

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

**Uso de bacteriófagos como alternativa na prevenção de diarreias bacterianas e
melhora do desempenho zootécnicas de bezerras leiteiras**

Evandro Schmoeller

Pelotas, 2019

Uso de bacteriófagos como alternativa na prevenção de diarreias bacterianas e melhora do desempenho zootécnicas de bezerras leiteiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências, (Área de conhecimento: Produção Animal, com ênfase em metabolismo de bezerras leiteiras.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino
Co-orientador: Prof. Dr. Viviane Rohrig Rabassa
Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa

Pelotas, 2019

Uso de bacteriófagos como alternativa na prevenção de diarreias bacterianas e melhora do desempenho zootécnicas de bezerras leiteiras

Dissertação apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 20/02/2019

Banca examinadora:

Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino
Doutor em Ciência Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dra. Paula Montagner
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dra. Beatriz Riet Correa Rivero
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade de Federal de Campina Grande.

Prof. Dr. Raquel Fraga e Silva Raimondo
Doutora em Clínica Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Agradecimentos

Primeiramente agradecer a Deus, pela benção de usufruir de saúde para poder desempenhar esse trabalho.

A minha família, que é base de todas minhas conquistas e suportou firmemente a cada dificuldade ao meu lado.

Aos meus amigos, que proporcionaram momentos de descontração e de conforto durante todo o período acadêmico.

Ao Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão – NUPEEC, pelo suporte e pela infraestrutura disponibilizada para a realização do projeto.

Ao meu orientador Francisco Augusto Burkert Del Pino, e aos meus co-orientadores Marcio Nunes Corrêa, Viviane Rohrig Rabassa e Eduardo Schmitt que me deram grande suporte durante o exercício da pós-graduação.

Ao meu orientador de graduação Vinicius Coitinho Tabeleão que apresentou a pesquisa científica na minha trajetória e serviu com alicerce na minha formação .

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas (PPGZ - UFPel) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Mestrado.

RESUMO

Schmoeller, Evandro. **Uso de bacteriófagos como alternativa na prevenção de diarreias bacterianas e melhora do desempenho zootécnicas de bezerras leiteiras**. 2019. 51f. Dissertação de Mestrado em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

A diarreia é a principal doença no período neonatal, sendo responsável pelo decréscimo no ganho de peso, aumento no tempo a primeira cobertura e menor produção de leite futura. Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do uso de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida de bezerras leiteiras na prevenção de diarreias e no desempenho zootécnico. Para tal, foram utilizadas 200 bezerras da raça girolando, divididas de forma homogênea em dois grupos, considerando o grau sanguíneo, peso ao nascimento e ordem de partos, sendo: Grupo Controle (GC, n=100) sem a adição de bacteriófago a dieta; e Grupo Bacteriófago (GF, n=100) com a adição de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida a partir do terceiro dia de vida. Foram realizadas avaliações de concentração sérica de proteínas plasmáticas totais (PPT) entre 24-48 horas de vida para a mensuração de falha de transferência de imunidade passiva – FTIP (PPT<5,5 g/dL). Os animais foram monitorados até os 80 dias quanto a ocorrência de doenças e desempenho zootécnico. Além disso, foi realizado mensuração do escore de fezes (EF) diariamente até os 30 dias de idade, numa escala de 0-4, gerando o tempo que os animais permaneciam em diarreia (EF≥2) e a duração do primeiro episódio. Na avaliação de FTIP, não houve diferença (p=0,25) entre os grupos, assim como na morbidade, mortalidade, letalidade e recidiva de diarreia (p>0,05). Contudo, o GF apresentou uma redução de 29,2 % no tempo de diarreia no primeiro mês de vida e 34,4% na duração da diarreia ao primeiro episódio. Além disso, o GF apresentou uma superioridade de ganho de peso de 90 g/dia no período neonatal, 63 g/dia no desaleitamento parcial, e 41 g/dia em todo o período de aleitamento. Diante disso, é possível afirmar que o uso da fagoterapia no período de aleitamento reduz o tempo de duração da diarreia neonatal, proporcionando um maior ganho de peso médio diário dos animais.

Palavras-chave: Fagoterapia, Ganho de peso, Doenças neonatais.

ABSTRACT

Schmoeller, Evandro. **Use of bacteriophages as an alternative in the prevention of bacterial diarrhea and improvement of the performance of dairy calves.** 2019. 51p. Dissertation Master degree in Sciences. Graduate Program in Animal Science. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2019.

Diarrhea is the main disease in the neonatal period, being responsible for the decrease in weight gain, increase in the time the first coverage and less milk production in the future. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of the use of bacteriophages continuously in the liquid diet of dairy calves in the prevention of diarrhea and zootechnical performance. To do this, 200 calves of the girolando breed were used, divided equally into two groups, considering the blood level, birth weight and calving order, being: Control Group (GC, n = 100) without the addition of bacteriophage to the diet ; and Group Bacteriophage (GF, n = 100) with the addition of bacteriophages continuously in the liquid diet from the third day of life. Serum total plasma protein concentration (TPP) assessments were performed between 24-48 hours of life for the measurement of passive immunity transfer failure - PITF (PPT <5.5 g / dL). The animals were monitored up to 80 days for the occurrence of diseases and zootechnical performance. In addition, stool score (SS) was measured daily up to 30 days of age, on a scale of 0-4, generating the time the animals remained in diarrhea (SS≥2) and the duration of the first episode. In the evaluation of PITF, there was no difference ($p = 0.25$) between the groups, as well as morbidity, mortality, lethality and recurrence of diarrhea ($p > 0.05$). However, GF presented a reduction of 29.2% in the time of diarrhea in the first month of life and 34.4% in the duration of diarrhea in the first episode. In addition, GF presented a gain superiority of 90 g / day in the neonatal period, 63 g / day in the partial weaning, and 41 g / day throughout the suckling period. In view of this, it is possible to affirm that the use of phage therapy in the period of suckling reduces the duration of neonatal diarrhea, providing a greater average daily weight gain of the animals.

Keywords: Phage therapy, Weight gain, Neonatal diseases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ciclo de vida reprodutivo dos bacteriófagos.....	19
Figura 2: Período de duração do primeiro episódio de diarreia (A) e tempo de permanência de fezes diarreicas (B) no período neonatal em bezerras com ou sem a adição de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida (n=96).....	40
Figura 3: Ganho de peso médio diário (GMD) durante o período neonatal (30 dias) desaleitamento parcial (42 dias) e desaleitamento total (80 dias) de bezerras com ou sem adição de bacteriófagos a dieta líquida (n=175).....	41

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Taxas de mortalidade, morbidade, óbito e recidivas de doenças de bezerras com ou sem a adição de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida.40
- Tabela 2:** Avaliação do desenvolvimento corporal de bezerras com ou sem adição de bacteriófago de forma contínua na dieta líquida.....41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	BACTERIÓFAGOS COMO ALTERNATIVA NO CONTROLE DA DIARREIA NEONATAL BOVINA	11
2.1.1	Diarreia neonatal bovina	11
2.1.1.1	Diarreia Bacteriana	12
2.1.1.2	Alterações metabólicas na diarreia	13
2.1.2	Limitações das terapias convencionais	14
2.1.3	BACTERIÓFAGOS	15
2.1.3.1	Morfologia e Classificação	17
2.1.3.2	Ciclos de vida	18
2.1.3.3	Vantagens da Fagoterapia.....	20
2.1.3.4	Estratégias terapêuticas	21
2.1.4	Referências Bibliográficas	24
3	ARTIGO	33
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
	ANEXOS	50
	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA	51

1 INTRODUÇÃO

A criação de bezerras continua sendo um dos grandes desafios na bovinocultura leiteira. Apesar do desenvolvimento de tecnologias no sistema de criação e no controle de doenças, diversos são os fatores que levam essa classe a possuir elevadas taxa de morbidade e mortalidade (Acres, 1985, Radostits et al. 2007). Apesar de um sistema imunológico maturo ao nascimento, a capacidade de resposta imune nas primeiras semanas de vida não possui efetividade exigida para o período (Hulbert & Moisés, 2016), atrelando sua defesa quase que exclusivamente aos anticorpos maternos transmitidos via colostro, contudo, a falha de transferência de imunidade passiva ainda possui altos índices em propriedades leiteiras (Barragry 1997, Weaver et al., 2000).

Aliados aos fatores intrínsecos, o ambiente de criação tem influência direta na incidência de enfermidades neonatais (Svensson et al., 2003) pois determina o grau de exposição a patógenos e a intempéries ambientais. Os distúrbios gastrointestinais e pulmonares são os principais entraves do desenvolvimento no período neonatal, podendo ocorrer de forma isolada ou concomitantes (Barrington et al. 2002, Callan & Gary 2002). A diarreia se destaca nas primeiras semanas de vida (Garcia et al., 2000) acometendo em mais de 50 % dos animais, podendo chegar a totalidade dos animais quando mal manejados (Bartels et. al, 2010; Hulbert & Moisés, 2016).

A diarreia é caracterizada pelo aumento no volume e no número de excreções, diminuindo a capacidade de absorção de nutrientes. Sua etiologia é multifatorial, podendo ser aliada a fatores infecciosos (bactéria, vírus, protozoários) ou não infecciosa, podendo ocorrer de formas isoladas ou concomitantes (Bartels et.al, 2010; Izzo et al., 2011). A co-infecção é comum em bezerras (Cho & Yoon, 2014), aliados principalmente a pressão infectiva presente nos ambientes de criação e a susceptibilidade de proliferação de bactérias patogênicas em animais acometidos por desordens entéricas. A colonização dessas bactérias altera a função intestinal e causam a desestruturação da microbiota comensal do intestino, que tem importantes funções sobre o desenvolvimento do epitélio intestinal e imunológico e na modulação da resposta inflamatória (Lei Y.M, et.al, 2015). Portanto, o aumento da taxa de passagem associado a uma disbiose bacteriana tem influência direta na absorção e

na saúde animal, podendo levar a alterações metabólicas que retardam o desenvolvimento e o início da vida produtiva (Cho et al., 2013; Zeineldin et al., 2018).

Apesar dos constantes avanços nas terapias, o controle da doença nesse período ainda é um desafio não solucionado. Além disso, o crescente aumento da resistência bacteriana a antibióticos, associada a desestruturação da microflora comensal do intestino tem questionado as terapias convencionais. Uma das alternativas para o controle bacteriano é o uso de bacteriófagos, que são partículas intracelulares obrigatórias de bactérias com alta especificidade (Santos et al., 2014). Em termos gerais, os bacteriófagos possuem ciclos lisogênicos e líticos, sendo esse último mais comumente utilizado em estudos terapêuticos devido a maior capacidade de replicação e de combate bacteriano (Sulakvelidze et al., 2001). Diante disso, o objetivo desse trabalho é avaliar o uso de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida sobre a incidência de diarreia e o desempenho zootécnico de bezerras leiteiras.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BACTERIÓFAGOS COMO ALTERNATIVA NO CONTROLE DA DIARREIA NEONATAL BOVINA

2.1.1 Diarreia neonatal bovina

O período neonatal é um estágio crítico no desenvolvimento de funções fisiológicas. A adaptação a vida extrauterina e a instabilidade metabólica torna o recém-nascido propenso a doenças perinatais, causando desvios financeiros para o sistema produtivo (Piccione et al., 2010; Arfuso et al., 2017). Dentro desse cenário, durante as primeiras semanas de vida, distúrbios do trato digestório e respiratório, apresentam alta incidência em neonatologia bovina (Svensson et al., 2003; Botteon et al., 2008), sendo que a diarreia é a principal causadora de desordens no sistema digestivo neste período.

