,2m (comprimento) X 1,0m (largura). À frente das baias estavam dispostos dois cochos (baldes) para o oferecimento de água e concentrado.

3.3.2 Manejo inicial

Após o nascimento, os animais foram separados das mães, pesados e alojados em baias individuais, quando receberam em torno de 5% do peso vivo de colostro a cada 12 horas até o segundo dia de vida, com a utilização de mamadeira. Os animais que apresentaram dificuldade em mamar, receberam o colostro através de sonda esofágica.

3.3.3 Aleitamento

Após o terceiro dia, os animais passaram a receber 4 litros de dieta líquida diretamente do balde, divididos em 2 vezes ao dia, sendo a primeira refeição às 7 horas e a segunda às 16 horas. A dieta líquida consistiu em leite integral (sem resíduo de antibióticos) a partir do 3º dia, ou sucedâneo do leite a partir do 3º ou 15º dia de vida, com ou sem adição do probiótico. Os animais que receberam sucedâneo a partir do 15º dia receberam leite integral (sem resíduo de antibiótico) até então. A razão do fornecimento de leite integral sem resíduo de antibióticos se deve ao fato de Quinlan (1990) ter afirmado que o seu fornecimento poderia atrapalhar os resultados benéficos esperados com o uso de probiótico.

Os teores médios de extrato etéreo, proteína bruta, matéria mineral e matéria seca total do leite integral e os teores médios de extrato etéreo, proteína bruta, matéria

mineral, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), matéria seca (MS) total e minerais do sucedâneo do leite encontram-se na Tabela 01.

Tabela 01. Composição bromatológica do leite integral e do sucedâneo do leite.

Parâmetros	Leite integral	Sucedâneo
Matéria Seca (%)	11,95	94,45
Extrato Etéreo (% MS)	25,23	16,78
Proteína Bruta (% MS)	23,63	25,81
Matéria Mineral (% MS)	6,06	7,47
FDN (% MS)		6,65
FDA (% MS)		4,64
Fibra bruta (%MS)		1,0
NDT (valor estimado)		84,3
Cálcio (% MS)		1,06
Fósforo (% MS)		0,65
Potássio (% MS)		1,42
Magnésio (% MS)		0,16
Enxofre (% MS)		0,18
Sódio (ppm)		850,0
Cobre (ppm)		12,0
Ferro (ppm)		175,0
Manganês (ppm)		42,0
Zinco (ppm)		49,0
Cobalto (ppm)		0,40

O sucedâneo do leite utilizado foi o produto comercial "Milkolac", produzido pela Prolac. A composição básica e eventuais substitutos, de acordo com as especificações do rótulo, encontram-se na Tabela 02, sendo que a composição em percentagem de cada ingrediente não foi fornecida pelo fabricante.

Tabela 02. Composição básica e eventuais substitutos do sucedâneo

Composição básica	Eventuais substitutos
soro de leite em pó	proteína isolada de soja
concentrado protéico de soro de leite (WPC)	óleo vegetal hidrogenado
caseína	lecitina
gordura animal estabilizada	
premix mineral e vitamínico	
concentrado protéico vegetal.	

3.3.4 Fornecimento de concentrado e água

O fornecimento de água durante todo o experimento foi *ad libitum* através de baldes. Já o concentrado foi fornecido aos bezerros iniciando-se com 50g logo ao primeiro dia de vida e aumentando-se de acordo com o consumo. Quando os animais atingiram 800 g de consumo de matéria original de concentrado por 3 dias consecutivos, realizou-se a desmama abrupta.

O concentrado utilizado foi o "Soylac Rumen 18% floculado", produzido pela Sul Mineira Alimentos S/A, cuja composição básica é apresentada na Tabela 03.

Tabela 03. Composição do concentrado fornecido aos bezerros, com base na matéria seca.

Ingredientes	Porcentagem
Milho floculado	51,0%
Farelo de soja	18,0%
Farelo de trigo	18,0%
Soja grão supertostada	5,0%
Premix vitamínico e mineral	1,0%
Farelo de glúten de milho	2,0%
Melaço	3,0%
Calcário	1,5%
Sal comum	0,5%

Os resultados da análise bromatológica do concentrado estão apresentados na Tabela 04.

Tabela 04. Composição bromatológica do concentrado comercial fornecido aos animais.

Parâmetros	Valores obtidos
Matéria seca - MS (%)	88,40
Extrato Etéreo (% MS)	5,04
Proteína Bruta (% MS)	19,26
FDN (% MS)	26,61
FDA (% MS)	10,01
Fibra bruta (% MS)	4,9
NDT (valor estimado)	69,7
Matéria Mineral (% MS)	10,00
Cálcio (% MS)	1,61
Fósforo (% MS)	0,67
Potássio (% MS)	0,94
Magnésio (% MS)	0,28
Enxofre (% MS)	0,22
Sódio (ppm)	230,0
Cobre (ppm)	29,0
Ferro (ppm)	802,0
Manganês (ppm)	139,0
Zinco (ppm)	164,0
Cobalto (ppm)	0,30

3.3.5 Fornecimento e especificação do probiótico

O probiótico de nome comercial Biobac produzido pela Biotecnal, continha *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* em sua composição. O produto Biobac era apresentado em duas formas: pasta (cerca de $3,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/g de produto) e pó (cerca de $3,0 \times 10^9$ UFC/g de produto). O produto em pasta foi utilizado na quantidade de 4g logo após o

fornecimento do colostro e no momento da descorna e desmama. Nos casos de diarreia foi utilizado na quantidade de 10g (e em caso de persistência, outra dose de 10g após 6 horas).

O produto em pó foi fornecido diariamente, após o segundo dia de vida, na quantidade de 2 gramas misturados ao colostro, leite integral ou sucedâneo, no momento do oferecimento, até a desmama.

3.3.6 Vacinações

Todos os animais foram vacinados contra salmonelose, pasteurelose e colibacilose ao nascimento e aos dias 15 e 30 dias de idade. Aos 60 dias, foram vacinados contra carbúnculo, e leptospirose.

3.4 Mensurações e amostragens

3.4.1 Pesagem dos animais

Os animais foram pesados ao nascimento e a cada 7 dias (aos sábados), após o aleitamento, iniciando-se por volta das 8h da manhã.

3.4.2 Consumo de concentrado

O consumo do concentrado foi quantificado semanalmente, logo após a pesagem dos animais, pesando-se as sobras em balança mecânica de prato.

3.4.3 Amostragem dos alimentos

Amostras do leite integral, fornecido aos animais, foram coletadas de todas as refeições (de manhã e a tarde), na quantidade de 30 ml, e imediatamente congeladas, para determinação posterior de matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo.

Amostras do concentrado e do sucedâneo de leite foram coletadas semanalmente (aos sábados), na quantia de aproximadamente 200g cada, sendo também congeladas para posterior análise bromatológica de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido.

3.4.4 Avaliação das fezes

A avaliação da intensidade de diarreia foi realizada, baseada nos seguintes parâmetros de consistência fecal, propostos por Lucci (1989):

- 1) Normal: fezes firme, mas não dura. Sua forma original é levemente distorcida quando caem no chão e se assentam;
- 2) Mole: não apresenta forma; embora forme montes, se espalha levemente;
- 3) Corrente: se esparrama rapidamente em lâmina de 6 mm de profundidade;
- 4) Aquosa: consistência líquida.

As incidências de escore 1, 2, 3 e 4 foram determinados pelo número de dias com o respectivo escore em relação ao número de dias até a desmama ou durante os 15 dias posteriores.

A severidade da diarreia foi reportada pelo número de dias consecutivos com o escore 4 de consistência fecal, em relação ao número de dias até a desmama ou durante os 15 dias posteriores.

Foi ainda utilizado um índice de consistência fecal (ICF), proposto por Passini (1997), unindo as duas variáveis, intensidade e duração, em um mesmo modelo matemático. Este valor foi obtido multiplicando-se o escore de consistência fecal pela sua duração em dias, indicando que, quanto maior o índice, mais intensa e duradoura foi a diarreia.

O índice de consistência fecal foi, desta forma, calculado pela seguinte fórmula:

$$ICF = \frac{[(dE1 \times 1) + (dE2 \times 2) + (dE3 \times 3) + (dE4 \times 4)]}{Td \times 4} \times 100$$

onde:

ICF: índice de consistência fecal;

- dE1: número de dias com consistência fecal de escore 1;
1: constante;
dE2: número de dias com consistência fecal de escore 2;
2: constante;
dE3: número de dias com consistência fecal de escore 3;
3: constante;
dE4: número de dias com consistência fecal de escore 4;
4: constante;
Td: totais de dias até à desmama, ou 15 dias após a desmama.

3.5 Processamento e análise das amostras

As amostras do concentrado foram moídas em moinho tipo Willey, com peneira de malha de 1 mm de diâmetro e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados. Após a moagem do concentrado, foram feitas amostras compostas do mesmo e do sucedâneo do leite, mensalmente.

Para determinação da matéria seca (MS) do concentrado e do sucedâneo do leite oferecidos aos animais, 2g de amostras foram colocados em estufa a temperatura de 110°C por 12 horas e pesadas. Posteriormente, estas amostras foram colocadas em mufla a 600°C por no mínimo 3 horas, para determinação da matéria orgânica (MO) e matéria mineral (MM), de acordo com a AOAC (1985).

Para determinação da matéria seca do leite integral, foram também feitas amostras mensais. Estas foram liofilizadas em liofilizador (Labconco Lyph-Lock® 6 Liter Freeze System), até que atingissem peso constante.

A determinação da proteína bruta (PB) foi realizada através da determinação do nitrogênio total (micro-Kjeldahl), e a do extrato etéreo de acordo com a AOAC (1985).

A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do concentrado e do sucedâneo do leite foram determinadas de acordo com Goering & Van Soest (1970).

3.6 Análise estatística

Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1985), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (Proc Univariate) e as variâncias comparadas pelo Teste F. Os dados (variáveis dependentes) que não atenderam à estas premissas, foram submetidos à transformação logarítmica ($\text{Log}X+1$) ou pela raiz quadrada [$\text{RQ}(X+1/2)$]. Quando nenhuma das transformações foi suficiente para melhorar os dados, caso isto tenha sido necessário, os tratamentos foram separados através de estatística não paramétrica de ordem e o teste utilizado foi o Teste de Kruskal-Wallis. Neste caso, só foi possível a separação entre os efeitos principais, e do efeito do probiótico dentro de cada dieta líquida (leite, sucedâneo aos 3 ou aos 15 dias de vida). Os dados originais ou transformados, quando este último procedimento foi necessário, foram submetidos a análise de variância que separou como causas de variação efeito de probiótico, efeito de dieta líquida (leite ou sucedâneo aos 3 ou aos 15 dias), efeito de interação probiótico X dieta líquida, efeito de sexo e efeito da covariável peso ao nascer e data de nascimento dos bezerros. Os efeitos de dieta líquida foram separados, através do uso de contrastes ortogonais, em efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias de idade (contraste 1) e sucedâneo aos 3 dias contra efeito de sucedâneo aos 15 dias (contraste 2). As interações entre probiótico e dieta líquida foram separadas através de contrastes não ortogonais em: efeito de probiótico dentro de dieta com leite [$\text{prob}(\text{leite})$], efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo iniciado aos 3 dias [$\text{prob}(S3)$] e efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo iniciado aos 15 dias [$\text{prob}(S15)$]. Tais análises foram realizadas utilizando-se procedimento General Linear Model (PROC GLM do SAS). A variável ganho de peso foi obtida em função da inclinação da curva através de regressão linear simples, entre o peso do animal e a idade. A taxa de mortalidade foi obtida através do número de bezerros que morreram em relação ao número de bezerros dentro de cada tratamento, sendo que a frequência foi apresentada na forma de proporção e entre parênteses, os números que deram origem as proporções,

e para sua análise foi utilizado o Teste de χ^2 . Utilizou-se o nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

Tabela 05. Esquema da análise de variância em delineamento inteiramente ao acaso com peso ao nascer e data de nascimento do bezerro como covariáveis e sexo como fator de restrição.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	5
Probiótico	[1]
Dieta líquida	[2]
Leite x Sucedâneo	(1)
Sucedâneo aos 3 x 15 dias	(1)
Interação	[2]
Probiótico (Leite)	(1)
Probiótico (Sucedâneo aos 15 dias)	(1)
Probiótico (Sucedâneo aos 3 dias)	(1)
Sexo	1
Covariável (peso ao nascer)	1
Covariável (data de nascimento)	1
Resíduo	70
Total	78

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho pré-desmama

4.1.1 Ganho de peso diário

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre o ganho de peso diário até a desmama encontram-se na Tabela 06 e a interação entre os fatores na Tabela 07.

O ganho de peso médio diário apresentado pelos bezerros foi de 300 g, o que é considerado abaixo do ganho de peso proposto por Lucci (1989) e Campos & Lizieire (1998) de 400-500 g /dia para os dois primeiros meses de idade, para que as fêmeas atinjam 550 kg aos 24 meses de idade.

O ganho de peso diário até a desmama sofreu interação entre o fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida ($P=0,0185$). O fornecimento de probiótico tendeu a diminuir o ganho de peso diário na ordem de 10% quando os animais receberam leite ($P=0,0605$), mas aumentou em 37,5% o ganho de peso, quando os animais começaram a receber o sucedâneo aos 3 dias de vida ($P=0,0302$).

