

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS COMO
IMUNOMODULADORA DA PRODUÇÃO DE ANTICORPOS ANTIRRÁBICOS EM
BOVINOS VACINADOS**

RENATA MARIA BOTTINO VIZZOTTO MARTINO

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS COMO
IMUNOMODULADORA DA PRODUÇÃO DE ANTICORPOS ANTIRRÁBICOS EM
BOVINOS VACINADOS**

RENATA MARIA BOTTINO VIZZOTTO MARTINO

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Orientador: Prof. Dr Hermann Bremer Neto

636.089
M382e

Martino, Renata Maria Bottino Vizzotto.
Efeito da concentração de bactérias probióticas
como imunomoduladora da produção de anticorpos
antirrábicos em bovinos vacinados / Renta Maria
Bottino Vizzotto Martino. Presidente Prudente, 2014.
38 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2014.

Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. Hermann Bremer Neto.

1. Anticorpos. 2. Bovinos. 3. Probióticos. 4.
Raiva. I. Título.

RENATA MARIA BOTTINO VIZZOTTO MARTINO

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS COMO
IMUNOMODULADORA DA PRODUÇÃO DE ANTICORPOS ANTIRRÁBICOS
EM BOVINOS VACINADOS**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de
Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do
Oeste Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciência Animal
- Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Presidente Prudente, 19 de Dezembro de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermann Bremer Neto
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Avelino Albas
Agência Paulista de Tecnologia Agronegócios - APTA
Polo da Alta Sorocabana – Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Luis Souza Lima de Souza Reis
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE
Presidente Prudente - UNOESTE

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, pelo amor, dedicação e exemplo de vida;

Ao meu esposo Milton Carlos, as minhas filhas Lara Maria e Maria Carolina e a minha secretária do lar, Maria Lúcia, pelo carinho, força e compreensão.

“ [...] nada é fixo para aquele que alternadamente pensa e sonha [...]”

Gaston Bachelard

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível, graças à Deus, a Mãezinha do céu e a inspiração do Espírito Santo.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Pardo que iniciou comigo esta caminhada e principalmente ao Prof. Dr. Hermann que me acolheu e não mediu esforços para me conduzir ao final desta conquista.

Agradeço a todos os professores do mestrado em Ciência Animal, de maneira especial ao Prof. Dr. Rogério Giuffrida pelo apoio importante de seus conhecimentos de estatística.

Agradeço as minhas amigas Cristina e Suellen pela caminhada que junto fizemos.

Por fim, agradeço a todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“Não sei se a vida é curta ou longa para nós, mas sei que nada do que vivemos tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas....

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

RESUMO

Efeito da concentração de bactérias probióticas como imunomoduladora da produção de anticorpos antirrábicos em bovinos vacinados

Esse estudo avaliou o efeito da concentração da associação de microrganismos probióticos, adicionados à mistura mineral em diferentes concentrações/dia, imunomodulação da produção de anticorpos séricos contra o vírus rábico em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica. Quarenta e dois bovinos machos, da raça Nelore, com idade de 12 meses, foram divididos aleatoriamente em três grupos (n=14): grupo controle (GC) que recebeu 70 gramas de mistura mineral/animal/dia; grupos probióticos 2 gramas (G2P) e 8 gramas (G8P) que receberam 70 gramas de mistura mineral/animal/dia adicionados respectivamente de 2 e 8 gramas de uma associação de microrganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*; *Bifidobacterium thermophilum* e *Bifidobacterium longum*). Os títulos individuais de anticorpos foram determinados por meio da técnica de soroneutralização em células baseado no Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). Recorreu-se à análise de variância em uma via (ANOVA one-way) com contrastes pelo método de Tukey para determinar se os grupos experimentais diferiram entre si, dentro de cada momento, e ao teste t-pareado para determinar se ocorreram diferenças entre momentos dentro de cada grupo e com 5% de nível de significância. Houve diferenças estatísticas significativas entre as médias de concentrações séricas entre os grupos GC e G8P, após 30 e 60 dias da primovacinação e após 60 dias, somente o G8P manteve 100% com títulos de anticorpos protetores mínimos. Houve também melhora na produção de anticorpos no grupo G2P em relação ao GC, após 30 e 60 dias, porém esta diferença não teve significância estatística. O pico de títulos de anticorpos antirrábicos nos bovinos em todos os grupos foi após os 30 dias. Os resultados obtidos permitem atribuir efeito benéfico à imunomodulação com a associação de probióticos na resposta imune humoral antirrábica e o aumento da concentração da associação de microrganismos probióticos na mistura mineral interferiu benéficamente na resposta imune humoral de bovinos primovacinados. Há evidências para se atribuir a concentração da associação probiótica ao efeito sobre a manutenção da concentração sérica de anticorpos em bovinos primovacinados contra a raiva.