A diarreia é um sinal clínico provenientes de distúrbios no sistema digestório dos animais. Além disso, é reconhecida como uma síndrome decorrente da interação entre agentes infecciosos e fatores não-infecciosos relacionados à nutrição; condições de higiene dos criatórios; densidade populacional; condições sanitárias da mãe e do próprio animal, entre outros (Barrington et al., 2002). Portanto, independente do sistema de criação adotado na propriedade, é muito importante que esses pontos recebam atenção redobrada dos produtores, pois nessa fase de vida os animais ainda não estão com o seu sistema imunológico completamente desenvolvido, sendo mais suscetíveis a inúmeras infecções.

Entre os agentes etiológicos envolvidos na patogenia da enfermidade, comumente, de forma simultânea, destacam-se *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Coronavírus*, *Adenovírus* e parasitas como *Cryptosporidium spp.* e *Eimeria spp.* Porém, os principais agentes etiológicos são *Escherichia coli* e *Rotavírus* (Langoni et al., 2004; Ferreira et al., 2009; Oliveira et al., 2012; Cho et al., 2013).

Como se trata de uma doença multifatorial, a gravidade depende da cepa envolvida e de fatores do hospedeiro que podem predispor à enfermidade, como falha na transferência de imunidade passiva, falta de antissepsia do cordão umbilical logo após o parto, alta lotação de animais em confinamento, fatores meteorológicos, além da desinfecção incorreta do ambiente (Pence et al., 2001).

O curso da enfermidade é rápido, iniciando-se a sintomatologia com alterações comportamentais, progredindo para alterações metabólicas que podem levar ao óbito (CHO et al., 2010). Um dos principais achados clínicos são fezes com consistência amolecida a aquosa, que podem ser observadas no períneo ou cauda, bem como no ambiente onde os animais estão alojados.

Como consequência, a doença apresenta, principalmente, o prejuízo econômico para o sistema de produção, com perdas econômicas ao redor de 20% a 52% (Botteon et al., 2008). Os prejuízos são em decorrência da perda dos animais por óbito, gastos com tratamento; perda de peso do animal e comprometimento do seu desenvolvimento, acarretando em bezerras com baixa capacidade produtiva no futuro.

2.1.1.1 Diarreia Bacteriana

A diarreia bacteriana decorre muitas vezes da queda da imunidade gerada por outros fatores primários ligados a sanidade, nutrição e condições ambientais (CHO & Yoon, 2014). A supressão imunitária e o desequilíbrio da microbiota intestinal facilitam a fixação e proliferação de bactérias patogênicas transitórias, presentes no ambiente de criação (Zeineldin et al., 2018). Em bezerras está associada principalmente a *Escherichia coli* e a *Salmonella spp.*, ambas causadoras de hipersecreção, contudo, com patogenicidade distintas.

A *E. coli* é a uma bactéria gram-negativa que é classificada em diferentes patotipos de acordo com sua virulência (Kaper et al., 2004). A *E. coli enterotoxigênica* - ETEC o principal patotipo associada a diarreia bacteriana em bezerras, sendo predominante a partir do quarto dia de vida (Foster & Smith, 2009). Sua patogenia é dada inicialmente pela expressão do antígeno k99 responsável por sua fixação, principalmente na parte distal do intestino delgado. Após a colonização, há a produção da toxina termo-estável, causando a secreção de cloreto para o intestino e por osmose levando a diarreia aquosa (Holland, 1990, Foster & Smith, 2009).

Assim como a *E.coli*, a *Salmonella spp.* também é uma gram-negativa e pode atingir bovinos de qualquer idade, contudo, é predominante em bezerros com menos de 3 semanas de idade. A *S. entérica* sorovares *Typhimurium* e *Dublin* são as mais comuns em bovinos, sendo associada a diarreia aguda e a doença sistêmica, respectivamente (Cho e Yoon, 2014). Em bezerros a *S. typhimurium* é a mais comum

e responsável por apresentar diarreia aquosa e mucoide com a presença de estrias de fibrina e sangue (Fossler et.al, 2005). A patogenicidade é determinada pela fixação no trato gastrointestinal, principalmente nas porções distais do íleo e ceco e multiplicação nos tecidos linfoides, se disseminando por todo o organismo e invadindo as células mononucleares e fagócitos (Tsolis et al., 1999; Kirk et al, 2002).

Assim, os distúrbios decorrentes da diarreia bacteriana devem-se a ação local e sistêmica de endotoxinas, a inflamação causada pelo agente etiológico e a atrofia das vilosidades intestinais, que levam a hipersecreção e má absorção, decorrendo em alterações metabólicas (Constable et al., 1996; Cambier et al., 2001).

2.1.1.2 Alterações metabólicas na diarreia

Distúrbios nos fluídos corporais são comuns em animais com diarreia, causando desequilíbrios a nível eletrolítico e ácido-básico, contribuindo para a severidade da doença (Pereira, 2014). Em quadros diarreicos, o desequilíbrio hídrico resultante da secreção de líquido no intestino gera uma redução do volume sanguíneo circulante e desidratação dos tecidos. Assim, a desidratação, juntamente com a hipersecreção e consistências fecais alteradas são os sinais mais evidentes no início de distúrbios gastrointestinais. Nos fluídos fecais são perdidos aproximadamente 0,3% do peso corpóreo. Em casos de quadros intensos, essas perdas podem atingir 13 a 18% do peso corpóreo em 24h (Lewis & Philips, 1972).

Além disso, à perda excessiva de bases aliado ao acúmulo de ácido láctico, decorrentes da fermentação bacteriana da lactose não digerida, causam quadro de acidose metabólica (Martín & Partida, 2011; Divers & Peek, 2008). Os animais com acidose apresentam-se deprimidos, com fraqueza muscular e relutantes à sucção, e em casos mais graves podem mesmo estar em decúbito lateral ou em estado comatoso (Radostitis et al, 2007; Pereira, 2014).

Assim, o desequilíbrio nutricional decorrente das perdas excessivas de eletrólitos e má absorção, juntamente com a hipofagia geradas por dor e/ou pela acidose geram um déficit energético. Para suprir esse déficit é ativado processo de lipólise, aumentando as concentrações de triglicerídeos e ácidos graxos não esterificados- AGNE na corrente sanguínea (Gonzalez et.al., 2011). Os lipídeos possuem papel fundamental na síntese de várias substâncias orgânicas, na composição estrutural de membranas celulares e servem como percussores na

síntese hormonal (Nassaji & Ghorbani, 2012). A intensa mobilização lipídica e alterações nos níveis plasmáticos tem sido associada a disfunções hepáticas (Nanji et al., 1999; Baydar & Kizil, 2012).

Em diarreias bacterianas, os lipopolissacarídeos - LPS e endotoxinas liberados da parede de gram-negativas estimulando a liberação de citocinas inflamatórias. Essas por sua vez parecem inibir a ação da lipoproteína lipase, responsável pela hidrólise das moléculas de triglicerídeos, aumentando suas concentrações séricas (Feingold et al., 1992; Albarak & Kabu, 2016). Essas alterações lipídicas e lipoproteicas prejudicam a oxidação lipídica e transporte do colesterol para estimular a resposta anti-inflamatória (Carpentier & Scruel, 2002; Khovidhunkit et al. 2004). A incorreta modulação da resposta inflamatória pode danificar a função de diversos órgãos, como o fígado e o rim, e dependendo dessa disfunção e da gravidade das alterações metabólicas é determinado o prognóstico do bezerro (Sen & Constable, 2013; Constable et al., 2017).

Além dessas alterações, ocorrem distúrbios eletrolíticos, normalmente, pela perda ou variações nas concentrações de eletrólitos ou devido à perda de água, sendo os mais comuns a hiponatremia, hipercalemia, hipercalcemia e hipocloremia (Radostitis et al, 2007).

2.1.2 Limitações das terapias convencionais

Apesar da alta relevância desta doença e da constante busca por novas alternativas terapêuticas antimicrobianas (Constable, 2009), não se observam reflexos consistentes na redução da taxa de mortalidade de bezerros neonatos nos últimos anos. Sabe-se que a morte de bezerros por esta enfermidade se dá por uma soma de fatores, tendo como etiologia primária a enfermidade digestiva, agravada pelos desequilíbrios hidro-eletrolítico e ácido-base, muitas vezes resultando em endotoxemia e choque (Foster e Smith, 2009; Freitas et al., 2010). Estas alterações se devem a dificuldade do neonato em manter a temperatura corporal nos primeiros dias de vida, à rápida perda de líquidos e eletrólitos, bem como à alta dependência da ingestão de colostro para manutenção do seu estado nutricional e obtenção da imunidade passiva, fazendo com que sejam altamente dependentes de fatores ambientais e nutricionais para manutenção de sua homeostasia (Blum, 2006). Assim, necessita-se de terapias que sejam realizados de forma extremamente rápida e

eficiente para que as condições clínicas do neonato sejam mantidas e o quadro infeccioso revertido de forma eficaz. Porém, o tratamento suporta muitas vezes não é realizado devido à ausência de mão-de-obra especializada na propriedade leiteira, bem como o tempo gasto no tratamento de cada indivíduo, levando à ineficiência de protocolos antimicrobianos.

Ainda, a crescente pressão da sociedade quanto à redução do uso de antibióticos em animais de produção vem fazendo com que, cada vez mais, este tema seja abordado, tanto no campo da medicina humana quanto veterinária (Meganck et al., 2014). A terapia antimicrobiana deve ser elegida e realizada de forma prudente, dividindo os casos conforme a gravidade do quadro para evitar o uso indiscriminado ou desnecessário dos antibióticos, não só para manter a eficácia das drogas, como para reduzir custos com tratamentos (Smith, 1962; Berge et al., 2009). Assim, seu uso sem sinais clínicos que indiquem a real necessidade é questionado, sendo importante que o responsável pela criação seja capacitado a identificá-los para tomar decisões de tratamento.

Desta forma, torna-se crucial trabalhar de forma preventiva o controle da diarreia neonatal em bovinos, de forma que possam ser minimizados os fatores predisponentes para a enfermidade e reduzir os gastos com tratamentos e óbitos, bem como os prejuízos gerados pelo atraso no crescimento destes animais.

Porém, de modo geral, evitar que os bezerros entrem em contato com os agentes causadores de diarreia é praticamente impossível. Desta maneira, precisamos garantir que, ao entrar em contato, os animais sejam capazes de debelar uma possível infecção. Sabe-se que no momento do nascimento, ruminantes neonatos apresentam o intestino estéril, o qual começa a ser imediatamente colonizado a partir disso por uma comunidade microbiana diversificada e complexa (Stewart et al., 1988). Quando pensamos em prevenção de diarreias, pensamos em impedir ou dificultar a proliferação de bactérias patogênicas no intestino destes neonatos, e o uso de bacteriófagos tem se mostrado eficiente neste sentido.

2.1.3 BACTERIÓFAGOS

Os bacteriófagos, também denominados pela abreviatura fagos, são partículas virais intracelulares obrigatórias que infectam bactérias com uma alta especificidade. Desta forma agem exclusivamente em determinada espécie bacteriana, ou ainda,

entre cepas específicas desta espécie (Santos et al., 2014). Estes microrganismos estão entre os componentes mais abundantes atualmente descobertos em nosso planeta, com um comportamento inofensivo frente a grande maioria dos organismos, incluindo os seres humanos, exceto a seus hospedeiros alvo, exclusivamente bactérias (Pirnay et al., 2015).

O primeiro relato da existência de bacteriófagos foi relatada em 1986 na Índia, pelo bacteriologista Ernest Hanking, que observou a presença de uma substância não identificada que possuía ação antimicrobiana contra a *Vibrio cholerae* (Sulakvelidze et al., 2001; Haq et al. 2012), contudo, somente em 1915 ressurgiu o interesse pelo estudos dos fagos através do bacteriologista Frederick Twort, que em ensaios com culturas artificiais observou algumas colônias com aspecto transferente e com incapacidade de se replicar (Duckworth et al., 1976 Sulakvelidze et al., 2001) levando a publicação de um artigo que designava que o causador da lise bacteriana se tratava de um agente infeccioso filtrável, e entre outras possibilidades a hipótese de que se tratava de um vírus.