A tendência de diminuição do ganho de peso diário dos bezerros recebendo probiótico e leite é compatível com os resultados obtidos por Morrill et al. (1974) e Morrill et al. (1977), acrescentando-se ainda que os resultados destes pesquisadores se apresentaram também apenas como uma tendência. Mas deve-se levar em conta que eles não utilizaram um probiótico comercial e sim leite inoculado com lactobacilos. Por outro lado, outros trabalhos não observaram efeitos dos probióticos a base de *Lactobacillus* sp., quando oferecidos a bezerros recebendo leite, sobre o ganho de peso, nas mais diversas condições (Hatch et al., 1973; Chaves,1997; Davis & Woodward, 1978; Davis

& Woodward, 1979; Alves et al., (1997); Moletta & Perotto, 1998). Outros pesquisadores utilizando-se de *Bacillus subtilis* como probiótico associado com leite também não encontraram efeito significativo sobre o ganho de peso (Quintero-Gonzalez et al., 1994; Gonçalves et al., 1997). De acordo com Nunes (1994), a influência dos probióticos microbianos sobre o crescimento dos animais, independente do gênero microbiano utilizado, foi nula ou negativa em mais de 50% dos ensaios com suínos, por ele estudados. É muito provável que tal influência dependa do equilíbrio microbiano pré-existente no tubo digestivo dos animais. Durante o aleitamento, o leite integral veicula essencialmente lactobacilos (Nunes, 1994), de modo a acreditar que a microbiota intestinal dos bezerros que receberam leite no presente experimento, já se apresentava em equilíbrio. Deste modo, é possível que o fornecimento adicional de bactérias probióticas aos animais com uma microbiota intestinal já equilibrada, estas poderiam competir por nutrientes com os próprios hospedeiros, no caso os bezerros, e assim explicar o menor ganho de peso apresentado por estes.

Já nos bezerros aleitados com sucedâneo a partir dos 3 dias, o fornecimento do probiótico aumentou o ganho de peso. Este resultado é condizente com os resultados obtidos por Ruppert et al. (1994) e por Schwab et al. (1980), ao utilizarem lactobacilos em associação com sucedâneo. Deve-se atentar ao fato que estes últimos pesquisadores utilizaram uma fonte não viável destes microrganismos, e relataram que o seu mecanismo de ação não é entendido.

Por sua vez, Cruywagen et al. (1996) encontraram efeito benéfico para o ganho de peso apenas nas primeiras 2 semanas de vida dos bezerros. Segundo os autores, os bezerros que receberam apenas sucedâneo perderam 4% do peso corporal inicial durante as duas primeiras semanas, mas os bezerros que receberam probiótico, perderam apenas 0,8% do peso corporal inicial durante o mesmo período. Efeitos positivos também foram encontrados por Abe et al. (1995) sobre o ganho de peso diário, utilizando probiótico constituído por *Lactobacillus acidophilus* ou por *Bifidobacterium pseudolongum*. No entanto, Alves et al., (1997) utilizando o mesmo probiótico utilizado neste experimento, revelaram que a associação probiótico + sucedâneo diminuiu o ganho de peso dos

animais entre a 1ª e 5ª semanas de idade, mas não houve diferença no período de 6-9 semanas.

Contudo, não foi encontrada diferença sobre o ganho de peso, quando os animais aleitados com sucedâneo aos 15 dias, receberam ou não o probiótico. Esta ausência de efeito também foi relatada por Oropeza-Aguilar et al. (1998) e por Higginbotham & Bath (1993), mas estes últimos utilizaram leite com resíduo de antibiótico junto ao sucedâneo, o que pode ter mascarado o efeito do probiótico.

A perda de peso durante a primeira ou segunda semana de vida é um fenômeno freqüentemente observado em bezerros que são alimentados com sucedâneo (Jaster et al., 1990), coincidindo com a fase mais crítica da vida do bezerro, sendo que a taxa de mortalidade decresce rapidamente com a idade (Roy, 1990). Respostas à adição de probióticos ao sucedâneo ou concentrado inicial geralmente tem mostrado resposta quando os bezerros foram expostos ao estresse (Quigley III, et al. 1997). Sendo assim, o maior ganho de peso encontrado neste estudo para os bezerros que começaram a receber o sucedâneo bem no início da vida, logo aos 3 dias de idade, e especialmente sendo esta uma época de muito estresse para o neonato, condiz com a teoria proposta por Fuller (1989), de que o probiótico opera revertendo os fatores de estresse. De acordo com Speck (1976), o provimento de *Lactobacillus acidophilus* ao trato intestinal resulta em um retorno acelerado à normalidade na microbiota intestinal e subsequente conforto corporal. Esta recomposição da flora intestinal causada pelo probiótico fornecido pode ter aliviado os efeitos causados pelo sucedâneo ao epitélio intestinal, observados por Seegraber & Morrill (1982 e 1986). Estes autores relataram que animais alimentados com sucedâneo contendo proteínas não-lácteas (como os bezerros deste experimento), apresentaram menor capacidade absorptiva intestinal, associada a mudanças morfológicas no epitélio intestinal, com lesões e atrofia das vilosidades. Deste modo, o probiótico poderia ter agido colonizando benéficamente o intestino lesado, impedindo a colonização por patógenos, aumentando a sua capacidade de absorção dos nutrientes, e assim aumentando o ganho de peso destes animais. Outros mecanismos de ação dos probióticos ainda podem ser citados, tais como produção de ácidos orgânicos e redução do pH no intestino, inibindo assim bactérias patogênicas; antagonismo competitivo,

onde bactérias probióticas podem competir com as patogênicas na colonização intestinal; ou ainda neutralização de toxinas e estímulo ao sistema imunológico (Sissons, 1989).

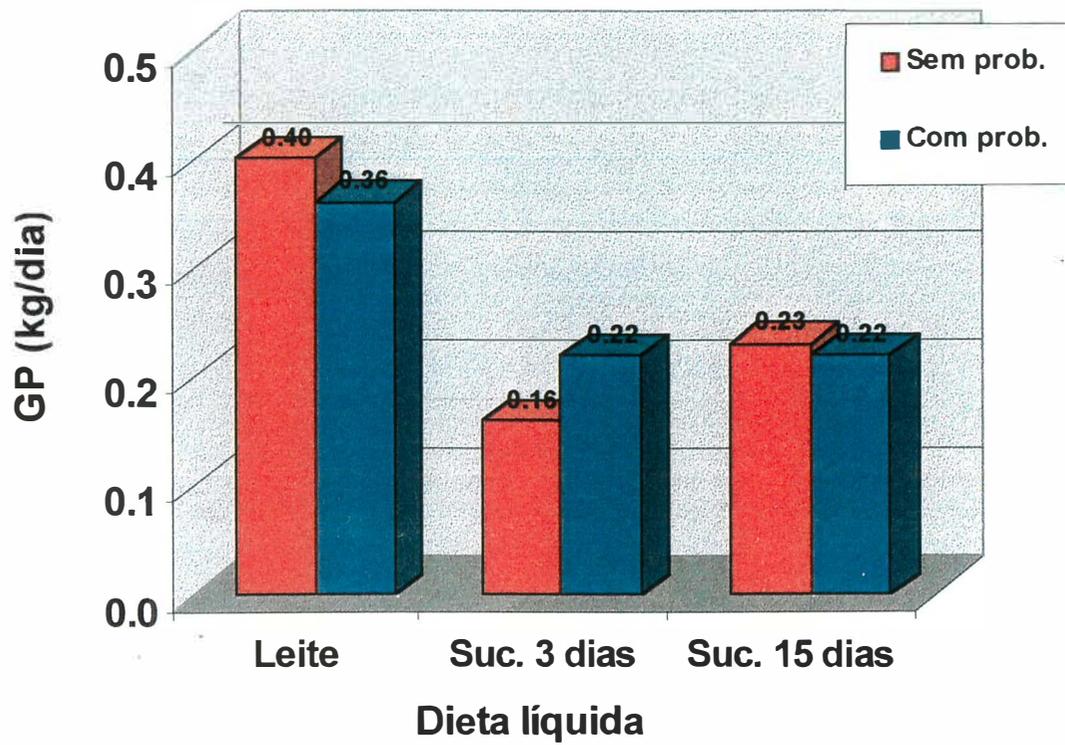


Figura 1- Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o ganho de peso (kg/dia) até a desmama

4.1.2 Consumo de concentrado e consumo de matéria seca total

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre o consumo de concentrado e de matéria seca total (leite + concentrado) por dia até a desmama encontram-se na Tabela 06 e a interação entre os fatores na Tabela 07.

O consumo médio de concentrado do nascimento até a desmama, com base na MS foi de 200g/dia e o consumo médio de matéria seca foi de 640g/dia.

Não houve interação entre o fornecimento de probiótico e o tipo de dieta líquida sobre o consumo de concentrado e de matéria seca total até a desmama. Entretanto, foi observado efeito significativo do tipo de dieta líquida sobre o consumo de concentrado ($P=0,0062$) e sobre o consumo de matéria seca ($P=0,0001$). Ao separar o efeito do tipo de dieta líquida, o contraste 1 mostrou aumento do consumo de concentrado ($P=0,0176$) e de matéria seca ($P=0,0001$) com o uso de sucedâneo, quer iniciado aos 3 ou 15 dias, em relação aos animais que receberam leite. Os animais que receberam sucedâneo, consumiram em média 220g de concentrado por dia, o que correspondeu a um aumento de 15,8% em relação aos animais que receberam leite. Por sua vez, os animais submetidos ao tratamento com sucedâneo, ingeriram 610g de matéria seca/dia, o que correspondeu a uma diminuição de 8,96% no consumo de matéria seca total em relação ao consumo dos animais do tratamento com leite, devido a menor ingestão de matéria seca do sucedâneo.

Outros autores também observaram aumento no consumo de concentrado pelos bezerros, quando estes foram aleitados com sucedâneo do leite (Silva et al., 1987 e Matos et al., 1984). O aumento no consumo de concentrado neste experimento pode ser devido ao fato que, ao seguir as recomendações do fabricante para o preparo do sucedâneo, os animais receberam por dia 378 g de matéria seca de sucedâneo, contra 478g de MS de leite consumidos pelos animais do respectivo tratamento, o que significou 20,9% a menos de MS proveniente da dieta líquida para os animais do tratamento com sucedâneo, em relação ao leite. Outro fator pode ter contribuído para a diminuição do consumo matéria seca do sucedâneo foi a sua difícil solubilização, uma vez que ao sedimentar no fundo do balde de alimentação, muitos bezerros,

principalmente os mais novos, não conseguiram ingerir todo o oferecido. Apesar do maior consumo de concentrado expressado pelos animais do tratamento sucedâneo (aos 3 ou 15 dias), ainda assim estes consumiram menos matéria seca total (concentrado + sucedâneo) do que os animais que receberam dieta com leite. Este pode ser um dos fatores que explicam o menor desempenho apresentado pelos animais deste estudo, que foram destinados ao tratamento com sucedâneo. Este aumento no consumo de concentrado pelos bezerros que consumiram sucedâneo encontrado neste estudo, difere dos resultados encontrados por Vasconcelos et al. (1998) e Abrahão (1980), os quais concluíram que os bezerros que receberam sucedâneo consumiram menos concentrado que os bezerros do tratamento controle (leite). No entanto, Banys et al. (1998a) e Banys et al. (1998c) ao testarem sucedâneos a base de proteína texturizada de soja com diferentes fontes de lactose (lactose pura, soro de queijo em pó ou leite desnatado em pó) não observaram efeito significativo sobre o consumo de concentrado e de matéria seca total em relação ao tratamento controle com leite integral.

O consumo de concentrado foi diferente entre os grupos de animais aleitados com sucedâneo a partir dos 3 e 15 dias de idade ao se avaliar o contraste 2 ($P=0,0345$) (Tabela 06), revelando que os animais que foram iniciados no sucedâneo aos 3 dias de vida, consumiram 240 g de concentrado, o que representou um aumento de 20% em relação aos animais que começaram a receber o sucedâneo aos 15 dias. Este aumento no consumo de concentrado para o tratamento sucedâneo aos 3 dias também pode ser devido à menor ingestão de matéria seca, uma vez que estes animais, começaram a ingerir menos matéria seca proveniente da dieta líquida (sucedâneo), necessitando assim ingerir concentrado mais cedo, em relação aos animais que receberam sucedâneo somente a partir dos 15 dias. Por outro lado, através do contraste 2, observou-se que o consumo de matéria seca diário total dos animais não foi afetado pelos tratamentos com sucedâneo aos 3 e 15 dias. No entanto, Banys et al. (1998b) ao avaliarem a viabilidade do uso de sucedâneo adaptando os bezerros aos 7 dias de vida com dieta líquida mista (50% leite integral + 50% sucedâneo), por dois ou sete dias, não encontraram efeito significativo, tanto sobre o consumo de concentrado, quanto sobre o consumo de matéria seca total.