Palavras-chave: Anticorpos, Bovinos, Probióticos, Raiva.

ABSTRACT

Concentration effect of probiotic bacteria as production of immunomodulatory antibodies against rabies virus in cattle vaccinated

This study assessed the effect of concentration of association a combination of probiotic micro-organisms added to the mineral mixture at different concentrations / day, immunomodulation production of serum antibodies against rabies virus in cattle vaccinated with a single dose of rabies vaccine. Forty-two male Nellore cattle, with 12 months aged, were randomly divided into three groups (n = 14): control group (CG) received 70 grams of mineral mixture / animal / day; 2 grams probiotics groups (G2P) and 8 grams (G8P) received 70 grams of mineral mix / animal / day added to grams of a combination of probiotic microorganisms, respectively 2 and 8 (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium thermophilum*). Individual antibody titers were determined by the technique of neutralization in cell-based Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). We resorted to the analysis of variance on a route (one-way ANOVA) with contrasts using the Tukey method to determine if the experimental groups differed within each moment, and the paired t-test to determine whether differences occurred between times within each group and a 5% level of significance. There were statistically significant differences between the mean serum concentrations between the GC and G8P groups after 30 and 60 days after the first vaccination and 60 days, only the G8P kept 100% with titers of protective antibodies minimum. There was also improvement in the production of antibodies in the G2P group compared to GC after 30 and 60 days, but this difference was not statistically significant. The peak titers of antibodies in cattle for rabies in all groups were after the 30 days. The results obtained allow to attribute beneficial effect immunomodulation with the combination of probiotics in rabies humoral immune response and the concentration of the association of probiotic microorganisms in mineral mixture interfered beneficially in the humoral immune cattle primary response. There is evidence to assign the concentration of probiotic association to the effect on the maintenance of high levels of serum antibodies in cattle with a single dose of rabies vaccine.

Keywords: Antibodies, Cattle, Probiotic, Rabies.

SUMÁRIO

1 ARTIGO.....	10
ANEXOS.....	24
ANEXO 1 - Aprovação do trabalho pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE.....	25
ANEXO 2 – Normas de publicação da revista científica a qual o artigo será submetido.....	29

1 **Efeito da concentração de bactérias probióticas como imunomodulador da produção de anticorpos**
2 **antirrábicos em bovinos vacinados.**

3
4 **Concentration effect of probiotic bacteria as production of immunomodulatory antibodies against**
5 **rabies virus in cattle vaccinated.**

6
7 Renata Maria BottinoVizzotto-Martino¹; Cristina Cecilia Augusto Vella Bonancéa¹; Thaís Cristina de Souza
8 Geroti²; Neuza Maria Frazati-Gallina³; Paulo Eduardo Pardo⁴; Hermann Bremer Neto^{4*}

9
10
11 **Resumo**

12 Esse estudo avaliou o efeito da concentração da associação de microrganismos probióticos, adicionados à
13 mistura mineral em diferentes concentrações/dia, imunomodulação da produção de anticorpos séricos contra
14 o vírus rábico em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica. Quarenta e dois bovinos
15 machos, da raça Nelore, com idade de 12 meses, foram divididos aleatoriamente em três grupos (n=14):
16 grupo controle (GC) recebeu 70 gramas de mistura mineral/animal/dia; grupos probióticos 2 gramas (G2P) e
17 8 gramas (G8P) receberam 70 gramas de mistura mineral/animal/dia adicionados respectivamente de 2 e 8
18 gramas de uma associação de microrganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*;
19 *Bifidobacterium thermophilum* e *Bifidobacterium longum*). Os títulos individuais de anticorpos foram
20 determinados por meio da técnica de soroneutralização em células baseado no Rapid Fluorescent Focus
21 Inhibition Test (RFFIT). Recorreu-se ao à análise de variância em uma via (ANOVA one-way) com
22 contrastes pelo método de Tukey para determinar se os grupos experimentais diferiram entre si, dentro de
23 cada momento, e ao teste t-pareado para determinar se ocorreram diferenças entre momentos dentro de cada
24 grupo e com 5% de nível de significância. Houve diferenças estatísticas significativas entre as médias de
25 concentrações séricas entre os grupos GC e G8P, após 30 e 60 dias da primovacinação e após 60 dias,
26 somente o G8P manteve 100% com títulos de anticorpos protetores mínimos. Houve também melhora na
27 produção de anticorpos no grupo G2P em relação ao GC, após 30 e 60 dias, porém esta diferença não teve
28 significância estatística. O pico de títulos de anticorpos antirrábicos nos bovinos em todos os grupos foi após
29 os 30 dias. Os resultados obtidos permitem atribuir efeito benéfico à imunomodulação com a associação de
30 probióticos na resposta imune humoral antirrábica e o aumento da concentração da associação de
31 microrganismos probióticos na mistura mineral interferiu benéficamente na resposta imune humoral de
32 bovinos primovacinação. Há evidências para se atribuir a concentração da associação probiótica o efeito
33 sobre a manutenção da concentração sérica de anticorpos em bovinos primovacinação contra a raiva.