No mesmo ano, o microbiologista Felix D'Herelle, a partir de algumas amostras fecais provenientes de um surto de disenteria hemorrágica de origem bacteriana durante a segunda guerra mundial, obteve um filtrado livre de bactérias e observou o mesmo relato de Twort quando incubou junto a *Shigella spp* (Sulakvelidze et al., 2001). Dois anos mais tarde, publicou um artigo estabelecendo a relação causal entre a cura da disenteria e a presença desse vírus, ao qual denominou de bacteriófago, e assim apesar de controvérsia, a descoberta dos fagos são associadas a seu nome (D'Herelle, 1917).

Apesar do conhecimento sobre a biologia dos bacteriófagos serem limitadas, a terapia fágica foi utilizada constantemente até meados de 1930, com elevadas taxas de sucesso (News, 2004; Fruciano & Bourne, 2007; Abedon et al., 2011), contudo, a falta de experimentos controlados e randomizados levaram ao questionamento da terapia, que passou a cair em desuso com a publicação de três artigos críticos (Sulakvelidze et al., 2001; Abedon et al., 2011; Summers, 2012) que questionavam sua natureza aliados ao surgimento dos antibióticos. Entretanto, no leste europeu a terapia continuou sendo utilizada até a atualidade associada ou como alternativa aos antibióticos.

2.1.3.1 Morfologia e Classificação

Apesar de serem considerados os seres mais abundantes no planeta (Rohwer & Edwards, 2002), a morfologia desses vírus é bastante típica, sendo composto por ácido nucleico e proteínas (Ferreira, 2010). Sua diferenciação pode ser determinada tanto pela natureza do ácido nucleico, que pode se apresentar sob forma de DNA e RNA, de cadeia simples (ss) ou dupla (ds), na conformação linear, circular ou superenrolada (Orlova, 2012). Contudo, a grande maioria possui uma molécula linear de dsDNA. Ainda, podem apresentar divergência de estrutura e tamanho (Grath & Sinderen, 2007).

Tradicionalmente o fago é composto por uma cabeça formada por uma cápside de estrutura estável e variada que envolve o genoma viral e pode estar associada a proteínas que lhe conferem especificidade (Ferreira et al., 2010). Unido a cabeça, o pescoço confere segurança que o ácido nucleico será liberado somente quando anexado a célula hospedeira e serve de suporte para o anexo da cauda (Vandamme, 2013). A cauda apresenta dimensões diversas e pode apresentar contratilidade de acordo com o fago, sendo composta por uma placa basal ao qual estão associadas as fibras, que através de suas espículas também são fatores de especificidade (Orlova, 2012).

Sua classificação ainda é algo questionável e pouco definida. Alguns métodos de divisão foram sugeridos no decorrer dos anos, como a microscopia eletrônica, propriedade dos vírions e do material genéticos, contudo, hoje a classificação mais aceita é baseada na morfologia e na natureza do seu genoma (Ackermann & Eisenstark, 1974). De acordo com essa classificação cerca de 96% dos fagos identificados são pertencentes a classe dos Caudovirales, caracterizados por serem caudados, de fita dupla de DNA e tamanho variando de 18 a 500 mil pares de bases (Casjens, 2005). Essa ordem é dividida em três famílias de acordo com as características capsídeo e da cauda. O outros 4% restantes foram incluídos em outras 7 famílias, sendo impossibilitados de comporem uma ordem por falta de semelhança (Drulis-kawa et al., 2012).

2.1.3.2 Ciclos de vida

Semelhante aos demais vírus, os fagos não possuem sistemas próprios para síntese proteica, utilizando-se do metabolismo do hospedeiro para completar seu processo de replicação (Ferreira, 2010)

A replicação viral inicia-se com a adsorção do fago ao hospedeiro, ocorrendo a interação de proteínas virais com os receptores presentes na membrana bacteriana, como o flagelo, peptidoglicanos pilus sexual, capsula e lipopolissacarídeos – LPS (Letellier et al., 2004). Esse contato inicial com o hospedeiro é determinado de forma aleatória através de movimentos brownianos da partícula viral, devido à ausência de estruturas que lhes conferem mobilidade. (Parija, 2009; Koskella & Meaden, 2013)

Apesar de serem altamente específicos, essa gama de receptores pode conferir ao fago a capacidade de infectar mais de uma família de bactérias, assim como algumas bactérias podem ser infectadas por mais de uma classe de fago (king et al., 2012; Weitz et al., 2013). A ordem *Caudovirales* tem sua especificidade definida pelas fibras que compõem sua cauda (Chaturongakul & Ounjai, 2014; Miller et al., 2003). Esse processo é particular para cada interação, contudo, em geral ocorrem com uma ligação reversível mediadas pelas fibras da cauda e posteriormente uma ligação irreversível através de enzimas hidrolíticas que alteram a conformação da partícula viral, permitindo a injeção do material genético ao citoplasma bacteriana (Chiaruttini et al., 2010; Drulis-Kawa et al., 2012). Após sua penetração, os genes precoces dos fagos se redirecionam a maquinaria de síntese microbiana do hospedeiro para síntese de ácido nucleico e proteínas virais para a formação e empacotamento do virions (Letellier et al., 2004; Maurice et al., 2013).

As etapas seguintes são dependentes do tipo dos bacteriófagos, que podem divergir em ciclos líticos ou lisogênico (Figura 1). Os fagos temperados possuem genes reguladores dos dois ciclos, assim o estado fisiológico da célula hospedeira pode ser determinante para o mesmo assumir a fase lítica ou a lisogenia, enquanto os fagos virulentos que possuem não conseguem assumir outra via biológica que não a fase lítica (Grath & Sinderen, 2007; Goldin, 2011).

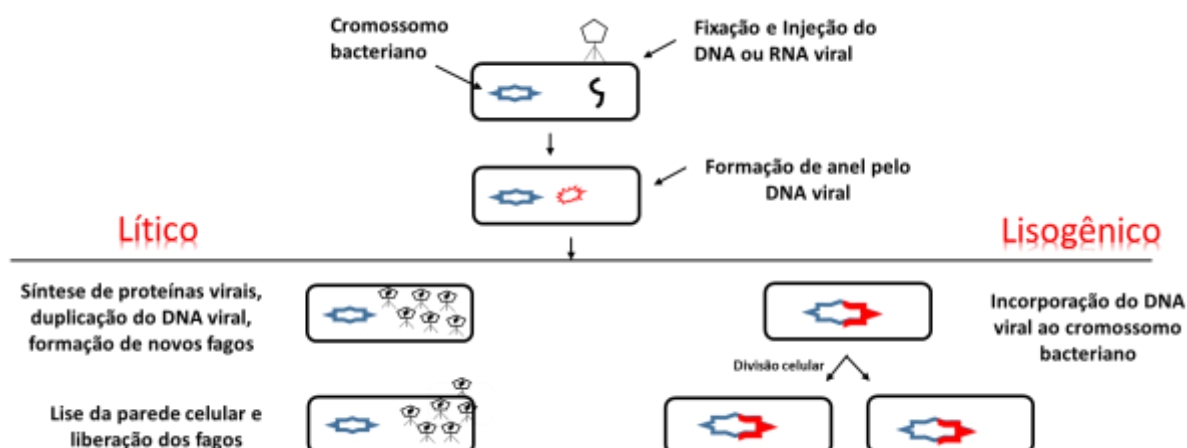


Figura 1: Ciclo de vida reprodutivo dos bacteriófagos. Fonte: Adaptado de Azeredo et al., 2018.

O ciclo lítico é caracterizado pela interrupção do metabolismo bacteriano e lise celular (Maurice et al., 2013). Logo após a penetração do genoma viral inicia-se o processo de transcrição viral, através do RNA polimerase bacteriana que é previamente modificada para reconhecer os ácidos nucleicos virais (King et al., 2012). Os primeiros genes a serem expressos codificam a produção de proteínas reguladoras que impedem a capacidade de replicação e de transcrição da bactéria, fazendo com que o bacteriófago controle o metabolismo bacteriano a seu benefício (Grath & Sinderen, 2007).

Com metabolismo bacteriano sendo controlado pelo fago, inicia-se a síntese de proteínas estruturais e catalíticas essenciais para a morfogênese da partícula viral (Maurice et al., 2013). A primeira etapa consiste na formação do capsídeo viral, que é iniciado com a formação do procapsídeo, que consiste em uma proteína estrutural composta pela proteína principal do capsídeo (MCP). A partir disso, em um dos vértices é acoplada uma proteína de entrada (portal protein) que permite a entrada e empacotamento do DNA viral. Logo após algumas proteínas, como a proteína adaptadora (Ad), se ligam ao material genético evitando que o mesmo se disperse, e a proteína finalizadora (Hc) realize a finalização do capsídeo garantindo que o mesmo confira uma geometria correta (Aksyuk & Rossmann, 2011). A cauda é formada de forma independente e necessita-se que haja a junção de ambos para a formação da partícula viral madura. Mais tardiamente são expressos genes que

codificam a síntese de holina e lisina, que são capazes de danificar a integridade da membrana citoplasmática, liberando os novos bacteriófagos, conferindo a capacidade de continuar a infecção viral (Gregoracci, 2006; Canada & Meeting, 2006).

Já no ciclo lisogênico, o material genético viral se incorpora ao DNA bacteriano formando o que denominamos profago, se replicando em sintonia com o mesmo. Esse processo é possível devido a síntese da proteína repressora que impossibilita a expressão de genes responsáveis pela cascata lítica (Golding, 2011). A capacidade de autorregulação confere estabilidade lisogênica ilimitada, contudo, o estado nutricional, metabólico e a dimensão do hospedeiro podem ser fatores determinantes para que os mesmos passem a desempenhar atividade lítica (In et al., 2010; Golding, 2011). Portanto, em caso de estresse físico-químico e condições desfavoráveis do hospedeiro, a replicação do fago se torna uma via para propagação do bacteriófago.

2.1.3.3 Vantagens da Fagoterapia

A terapia a base de bacteriófagos tem ação semelhante aos antibióticos, pois possui efeito antibacteriano considerável. Quando utilizado de forma metafíllica em humanos, alguns estudos demonstram efeito superior dos fagos em relação aos antibióticos (Meladze et al., 1982; Kochetkova et al., 1989; Sakandelidze, 1991). Além da sua eficácia, outros pontos são relevantes na sua utilização em substituição a terapia convencional. Uma das características importantes é sua alta especificidade, combatendo somente as bactérias alvos, evitando a disbiose gastrointestinal (Chernomordik, 1989; Zeineldin et al., 2018). A manutenção da microflora natural tem importante papel no desenvolvimento do tecido intestinal e imunológico e modulação da resposta inflamatória (Macpherson et. al, 2004; Lei Y.M, et.al, 2015). Além disso, compete por nutrientes e tecido intestinal com bactérias patogênicas, evitando infecções secundárias (Rakoff-Nahoum et.al, 2004).

Outro fator importante é seu crescimento exponencial, já que ao infectar o hospedeiro e se multiplicar libera milhares de novos fagos para continuar a ação terapêutica. Por se replicar no hospedeiro, também tem uma ação própria no local da infecção, enquanto os antibióticos são absorvidos, metabolizados e eliminados via renal (Smith & Huggins. 1982; Sulakvelidze et al., 2001)

Além desses, o seu papel frente a resistência bacteriana tem alavancado seu estudo de forma cada vez mais intensiva. Uma característica fundamental é a capacidade de adaptação dos vírus ser muito superior ao das bactérias, determinando uma resistência reduzida quando comparados aos antibióticos (Rakhuba et al., 2010; Kesik-Szeloch et al., 2013). Além disso, por utilizar componentes da parede celular para definir a sua adsorção, uma bactéria acaba sendo susceptível a diferentes tipos de bacteriófagos, fazendo com que seus mecanismos de defesa se tornem menos eficazes quando utilizados um coquetel de fagos (Shirley, 2016). Ainda, por serem considerados os organismos mais abundantes do planeta, o isolamento de um novo fago se torna mais prático que o desenvolvimento de uma nova molécula para desenvolvimento de um fármaco (Silver & Bostian, 1993; Chopra, 1997, Park et al., 2012). Ademais, os estudos com uso terapêutico de bacteriófagos não apresentaram nenhum efeito colateral grave, enquanto o uso de antibióticos já foi associado a distúrbios intestinais, alergias e infecções secundárias (Yao & Moellering, 1995).