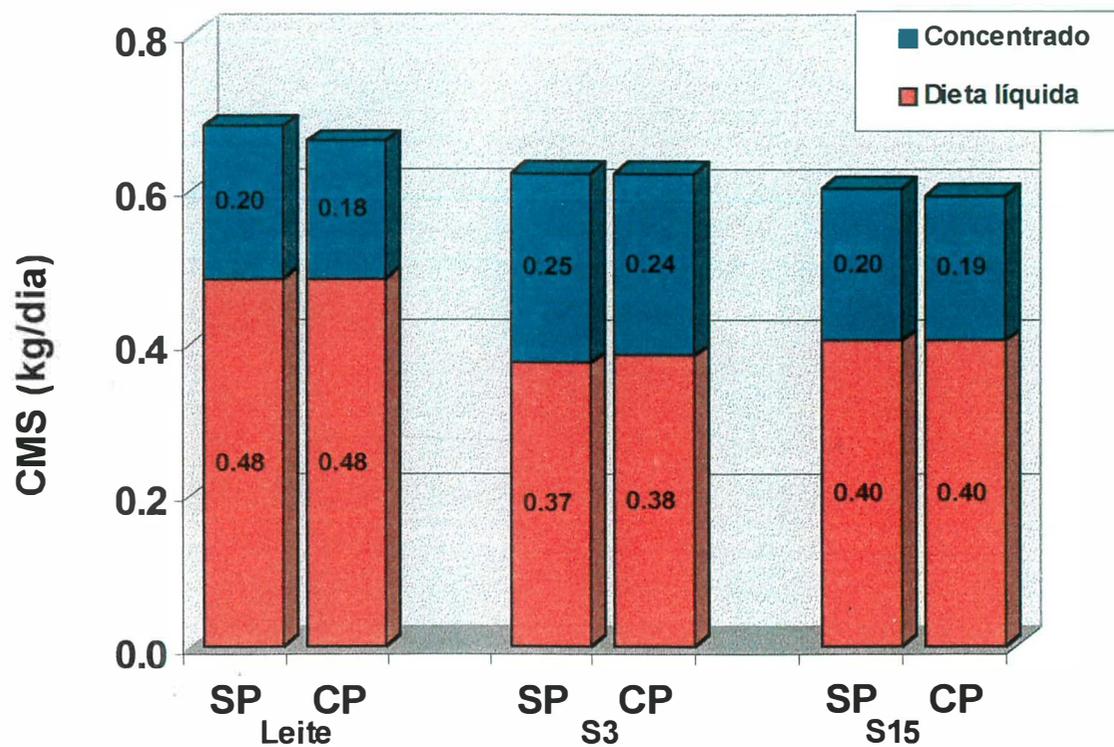


Figura 2- Efeitos do fornecimento do probiótico e tipo de dieta líquida sobre o consumo de concentrado e matéria seca total (kg/dia) até a desmama

4.1.3 Conversão alimentar

Os efeitos do fornecimento do probiótico e do tipo de dieta líquida sobre a conversão alimentar até a desmama encontram-se na Tabela 06 e a interação entre os fatores na Tabela 07.

Foi observada interação ($P=0,0001$) entre o fornecimento de probiótico e o tipo de dieta líquida sobre a conversão alimentar até a desmama. Quando do fornecimento de probiótico, os bezerros do tratamento com sucedâneo aos 3 dias apresentaram uma melhor conversão alimentar ($P=0,0001$), na ordem de 31,9%, em relação aos bezerros que não receberam. Já, nos tratamentos com uso de leite e sucedâneo aos 15 dias de vida, não houve efeito significativo do fornecimento do probiótico.

Esta melhoria na conversão alimentar quando o probiótico foi fornecido aos bezerros que receberam sucedâneo, encontrada neste estudo, foi relatada por Schwab et al. (1980), mas apenas como uma tendência. O probiótico utilizado por estes autores foi uma fonte não viável de *Lactobacillus bulgaricus*, enquanto que no presente experimento foi utilizada uma fonte viável de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*. Abe et al. (1995), ao testarem *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium pseudolongum* M-602, indicaram que as duas estirpes foram consideradas úteis como probiótico para a variável conversão alimentar. Entretanto, em outro experimento conduzido por Alves et al. (1997), utilizando o mesmo probiótico comercial do presente estudo, resultados discordantes foram encontrados, mostrando que a associação do probiótico + sucedâneo prejudicou a conversão alimentar.

Cruywagen et al. (1996), ao testarem um probiótico semelhante ao deste estudo, contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus cervisiae* associado ao sucedâneo, não encontraram resposta significativa para a variável em questão.

Respostas à adição de probióticos ao sucedâneo ou concentrado inicial geralmente tem mostrado respostas positivas quando os bezerros foram expostos ao estresse (Quigley III et al., 1997). Portanto, esta interação entre o fornecimento do

probiótico e o de sucedâneo aos 3 dias de vida, melhorando a conversão alimentar pode ser explicada por uma possível melhor utilização dos nutrientes, em função da melhoria do balanço microbiano do trato gastrointestinal (Vassalo, 1995), uma vez que proteínas substitutas da proteínas lácteas, notadamente, apresentam digestibilidade inferior à destas, nos primeiros dias de vida do bezerro (Nitsan et al., 1972).

Os bezerros, ao receberem o sucedâneo aos 3 dias de idade, não apresentaram diferenças entre consumo de concentrado com a adição ou não do probiótico. Sendo estas duas primeiras semanas a fase mais crítica de vida do animal (Roy, 1990), unindo ainda ao fato que sucedâneo contendo proteínas não-lácteas diminuem a capacidade absorptiva intestinal, associada a lesões e atrofia do epitélio (Seegraber & Morrill, 1982 e 1986), pode-se atribuir a esta melhoria na conversão alimentar pelos animais que receberam o probiótico, uma melhor colonização do epitélio intestinal, especialmente nesta condição adversa. Ao observar que não houve aumento no consumo de concentrado, apesar do maior ganho de peso, esta melhor conversão alimentar dos bezerros que receberam o sucedâneo aos 3 dias com adição de probiótico, pode ser atribuída a uma melhor condição intestinal, considerando que estes bezerros possam ter apresentado um melhor balanço da microbiota intestinal, em relação aos que não receberam o probiótico, e conseqüentemente uma melhor absorção dos nutrientes. Os efeitos benéficos dos probióticos podem ser mediados por um efeito antagônico direto contra grupos específicos de organismos, resultando na redução de suas células viáveis, através da produção de compostos antibacterianos, competição por nutrientes ou por sítios de adesão no intestino. Ou ainda podem ser sobre o metabolismo microbiano, aumentando ou diminuindo a atividade enzimática, ou pela estimulação da imunidade do hospedeiro, aumentando os níveis de anticorpos ou a atividade dos macrófagos (Fuller, 1989).

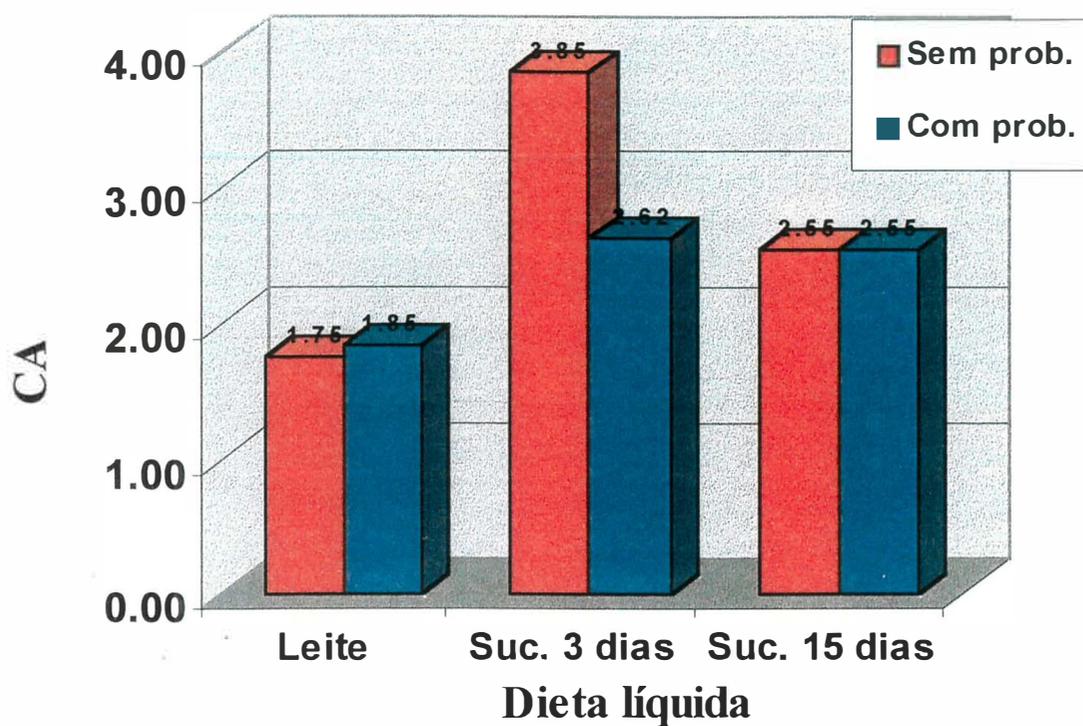


Figura 3- Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a conversão alimentar até a desmama

4.1.4 Peso vivo à desmama

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre o peso vivo à desmama encontram-se na Tabela 06 e a interação entre os fatores na Tabela 07.

A média de peso vivo encontrado à desmama foi de 54,28 kg. Uma vez que a desmama dos bezerros ocorreu em média aos 63,59 dias de idade, o peso vivo médio encontrado à desmama neste experimento se apresentou inadequado, se comparado ao proposto por Campos & Lizieire (1998) que é de 68 kg aos dois meses de vida, sendo esta uma estratégia de crescimento de modo que as fêmeas atinjam parição aos 24 meses. Este peso vivo, apresentado pelos bezerros deste experimento à desmama, também se apresenta inferior ao sugerido por Davis & Drackley (1998), para as 9 semanas de idade que deve estar entre 65 e 75 kg.

Para o peso vivo à desmama, não foi observada interação entre o fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida, mas foi observado um efeito significativo do tipo de dieta líquida ($P=0,0001$). Ao separar o efeito do tipo de dieta líquida, o contraste 1 ($P=0,0001$) revelou que os animais que receberam sucedâneo (aos 3 e aos 15 dias de vida), foram desmamados com 16,3% a menos de peso que os animais que receberam leite. Ao avaliar o contraste 2 ($P=0,0207$), observou-se que os bezerros que começaram a receber o sucedâneo aos 3 dias de vida, apresentaram um peso à desmama menor que os bezerros que receberam somente aos 15 dias, na ordem de 7,3%.

O menor peso à desmama, encontrado no presente experimento, para os animais que receberam o sucedâneo em relação ao leite é compatível com o resultado obtido por Abrahão (1980) e por Medina et al. (1999). No entanto, outros trabalhos não mostraram efeitos significativos para a variável peso à desmama quando o sucedâneo foi utilizado como dieta líquida (Banys et al., 1998a e Banys et al., 1998c). Este menor peso vivo à desmama, para os bezerros do tratamento com sucedâneo, foi provavelmente consequência do menor ganho de peso que apresentaram durante este período. A substituição da proteína do leite por proteína da soja nos sucedâneos do leite pode resultar em baixas taxas de ganho de peso para bezerros (Otterby & Linn, 1981). O baixo valor da proteína da soja para pré-ruminantes pode ser causada pela inabilidade da

proteína da soja de coagular no abomaso (Gorrill & Thomas, 1967); uma redução na secreção de enzimas pancreáticas (Ternouth et al., 1975); desenvolvimento de alergia gastrointestinal (Smith & Sissons, 1975); e vilosidades anormais (Seegraber & Morrill, 1982), os quais podem contribuir para uma menor digestão (Guilloteau et al., 1986) e absorção de aminoácidos (Erickson et al., 1989). Outros estudos (Guilloteau et al., 1986; Khorasani, et al., 1989; Kanjanapruthipong, 1998) indicam que, quando as proteínas do leite são substituídas pelas proteínas da soja, as quantidades de nutrientes não digeridos aumentam na digesta ileal. A tudo isto, deve-se somar que no presente experimento, ao seguir as recomendações do fabricante para o preparo do sucedâneo, os bezerros deste tratamento, consumiram 100g a menos de matéria seca do sucedâneo/dia em relação ao consumo de matéria seca dos bezerros que receberam leite como dieta líquida, ajudando assim a explicar o seu menor ganho de peso.

Os animais que receberam sucedâneo aos 3 dias apresentaram peso menor ainda, em relação aos que receberam o sucedâneo somente a partir dos 15 dias de vida, resultado este que condiz com o encontrado por Banyas et al.(1998b). Neste experimento, após receberem leite integral até os 7 dias de vida, os bezerros foram adaptados ao sucedâneo (leite integral 50% + sucedâneo 50%) por dois ou sete dias. Seus resultados mostraram que os bezerros que passaram pelo menor período de adaptação, apresentaram peso à desmama 15% menor que os de maior adaptação. De acordo com Abraão (1980), os bezerros que receberam sucedâneo apresentaram um ganho de peso diário bem inferior aos que receberam leite, durante as três primeiras semanas de aleitamento. Porém, da quarta semana em diante, os ganhos foram similares. Deve-se considerar que, nas primeiras semanas de vida, os bezerros não estão adaptados a digerir o sucedâneo a base de proteína de soja, devido à insuficiência de enzimas digestivas destes animais (McCormick & Stewart, 1967). Contudo, há uma tendência destes animais a digerirem melhor os sucedâneos com o aumento da idade dos mesmos (Radostits & Bell, 1968). Isto poderia ajudar a elucidar porque os bezerros que receberam o sucedâneo aos 3 dias ganharam ainda menos peso que os bezerros que receberam aos 15 dias, e a isto, somou-se também o fato que os primeiros passaram a

consumir 100g a menos de matéria seca vinda da dieta líquida mais cedo, uma vez que os outros receberam leite até os 15 dias de idade.

4.1.5 Idade à desmama

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre a idade à desmama encontram-se na Tabela 06 e a interação entre os fatores na Tabela 07. Não foi observada interação entre o fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida, nem tão pouco efeitos principais para a idade à desmama.

O critério de desmama, através do consumo de 800 g/dia de concentrado por 3 dias consecutivos, adotado no presente experimento e o modo como foi planejado o período experimental, indo do nascimento até 15 após a desmama, não permitiram avaliar as variáveis estudadas através das semanas de idade dos animais. Como na maioria dos trabalhos revisados os pesquisadores estabeleceram critérios de desmama através da idade do animal, ou mesmo estabeleceram o término do período experimental em semanas ou dias de idade do animal [42 dias (Banys et al., 1998a, 1998b, 1998c; 4 semanas (Jenny et al., 1991); 5 semanas (Morrill et al., 1977); 6 semanas (Cruywagen et al., 1996); 56 dias (Chaves, 1997); 64 dias (Higginbothan & Bath, 1993) nas mais diversas condições e utilizando diferentes probióticos], não foram encontrados dados para se comparar a idade à desmama, devido a falta de padronização. Entretanto, Carvalho et al. (1983) relataram que todos os bezerros desaleitados aos 47^o dia já consumiam em média 800 g de concentrado, considerando que foram criados sob restrição de leite.

A média de idade à desmama encontrada neste estudo foi de 63,59 dias. Campos e Lizieire (1998) assumem que independente do sistema de criação adotado, não há razão, sob o ponto de vista do animal, da fase de fornecimento da dieta líquida ser superior a oito semanas, de modo que a idade à desmama encontrada no presente experimento se apresenta adequada.

Tabela 06. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezeros até a desmama

	Probiótico		Dieta Líquida				Probabilidades				
	SP	CP	Leite	S3	S15	Média	EPM	Probiót.	Dieta líq.	Contr. 1	Contr. 2
	GP (kg/dia)	0,27	0,26	0,38	0,19	0,22	0,30	0,0123	NS	0,0001	0,0001
CC (kg/dia)	0,21	0,20	0,19	0,24	0,19	0,20	0,0061	NS	0,0062	0,0176	0,0345
CMS (kg/dia)	0,63	0,62	0,67	0,62	0,60	0,64	0,0066	NS	0,0001	0,0001	NS
CA	2,72	2,34	1,80	3,23	2,55	2,27	0,0891	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
PD (kg)	52,59	52,24	58,97	47,27	51,01	54,28	0,8225	NS	0,0001	0,0001	0,0207
ID (dias)	65,03	62,67	62,85	61,38	67,32	63,59	1,7322	NS	NS	NS	NS

As médias apresentadas referem-se as médias corrigidas pelas covariáveis peso ao nascer e data de nascimento dos bezeros.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; Contr. 1=efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias de idade; Contr.2=sucedâneo aos 3 dias contra sucedâneo aos 15 dias; GP=ganho de peso; CC=consumo de matéria seca de concentrado, CMS=consumo de matéria seca total; CA=conversão alimentar; PD=peso à desmama; ID=idade à desmama.

Tabela 07. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezeros até a desmama.

	Leite				S3				S15				Probabilidades			
	SP	CP	SP	CP	SP	CP	SP	CP	Média	EPM	Interação	Prob(leite)	Prob(S3)	Prob(S15)		
	GP (kg/dia)	0,40	0,36	0,16 ^y	0,22 ^x	0,23	0,22	0,30	0,0123	0,0185	0,0605	0,0302	NS	NS	NS	
CC (kg/dia)	0,20	0,18	0,25	0,24	0,20	0,19	0,20	0,0061	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
CMS (kg/dia)	0,68	0,66	0,62	0,62	0,60	0,59	0,64	0,0066	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
CA	1,75	1,85	3,85 ^x	2,62 ^y	2,55	2,55	2,27	0,0891	0,0001	NS	0,0001	NS	0,0001	NS		
PD (kg)	60,13	57,82	45,95	48,59	51,68	50,33	54,28	0,8225	NS	NS	NS	NS	NS	NS		
ID (dias)	62,91	62,80	61,24	61,53	70,95	63,69	63,59	1,7322	NS	NS	NS	NS	NS	NS		

Linhas com letras sobrescritas diferentes dentro de cada tipo de dieta líquida diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

As médias apresentadas referem-se as médias corrigidas pelas covariáveis peso ao nascer e data de nascimento dos bezeros.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; prob(leite)=efeito de probiótico dentro de dieta com leite; prob(S3)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 3 dias; prob(S15)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 15 dias; GP=ganho de peso; CC=consumo de matéria seca de concentrado; CMS=consumo de matéria seca total, CA=conversão alimentar; PD=peso à desmama; ID=idade à desmama.

4.1.6 Consistência das fezes

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre as incidências dos escores 1, 2, 3, e 4 (IE1, IE2, IE3 e IE4, respectivamente), índice de consistência fecal (ICF) e severidade de diarreia até a desmama encontram-se na Tabela 08 e a interação entre os fatores na Tabela 09.

A incidência do escore 1 até a desmama, através de estatística não paramétrica sofreu efeito significativo do tipo de dieta líquida ($P=0,0001$). Através do contraste 1 ($P=0,0978$), foi constatada apenas uma tendência da dieta líquida com sucedâneo (aos 3 e 15 dias) em aumentar a incidência do escore 1 dos animais de 20,8% em relação à dieta com leite. Já o contraste 2 apresentou um efeito significativo ($P=0,0001$), mostrando que os animais que receberam o sucedâneo aos 3 dias apresentaram uma maior incidência do escore 1, na ordem de 319,4% em relação aos animais que começaram a receber o sucedâneo aos 15 dias. Não foram encontrados efeitos significativos do fornecimento do probiótico dentro de cada dieta líquida.

A incidência do escore 2 sofreu interação entre os fatores fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida (0,0027). Observou-se que quando o probiótico foi utilizado juntamente com a dieta com leite, os animais apresentaram uma menor incidência do escore 2 em 13,7% em relação aos animais da dieta com leite que não receberam o probiótico ($P=0,0130$). Também foi observado que para os animais que receberam sucedâneo aos 15 dias, o fornecimento do probiótico aumentou a incidência do escore 2 em 28,7%, em relação aos animais que não receberam o probiótico ($P=0,0131$). Entretanto, não foi observada interação entre o fornecimento do probiótico e da dieta líquida com sucedâneo aos 3 dias de idade.

Também foi observada interação significativa para a variável incidência do escore 3 ($P=0,0088$). Notou-se apenas uma tendência ($P=0,0517$) do probiótico em aumentar em 28,3% a incidência do escore 3 dos animais da dieta com leite em relação aos animais que não receberam probiótico. No entanto, quando o probiótico foi fornecido para os animais que receberam sucedâneo a partir dos 15 dias de vida, houve uma diminuição significativa ($P=0,0324$) de 31,6% na incidência do escore 3 em relação

aos animais que não receberam o probiótico. Mas, não foi observado efeito significativo quando o probiótico foi fornecido aos animais que começaram a receber o sucedâneo aos 3 dias.

A associação do probiótico à dieta líquida com uso de leite neste estudo diminuiu a incidência do escore 2 (considerada normal) e tendeu a aumentar a incidência do escore 3, permitindo concluir que o probiótico tendeu a prejudicar a consistência fecal quando fornecido à bezerras recebendo leite integral durante o período de aleitamento, apesar de não observada interação entre os fatores principais para as variáveis incidência de escore 4 e índice de consistência fecal. Resultados semelhantes foram encontrados por Morrill et al. (1974) e Morrill et al. (1977), ao fornecerem leite inoculado com *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus lactis*, como dieta líquida de bezerras leiteiras, apesar de ter sido apenas uma tendência destes em apresentar fezes mais soltas. Outros autores, tais como Harp et al. (1996) e Oropeza-Aguilar et al. (1998), não encontraram efeitos significativos sobre a incidência de diarreia quando bezerras alimentados com leite receberam probiótico. Entretanto, redução na incidência de diarreia foi observada por Daniels et al. (1977), utilizando colostro fermentado, e por Bechman et al. (1977) utilizando uma cultura viável de *Lactobacillus acidophilus*.

No entanto, ao estudar a interação entre o fornecimento do probiótico e a dieta líquida a base de sucedâneo, observou-se que quando o sucedâneo era iniciado aos 15 dias de idade, a sua associação com o probiótico aumentou a incidência do escore 2 e diminuiu a incidência do escore 3. Através destes resultados, concluiu-se que o probiótico utilizado melhorou a consistência fecal destes bezerras. Abe et al. (1995), testando *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium pseudolongum* M-602 em bezerras recebendo sucedâneo com antibiótico, constataram efeitos benéficos de melhoria das condições intestinais, pois a condição das fezes foi melhor para os grupos que receberam probióticos do que para o grupo controle, apesar de não estatisticamente significativo. Os autores ainda relataram que, no grupo que recebia sucedâneo sem antibiótico, os efeitos destes probióticos sobre a incidência de diarreia foram especialmente mais pronunciados.

A incidência do escore 4 não sofreu interação entre os fatores estudados, tendo sido apenas observado efeito significativo do fator tipo de dieta líquida ($P=0,0003$). Analisando o contraste 1, observou-se diminuição da incidência ($P=0,0014$) do escore 4 em 35,4% para os bezerros que receberam sucedâneo, tanto aos 3 quanto aos 15 dias de idade, em relação aos animais que receberam leite. Já o contraste 2 revelou um efeito significativo ($P=0,0182$), de modo que o sucedâneo iniciado aos 3 dias diminuiu em 73,2% a incidência do escore 4 dos bezerros, em relação ao sucedâneo iniciado aos 15 dias de idade.

Para o índice de consistência fecal (ICF), foi observado apenas efeito significativo para o fator principal tipo de dieta líquida ($P=0,0001$), não havendo interação entre os fatores probiótico e tipo de dieta líquida. Ao separar os efeitos do sucedâneo aos 3 e aos 15 dias, através do contraste 2 ($P=0,0001$), foi observado que os animais que foram iniciados no sucedâneo aos 3 dias apresentaram um menor ICF do que animais do sucedâneo aos 15 dias.

Também para a severidade de diarreia, foi observado apenas efeito significativo para o fator principal tipo de dieta líquida ($P=0,0018$), não havendo interação entre os fatores estudados neste experimento. O contraste 1 ($P=0,0854$) revelou que os bezerros que receberam sucedâneo como dieta líquida (aos 3 e aos 15 dias) tenderam a apresentar menor severidade de diarreia em 20,2% em relação aos animais que receberam leite. Através do contraste 2 ($P=0,0018$), observou-se uma diminuição da severidade de diarreia da ordem de 62,9% para os animais que receberam sucedâneo aos 3 dias em relação aos que receberam aos 15 dias e vida.

Ao analisar as variáveis (IE4, ICF e severidade de diarreia) que sofreram apenas efeitos significativos do fator tipo de dieta líquida, através do contraste 2, concluiu-se que ao apresentarem menor valor, os animais que começaram a receber o sucedâneo a partir dos 3 dias apresentaram menos diarreia e melhor consistência fecal até a desmama, em relação aos animais que receberam leite até os 15 dias de vida, e somente a partir daí passaram a receber sucedâneo. A isto também somou-se a maior incidência do escore 1 (fezes firmes), melhorando também a condição das fezes até a desmama.

Para as variáveis IE4 e severidade de diarreia, através do estudo do contraste 1, pode-se concluir que os bezerros do tratamento com sucedâneo (aos 3 e 15 dias) apresentaram menos diarreia (uma vez que seus valores são menores) do que os bezerros do tratamento com leite, incluindo-se ainda uma tendência de apresentarem menor IE1.

Ao unir e estudar todas as informações acima, obtidas deste experimento, concluiu-se que a substituição do leite integral pelo sucedâneo do leite com composição básica anteriormente citada, causou menos diarreia aos bezerros (tanto em incidência, quanto em severidade). E, especialmente quando o sucedâneo foi fornecido logo aos 3 dias de idade, os bezerros apresentaram uma condição melhor das fezes.

Entretanto, Lopes (1996) não encontrou diferença significativa entre dieta líquida com leite ou com sucedâneo sobre o escore fecal dos bezerros. Entretanto, menores escores fecais foram relatados para bezerros, alimentados com leite integral, quando comparados a bezerros alimentados com sucedâneos contendo proteínas de soja (Seegraber & Morrill, 1979 e 1986) ou de peixe (Seegraber & Morrill, 1986). Não foram verificadas diferenças, no entanto, entre proteínas lácteas e proteínas de soja (Silva et al., 1986 e Huber & Campos, 1982) ou de peixe (Huber & Campos, 1982), na forma de sucedâneos, possivelmente por diferenças de processamento, pelo qual as proteínas lácteas passaram.

A reduzida capacidade absorptiva intestinal dos animais alimentados com sucedâneo contendo proteínas não-lácteas, mostrada pelo teste de xilose realizado por Lopes (1996), tem sido associada a mudanças morfológicas no epitélio intestinal, com lesões e atrofia das vilosidades, registradas em micrografias eletrônicas (Seegraber e Morrill, 1982 e 1986). Apesar da soja ser uma fonte potencial de proteína de alta qualidade e prover uma alta proporção de proteína total, quando constituintes de sucedâneo do leite (Nitsan et al. 1972; Ramsey et al., 1975), esta fonte protéica não forma coágulo no abomaso e pode passar mais rapidamente através do trato digestivo que leite (Colvin, et al., 1969; Caugant et al., 1994), diminuindo a digestibilidade da proteína e retenção de nitrogênio pelo bezerro (Coblentz et al. 1976), o que pode ajudar explicar o baixo desempenho dos animais, observados neste experimento.

É comum ocorrer diarreia em animais aleitados com sucedâneo contendo produtos da soja (Gardner et al. 1990), fato este que discorda dos resultados encontrados neste experimento. Um fator importante a ser avaliado e discutido para possivelmente explicar porque os animais aleitados com sucedâneo apresentaram uma melhor consistência fecal. Enquanto que o leite de vaca integral apresenta em média 40% de lactose na matéria seca (Riel, 1991), o sucedâneo utilizado apresentou 30% de lactose (informação pessoal do fabricante). Este fato pode explicar a melhor condição das fezes apresentada pelos bezerros que receberam o sucedâneo, uma vez que receberam bem menos lactose que os bezerros da dieta com leite, somando-se ainda o fato que ingeriram menos matéria seca da dieta líquida e, conseqüentemente, menos lactose ainda. Esta hipótese é apoiada por Ternouth et al. (1975), os quais atribuíram a diarreia nos bezerros à ingestão excessiva de lactose.