2.1.3.4 Estratégias terapêuticas

A descrição de estratégias terapêuticas com bacteriófagos está sendo realizada desde o século passado, com relatos a partir de 1920 em países europeus como a extinta União Soviética (Salmond et al., 2015). Através da intensificação dos estudos incluindo partículas de bacteriófagos foram abertos caminhos para o desenvolvimento de inovações farmacêuticas com produtos biotecnológicos. Estas terapias utilizam essencialmente partículas com capacidade lítica como um método alternativo aos tratamentos convencionais, a base de antimicrobianos, frente a infecções bacterianas resistentes. A preferência por ciclos de capacidade lítica se dá em virtude da maior efetividade em velocidade de replicação, propagação e combate às células alvo (Carlton 1999; Monk et al., 2010). Com destaque especial, a segurança promovida pela estratégia, baseada na ausência de qualquer mecanismo metabólico exercido pelos fagos com afinidade em células eucarióticas (Harada et al., 2018).

Atualmente, entre os principais métodos de utilização destes agentes, podemos destacar a fagoterapia constituída na utilização da aplicação de bacteriófagos para o controle da colonização bacteriana e o combate a enfermidades em animais. Além disso, como alternativas no biocontrole na descontaminação de alimentos, sanitização

na desinfecção de equipamentos e superfícies de contato assim como conservantes naturais de determinados compostos (Garcia et al., 2009).

Nos últimos anos, diversos estudos, na medicina humana, foram realizados abordando as suas possíveis aplicabilidades na prática clínica em tratamentos de quadros infecciosos (Alves et al., 2017; Azeredo et al., 2018; Borysowski et al., 2014). Já em animais, estudos como os de Smith e Huggins (1982) apontaram como um dos primeiros trabalhos confirmando a efetividade dos bacteriófagos em camundongos desafiados experimentalmente com a bactéria *Escherichia coli*, estes resultados foram confirmados por Sulakvelidze et al. (2001) na mesma espécie alvo. Estes mesmos grupos de pesquisadores estenderam suas linhas de pesquisas para avaliação da fagoterapia em bezerros, ovinos e suínos, indicando resultados promissores com uma única dose de fagoterapia específica frente a *Escherichia coli*, reduzindo a magnitude dos processos infecciosos pela bactéria, associado a menor perda de fluídos com consequente preservação da hidratação (Smith e Huggins, 1983; Sulakvelidze et al., 2001). Ainda ao final dos anos 80 e início dos anos 90, os fagos foram experimentalmente utilizados na prevenção e tratamento de doenças infecciosas em camundongos e porquinhos da Índia causadas por cepas de bactérias, com caracterizada resistência frente a antimicrobianos convencionais, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter*, sugerindo eficácia na prevenção de desenvolvimento dos quadros avançados (Soothill et al., 1988; Soothill, 1992; Soothill, 1994).

Os fatores que podem interferir com as interações entre os bacteriófagos e suas células bacterianas alvo podem incluir a dose administrada, tempo e via de administração, presença de uma resposta imune efetiva contra os fagos, além do possível aparecimento de cepas bacterianas mutantes resistentes a esta infecção viral (Smith et al., 1987). Autores como Rozema et al. (2009) demonstraram uma diminuição na população de *Escherichia coli* enterotoxigênica em bovinos adultos submetidos a tratamentos via oral comparado a animais que receberam o mesmo tratamento à base de bacteriófagos por via intra-retal. Desta forma, foi demonstrado que o período mais longo de permanência do produto através da via oral possibilitou um maior tempo de interação com as colônias de suas células alvo, neste caso *Escherichia coli*.

Seguindo a mesma linha, em uma avaliação do efeito de um composto a base de bacteriófagos via oral em bezerros, o tratamento com fagos causou uma redução

na contagem de *Escherichia coli* fecal quando comparado ao grupo controle (Bicalho et al., 2012). Barrow et al. (1998) utilizaram isolados de bacteriófagos líticos na tentativa de controle a septicemia induzida por infecção experimental com *Escherichia coli* em bezerras privados da ingestão de colostro. A estratégia de inoculação intramuscular do terapico retardou o aparecimento de bacteremia e prolongou o tempo de vida dos animais.

Quanto à Salmonelose, em setores como o da avicultura, a terapia também foi avaliada com uma evidenciada diminuição na contagem de *Salmonella spp.* no trato digestório de aves submetidas ao tratamento (Borie et al., 2008; Hungaro et al., 2013). Os bacteriófagos de *Salmonella spp.* também estão bem difundidos em propriedades leiteiras, e a diversidade desses fagos pode revelar interações entre os sorovares de *Salmonella spp.* e seus bacteriófagos específicos (Switt et al., 2013). Porém, os estudos com *Salmonella spp.* ainda são poucos, em comparação ao que se sabe sobre os efeitos dos bacteriófagos no controle da *Escherichia coli*, como demonstrado na recente revisão publicada por Wang et al. (2017), que destacou os principais trabalhos na atualidade abordando a estratégia de utilização de bacteriófagos no controle de *Escherichia coli* O157:H7 em ruminantes domésticos, produtos cárneos, frutas e vegetais.

Portanto, a estratégia de fagoterapia no controle pontual de determinadas infecções bacterianas está apresentando resultados promissores em diferentes áreas da medicina moderna. Quando focamos nas abordagens trabalhadas atualmente em medicina veterinária, a inovação farmacêutica direcionada a setores de maior demanda por parte do mercado consumidor, como o das bezerreiras, pode ser um importante ponto de consolidação desta terapia. Assim, devido ao alto custo da criação de bezerras, visando a obtenção de vacas de reposição com alto mérito genético, torna-se vital para a bovinocultura leiteira trabalhar de forma preventiva a ocorrência de diarreia neonatal, diminuindo as perdas por óbitos e geradas pelo tratamento de quadros clínicos de diarreia, sendo o uso de bacteriófagos uma alternativa interessante no controle desta doença, diminuindo o uso de antibióticos (Barrington & Gay, 2002).

2.1.4 Referências Bibliográficas

ABEDON, S. T. et al. Phage treatment of human infections. **Bacteriophage**, v. 1, n. 2, p. 66-85, 2011.

ACKERMANN, H.W.; EISENSTARK, Abraham. The present state of phage taxonomy. **Intervirolgy**, v. 3, n. 4, p. 201-219, 1974.

AKSYUK, A. A.; ROSSMANN, M. G. Bacteriophage assembly. **Viruses**, v. 3, p. 172-203. 2011.

ALBAYRAK, H.; KABU, M.. Determining serum haptoglobin and cytokine concentrations in diarrheic calves. **Firat Univ. Vet. J. Health Sci**, v. 30, p. 113-117, 2016.

ALVES, D. R.; ABEDON, S. T. An online phage therapy bibliography: Separating under-indexed wheat from overly indexed chaff. **AIMS MICROBIOLOGY**, v. 3, n. 3, p. 525-528, 2017.

ARFUSO, F. et al. Lipid and lipoprotein profile changes in newborn calves in response to the perinatal period. **Acta Veterinaria**, v. 67, n. 1, p. 25-32, 2017.

AZEREDO, J.; SILLANKORVA, S. (Ed.). **Bacteriophage Therapy: From Lab to Clinical Practice**. Humana Press, 2018.

BACH, S. J. et al. Effect of bacteriophage DC22 on Escherichia coli O157: H7 in an artificial rumen system (Rusitec) and inoculated sheep. **Animal Research**, v. 52, n. 2, p. 89-101, 2003.

BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.

BARROW, P.; LOVELL, M.; BERCHIERI, A. Use of lytic bacteriophage for control of experimental Escherichia coli septicemia and meningitis in chickens and calves. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, n. 3, p. 294-298, 1998.

BAYDAR, E.; KIZIL, Ö. Plasma lipid profile in the cows with pericarditis traumatica. **Firat Univ. Vet. J. Health Sci**, v. 26, p. 171-174, 2012.

BERGE, A. C. B. et al. Targeting therapy to minimize antimicrobial use in preweaned calves: effects on health, growth, and treatment costs. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 9, p. 4707-4714, 2009.

BICALHO, M. L. S. et al. Evaluation of oral administration of bacteriophages to neonatal calves: Phage survival and impact on fecal Escherichia coli. **Livestock Science**, v. 144, n. 3, p. 294-299, 2012.

BLUM, J. W. Nutritional physiology of neonatal calves. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 90, n. 1-2, p. 1-11, 2006.

BORIE, C. et al. Prevención de la infección por Salmonella enterica subespecie enterica serotipo Enteritidis (Salmonella Enteritidis) en pollos mediante un bacteriófago Archivos de Medicina Veterinaria, vol. 40, núm. 2, 2008, pp. 197-201 Universidad Austral de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 40, n. 2, p. 197-201, 2008.

BORYSOWSKI, J.; Międzybrodzki, R.; Górski, A. Phage Therapy: Current Research and Application. Caister Academic Press: Norfolk, UK, 2014.

BOTTEON, R. C. C. M. et al. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 2, p. 153-160, 2008.

CALLAWAY, T. R. et al. Bacteriophage isolated from feedlot cattle can reduce Escherichia coli O157: H7 populations in ruminant gastrointestinal tracts. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 5, n. 2, p. 183-191, 2008.

CAMBIER, C. et al. Blood oxygen binding in calves with naturally occurring diarrhea. **American journal of veterinary research**, v. 62, n. 5, p. 799-804, 2001.

CARLTON, R. M. Phage therapy: past history and future prospects. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis-english edition-**, v. 47, p. 267-274, 1999.

CARPENTIER, Y. A.; SCRUEL, O. Changes in the concentration and composition of plasma lipoproteins during the acute phase response. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 5, n. 2, p. 153-158, 2002.

CASJENS, S. R. Comparative genomics and evolution of the tailed-bacteriophages. **Current opinion in microbiology**, v. 8, n. 4, p. 451-458, 2005.

CHATURONGAKUL, S.; OUNJAI, P. Phage–host interplay: examples from tailed phages and Gram-negative bacterial pathogens. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 442, 2014.

CHERNOMORDIK, A. B. Bacteriophages and their therapeutic-prophylactic use. **Meditinskaia sestra**, v. 48, n. 6, p. 44-47, 1989.

CHIARUTTINI, N. et al. Is the in vitro ejection of bacteriophage DNA quasistatic? A bulk to single virus study. **Biophysical journal**, v. 99, n. 2, p. 447-455, 2010.

CHO, Y. et al. Case–control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. **Veterinary microbiology**, v. 166, n. 3-4, p. 375-385, 2013.

CHO, Y. et al. Development of a panel of multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of major agents causing calf diarrhea in feces. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 22, n. 4, p. 509-517, 2010.

CHO, Y.; YOON, K.J. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. **Journal of veterinary science**, v. 15, n. 1, p. 1-17, 2014.

CHOPRA, I. et al. The search for antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 41, n. 3, p. 497, 1997.

CONSTABLE, P. D. et al. Use of hypertonic saline-dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. **American journal of veterinary research**, v. 57, n. 1, p. 97-104, 1996.

CONSTABLE, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Grünberg, W. (2017) Neonatal infection disease. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. 11thed. Elsevier, China. p1874-1903.

CONSTABLE, P. D. Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatments. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, n. 1, p. 101-120, 2009.

D'HERELLE, F. et al. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. **CR Acad. Sci. Paris**, v. 165, p. 373-375, 1917.