Outro fator analisado para explicar a menor incidência e severidade de diarreia para os bezerros que receberam sucedâneo ao invés de leite, e também a melhor condição das fezes para os bezerros que receberam o sucedâneo aos 3 dias em relação aos que receberam aos 15 dias é a porcentagem de gordura das dietas líquidas empregadas. Uma maior incidência de diarreia é observada em bezerros que recebem dietas contendo altas concentrações de gordura, mas a diarreia é raramente aquosa (Roy, 1990). Contando que o leite de vaca integral apresenta em média 30% de gordura no extrato seco (Riel, 1991), observou-se que o sucedâneo apresentou porcentagem menor, que foi de aproximadamente de 17% de gordura na matéria seca. Deste modo, os bezerros que receberam sucedâneo, ingeriram menos gordura do que os que receberam leite, somando-se ainda o fato de que ingeriram menos matéria seca de sucedâneo, ingerindo ainda menos gordura que os animais controle (leite). Os bezerros do tratamento com sucedâneo aos 3 dias ingeriram ainda menos gordura, uma vez que passaram a ingerir sucedâneo mais cedo que os animais que receberam leite até os 15 dias e só a partir daí, passaram a receber o sucedâneo. Isto ajuda a explicar a melhor consistência fecal apresentada pelos animais que receberam sucedâneo e em especial, os que receberam a partir dos 3 dias de idade.

Tabela 08. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros até a desmama

	Probiótico			Dieta Líquida			Probabilidades				
	SP	CP	Leite	S3	S15	Média	EPM	Probiót.	Dieta Lq.	Contr. 1	Contr. 2
IE1 (%)	8,76	8,84	9,81	12,54	2,99	8,80	0,8667	NS	0,0001	0,0978	0,0001
IE2 (%)	56,74	59,25	53,46	65,23	55,30	56,85	1,4546	NS	0,0001	0,0072	0,0001
IE3 (%)	26,73	23,02	24,74	19,67	30,21	24,72	1,3020	NS	0,0011	NS	0,0002
IE4 (%)	7,83	8,84	10,92	2,98	11,12	8,86	0,7132	NS	0,0003	0,0014	0,0182
ICF (%)	58,73	58,21	59,72	53,29	62,40	58,74	0,7095	NS	0,0001	NS	0,0001
SEV (%)	4,63	4,87	5,49	2,37	6,39	4,97	0,3973	NS	0,0018	0,0854	0,0018

As médias apresentadas referem-se as médias corrigidas pela covariável peso ao nascer e data de nascimento dos bezerros, exceto para a variável incidência do escore 1, uma vez que foi utilizada estatística não paramétrica.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; Contr.1=efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias de idade; Contr.2=sucedâneo aos 3 dias contra sucedâneo aos 15 dias; IE1, IE2, IE3, IE4=incidências dos escores 1, 2, 3, e 4 respectivamente; ICF=índice de consistência fecal e SEV=severidade de diarreia até a desmama.

Tabela 09. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros até a desmama.

	Leite				S3				S15				Probabilidades							
	SP		CP		SP		CP		SP		CP		Interação		Prob(leite)		Prob(S3)		Prob(S15)	
IE1 (%)	10,19	9,41	11,16	14,07	3,51	2,42	8,80	0,8667	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
IE2 (%)	57,40 ^a	49,51 ^b	64,46	66,00	48,36 ⁿ	62,24 ^m	56,85	1,4546	0,0027	0,0130	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,0131
IE3 (%)	21,67	27,81	22,63	16,72	35,88 ^m	24,54 ⁿ	24,72	1,3020	0,0088	0,0517	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,0324
IE4 (%)	9,97	11,87	2,01	3,94	11,52	10,71	8,86	0,7132	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ICF (%)	58,40	61,04	53,89	52,68	63,90	60,91	58,74	0,7095	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SEV(%)	5,56	5,42	2,02	2,31	6,29	6,50	4,97	0,3973	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Linhas com letras sobrescritas diferentes dentro de cada tipo de dieta líquida diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

As médias apresentadas referem-se as médias corrigidas pelas covariáveis peso ao nascer e data de nascimento dos bezerros, exceto para a variável incidência do escore 1, uma vez que foi utilizada estatística não paramétrica.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; prob(leite)=efeito de probiótico dentro de dieta com leite; prob(S3)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 3 dias; prob(S15)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 15 dias; IE1, IE2, IE3, IE4=incidência dos escores 1, 2, 3, e 4 respectivamente; ICF=índice de consistência fecal e SEV=severidade de diarreia até a desmama.

4.2 Desempenho pós-desmama

4.2.1 Ganho de peso diário

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre o ganho de peso vivo diário no período de 15 dias após a desmama encontram-se na Tabela 10 e a interação entre os fatores na Tabela 11.

Para o ganho de peso após a desmama, não foi observada interação entre o fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida, nem tão pouco efeitos principais. Através do contraste 1 ($P=0,0587$), observou-se que os animais do tratamento sucedâneo (aos 3 e aos 15 dias) tenderam a ganhar 10,5% a menos de peso vivo por dia do que os animais do tratamento que receberam leite. Esta tendência de menor ganho de peso para os animais do tratamento com sucedâneo pode ser um reflexo do menor peso à desmama e também pelo menor consumo de concentrado após a desmama. Outros pesquisadores não encontraram efeito significativo do tipo de dieta líquida (sucedâneo ou leite) durante o aleitamento sobre o ganho de peso no período após a desmama (Silva et al., 1987; Matos et al., 1984; Abrahão, 1980).

A média de ganho de peso diário dos bezerros aleitados com leite, após a desmama, foi de 950 g e do tratamento sucedâneo foi 850 g, ambos acima do ganho de peso ideal preconizado por Campos & Lizieire (1998) que é de 650- 700g /dia, como estratégia de crescimento de novilhas para parição aos 24 meses com 550 kg. O ganho de peso de 950 g para os bezerros observado para o grupo que recebeu leite está acima do limite de 900 g/dia, considerado prejudicial (dos 80-90 kg até os 250-280 kg), pois acarreta acúmulos de gordura no úbere, menos parênquima e dutos mais curtos, resultando assim em uma produção de leite menor durante a primeira lactação. Mas, uma vez que os bezerros apresentaram peso à desmama e peso final médios abaixo de 80 kg, este ganho de peso elevado, não ocasionaria problemas relacionados ao desenvolvimento do úbere.

Todavia, ao se avaliar o ganho de peso após a desmama, deve-se considerar com especial atenção o concentrado utilizado, pois dele dependeu os ganhos destes animais,

uma vez que não estavam recebendo nenhum tipo de volumoso. O concentrado utilizado neste período foi o mesmo utilizado durante o aleitamento, e apresentou por volta de 19% de proteína bruta, o qual se apresentou próximo ao recomendado pelo NRC (1989), que é de 18% de PB.

O fornecimento do probiótico também não exerceu efeito significativo sobre o ganho de peso após a desmama, fato este também relatado por Moletta e Perotto (1998), ao trabalharem com bezerros de corte. Jenny et al. (1991) mostraram apenas uma tendência de maior ganho de peso no período imediatamente após a desmama para os bezerros que receberam o probiótico contendo *Bacillus subtilis*. Estes resultados não são compatíveis com a proposta de Fuller (1989), na qual o probiótico reverte situações de estresse, tal como a desmama. Esta ausência na melhoria no ganho de peso após a desmama pode ser possivelmente explicada pelo término do fornecimento do probiótico no momento da desmama. Por este motivo, Nunes (1994) sugere incluir probiótico na dieta dos bezerros durante as primeiras semanas a seguir ao desmame. Segundo ele, o leite durante o aleitamento veicula lactobacilos, enquanto que os alimentos após a desmama comportam entre 10^3 a 10^5 bactérias e leveduras diversas por grama, os quais podem exercer ações prejudiciais ao ecossistema microbiano do tubo digestivo.

4.2.2 Consumo diário de matéria seca de concentrado.

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre o consumo diário de matéria seca de concentrado no período de 15 dias após a desmama encontram-se na Tabela 10 e a interação entre os fatores na Tabela 11 .

Para o consumo diário de matéria seca de concentrado, não foi observada interação entre os fatores probiótico e tipo de dieta líquida. Entretanto, foi observado um efeito significativo sobre o tipo de dieta líquida ($P=0,0050$). Observou-se através do contraste 1 ($P=0,0013$) que os animais que receberam sucedâneo como dieta líquida no período pré-desmama, apresentaram um consumo de concentrado médio de 1,64 kg/dia, o que corresponde a um consumo de 10,9% menor que os animais que receberam leite.

Outros autores, porém, não observaram efeito do aleitamento de bezerros com sucedâneo sobre o consumo de concentrado após a desmama (Abrahão, 1980; Matos et al., 1984; Silva et al., 1987; Banys et al., 1998d;), fazendo ainda uma ressalva ao experimento de Matos et al. (1984), uma vez que não analisaram estatisticamente seus dados, por se tratar de consumo em grupo, sem repetição.

Os bezerros do tratamento com sucedâneo consumiram em média 1,64 kg/dia de matéria seca de concentrado no período após a desmama, o que ocorreu entre 9 e 11 semanas de idade. Este consumo se comportou bem abaixo do proposto por Davis & Drackley (1998), que deveria ser de 2,4 kg/dia para a 9^a semana e de 2,95 kg/dia para a 11^a semana. Mesmo os bezerros do tratamento com leite consumiram menos concentrado que o proposto pelos pesquisadores citados acima. Entretanto, deve-se salientar que apesar do consumo de concentrado para este período se apresentar abaixo do proposto pelos últimos pesquisadores, o ganho de peso destes animais foi acima do recomendado, como já discutido anteriormente.

A desmama abrupta geralmente estimula o consumo de alimento seco (Otterby & Linn, 1981). O consumo de MS de concentrado no período pós-desmama sofreu marcado incremento em relação ao consumo durante o aleitamento. Este aumento era inevitável, uma vez que os animais não recebiam mais leite ou sucedâneo, além de que estavam em crescimento constante. Este aumento no consumo após a desmama indica que os animais não foram prejudicados em demasia pela suspensão do fornecimento de leite ou sucedâneo, mostrando que estavam perfeitamente adaptados ao consumo de concentrado.

Este menor consumo de matéria seca de concentrado pelos animais do tratamento com sucedâneo pode ser reflexo do menor peso apresentado por estes à desmama.

4.2.3 Conversão alimentar

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre a conversão alimentar no período de 15 dias após a desmama encontram-se na Tabela 10 e a interação entre os fatores na Tabela 11 .

Foi observada interação entre o fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida ($P=0,0233$) para a variável conversão alimentar. O fornecimento do probiótico para animais que receberam o sucedâneo aos 15 dias tendeu ($P=0,0922$) a piorar em 16,1% a conversão alimentar em relação aos animais que não o receberam. Mas o fornecimento do probiótico para os animais que receberam o sucedâneo a partir dos 3 dias de vida obteve um efeito significativo ($P=0,0383$), de modo que estes animais apresentaram uma conversão alimentar 18,2% melhor em relação aos animais que não receberam o probiótico. No entanto, não foi encontrado efeito significativo sobre o fornecimento do probiótico aos animais que receberam leite.

Poucos trabalhos utilizando probióticos têm avaliado o desempenho dos bezerros após a desmama. Moletta & Perotto (1998) comentam que ao desmamar terneiros de corte precocemente, aos 73 dias, e fornecendo-se probiótico apenas neste momento, considerado de estresse por muito pesquisadores (Sissons, 1989; Paulo, 1993), não foi constatado efeito do probiótico sobre o desempenho nos 28 dias em que os animais ficaram confinados após a desmama. Jenny et al. (1991), avaliando a eficácia de dois probióticos, que consistiam em uma mistura de concentrado de cultura microbianas *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis* e *Bacillus subtilis* ou apenas *Bacillus subtilis*, em dietas a base de sucedâneo durante o aleitamento, também não observaram efeito significativo sobre a conversão alimentar dos bezerros no período de 15 dias após a desmama. Esta ausência de efeito do probiótico sobre a conversão alimentar após a desmama também foi relatada por Rameshwar et al. (1998), no entanto o probiótico utilizado continha *Saccharomyces cerevisiae*.

A desmama é o acontecimento fisiológico mais agressivo pelo qual passa o animal. É o momento que este passa de um regime alimentar lácteo a uma alimentação seca sob forma de farinha ou de grânulos (Nunes, 1994).

Durante a fase de desmama, os enterócitos sofrem importantes modificações estruturais e funcionais. A profundidade das criptas aumenta bastante enquanto que o tamanho das vilosidades intestinais diminui. A redução das superfícies absorptivas do intestino delgado e a presença de uma população de enterócitos em vias de maturação são dois dos elementos explicativos da predisposição do animal monogástrico recém

desmamado aos fenômenos diarréicos e às dificuldades de crescimento (Hampson, 1986).

Os animais aleitados com sucedâneo aos 3 dias, e que receberam o probiótico, apresentaram melhor conversão alimentar tanto durante o aleitamento, quanto após a desmama. Como já discutido anteriormente, esta melhoria na conversão alimentar pode ser atribuída a uma melhor condição intestinal, considerando que estes bezerros possam ter apresentado um melhor balanço da microbiota intestinal, em relação aos que não receberam o probiótico, e conseqüentemente uma melhor absorção dos nutrientes (Fuller, 1989), apesar de não terem apresentado maior ganho de peso durante esta fase.