DIVERS, T.J. & PEEK, A.F. "Infectious Diseases of the Gastrointestinal Tract" in *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 2ndEd, Elsevier, p. 200-219, 2008.

DRULIS-KAWA, Z. et al. Learning from bacteriophages-advantages and limitations of phage and phage-encoded protein applications. **Current Protein and Peptide Science**, v. 13, n. 8, p. 699-722, 2012.

DUCKWORTH, D. H. " Who discovered bacteriophage?". **Bacteriological reviews**, v. 40, n. 4, p. 793, 1976.

FEINGOLD, K. R. et al. Endotoxin rapidly induces changes in lipid metabolism that produce hypertriglyceridemia: low doses stimulate hepatic triglyceride production while high doses inhibit clearance. **Journal of lipid research**, v. 33, n. 12, p. 1765-1776, 1992.

FERREIRA, M. G. et al. Prevalência de eimeria, helmintos, Escherichia coli, salmonella, rotavírus, Coronavírus e Cryptosporidium parvum em propriedades leiteiras de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 524-529, 2009.

FERREIRA, W. F. C.; SOUSA, J. C.; LIMA, N. *Microbiologia*. Lisboa: Lidel, 2010.

FOSSLER, C. P. et al. Herd-level factors associated with isolation of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms: I. Salmonella shedding in cows. **Preventive veterinary medicine**, v. 70, n. 3-4, p. 257-277, 2005.

FOSTER, D. M.; SMITH, Geof W. Pathophysiology of diarrhea in calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, n. 1, p. 13-36, 2009.

FREITAS, M. D. et al. Equilíbrio eletrolítico e ácido-base em bovinos. **Ciência Rural**, v. 40, n. 12, 2010.

FRUCIANO, D. E.; BOURNE, S. Phage as an antimicrobial agent: d'Herelle's heretical theories and their role in the decline of phage prophylaxis in the West. **Canadian**

Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, v. 18, n. 1, p. 19-26, 2007.

GARCIA, P. et al. Bacteriophages and their application in food safety. **Letters in applied microbiology**, v. 47, n. 6, p. 479-485, 2008.

GIFFORD, C.A. et al. Impacts of inflammation on cattle growth and carcass merit. *Journal of Animal Science*, v.90, p. 1438-1451, 2012.

GOLDING, I. Decision making in living cells: lessons from a simple system. **Annual review of biophysics**, v. 40, p. 63-80, 2011.

GONZÁLEZ, F. D. et al. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. **Journal of veterinary science**, v. 12, n. 3, p. 251-255, 2011.

GREGORACCI, G. B. et al. Levantamento de bacteriófagos líticos: Isolamento e caracterização de vírus provenientes de esgoto comum com potencial aplicação antimicrobiana. 2006.

HAQ, I. U. I. et al. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. **Virology journal**, v. 9, n. 1, p. 9, 2012.

HARADA, L. K. et al. Biotechnological applications of bacteriophages: state of the art. 2018.

HOLLAND, R. E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, n. 4, p. 345-375, 1990.

HUNGARO, H. M. et al. Use of bacteriophages to reduce Salmonella in chicken skin in comparison with chemical agents. **Food research international**, v. 52, n. 1, p. 75-81, 2013.

IN, V. et al.. Latency, "Noise in viral gene expression as a molecular switch" vol. 12, no. 4, pp. 460–466, 2010.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, Harry LT. Pathogenic escherichia coli. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123, 2004.

KĘSIK-SZELOCH, A. et al. Characterising the biology of novel lytic bacteriophages infecting multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Virology journal**, v. 10, n. 1, p. 100, 2013.

KHOVIDHUNKIT, W. et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. **The Journal of Lipid Research**, v. 45, n. 7, p. 1169-1196, 2004.

KING, A. M. Q et al. (Ed.). **Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, 2011.

KIRK, J. et al. Prevalence of and risk factors for Salmonella in water offered to weaned dairy calves in California, USA. **Preventive veterinary medicine**, v. 54, n. 2, p. 169-178, 2002

KOCHETKOVA, V. A. et al. Phagotherapy of postoperative suppurative-inflammatory complications in patients with neoplasms. **Sovetskaia meditsina**, n. 6, p. 23-26, 1989.

KOSKELLA, B.; MEADEN, S.. Understanding bacteriophage specificity in natural microbial communities. **Viruses**, v. 5, n. 3, p. 806-823, 2013.

KROPINSKI, A. M. Phage Therapy--Everything Old Is New again. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 17, n. 5, p. 297-306, 2006.

LANGONI, H. et al. Contribuição ao estudo da etiologia das diarreias em bezerros de aptidão leiteira no Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 5, p. 313-319, 2004.

LEI, Y. M. K.; NAIR, L.; ALEGRE, M. The interplay between the intestinal microbiota and the immune system. **Clinics and research in hepatology and gastroenterology**, v. 39, n. 1, p. 9-19, 2015.

LETELLIER, L. et al. Main features on tailed phage, host recognition and DNA uptake. **Front Biosci**, v. 9, n. 1, p. 1228-1339, 2004.

LIU, B. et al. Development of a novel multiplex PCR assay for the identification of Salmonella enterica Typhimurium and Enteritidis. **Food Control**, v. 27, n. 1, p. 87-93, 2012.

MACPHERSON, A. J.; HARRIS, N. L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 6, p. 478, 2004.

MARTÍN, J.V.G. & PARTIDA, L.E., 2011, "Guia Prática de Diagnóstico: Diarreia neonatal bovina", Intervet International

MAURICE, C. F. et al. Seasonal variations of phage life strategies and bacterial physiological states in three northern temperate lakes. **Environmental microbiology**, v. 12, n. 3, p. 628-641, 2010.

MC GRATH, S.; VAN SINDEREN, D. (Ed.). **Bacteriophage: genetics and molecular biology**. Horizon Scientific Press, 2007.

MEGANCK, V.; HOFACK, G.; OPSOMER, G. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 56, n. 1, p. 75, 2014.

MELADZE, G. D. et al. Efficacy of staphylococcal bacteriophage in the treatment of purulent lung and pleural diseases. **Grudnaia khirurgiia (Moscow, Russia)**, n. 1, p. 53, 1982.

MONK, A. B. et al. Bacteriophage applications: where are we now?. **Letters in applied microbiology**, v. 51, n. 4, p. 363-369, 2010.

NANJI, A. A. et al. Activation of nuclear factor kappa B and cytokine imbalance in experimental alcoholic liver disease in the rat. **Hepatology**, v. 30, n. 4, p. 934-943, 1999.

NASSAJI, M.; GHORBANI, R. Plasma lipid levels in patients with acute bacterial infections. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 465-469, 2012.

NIU, Y. D. et al. Comparison of fecal versus rectoanal mucosal swab sampling for detecting *Escherichia coli* O157: H7 in experimentally inoculated cattle used in assessing bacteriophage as a mitigation strategy. **Journal of food protection**, v. 71, n. 4, p. 691-698, 2008.

OLIVEIRA, D. M. Avaliação das principais causas de mortalidade de bezerras da raça Hostein em propriedades rurais da região bragantina. **Biotemas**, v. 25, n. 2, p. 171-179, 2012.

ORLOVA, E. V. Bacteriophages and their structural organisation. In: **Bacteriophages**. InTech, 2012.

PARIJA, S. C. **Textbook of Microbiology & Immunology-E-book**. Elsevier Health Sciences, 2009.

PARK, M. et al. Characterization and comparative genomic analysis of a novel bacteriophage, SFP10, simultaneously inhibiting both *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157: H7. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 78, n. 1, p. 58-69, 2012.

PENCE, M. E. Reducing the incidence of neonatal calf diarrhea through evidence-based management. 2005.

PICCIONE, G. et al. Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 1-12, 2010.

PIRNAY, J. P. et al. Quality and safety requirements for sustainable phage therapy products. **Pharmaceutical research**, v. 32, n. 7, p. 2173-2179, 2015

R. H. Yolken (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

RADOSTITIS, O.M., GAY, C.C., KENNETH, W.H., CONSTABLE, P.D. (2007) *Veterinary Medicine, textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (10th ed., pp. 73-100, 847-855) Saunders Elsevier.

RAKHUBA, D.V. et al. **Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell**. *Polish Journal of Microbiology*. v. 59, n. 3, p. 145-155. 2010.

RAKOFF-NAHOUM, S. et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. **Cell**, v. 118, n. 2, p. 229-241, 2004.

RAYA, Raul R. et al. Isolation and characterization of a new T-even bacteriophage, CEV1, and determination of its potential to reduce Escherichia coli O157: H7 levels in sheep. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 9, p. 6405-6410, 2006.

RIVAS, L. et al. In vivo and ex vivo evaluations of bacteriophages e11/2 and e4/1c for use in the control of Escherichia coli O157: H7. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 21, p. 7210-7216, 2010.

ROSENBERGER, G. Exame clínico dos bovinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 419, 1993.

ROZEMA, E. A. et al. Oral and rectal administration of bacteriophages for control of Escherichia coli O157: H7 in feedlot cattle. **Journal of food protection**, v. 72, n. 2, p. 241-250, 2009.

SAKANDELIDZE, V. M. The combined use of specific phages and antibiotics in different infectious allergoses. **Vrachebnoe delo**, n. 3, p. 60-63, 1991.

SALMOND, G. P. C; FINERAN, Peter C. A century of the phage: past, present and future. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 12, p. 777, 2015.

SANTOS, S. B. et al. Population dynamics of a Salmonella lytic phage and its host: implications of the host bacterial growth rate in modelling. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e102507, 2014.

SCHOOLNIK, G. K.; SUMMERS, W. C.; WATSON, J. D. Phage offer a real alternative. **Nature biotechnology**, v. 22, n. 5, p. 505, 2004.

SEN, I. et al. General overview to treatment of strong ion (metabolic) acidosis in neonatal calves with diarrhea. **Eurasian J Vet Sci**, v. 29, p. 114-120, 2013.

SHENG, H. et al. Application of bacteriophages to control intestinal Escherichia coli O157: H7 levels in ruminants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 8, p. 5359-5366, 2006.

SHIRLEY, J. Development Toward a Bovine Salmonella Model and a Bacteriophage Treatment Cocktail to Reduce Salmonella Peripheral Lymph Node Carriage in Calves. 2016.

SILVER, L. L.; BOSTIAN, K. A. Discovery and development of new antibiotics: the problem of antibiotic resistance. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 37, n. 3, p. 377, 1993.

SMITH, H. W.; HUGGINS, M. B. Effectiveness of phages in treating experimental Escherichia coli diarrhoea in calves, piglets and lambs. **Microbiology**, v. 129, n. 8, p. 2659-2675, 1983.

SMITH, H. W.; HUGGINS, M. B. Successful treatment of experimental Escherichia coli infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics. **Microbiology**, v. 128, n. 2, p. 307-318, 1982.

SMITH, H. W.; HUGGINS, Michael B.; SHAW, K. M. The control of experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves by means of bacteriophages. **Microbiology**, v. 133, n. 5, p. 1111-1126, 1987.

SMITH, W. W. Observations on the etiology of neonatal diarrhoea (scours) in calves. **The Journal of pathology and bacteriology**, v. 84, n. 1, p. 147-168, 1962.

SOOTHILL, J. S. Bacteriophage prevents destruction of skin grafts by *Pseudomonas aeruginosa*. **Burns**, v. 20, n. 3, p. 209-211, 1994.

SOOTHILL, J. S.; LAWRENCE, J. C.; AYLIFFE, G. A. J. The efficacy of phages in the prevention of the destruction of pig skin in vitro by *Pseudomonas aeruginosa*. **Med. Sci. Res**, v. 16, p. 1287-1288, 1988.

STEWART, C. S.; FONTY, G.; GOUET, Ph. The establishment of rumen microbial communities. **Animal Feed Science and Technology**, v. 21, n. 2-4, p. 69-97, 1988.

SUGDEN, R.; KELLY, R.; DAVIES, S. Combatting antimicrobial resistance globally. **Nat Microbiol**, v. 1, p. 16187, 2016.

SULAKVELIDZE, A.; ALAVIDZE, Z.; MORRIS, J. G. Bacteriophage therapy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 3, p. 649-659, 2001.

SUMMERS, W. C. The strange history of phage therapy. **Bacteriophage**, v. 2, n. 2, p. 130-133, 2012.

SVENSSON, C. et al. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. **Preventive veterinary medicine**, v. 58, n. 3-4, p. 179-197, 2003.

SWITT, A. I. Moreno et al. Genomic characterization provides new insight into *Salmonella* phage diversity. **BMC genomics**, v. 14, n. 1, p. 481, 2013.

TSOLIS, R. M. et al. Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. **Infection and immunity**, v. 67, n. 9, p. 4879-4885, 1999.

UETAKE, K. Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. **Animal Science Journal**, v. 84, n. 2, p. 101-105, 2013.

VANDAMME, E. "New phage therapy," no. January, p. 38-41, 2013.

WANG, L. et al. Use of bacteriophages to control *Escherichia coli* O157: H7 in domestic ruminants, meat products, and fruits and vegetables. **Foodborne pathogens and disease**, v. 14, n. 9, p. 483-493, 2017.

WEITZ, J. S. et al. Phage-bacteria infection networks. **Trends in microbiology**, v. 21, n. 2, p. 82-91, 2013.

YAO, J. D. C; MOELLERING, R. C. Antibacterial agents. In: **Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition**. American Society of Microbiology, 2011. p. 1043-1081.

YOUMANS, B. P. et al. Development and accuracy of quantitative real-time polymerase chain reaction assays for detection and quantification of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) heat labile and heat stable toxin genes in travelers' diarrhea samples. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 90, n. 1, p. 124-132, 2014.

ZEINELDIN, M.; ALDRIDGE, B.; LOWE, J.. Dysbiosis of the fecal microbiota in feedlot cattle with hemorrhagic diarrhea. *Microbial pathogenesis*, v. 115, p. 123-130, 2018.

3 ARTIGO

Incidência de diarreia neonatal e ganho de peso de bezerras leiteiras com suplementação contínua de bacteriófagos no período de aleitamento.

INCIDÊNCIA DE DIARREIA NEONATAL E GANHO DE PESO DE BEZERRAS LEITEIRAS COM SUPLEMENTAÇÃO CONTÍNUA DE BACTERÍOFAGOS NO PERÍODO DE ALEITAMENTO

Evandro Schmoeller, Viviane Rohrig Rabassa, Marcio Nunes Corrêa, Cássio Cassal Brauner, Eduardo Schmitt, Josiane de Oliveira Feijó, Vinícius Coitinho Tabeleão, Francisco Augusto Burkert Del Pino.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do uso de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida de bezerras leiteiras na prevenção de diarreias e outras doenças, assim como sua influência sobre o desempenho zootécnico. Para tal, foram utilizadas 200 bezerras da raça girolando, divididas de forma homogênea em dois grupos, considerando o grau sanguíneo, peso ao nascimento e ordem de partos, sendo: Grupo Controle (GC, n=100) sem a adição de bacteriófago a dieta; e Grupo Bacteriófago (GF, n=100) com a adição de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida a partir do terceiro dia de vida. Foram realizadas avaliações de concentração sérica de proteínas plasmáticas totais (PPT) entre 24-48 horas de vida para a mensuração de falha de transferência de imunidade passiva – FTIP (PPT<5,5 g/dL). Os animais foram monitorados até os 80 dias quanto a ocorrência de doenças e desempenho zootécnico. Além disso, foi realizado mensuração do escore de fezes (EF) diariamente até os 30 dias de idade, numa escala de 0-4, gerando o tempo que os animais permaneciam em diarreia (EF≥2) e a duração do primeiro episódio. Na avaliação de FTIP, não houve diferença (p=0,25) entre os grupos, assim como na morbidade, mortalidade, letalidade e recidiva de diarreia (p>0,05). Contudo, o GF apresentou em média 4,68±0,63 dias em diarreia no primeiro mês de vida e tempo de duração do primeiro episódio de 3,62±0,22 dias, enquanto o GC apresentou médias de 6,61±0,55 e 5,52±0,37 dias respectivamente, demonstrando uma redução (p<0,05) do quadro diarreico no GF. Além disso, o GF apresentou superioridade (p<0,05) no ganho de peso médio diário (GMD) no período neonatal (0,350±0,02 x 0,260±0,02 kg/dia), no desaleitamento parcial (0,313±0,01 x 0,250±0,01 kg/dia) e no desaleitamento total (0,591±0,01 x 0,550±0,01 kg/dia), em reação ao GC. Diante disso, é possível afirmar que o uso da fagoterapia no período de aleitamento reduz o tempo de duração da diarreia neonatal, proporcionando um maior ganho de peso médio diário dos animais.

Palavras chaves: Fagoterapia, desenvolvimento corporal, doenças neonatais.

ABSTRAT

The objective of this study was to evaluate the effect of the use of bacteriophages continuously in the liquid diet of dairy calves in the prevention of diarrhea and other diseases, as well as their influence on the zootechnical performance. To do this, 200 calves of the girolando breed were used, divided equally into two groups, considering the blood level, birth weight and calving order, being: Control Group (GC, n=100) without the addition of bacteriophage to the diet; and Group Bacteriophage (GF, n=100) with the addition of bacteriophages continuously in the liquid diet from the third day of life. Serum total plasma protein concentration (PPT) assessments were performed between 24-48 hours of life for the measurement of passive immunity transfer failure - FTIP (PPT <5.5 g / dL). The animals were monitored up to 80 days for the occurrence of diseases and zootechnical performance. In addition, feces score (EF) was measured daily up to 30 days of age on a scale of 0-4, generating the time the animals remained in diarrhea (EF \geq 2) and duration of the first episode. In the evaluation of FTIP, there was no difference (p = 0.25) between the groups, as well as morbidity, mortality, lethality and recurrence of diarrhea (p>0.05). However, GF presented a mean of 4.68 \pm 0.63 days in diarrhea in the first month of life and duration of the first episode of 3.62 \pm 0.22 days, while GC presented a mean of 6.61 \pm 0.55 and 5.52 \pm 0.37 days respectively, demonstrating a reduction (p<0.05) in diarrhea in GF. In addition, GF presented superiority (p <0.05) in the mean daily weight gain (ADG) in the neonatal period (0.350 \pm 0.02 x 0.260 \pm 0.02 kg/day) in the partial lift (0.313 \pm 0.01 x 0.250 \pm 0.01 kg / day) and in total reaction (0.591 \pm 0.01 x 0.550 \pm 0.01 kg / day), in reaction to GC. In view of this, it is possible to affirm that the use of phage therapy in the period of lactation reduces the duration of neonatal diarrhea, providing a greater average daily weight gain of the animals.

Keywords: Phage therapy, body development, neonatal diseases

INTRODUÇÃO

A criação de bezerras é parte fundamental dentro do ciclo produtivo de bovinos leiteiros. Contudo, o período neonatal é uma fase crítica para as bezerras, que precisam se adaptar a vida extrauterina. A instabilidade metabólica, aliada a uma resposta imune ainda em maturação, torna esses animais susceptíveis a doenças e ao aumento da mortalidade (Volpato et. al, 2017).

Dentre as doenças neonatais, a diarreia está associada a altas perdas econômicas devido à elevada morbidade e mortalidade, custo de tratamento e comprometimento no desenvolvimento corpóreo (Foster, 2009). A enfermidade apresenta causa multifatorial, podendo ser infecciosa (vírus, bactérias e protozoários); ou não infecciosas, devido à distúrbios alimentares influenciados pela temperatura e quantidade de leite e/ou intempéries climáticas (Smith, 2009). Porém, independente da causa primária, com o desequilíbrio da microbiota intestinal pelo quadro de diarreia, enterites bacterianas acabam ocorrendo de forma secundária na maioria dos quadros clínicos (Cho et al., 2013).

As diarreias bacterianas têm como principais agentes etiológicos a *Escherichia coli* e a *Salmonella spp.* que comumente são tratadas de forma metafilática a base de antibióticos. O uso dessa terapia vem sendo amplamente questionada por causarem fatores de resistência antimicrobiana e a morte de microorganismos que agem de forma simbiótica ao intestino, participando do desenvolvimento do tecido intestinal e do sistema imunológico (Macpherson et. al, 2004), modulação da resposta inflamatória (Lei Y.M, et.al, 2015), competindo por nutrientes e superfície epitelial intestinal com bactérias patogênicas (Rakoff-Nahoum et.al, 2004), e consequentemente proporcionando um incremento energético e de vitaminas (Backhed et. al, 2005).

Visando diminuir o uso indiscriminado de antibióticos, a fagoterapia tem surgido com uma alternativa no controle profilático das diarreias bacterianas. Os bacteriófagos (fagos) são partículas virais intracelulares obrigatórios que parasitam bactérias com alta especificidade (Santos et al., 2014). Esses fagos possuem modalidades de reprodução distintas, podendo ter ciclos líticos ou lisogênico. Na forma lítica se tornam uma excelente ferramenta no controle de bactérias patogênicas, pois utilizam do metabolismo bacteriano para se replicar e produzir endolisinas que causam a destruição da parede celular e morte bacteriana (Harper e Enright, 2011). Estudos têm

demonstrado efeitos positivos no biocontrole da microbiota intestinal de ovinos (Callaway et al., 2008) e ruminantes (Sheng et al., 2006) e no controle da septicemia de bezerros e aves (Barrow et al., 1998).

Diante disso, o objetivo desse trabalho é avaliar o efeito da utilização de bacteriófagos líticos de forma contínua na dieta líquida na prevenção de diarreias neonatais e no desenvolvimento corporal de bezerras leiteiras.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado em uma propriedade comercial na cidade de Passos, Minas Gerais, Brasil. Para tal, foram utilizadas 200 bezerras da raça Girolando mantidas em sistema de criação de modelo tropical. O aleitamento era realizado através de sucedâneo lácteo (Nurture Prime[®], Nutron, Brasil) e fornecido em duas refeições diárias até os 42 dias de idade, totalizando 6 litros diários. Após os 42 dias, os animais recebiam o aleitamento somente no período vespertino, totalizando 3 litros diários. Além disso, a partir do terceiro dia de vida os animais possuíam livre acesso ao concentrado e água e aos 60 dias era iniciado o fornecimento de silagem de milho (NRC, 2000). O desaleitamento era realizado aos 70 dias de vida, permanecendo na fase de cria até os 80 dias.

A ocorrência de falha na transferência de imunidade passiva (FTIP) foi determinada através da avaliação dos níveis séricos de proteínas plasmáticas totais (PPT). Para isto, foi realizada uma coleta de sangue destes animais entre 24 e 48 horas de vida, através de venopunção da jugular com auxílio de tubos *vacutainer* contendo EDTA. Após, as amostras foram centrifugadas 3500 rpm para obtenção do soro e analisadas em refratômetro óptico. Para determinação da ocorrência de FTIP foi usado como ponto de corte o parâmetro de 5,5 g/dL, como determinado por Tyler et al. (1996).

Grupos experimentais

Os animais foram divididos de forma homogênea em dois grupos, considerando peso ao nascimento, grau sanguíneo, ordem de partos e FTIP, sendo: Grupo Bacteriófago - GF, n=100 (50 $\frac{1}{2}$, 48 $\frac{3}{4}$, 2 $\frac{5}{8}$ de sangue Holandês): que receberam 1 grama diária de bacteriófago (FAGOLAC[®], Bayer Saúde Animal, Brasil) adicionadas

as duas refeições com sucedâneo lácteo a partir do terceiro dia de vida durante o período de aleitamento; e Grupo Controle - GC, n=100 (51 $\frac{1}{2}$, 48 $\frac{3}{4}$, 1 $\frac{5}{8}$ de sangue Holandês) que receberam sucedâneo lácteo sem a adição do produto.