4.2.4 Peso ao final do experimento (15 dias após a desmama)

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre o peso dos animais ao final do experimento encontram-se na Tabela 10 e a interação entre os fatores na Tabela 11.

Para o peso final, não foi observada interação entre os fatores probiótico e tipo de dieta líquida. Contudo, foi observado efeito significativo para o tipo de dieta líquida ($P=0,0001$). Ao analisar o contraste 1 ($P=0,0001$), observou-se que os animais que receberam sucedâneo (tanto aos 3 quanto aos 15 dias de vida) apresentaram uma diminuição de 15,9% do peso ao final do experimento em relação aos animais que haviam recebido leite. Entretanto, Abrahão (1980) não encontrou diferenças entre os pesos após a desmama dos animais que haviam recebido leite ou sucedâneo durante o aleitamento. Mas ainda deve-se levar em consideração que estes pesos foram tomados em média aos 98 dias de idade dos animais, enquanto que em média os animais saíram do presente experimento com 78 dias. No entanto, Medina et al. (1999) mostraram que os bezerros que receberam sucedâneo durante o aleitamento apresentaram menor peso aos 120 dias de idade.

Os animais deste experimento, que pertenceram ao tratamento com sucedâneo, apresentaram em média, peso vivo final de 61,54 kg aos 78 dias de idade, peso este considerado bem abaixo do proposto por Davis & Drackley (1998) para bezerros de

raças grandes, que deveria estar dentro do intervalo de 77 a 87 kg, para bezerros na 11ª semana de vida, idade esta próxima à de 78 dias. Mesmo os bezerros que receberam leite durante o aleitamento apresentaram peso um pouco abaixo do proposto pelos pesquisadores citados acima, que foi em média de 73,14 kg ao final do experimento.

Este menor peso final apresentado pelos animais do tratamento com sucedâneo pode ser reflexo do menor peso apresentado por estes, à desmama, uma vez que apresentaram apenas uma tendência de ganhar menos peso que os animais do tratamento com leite.

Tabela 10. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros após a desmama

	Probiótico		Dieta Líquida				Probabilidades			
	Leite		S3	S15	Média	EPM	Probiót.	Dieta líq.	Contr. 1	Contr. 2
	SP	CP								
GP15 (kg/dia)	0,88	0,89	0,84	0,86	0,90	0,0269	NS	NS	0,0587	NS
CC15 (kg/dia)	1,70	1,71	1,56	1,72	1,74	0,0327	NS	0,0050	0,0013	NS
CA15	1,95	1,96	1,84	2,07	1,98	0,0435	NS	NS	NS	NS
PFIM (kg)	65,57	65,43	59,70	63,37	67,51	1,0336	NS	0,0001	0,0001	NS

As médias apresentadas referem-se as médias corrigidas pelas covariáveis peso ao nascer e data de nascimento dos bezerros.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; Contr.1=efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias de idade; Contr.2=sucedâneo aos 3 dias contra sucedâneo aos 15 dias; GP15=ganho de peso; CC15=consumo de matéria seca de concentrado; CA=conversão alimentar; PFIM=peso ao final do experimento.

Tabela 11. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre o desempenho dos bezerros após a desmama.

	Leite		S3		S15		Probabilidades						
	CP		SP		CP		Média		EPM	Interação	Prob(leite)	Prob(S3)	Prob(S15)
	SP	CP	SP	CP	SP	CP							
GP15 (kg/dia)	0,98	0,92	0,78	0,89	0,87	0,84	0,90	0,0269	NS	NS	NS	NS	NS
CC15 (kg/dia)	1,87	1,81	1,54	1,57	1,68	1,75	1,74	0,0327	NS	NS	NS	NS	NS
CA15	1,90	2,00	2,03*	1,66 ^y	1,92	2,23	1,98	0,0435	0,0233	NS	0,0383	0,0922	NS
PFIM (kg)	74,49	71,78	57,44	61,97	64,37	62,98	67,51	1,0336	NS	NS	NS	NS	NS

Linhas com letras sobrescritas diferentes dentro de cada tipo de dieta líquida diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

As médias apresentadas referem-se as médias corrigidas pela covariável peso ao nascer e data de nascimento dos bezerros.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; prob(leite)=efeito de probiótico dentro de dieta com leite; prob(S3)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 3 dias; prob(S15)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 15 dias; GP15=ganho de peso; CC15=consumo de matéria seca de concentrado; CA15=conversão alimentar; PFIM=peso ao final do experimento.

4.2.5 Consistência fecal

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre as incidências dos escores 1, 2, 3, e 4, índice de consistência fecal (ICF) e severidade de diarreia após a desmama encontram-se na Tabela 12 e a interação entre os fatores na Tabela 13.

Para a incidência de escore 1, observou-se apenas uma tendência do efeito tipo de dieta líquida (0,0919). Através do contraste 2 ($P=0,0257$), foi observado que os animais que receberam sucedâneo a partir dos 3 dias de vida apresentaram um aumento de 567,6% sobre a incidência do escore 1, em relação aos animais que receberam sucedâneo a partir dos 15 dias. No entanto, não foi observada através do contraste 1 diferença entre os animais que receberam leite durante o aleitamento e os animais que receberam sucedâneo (aos 3 e 15 dias).

Observou-se que houve apenas uma tendência ($P=0,0756$) do tipo de dieta líquida em afetar a variável incidência do escore 2. Entretanto, através do contraste 1, encontrou-se um efeito significativo ($P=0,0294$), demonstrando que houve um aumento da incidência do escore 2 em 9,3% quando os animais receberam sucedâneo (aos 3 e 15 dias) em relação aos animais que receberam leite.

Para a incidência do escore 3, observou-se efeito significativo ($P=0,0054$) para o tipo de dieta líquida. Ao separar os efeitos das dietas com leite e com sucedâneo através do contraste 1, foi observado que os animais que receberam sucedâneo tenderam a apresentar uma incidência do escore 3 (IE3) 14,6% menor que os animais que receberam leite como dieta líquida ($P=0,0649$). Entretanto, ao avaliar o contraste 2, observou-se que a incidência do escore 3 foi diminuída em 88% ($P=0,0125$) para os animais que receberam sucedâneo aos 3 dias de vida em relação aos animais que o receberam aos 15 dias.

As variáveis incidência do escore 4 e severidade de diarreia apresentaram absolutamente os mesmos dados e conseqüentemente as mesmas médias e probabilidades. Para estas duas variáveis, não foi observado efeito principal do tipo de dieta líquida, sendo observada apenas uma tendência, através do contraste 2, de

diminuição ($P=0,0747$) da incidência do escore 4 e severidade de diarreia, para os animais do tratamento com sucedâneo aos 3 dias em relação aos do tratamento com sucedâneo aos 15 dias.

Para o índice de consistência fecal (ICF), observou-se um efeito principal significativo ($P=0,0036$) para o tipo de dieta líquida. Ao avaliar o contraste 2, constatou-se que os animais que receberam o sucedâneo aos 3 dias de idade apresentaram um ICF 10,3% menor que os animais que receberam o sucedâneo aos 15 dias ($P=0,0024$).

Ao analisar em conjunto todas as variáveis acima, através do contraste 2, concluiu-se que o tratamento com sucedâneo aos 3 dias melhorou a consistência fecal dos bezerros, em relação aos bezerros do tratamento com sucedâneo aos 15 dias, uma vez que aumentou a incidência do escore 1 (IE1), diminuiu a IE3, tendeu a melhorar a IE4 (que se apresentou igual à severidade de diarreia) e finalmente melhorou o índice de consistência fecal. Entretanto, Lopes (1996) não observou diferenças nos escores fecais dos bezerros submetidos ao tratamento com sucedâneo ou leite, resultado este que difere do obtido no presente experimento.

A desmama é provavelmente o acontecimento mais agressivo com que o mamífero é confrontado. Dos fatores que são radicalmente modificados, à desmama, a alimentação merece ser destacada. O animal passa de uma alimentação láctea a uma alimentação seca sob forma de grânulos. A fonte principal de energia deixa de ser a gordura do leite para passar a ser o amido dos cereais. Outro aspecto, também fundamental na fase da desmama e que é raramente invocado, está relacionado com a microbiologia dos alimentos ingeridos. Todos estes fatores são explicativos da predisposição do animal aos fenômenos diarreicos. Esta melhor condição das fezes para os bezerros do tratamento com sucedâneo aos 3 dias em relação aos 15 dias, no período após a desmama, pode ser devido ao fato que durante o aleitamento estes animais consumiram mais concentrado, podendo estar assim mais adaptados a este novo regime alimentar, exclusivamente com concentrado, que passou a receber a partir do momento da desmama.

O fornecimento do probiótico até a desmama, não teve influência sobre a consistência das fezes dos bezerros após o a desmama. Entretanto, Moletta & Perotto

(1998) observaram que a administração de probiótico no momento da desmama de bezerros de corte reduziu significativamente o número de animais que apresentaram diarreia, bem como constataram uma diminuição no número de dias com diarreia. No entanto, Malik & Sharma (1998), ao testar um probiótico contendo *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus acidophilus*, relataram que a incidência de diarreia foi similar em ambos grupos, tratados ou não.

Tabela 12. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros após a desmama

	Probiótico			Dieta Líquida			Probabilidades				
	SP	CP	Leite	S3	S15	Média	EPM	Probiót.	Dieta líq.	Contr. 1	Contr. 2
IE1 (%)	2,98	7,21	5,81	7,41	1,11	5,07	1,3383	NS	0,0919	NS	0,0257
IE2 (%)	86,85	82,59	81,20	90,37	87,08	84,75	2,1200	NS	0,0756	0,0294	NS
IE3 (%)	11,40	11,17	12,14	2,22	18,52	11,29	1,9848	NS	0,0054	0,0649	0,0125
IE4 (%)	0,70	1,08	0,85	0,00	1,85	0,89	0,3427	NS	NS	NS	0,0747
ICF (%)	51,94	51,53	52,01	48,70	54,31	51,73	0,6760	NS	0,0036	NS	0,0024
SEV (%)	0,70	1,08	0,85	0,00	1,85	0,89	0,3427	NS	NS	NS	0,0747

As médias apresentadas referem-se as médias verdadeiras, uma vez que para sua análise foi utilizada estatística não paramétrica.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; Contr.1=efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias de idade; Contr.2=sucedâneo aos 3 dias contra sucedâneo aos 15 dias; IE1, IE2, IE3, IE4=incidência dos escores 1, 2, 3, e 4 respectivamente; ICF=índice de consistência fecal e SEV=severidade de diarreia após a desmama.

Tabela 13. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a consistência fecal dos bezerros após a desmama.

	Leite			S3			S15			Probabilidades		
	SP	CP	SP	SP	CP	CP	Média	EPM	Interação	Prob(leite)	Prob(S3)	Prob(S15)
IE1 (%)	3,86	7,67	3,34	3,34	12,50	1,48	5,07	1,3383	-	NS	NS	NS
IE2 (%)	82,46	80,00	93,33	89,17	86,67	85,00	84,75	2,1200	-	NS	NS	NS
IE3 (%)	12,98	11,33	3,33	17,04	0,83	20,00	11,29	1,9848	-	NS	NS	NS
IE4 (%)	0,70	1,00	0,00	1,48	0,00	2,22	0,89	0,3427	-	NS	NS	NS
ICF (%)	52,63	51,42	50,00	52,71	47,08	55,74	51,73	0,6760	-	NS	NS	NS
SEV (%)	0,70	1,00	0,00	1,48	0,00	2,22	0,89	0,3427	-	NS	NS	NS

Linhas com letras sobresscritas diferentes dentro de cada tipo de dieta líquida diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

As médias apresentadas referem-se as médias verdadeiras, uma vez que para sua análise foi utilizada estatística não paramétrica.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; prob(leite)=efeito de probiótico dentro de dieta com leite; prob(S3)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 3 dias; prob(S15)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 15 dias; IE1, IE2, IE3, IE4=incidência dos escores 1, 2, 3, e 4 respectivamente; ICF=índice de consistência fecal e SEV=severidade de diarreia após a desmama.

4.3 Taxa de mortalidade

Os efeitos do fornecimento de probiótico e do tipo de dieta líquida sobre a taxa de mortalidade encontram-se na Tabela 14 e a interação entre os fatores na Tabela 15.

Não foi observada interação, nem tão pouco efeitos principais, dos fatores fornecimento do probiótico e tipo de dieta líquida para a taxa de mortalidade.

A taxa de mortalidade considerada razoável por Campos e Lizieire (1998) é de no máximo 5%. Apesar de não observados efeitos significativos sobre a taxa de mortalidade, notou-se que o grupo de animais que recebeu o sucedâneo aos 3 dias apresentou a maior taxa de mortalidade que foi de 10%, a qual se encontra acima da taxa aceitável. No entanto, pouco pode-se concluir em cima desta variável, uma vez que para se avaliar dados de frequência é necessário um número de animais bem maior.

Verdes & Ioanid (1995) relataram que a administração de leite desnatado fermentado com *Bifidobacterium pseudolongum* reduziu significativamente a mortalidade causada por gastroenterite dos animais do grupo tratado, diferindo do resultado encontrado no presente experimento.

Em um estudo realizado por Wilson et al. (1994), com um total de 1403 bezerros (13 grupos) de 4 fazendas, revelou taxas de mortalidade de 3,1%, da primeira até a 16ª semana de vida dos animais. As principais causas de morte da primeira até a 7ª semana foram problemas entéricos; e da 7ª a 16ª semana, foram por problemas respiratórios.

Tabela 14. Efeitos do fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a taxa de mortalidade (TM)

	Probiótico		Dieta Líquida			Probabilidades					
	SP	CP	Leite	S3	S15	Média	EPM	Probiót.	Dieta líq.	Contr. 1	Contr. 2
TM	5,0 (2/40)	5,13 (2/39)	2,5 (1/40)	10,0 (2/20)	5,26 (1/19)	5,1 (4/79)	-	NS	NS	NS	NS

Os dados estão apresentados em frequência na forma de proporção e entre parênteses os números que deram origem à proporção.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; Contr.1=efeito de leite contra sucedâneo aos 3 ou 15 dias de idade; Contr.2=sucedâneo aos 3 dias contra sucedâneo aos 15 dias; TM=taxa de mortalidade

Tabela 15. Interação entre fornecimento de probiótico e tipo de dieta líquida sobre a taxa de mortalidade (TM)

	Leite		S3			S15			Probabilidades			
	SP	CP	SP	CP	SP	CP	Média	CV	Interação	Prob(leite)	Prob(S3)	Prob(S15)
TM	5,0 (1/20)	0,0 (0/20)	0,0 (0/10)	20,0 (2/10)	10,0 (1/10)	0,0 (0/9)	5,1 (4/79)	-	-	NS	NS	NS

Linhas com letras sobrescritas diferentes dentro de cada tipo de dieta líquida diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Os dados estão apresentados em frequência na forma de proporção e entre parênteses os números que deram origem à proporção.

SP=sem probiótico; CP=com probiótico; S3=sucedâneo aos 3 dias; S15=sucedâneo aos 15 dias; EPM=erro padrão da média; prob(leite)=efeito de probiótico dentro de dieta com leite; prob(S3)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 3 dias; prob(S15)=efeito de probiótico dentro de dieta com sucedâneo aos 15 dias; TM=taxa de mortalidade

5 CONCLUSÕES

A adição de probiótico foi benéfica no desempenho de bezerros(as) aleitados(as) com sucedâneo iniciado aos 3 dias de idade. Entretanto, a adição de probiótico ao leite integral ou ao sucedâneo iniciado aos 15 dias de idade não teve efeito em bezerros.

A substituição do leite integral pelo sucedâneo de leite aumentou o consumo de concentrado, porém diminuiu o consumo total de matéria seca até a desmama, prejudicando o desempenho dos animais, de modo que estes apresentaram menor consumo de concentrado após a desmama. O sucedâneo iniciado aos 3 dias melhorou a consistência fecal dos bezerros em comparação ao iniciado aos 15 dias de idade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, F.; ISHIBASHI, N., SHIMAMURA, S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.12, p.2838-46, 1995.
- ABRAHÃO, J.J.S. Aleitamento de terneiros leiteiros com leite integral ou com sucedâneo à base de soja. Porto Alegre, 1980. 100p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- ALVES, P.A.M.; LIZIERE, R.S.; CAMPOS, O.F.; VIEIRA, M.I.; GALDINO JÚNIOR, J. Teste de um sucedâneo e um probiótico comerciais para bezerros de rebanhos leiteiros. In: XXXIV REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Juiz de Fora, 1997. **Anais**. Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 221-3.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C). **Official methods of analysis**. 15ed. Washigton D.C., 1985. 1015p.
- BANYS, V.L.; PAIVA, P.C.A.; ALVARENGA, L.C.; FREITAS, P.M.R.; SILVEIRA, A.A. Uso de proteína texturizada de soja como ingrediente de sucedâneo para bezerros. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, 1998b. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.551-3.
- BANYS, V.L.; PAIVA, P.C.A.; ALVARENGA, L.C.; LEMOS, F.S.; OLIVEIRA, E.R. Sucedâneo a base de proteína texturizada de soja com diferentes fontes de lactose para bezerros. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, 1998a. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.77-9.
- BANYS, V.L.; PAIVA, P.C.A.; LEMOS, F.S.; SILVEIRA, A.A.; ALVARENGA, L.C. Desempenho de bezerros no pós-aleitamento com sucedâneo de proteína texturizada de soja e diferentes fontes de lactose. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, 1998d. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.597-9.

- BANYS, V.L.; PAIVA, P.C.A.; LOZANO, D.M.; FREITAS, P.M.R.; LEMOS, F.S. Utilização da proteína texturizada da soja e diferentes fontes de lactose no aleitamento de bezerros. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, 1998c. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.594-6.
- BECHMAN, T.J.; CHAMBERS, J.V.; CUNNINGHAM, M.D. Influence of *Lactobacillus acidophilus* on performance of young dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.60 (Suppl. 1), p.74, 1977. (Abstr.)
- CAMPOS, O.F.; LIZIEIRE, R.S. Estratégias para obtenção de fêmeas de reposição em rebanhos leiteiros. In: 10^o SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL - PLANEJAMENTO DA EXPLORAÇÃO LEITEIRA Piracicaba, 1998. **Anais**. Piracicaba: Fealq, 1998. p.215-55.
- CARVALHO, E.M.R.; CARVALHO, S.R.; LEAL, S.M.; NASCIMENTO, F.L.; ARANOVICH, S. Desmama precoce de bezerros leiteiros, com restrição de leite e uso de concentrados e de pastagens de boa qualidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.12, n.3, p.535-50, 1983.
- CAUGANT, I.; PETIT, H.V.; IVAN, M.; BARD, C.; SAVOIE, L.; TOULLEC, R.; THIROUIN, S.; YVON, M. In vivo and in vitro gastric emptying of milk replacers containing soybean proteins. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.2, p.533-40, 1994.
- CHAVES, A.H. Isolamento, identificação e teste de *Lactobacillus acidophilus* como probiótico para bezerros. Viçosa, 1997. 142 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
- COBLENTZ, E., MORRILL, J.L.; PARRISH, D.B.; DAYTON, A.D. Nutritive value thermoalkali-processed soy materials for young calves and rats. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.3, p.481, 1976.
- COLE, N.A.; PURDY, C.W.; HUTCHESON, D.P. Influence of yeast culture on feeder calves and lambs. **Journal of Animal Science**, v.70, n.6, p.1682-90, 1992.
- COLVIN, B.M.; LOWE, R.A.; RAMSEY, H.A. Passage of digesta from the abomasum of a calf fed soy flour milk replacers and whole milk. **Journal of Dairy Science**, v.52, n.5, p.687, 1969.
- CRUYWAGEN, C.H.; JORDAAN, I.; VENTER, L. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.3, p.483-6, 1996.

- CRUZ, S.N. Obtenção de proteína microbiana para a ração animal a partir do hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar. Piracicaba, 1990. 89p. Dissertação (Mestrado) - Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- DANIELS, L.B.; HALL, J.R.; HORNSBY, Q.R.; COLLINS, J.A. Feeding naturally fermented, cultured, and direct acidified colostrum to dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.60, n.6, p.992-6, 1977.
- DAVIS, A.V.; WOODWARD, R.S. Effect of a *Lactobacillus* fermentation product on growth and health of baby calves. **Journal of Dairy Science**, v.61 (Suppl. 1), p.171, 1978. (Abstr.)
- DAVIS, A.V.; WOODWARD, R.S. Response of calves fed a lactobacillus fermentation product. **Journal of Dairy Science**, v.62 (Suppl. 1), p.104, 1979. (Abstr.)
- DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339p.
- DAVIS, G.H. The classification of lactobacilli from the human mouth. **Journal of General Microbiology**, v.13, p.481-93, 1955.
- DUBOS, R.J. Staphilococci and infection immunity. **American Journal of Diseases of Children**, v.105, p.643-5, 1963.
- ELLINGER, D.K.; MULLER, L.D.; GLANTZ, P.J. Influence of feeding fermented colostrum and *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.3, p.478-82, 1980.
- ERICKSON, P.S.; SCHAUFF, D.J.; MURPHY, M.R. Diet digestibility and growth of Holstein calves fed acidified milk replacers containing soy protein concentrate. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.6, p.1528-33, 1989.
- FERREIRA, C.L.L.F. A cultura lática como adjunto dietético. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.13, n.155, p.43-5, 1988.
- FRETER, R. Experimental enteric shigella and vibrio infection in mice and guinea pigs. **Journal of Experimental Medicine**, v.104, p.411-8, 1956.
- FRIEND, B.A.; SHAHANI, K.M. Antitumor properties of lactobacilli and dairy products fermented by lactobacilli. **Journal of Food Protection**, v.47, n.9, p.717-23, 1984.
- FULLER, R. Basis and efficacy of probiotics. **World's Poultry Science Journal**, v.44, n.1, p.69-70, 1988.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, p.365-78, 1989.

- FULLER, R. Probiotics. **Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement**, v.61, p.1S-7S, 1986.
- GARDNER, R.W.; SHUPE, M.G.; BRIMHALL, W.; WEBER, D.J. Causes of adverse responses to soybean milk replacers in young calves. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.5, p.1312-7, 1990.
- GILLILAND, S.E.; BRUCE, B.B.; BUSH, L.J.; STALEY, T.E. Comparison of two strains of *Lactobacillus acidophilus* as dietary adjuncts for young calves. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.6, p.964-72, 1980.
- GILLILAND, S.E.; SPECK, M.L.; NAUYOK JR., G.F.; GIESBRECHT, F.G. Influence of consuming nonfermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of healthy males. **Journal of Dairy Science**, v.61, n.1, p.1-10, 1978.
- GILLILAND, S.E.; STALEY, T.E.; BUSH, L.J. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.12, p.3045-51, 1984.
- GOERING, H.K.; VAN, SOEST, P.J. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). **Agriculture Handbook**, 379, Agricultural Research Service, Washington D.C., 1970. 19p.
- GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T.; RIGOLON, L.P.; DAMASCENO, J.C.; RIBAS, N.P.; VEIGA, D.R. Efeito da adição de probióticos na dieta, sobre o estado sanitário e desempenho de bezerros da raça holandesa. In: XXXIV REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Juiz de Fora, 1997. **Anais**. Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 218-20.
- GONTIJO, C.M. Efeito do congelamento e estocagem a -18°C na viabilidade e em algumas características fisiológicas de "Lactobacillus acidophilus" resistentes e sensíveis à bacteriocina. Viçosa, 1992. 58p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- GORRILL, A.D.L.; THOMAS, J.W. Body weight changes, pancreas size and enzyme activity, and proteolytic enzyme activity and protein digestion in intestinal contents from calves fed soybean and milk protein diets. **Journal of Nutrition**, v.92, p.215-23, 1967.
- GUERREIRO, M.G.; OLIVEIRA, S.J.; SARAIVA, D. **Bacteriologia Especial - com interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984. 492p.
- GUILLOTEAU, P.; TOULLEC, R.; GRONGNET, J.F. Digestion of milk, fish and soya-bean protein in the preruminant calf: flow of digesta, apparent digestibility at the end of the ileum and amino acid composition of ileal digesta. **British Journal of Nutrition**, v.55, p. 571-92, 1986.

- HAMDAN, I.Y.; MIKOLAJCIK, E.M. Growth, viability, and antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Dairy Science**, v.56 (Suppl. 1), p.638, 1973. (Abstr.)
- HAMPSON, D.J. Alterations in piglet small intestinal structure at weaning. **Research in Veterinary Science**, v.40, p.32-40, 1986.
- HARP, J.A.; JARDON, P.; ATWILL, E.R.; ZYLSTRA, M.; CHECEL, S.; GOFF, J.P.; SIMONE, C. Field testing of prophylactic measures against *Cryptosporidium parvum* infection in calves in a California dairy herd. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, n.11, 1586-8, 1996.
- HATCH, R. C.; Thomas, R. O.; Thayne, W. V. Effect of adding *Bacillus acidophilus* to milk fed to baby calves. **Journal of Dairy Science**, v.56 (Suppl. 1), p.682, 1973. (Abstr.)
- HIGGINBOTHAM, G.E.; BATH, D.L. Evaluation of *Lactobacillus* fermentation cultures in calf feeding systems. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.615-20, 1993.
- HILL, I.R.; KENWORTHY, R.; PORTER, P. Studies of the effect of dietary lactobacilli on intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning and post-weaning diarrhoea. **Research in Veterinary Science**, v.11, p.320-6, 1970b.
- HILL, I.R.; KENWORTHY, R.; PORTER, P. The effect of dietary lactobacilli on in-vitro catabolic activities of the small intestinal microflora of newly weaned pigs. **Journal of Medical Microbiology**, v.3, p.593-605, 1970a.
- HUBER, J.T.; CAMPOS, O.F. Enzymatic hydrolysate of fish, spray-dried fish solubles, and soybean protein concentrate in milk replacer for calves. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.12, p.2351-6, 1982.
- JASTER, E.H.; McCOY, G.C.; FERNANDO, R.L. Dietary fat in milk or milk replacers for dairy calves raised during the winter. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.7, p.1843, 1990.
- JENNY, B.F.; VANDIJK, H.J.; COLLINS, J.A. Performance and fecal flora of calves fed a *Bacillus subtilis* concentrate. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.6, p.1968-73, 1991.
- KANJANAPRUTHIPONG, J. Supplementation of milk replacers containing soy protein with threonine, methionine, and lysine in the diets of calves. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.11, p.2912-15, 1998.
- KHORASANI, G.R.; SAUER, W.C.; MAENHOUT, F.; KENNELLY, J.J. Substitution of milk proteins with soyflour or meat-soluble in calf milk replacers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.69, n.2, p.373-82, 1989.