Escore de fezes e duração da diarreia

A consistência das fezes foi determinada diariamente até os 30 dias de idade (n=96), utilizando-se o seguinte escore: 0 (fezes normais), 1 (fezes pastosas), 2 (fezes aquosas), 3 (diarreia profusa com fezes liquefeitas) e 4 (diarreia profusa com fezes liquefeitas e sanguinolentas) (Adaptado de Kertz and Chester-Jones, 2004). Partindo-se do escore de fezes, determinou-se como fezes diarreicas os escores 2, 3 e 4, sendo, portanto, o dia que o animal começou a excretar fezes com estas características, estabelecido como o dia de início da diarreia, e o dia que este mesmo animal voltou a defecar fezes de escore 0 ou 1, caracterizado como o dia de término da diarreia. Diante do escore de fezes foram determinadas a duração da diarreia no seu primeiro episódio e a permanência de fezes diarreicas no período neonatal.

Ocorrência de doenças

Os animais foram monitorados até 80 dias de vida quanto à ocorrência de casos de diarreia, determinando sua morbidade (número de animais que adoeceram dividido pelo número total de animais no experimento), mortalidade (número de animais que vieram a óbito dividido pelo número total de animais), letalidade (número de animais que vieram a óbito por diarreia dividido pelo número de animais que apresentaram diarreia no experimento) e recidivas (número de animais que adoeceram duas vezes ou mais).

Foi também determinada a ocorrência de doenças respiratórias, bem como a mortalidade por esta enfermidade. Ainda, a ocorrência de outras doenças neonatais (onfaloflebite, timpanismo ruminal/abomasal, artrite, hérnia umbilical, tristeza parasitária) foi avaliada, gerando a incidência de cada doença e a mortalidade geral (número total de animais que morreram dividido pelo número total de animais).

O diagnóstico das doenças era realizado com auxílio de médico veterinário quando detectado qualquer alteração comportamental ou sinais clínicos aparentes através da aferição do tempo de preenchimento capilar -TPC, coloração de mucosas,

temperatura retal, turgor cutâneo e auscultação cardíaca e pulmonar, determinando suas frequências. O tratamento das enfermidades era realizado de acordo com protocolo determinado pela propriedade.

Avaliações zootécnicas

Foram realizadas avaliações de peso corporal, perímetro torácico, altura de cernelha e largura de garupa dos animais ao nascer e semanalmente até 30 dias de vida, e posteriormente avaliados aos 42, 60 e 80 dias de idade. Através do peso corporal, foi determinado o ganho de peso médio diário (GMD) dos animais que completaram os 80 dias de idade (200 animais, menos os óbitos).

Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados no programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA). As médias foram analisadas através do método MIXED MODELS, considerando o animal, o grupo e momento da coleta, bem como suas interações. Médias pontuais foram analisadas através do método One-way ANOVA. A comparação de médias individuais foi feita através do teste de Tukey-Kramer. Variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste de Qui-quadrado. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

Aspectos éticos

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA da Universidade Federal de Pelotas sob protocolo nº 14807.

RESULTADOS

Os animais avaliados não possuíram diferença ($p=0,25$) na FTIP entres os grupos, apresentando taxas de 5 % ($n=5$) para o GC e 2 % ($n=2$) para o GF.

A ocorrência de doenças e óbitos não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos avaliados (Tabela 1), contudo, a duração da diarreia no primeiro episódio ($p=0,01$) e a permanência de fezes diarreicas ($p=0,02$) foram menores no GF durante o período neonatal, em comparação ao GC (figura 1).

Tabela 1: Taxas de mortalidade, morbidade, óbito e recidivas de doenças de bezerras com ou sem a adição de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida.

Parâmetro	Grupos		Valo de p
	Controle	Bacteriófagos	
Morbidade por diarreia (%)	70% (70/100)	63 % (63/100)	0,29
Morbidade por doença respiratória (%)	29% (29/100)	26,% (26/100)	0,66
Morbidade por outras doenças (%)	21% (21/100)	21 % (21/100)	1,00
Mortalidade por diarreia (%)	2% (2/100)	1% (1/100)	0,57
Mortalidade por doença respiratória (%)	3% (3/100)	5% (5/100)	0,47
Mortalidade geral (%)	8% (8/100)	16%(16/100)	0,07
Letalidade por diarreia (%)	2,9% (2/70)	1,6 % (1/63)	0,62
Recidiva de diarreia (%)	24,3% (17/70)	25,4% (16/63)	0,88

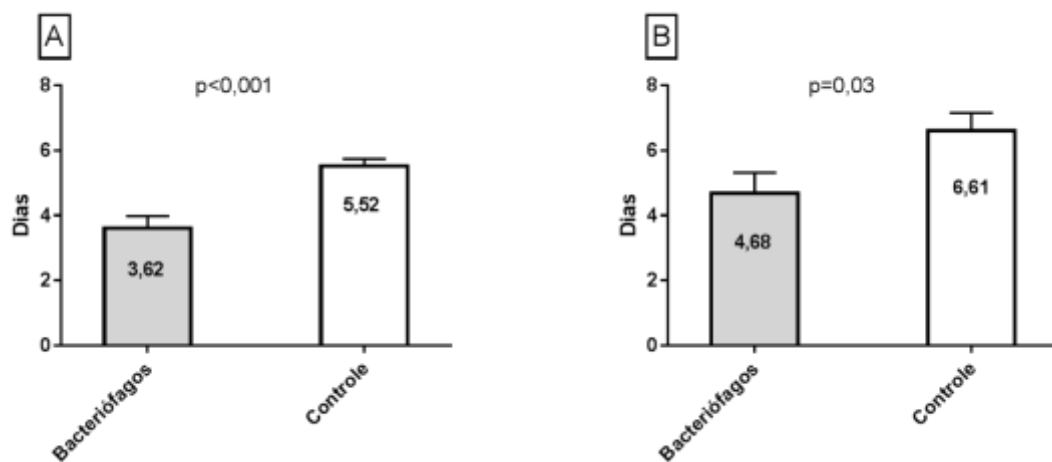


Figura 2: Período de duração do primeiro episódio de diarreia (A) e tempo de permanência de fezes diarreicas (B) no período neonatal em bezerras com ou sem a adição de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida (n=96).

Na avaliação zootécnica, os animais que receberam a incorporação da fagoterapia possuíram maior GMD ($p=0,004$) no período neonatal (primeiros 30 dias de vida), no desaleitamento parcial ($p=0,004$) e desaleitamento total ($p=0,009$) (Figura 2). Os parâmetros de perímetro torácico, altura de cernelha e largura de garupa não apresentaram diferença ($p>0,05$) entre os grupos (Tabela 2).

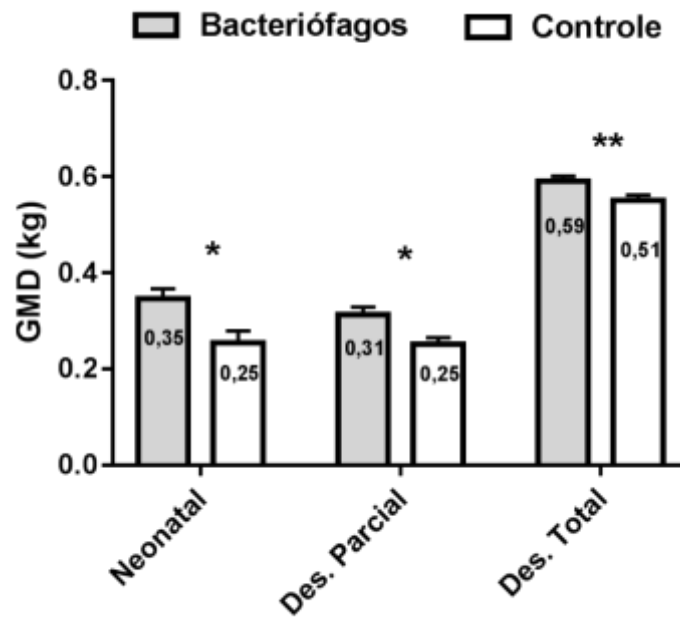


Figura 3: Ganho de peso médio diário (GMD) durante o período neonatal (30 dias) desaleitamento parcial (42 dias) e desaleitamento total (80 dias) de bezerras com ou sem adição de bacteriófagos a dieta líquida (n=175).

* $p < 0,01$

** $p = 0,01$

Tabela 2: Avaliação do desenvolvimento corporal de bezerras com ou sem adição de bacteriófago de forma contínua na dieta líquida.

Parâmetro	Grupos				Valor de p		
	Controle		Bacteriófagos		Grupo	Dia	Grupo*Dia
	Média	EPM ¹	Média	EPM			
Perímetro Torácico (cm)	77,67	0,21	78,30	0,26	0,06	<0,001	0,26
Altura de cernelha (cm)	77,29	0,18	77,44	0,13	0,51	<0,001	0,81
Largura de garupa (cm)	18,26	0,29	18,53	0,15	0,42	<0,001	0,32

¹ Erro padrão da média

DISCUSSÃO

O uso de bacteriófagos no biocontrole de bactérias tem retomado sua ascensão no mercado da indústria alimentícia (Sharma et al., 2005; Hong et al., 2014), e no tratamento de doenças infecciosas na saúde animal e humana (Garcia et al., 2009; Azeredo et al., 2018). Nas últimas décadas, estudos vem sugerindo o uso dessa

terapia como alternativa no controle profilático de enterobactérias em ruminantes, em prol da redução dos custos de tratamento e resistência bacteriana. Estudos *in vitro* demonstraram efeitos satisfatórios na redução de *E.coli* O:157:H7 (O'Flynn et al., 2004; Niu et al., 2009; Coffey et al., 2011; Carter et al., 2012). *In vivo*, os estudos apresentam resultados contraditórios. O uso de fagos se mostrou eficaz no controle da população intestinal de *E.coli* em bovinos (Sheng et al., 2006; Niu et al., 2008) e ovinos (Callaway, 2008), contudo, outros estudos não possuíram o mesmo efeito (Bach et al., 2003; Raya et al., 2006; Rivas et al. 2010).

A co-infecção é comum em bezerros diarreicos (Cho e Yoon et al., 2014) aliado a uma disbiose intestinal e queda imunológica que facilita a proliferação de agentes bacterianos de forma secundária (Cho et al., 2013) e conseqüentemente aumentando a duração e severidade da doença. Essa observação foi condizente com o atual experimento, que mostrou uma redução na duração da diarreia no período de aleitamento e ao primeiro episódio em animais recebendo fagoterapia. Esse fato foi reportado por Smith e Huggins (1983) e Sulakvelidze et al. (2001) que demonstraram o uso de fagos na redução da magnitude dos processos infecciosos, associado a menor perda de fluídos com conseqüente preservação da hidratação.

A perda de fluidos e menor absorção de nutrientes, associadas ao processo inflamatório ocasionado durante quadros de diarreias tem uma correlação negativa com o ganho de peso dos animais (Barrington et al., 2002; Gifford et al., 2012). Assim, o menor tempo de duração de diarreia pode explicar o maior GMD dos animais que receberam a adição de fagos a dieta líquida. Nota-se que essa diferença é ainda maior quando consideramos apenas o período neonatal, sendo considerado esse o momento de maior incidência da enfermidade (García et al., 2000).

Contudo, o uso de fagos no estudo não foi capaz de reduzir a incidência de doenças. A fagoterapia apresenta a capacidade de combater especificamente os agentes bacterianos, e sendo a diarreia neonatal de origem multifatorial, podendo ter origem primária em fatores nutricionais, ambientais e/ou virais (Cho e Yoon et al. 2014) e, portanto, não controlado pela fagoterapia. Porém, a fagoterapia conseguiu diminuir a duração dos quadros de diarreia, ou seja, provavelmente atuando sobre a co-infecção por bactérias e sobre enterites bacterianas secundárias (Cho et al., 2013). Entre as causas de diarreia neonatal, Santin et al. (2014) observou que 50,3% de amostras de fezes de bezerras entre 5 dias a dois meses de idade apresentou-se

positiva para *Cryptosporidium spp.*, aumentando para 66,7% quando considerados somente os animais de até duas semanas de idade.

Ainda, o sucesso da terapia pode estar aliado a fatores como temperatura, pH, concentração, via e número de administrações. Ronzema et al. (2009) em estudo com coquetéis de fagos demonstrou que a terapia via oral é superior a intra-retal. Já Sheng et al. (2006) observou que a aplicação retal (4 doses de 25 ml com 1×10^{10} UFP) foram suficientes para controle da população bacteriana, contudo, o mesmo estudo mantinha a administração contínua de fagos em concentração menores na água ($1,8 \times 10^6$ UFP). Ainda, Anand et.al (2015) utilizando um fago de amplo espectro mostrou que o mesmo foi capaz de exercer ação bactericida sobre 47,3% de isolados de *E.coli* de bezerras diarreicas. Portanto o uso de bacteriófagos de forma contínua por via oral possivelmente seria uma alternativa no controle de enterobactérias, como a *E.coli* enterotoxigênica e *Salmonella spp.*, principais causadoras de diarreia bacteriana em bezerras.

Portanto, o uso de bacteriófagos de forma contínua pode ser uma ferramenta no controle da severidade de quadros diarreicos e determinar um maior ganho de peso ao final do período de aleitamento, contudo, deve ser associado a boas práticas de manejo ambiental, sanitário e nutricional para conseguir atingir resultados mais sólidos na incidência de doenças e mortalidade.

CONCLUSÃO

O uso de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida reduziu a duração da diarreia neonatal, proporcionando um maior ganho de peso médio diários de bezerras leiteiras no período de aleitamento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fazenda Santa Luzia pelo suporte no projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAND, T. et al. Isolation and characterization of a bacteriophage with broad host range, displaying potential in preventing bovine diarrhoea. **Virus genes**, v. 51, n. 2, p. 315-321, 2015.
- AZEREDO, J.; SILLANKORVA, J. Bacteriophage Therapy: From Lab to Clinical Practice. Springer Nature, Humana Press: New York, NY, USA, 2018.
- BACH, S. J. et al. Effect of bacteriophage DC22 on Escherichia coli O157: H7 in an artificial rumen system (Rusitec) and inoculated sheep. **Animal Research**, v. 52, n. 2, p. 89-101, 2003.
- BÄCKHED, F. et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. **science**, v. 307, n. 5717, p. 1915-1920, 2005.
- BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.
- BARROW, P.; LOVELL, M.; BERCHIERI, A.. Use of lytic bacteriophage for control of experimental Escherichia coli septicemia and meningitis in chickens and calves. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, n. 3, p. 294-298, 1998.
- CALLAWAY, T. R. et al. Bacteriophage isolated from feedlot cattle can reduce Escherichia coli O157: H7 populations in ruminant gastrointestinal tracts. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 5, n. 2, p. 183-191, 2008.
- CARTER, C. D. et al. Bacteriophage cocktail significantly reduces Escherichia coli O157: H7 contamination of lettuce and beef, but does not protect against recontamination. **Bacteriophage**, v. 2, n. 3, p. 178-185, 2012.
- CHO, Y. et al. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. **Veterinary microbiology**, v. 166, n. 3-4, p. 375-385, 2013.
- CHO, Y.; YOON, K.. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. **Journal of veterinary science**, v. 15, n. 1, p. 1-17, 2014.
- COFFEY, B. et al. Assessment of Escherichia coli O157: H7-specific bacteriophages e11/2 and e4/1c in model broth and hide environments. **International journal of food microbiology**, v. 147, n. 3, p. 188-194, 2011.
- FOSTER D.M., Smith G.W, Pathophysiology of diarrhea in calves, **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 2009, 25:13-36.
- GARCIA, A. et al. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 23, n. 3, p. 175-183, 2000.
- GARCIA, P. et al. Bacteriophages and their application in food safety. **Letters in applied microbiology**, v. 47, n. 6, p. 479-485, 2008.

GIFFORD, C. A. et al. GROWTH AND DEVELOPMENT SYMPOSIUM: Impacts of inflammation on cattle growth and carcass merit 1 2. **Journal of animal science**, v. 90, n. 5, p. 1438-1451, 2012

HARPER, D. R.; ENRIGHT, M. C. Bacteriophages for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Journal of applied microbiology**, v. 111, n. 1, p. 1-7, 2011.

HONG, Y.; PAN, Y.; EBNER, P. D. Meat science and muscle biology symposium: development of bacteriophage treatments to reduce *Escherichia coli* O157: H7 contamination of beef products and produce. **Journal of animal science**, v. 92, n. 4, p. 1366-1377, 2014.

KERTZ, A. F.; CHESTER-JONES, H. Invited review: Guidelines for measuring and reporting calf and heifer experimental data. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3577-3580, 2004.

LEI, Y. M. K.; NAIR, L.; ALEGRE, M. L. The interplay between the intestinal microbiota and the immune system. **Clinics and research in hepatology and gastroenterology**, v. 39, n. 1, p. 9-19, 2015.

MACPHERSON, A. J.; HARRIS, N. L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 6, p. 478, 2004.

NIU, Y. D. et al. Prevalence and impact of bacteriophages on the presence of *Escherichia coli* O157: H7 in feedlot cattle and their environment. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 5, p. 1271-1278, 2009.

NIU, Y. D. et al. Comparison of fecal versus rectoanal mucosal swab sampling for detecting *Escherichia coli* O157: H7 in experimentally inoculated cattle used in assessing bacteriophage as a mitigation strategy. **Journal of food protection**, v. 71, n. 4, p. 691-698, 2008.

NRC – National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. National Academy of Science, Washington, DC.

O'FLYNN, G. et al. Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157: H7. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 6, p. 3417-3424, 2004.

RAKOFF-NAHOUM, S. et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. **Cell**, v. 118, n. 2, p. 229-241, 2004.

RAYA, R. R. et al. Isolation and characterization of a new T-even bacteriophage, CEV1, and determination of its potential to reduce *Escherichia coli* O157: H7 levels in sheep. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 9, p. 6405-6410, 2006.

RIVAS, L. et al. In vivo and ex vivo evaluations of bacteriophages e11/2 and e4/1c for use in the control of *Escherichia coli* O157: H7. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 21, p. 7210-7216, 2010.

ROZEMA, E. A. et al. Oral and rectal administration of bacteriophages for control of *Escherichia coli* O157: H7 in feedlot cattle. **Journal of food protection**, v. 72, n. 2, p. 241-250, 2009.

TYLER, J. W. et al. Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 10, n. 5, p. 304-307, 1996.

SANTIN, M. et al. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. **Veterinary parasitology**, v. 122, n. 2, p. 103-117, 2004.

SANTOS, S. B. et al. Population dynamics of a *Salmonella* lytic phage and its host: implications of the host bacterial growth rate in modelling. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e102507, 2014.

SHARMA, M. et al. Effectiveness of bacteriophages in reducing *Escherichia coli* O157: H7 on fresh-cut cantaloupes and lettuce. **Journal of food protection**, v. 72, n. 7, p. 1481-1485, 2009.

SHENG, H. et al. Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157: H7 levels in ruminants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 8, p. 5359-5366, 2006.

SMITH, G. W. Treatment of calf diarrhea: oral fluid therapy. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, n. 1, p. 55-72, 2009.

SMITH, H. W.; HUGGINS, M. B.; SHAW, K. M. The control of experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves by means of bacteriophages. **Microbiology**, v. 133, n. 5, p. 1111-1126, 1987.

SULAKVELIDZE, A.; ALAVIDZE, Z.; MORRIS, J. G. Bacteriophage therapy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 3, p. 649-659, 2001.

VOLPATO, A. et al. Gastrointestinal protozoa in dairy calves: identification of risk factors for infection. **Revista MVZ Córdoba**, v. 22, n. 2, p. 5910-5924, 2017.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A diarreia neonatal demonstrou ser um problema recorrente em neonatos. Assim, o uso de bacteriófagos de forma contínua na dieta líquida demonstrou ser uma ferramenta viável no controle da duração da diarreia e no ganho de peso médio diário em bezerras leiteiras. Ainda, quando utilizado concomitante ao manejo higiênico-sanitário adequado pode ser uma proposta eficiente na redução das incidências de diarreia neonatal, alavancando o ganho de peso, a redução do tempo improdutivo e maior produção de leite futura. Por fim, o uso de um método alternativo no controle de infecções bacterianas reduz o uso indiscriminado de antibióticos e posterior resistência a essas moléculas, impactando diretamente na saúde animal e pública.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


- ACRES, S. D. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in newborn calves: a review. **Journal of dairy science**, v. 68, n. 1, p. 229-256, 1985.
- BARRAGRY T. Calf diarrhoea. **Irish Vet. J.** v.50, p.49-58, 1997.
- BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.
- BARTELS, C. J. M. et al. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. **Preventive veterinary medicine**, v. 93, n. 2-3, p. 162-169, 2010.
- CALLAN, R. J.; GARRY, F. B. Biosecurity and bovine respiratory disease. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 57-77, 2002.
- CHO, Y. et al. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. **Veterinary microbiology**, v. 166, n. 3-4, p. 375-385, 2013.
- CHO, Y.; YOON, K. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. **Journal of veterinary science**, v. 15, n. 1, p. 1-17, 2014
- GARCIA, A. et al. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 23, n. 3, p. 175-183, 2000.
- HULBERT, L. E.; MOISÁ, S. J. Stress, immunity, and the management of calves¹. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 4, p. 3199-3216, 2016.
- LEI, Y. M. K.; NAIR, L.; ALEGRE, M.. The interplay between the intestinal microbiota and the immune system. **Clinics and research in hepatology and gastroenterology**, v. 39, n. 1, p. 9-19, 2015.
- RADOSTITS O.M., GAY C.C., HINCHCLIFF K.W. & CONSTABLE P.D. 2007. *Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier, Philadelphia. 2156p.
- SANTOS, S. B. et al. Population dynamics of a *Salmonella* lytic phage and its host: implications of the host bacterial growth rate in modelling. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e102507, 2014.
- SULAKVELIDZE, A.; ALAVIDZE, Z.; MORRIS, J. G. Bacteriophage therapy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 3, p. 649-659, 2001.
- SVENSSON, C. et al. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. **Preventive veterinary medicine**, v. 58, n. 3-4, p. 179-197, 2003.

WEAVER, D. M. et al. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 6, p. 569-577, 2000.

ZEINELDIN, M.; ALDRIDGE, B.; LOWE, J. Dysbiosis of the fecal microbiota in feedlot cattle with hemorrhagic diarrhea. *Microbial pathogenesis*, v. 115, p. 123-130, 2018.

ANEXOS

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA

03/04/2018	SEI/UFPEL - 0114807 - Parecer
	
PARECER Nº PROCESSO Nº INTERESSADO:	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS 37/2018/CEEA/REITORIA 23110.014807/2018-15 VIVIANE ROHRIG RABASSA
Pelotas, 19 de abril de 2018	
Certificado	
<p>Certificamos que a proposta intitulada "Uso de bacteriófagos na prevenção de diarreias bacterianas em bezerras leiteiras", processo nº 23110.014807/2018-15, sob a responsabilidade de Viviane Rohrig Rabassa - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer FAVORAVEL a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 09/04/2018.</p>	
Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	20/04/2018 a 01/12/2018
Espécie/linhagem/raça	Bovina/ Girolando
Nº de animais	210
Idade	0-60 dias
Sexo	Fêmeas
Origem	Fazenda em Passos, MG
<p>Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.</p> <p>Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao COBALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 14807-2018).</p>	
<p><small>https://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=emvue_visualizar&id_documento=141821&infra_externa...</small></p>	