- KILBERG, R. The microbe as a source of food. **Annual Review of Microbiology**, v.26, p.427-66, 1972.
- KLAENHAMMER, T.R. Microbiological considerations in selection and reparation of *Lactobacillus* strains for use as dietary adjuncts. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.7, p.1339-49, 1982.
- LEWENSTIN, A.; FRIGERIO, G.; MORONI, M. Biological properties of SF68, a new approach for the treatment of diarrheal diseases. **Current Therapeutic Research**, v.26, n.6, 1979.
- LLOYD, A.B.; CUMMING, R.B.; KENT, R.D. Prevention of *Salmonella typhimurium* infection in poultry by pretreatment of chickens and poults with intestinal extracts. **Australian Veterinary Journal**, v.53, p.82-7, 1977.
- LOPES, J.N.P. Efeito de dietas líquidas à base de leite integral e, ou, subprodutos de soja sobre alguns parâmetros da digestão em bezerros. Viçosa, 1996. 71p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- LUCCI, C.S. **Bovinos Leiteiros Jovens - Nutrição, Manejo e Doenças**. São Paulo: Nobel/Editora da Universidade de São Paulo, 1989. 371p.
- MACIAS, M.E.N.; ROMERO, N.C.; APELLA, M.C.; GONZÁLEZ, S.N.; OLIVER, G. Prevention of infections produced By *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by feeding milk fermented with lactobacilli. **Journal of Food Protection**, v.56, n.5, p.401-5, 1993.
- MALIK, R.; SHARMA, D.D. Influence of mixed probiotic on growth, feed conversion efficiency and incidence of diarrhoea in young calves. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v.15, n.3, p.228-31, 1998.
- MATOS, L.L.; CAMPOS, O.F.; PIRES, M.F.A.; LEITE, L.O. Comparação entre leite integral e diferentes sucedâneos do leite na alimentação de bezerros. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.13, n.4, p.447-55, 1984.
- MCCORMICK, R.J.; STEWART, W.E. Pancreatic secretion in the bovine calf. **Journal of Dairy Science**, v.50, p.568-71, 1967.
- MEDINA, R.B.; LÜDER, W.E.; FISCHER, V.; SILVA, C.A.; MORENO, C.B. Desaleitamento precoce de terneiros da raça holandês preto e branco utilizando sucedâneo lácteo. In: XXXVI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Porto Alegre, 1999. **Anais**. Porto Alegre: SBZ, 1999. p.235. /Resumo/
- MITCHELL, I.G.; KENWORTHY, R. Investigations on a metabolite from *Lactobacillus bulgaricus*, which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pigs. **Journal of Applied Bacteriology**, v.41, p.163-74, 1976.

- MOLETTA, J.L.; PEROTTO, D. Efeito do uso de probiótico no desempenho e incidência de diarreia em terneiros de corte desmamados precocemente. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, 1998. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.125-7.
- MORRILL, J.L.; DAYTON, A.D.; MICKELSEN, R. Cultured milk, and antibiotics for young calves. **Journal of Dairy Science**, v.60, n.7, p.1105-09, 1977.
- MORRILL, J.L.; MICKELSEN, R.; DAYTON, A.D. Sour colostrum, cultured milk, and antibiotic for young calves. **Journal of Dairy Science**, v.57 (Suppl.1), p.643, 1974. (Abstr.)
- MORRILL, J.L.; MORRILL, J.M.; FEYERHERM, A.M.; LASTER, J.F. Plasma proteins and a probiotic as ingredients in milk replacer. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.4, p.902-907, 1995.
- MUIRHEAD, S. Antimicrobials continue to draw attention. **Feedstuffs**, v.69, n.44, p.1 e 5, 1997.
- MURALIDHARA, K.S.; SHEGGEBY, G.G.; ELLIKER, P.R.; ENGLAND, D.C.; SANDINE, W.E. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and *Lactobacillus* flora of intestinal tissue and feces from piglets. **Journal of Food Protection**, v.40, p.288-95, 1977.
- NITSAN, Z.; VOLCANI, R.; HASDAI, A.; GORDIN, S. Soybean protein substitute for milk protein in milk replacers for suckling calves. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.6, p.811-21, 1972.
- NUNES, C.S. Probióticos microbianos e criação intensiva de animais. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, n.512, p.166-74, 1994.
- NUTRIENT REQUIREMENT OF DAIRY CATTLE (NRC). Washington, D.C.: National Academy Press, 1988. 157p.
- OROPEZA-AGUILAR, M.I.; POSADAS-MANZANO, E.; CERVANTES-SANCHEZ, J.M.; ORTIZ-NARANJO, O. Prevencion de afecciones gastrointestinales mediante el uso de probioticos en becerros Holstein lactantes. **Veterinaria-Mexico**, v.29, n.2, p.197-201, 1998. /Resumo em **CAB Abstracts on CD-ROM**, 1998.
- OTTERBY, D.E.; LINN, J.G. Advances in nutrition and management of calves and heifers. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.6, p.1365-77, 1981.
- OWEN, F.G.; LARSON, L.L. Effect of probiocin and starter preparations on calf performance. **Journal of Dairy Science**, v.67 (Suppl.1), p.139-40, 1994. (Abstr.)
- PARKER, R.B. Probiotics, the other half of the antibiotics story. **Animal Nutrition and Health**, v.29, p.4-8, 1974.

- PASSINI, R. Efeitos da substituição parcial do milho da dieta pelo resíduo de panificação sobre o desempenho e características da carcaça de novilhos da raça Holandesa. Pirassununga, 1997. 67p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- PAULO, E.M. Isolamento e caracterização de *Lactobacillus acidophilus* de fezes de suínos para uso como probiótico. Viçosa, 1991. 73p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- PAULO, E.M. Probióticos, novo conceito de ação bacteriana. **Revista A Granja**, v.49, n.534, p.20-4, abr. 1993.
- PERDIGON, G; ALVAREZ, S.; MACIAS, M.E.N.; ROUX, M.E.; HOLGADO A.P.R. The oral administration of lactic acid bacteria increase the mucosal intestinal immunity in response to enteropathogens. **Journal of Food Protection**, v.53, n.5, p.404-10, 1990.
- POLLMANN, D.S.; DANIELSON, D.M.; WREN, W.B.; PEO Jr, E.R.; SHANANI, K.M. Influence of *Lactobacillus acidophilus* inoculum on gnotobiotic and convencional pigs. **Journal of Animal Science**, v.51, n.3, p.629-37, 1980.
- QUIGLEY III, J.D.; DREWRY, J.J.; MURRAY, L.M.; IVEY, S.J. Body weight gain, feed efficiency, and fecal scores of dairy calves in reponse to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1751-4, 1997.
- QUIGLEY III, J.D. Intake, growth, and health of dairy calves in response to mannanoligosaccharide and oral challenge with *Escherichia coli*. **Journal of Dairy Science**, v.79 (Suppl.1), p.230, 1996. (Abstr.)
- QUINLAN, J.F. Judicious use of veterinary medicine in improving animal husbandry. *In* Biotechnology in the Feed Industry. **Alltech Technical Publication**, v.IV, p.215, 1990.
- QUINTERO-GONZALEZ, C.I.; COMERFORD, J.W.; VARGA, G.A.; CASSIDY, T.W. Effects of direct-fed microbials on productivity and blood parameters in young calves. **Journal of Dairy Science**, v.77 (Suppl. 1), p.89, 1994. (Abstr.)
- RADOSTITS, O.M.; BELL, J.M. Nutrient digestibility by new-born calves fed milk replacer. **Canadian Journal of Animal Science**, v.48, p.293-302, 1968.
- RAMESHWAR, S.; CHAUDHARY, L.C.; KAMRA, D.N.; PATHAK, N.N. Effect of dietary supplementation with yeast cell suspension (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilisation and growth response in crossbed calves. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.11, n.3, p.268-71, 1998.
- RAMSEY, H.A.; WILLIARD, T.R. Symposium: recent advances in calf rearing. **Journal of Dairy Science**, v.58, n.3, p.436-41, 1975.

- REITER, B.; MARSHALL, V.M.; PHILIPS, S.M. The antibiotic activity of the lactoperoxidase thiocyanate-hydrogen peroxide system in the calf abomasum. **Research Veterinary Science**, v.28, p. 116-22, 1980.
- RIEL, R. **Composición y estructura físico-química de la leche**. Espanha: Ed. Acribia S.A., 1991. p.1-54
- ROACH, J.; BRINGE, A. Use of direct-fed microbials to improve replacer calves performance. **Journal of Dairy Science**, v.72 (Suppl.1), p.447, 1989. (Abstr.)
- ROGOSA, M. Gram-positive, osporogenous, rodshaped bacteria In: Buchanan, R. E. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8 ed. Baltimore, Willians and Wilkins Company, 1974. p. 576-93
- ROY, J.H.B. **The calf**, vol.1, Management of Health, London: Butterworths, 1990. 258p.
- ROY, J.H.B. **The calf**, vol.2, Nutrition and Health, Iliffe Books Ltd., London, 1970.
- RUPPERT, L.D.; MCCOY, G.C.; HUTJENS, M.F. Feedings of probiotics to calves. **Journal of Dairy Science**, v.77 (Suppl. 1), p.296, 1994. (Abstr.)
- SAS INSTITUTE Inc. **SAS User's guide: statistics**. 5ed., Cary, NC, 1985.
- SAVAGE, D.C. Associations and physiological interactions of indigenous microorganisms and gastrointestinal epithelia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.25, p.1372, 1972.
- SCHWAB, C.G.; MOORE, J.J.; HOYT, P.M.; PRENTICE, J.L. Performance and fecal flora of calves fed a nonviable *Lactobacillus bulgaricus* fermentation product. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.9, p.1412-23, 1980.
- SEEGRABER, F.J.; MORRILL, J.L. Effect of protein source in calf milk replacers on morphology and absorptive ability of small intestine. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.2, p.460-9, 1986.
- SEEGRABER, F.J.; MORRILL, J.L. Effect of soy protein on calves' intestinal absorptive ability and morphology determined by scanning electron microscopy. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.10, p.1962-70, 1982.
- SEEGRABER, F.J.; MORRILL, J.L. Effect of soy protein on intestinal absorptive ability of calves by the xylose absorption test. **Journal of Dairy Science**, v.62, n.6, p.972-7, 1979.
- SILVA, A.G.; HUBER, J.T.; DeGREGORIO, R.M. Influence of substituting two types of soybean protein for milk protein on gain and utilization of milk replacers in calves. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.1, p.172-80, 1986.

- SILVA, M.M.L.; VIEIRA, P.F.; TOSI, H.; FAVORETTO, V.; KRONKA, S.N. Utilização de substituto do leite integral no aleitamento de bezerros de raças leiteiras em sistema de desaleitamento precoce. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.16, n.3, p.215-21, 1987.
- SISSONS, J.W. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals - a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.49, n.1, p.1-13, 1989.
- SISSONS, J.W.; THURSTON, S.M. Survival of dietary antigens in the digestive tract of calves intolerant to soyabean products. **Research in Veterinary Medicine**, v.37, p.242-6, 1984.
- SMITH, H.W. The development of the flora of the alimentary tract in young animals. **Journal of Pathological Bacteriology**, v.90, p.495, 1965.
- SMITH, R.H.; SISSONS, J.W. The effect of different feeds, including those containing soya-bean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. **British Journal of Nutrition**, v.33, p. 329-49, 1975.
- SORRELS, K.; SPECK, M.L. Inhibition of *Salmonella citrovarum*. **Journal of Dairy Science**, v. 53, n.2, p. 239-41, 1970.
- SPECK, M.L. Interactions among lactobacilli and man. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.2, p.338-43, 1976.
- STEWART, C.S.; CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Veterinary Journal**, v.31, p.11-33, 1993.
- TERNOUTH, J.H.; ROY, J.H.B.; THOMPSON, S.Y.; TOOTHILL, J.; GILLIES, C.M.; EDWARDS-WEBB, J.D. Concurrent studies of the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves: 3. Further studied on the addition of fat to skim milk and the use of non-milk proteins in milk substitute diets. **British Journal of Nutrition**, v.33, p. 181-96, 1975.
- VAN DER WAAIJ, D.; BERGHUIS-DE VRIES, J.M.; LEKKERKERK-VAN DER WEES, J.E.C. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. **Journal of Higiene**, v.69, p.405-11, 1971.
- VASCONCELOS, A.M.; FAÇANHA, D.A.E.; OLIVO, C.J.; CARVALHO, N.M. Utilização de substituto lácteo no desempenho de bezerros da raça holandesa. In: XXXV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Botucatu, 1998a. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p.68-70.
- VASQUEZ, F.; BROWN, T.F.; WITTIE, R.D. Performance of newborn calves fed a commercial probiotic. **Journal of Dairy Science**, v.80 (Suppl. 1), p.189, 1997. (Abstr.)

- VASSALO, M. Probióticos em rações para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. Lavras, 1995. 50p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.
- VERDES, N.; IOANID, P. Utilizarea unui produs acidolactic bioregulator in profilaxia gastroenteritelor neonatale la vitel. **Revista Romana de Medicina Veterinara**, v.5, n.2, p.149-53, 1995. / Resumo em **CAB Abstracts on CD-ROM**, 1995.
- VIEIRA, P.F. Alimentação de bezerros. **Revista Gado Holandês**, v.52, n.143, p.47-51, out. 1987.
- VINCENT, J.G.; VEOMETT, R.C.; RILEY, R.F. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Bacteriology**, v.78, p.477-84, 1959.
- WILSON, K.H.; PERINI, F. Role of competition for nutrients in supression of *Clostridium difficile* by the colonic microflora. **Infection and Immunity**, v.56, p.2610-4, 1988.
- WILSON, L.L.; EGAN, C.L.; DRAKE; T.R. Blood, growth, and other characteristics of special-fed veal calves in private cooperators herds. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2477-85, 1994.