34 **Palavras-chave:** Anticorpos, Bovinos, Probióticos, Raiva

¹Discente de Mestrado do programa em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente, SP. . E-mail: renatambv@superig.com.br

²Discente de Medicina Veterinária, UNOESTE, Presidente Prudente, SP. E-mail: gerotithais@yahoo.com.br

³Dra. do Laboratório de Raiva, Instituto Butantan, São Paulo, SP. E-mail: nmfraz@butantan.gov

⁴Profs Drs do curso de Medicina Veterinária, UNOESTE, Presidente Prudente, SP. E-mail: hermann@unoeste.br

* Autor para correspondência

Abstract

35
36
37 This study assessed the effect of concentration of association a combination of probiotic micro-organisms
38 added to the mineral mixture at different concentrations / day, immunomodulation production of serum
39 antibodies against rabies virus in cattle vaccinated with a single dose of rabies vaccine. Forty-two male
40 Nellore cattle, with 12 months aged, were randomly divided into three groups (n = 14): control group (CG)
41 received 70 grams of mineral mixture / animal / day; 2 grams probiotics groups (G2P) and 8 grams (G8P)
42 received 70 grams of mineral mix / animal / day added to grams of a combination of probiotic
43 microorganisms, respectively 2 and 8 (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium*
44 *longum* and *Bifidobacterium thermophilum*). Individual antibody titers were determined by the technique of
45 neutralization in cell-based Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). We resorted to the analysis of
46 variance on a route (one-way ANOVA) with contrasts using the Tukey method to determine if the
47 experimental groups differed within each moment, and the paired t-test to determine whether differences
48 occurred between times within each group and a 5% level of significance. There were statistically significant
49 differences between the mean serum concentrations between the GC and G8P groups after 30 and 60 days
50 after the first vaccination and 60 days, only the G8P kept 100% with titers of protective antibodies minimum.
51 There was also improvement in the production of antibodies in the G2P group compared to GC after 30 and
52 60 days, but this difference was not statistically significant. The peak titers of antibodies in cattle for rabies
53 in all groups were after the 30 days. The results obtained allow to attribute beneficial effect
54 immunomodulation with the combination of probiotics in rabies humoral immune response and the
55 concentration of the association of probiotic microorganisms in mineral mixture interfered beneficially in the
56 humoral immune cattle primary response. There is evidence to assign the concentration of probiotic
57 association to the effect on the maintenance of high levels of serum antibodies in cattle with a single dose of
58 rabies vaccine.

59 **Keyword:** Antibodies, Cattle, Probiotic, Rabies

60

61 Introdução

62

63 A raiva é uma zoonose viral, de importância em saúde pública, caracterizada por encefalomielite
64 aguda e letal (QUEIROZ, et al., 2009). Em animais de produção, a doença torna-se 100% letal, não havendo
65 tratamento (WILLOUGHBY et al., 2005). É causada por um RNA vírus da família *Rhabdoviridae*, gênero
66 *Lyssavirus* (SCHEFFER et al., 2007; INSTITUTO PASTEUR, 2012; KANITZI et al., 2014).

67 Variantes do vírus têm sido identificadas em canídeos silvestres e saguis, além de morcegos
68 hematófagos e não hematófagos (MOCHIZUKI et al., 2012), sendo que os morcegos hematófagos, em
69 especial, o *Desmodus rotundus*, são os principais reservatórios do vírus na América Latina e um dos
70 principais transmissores da raiva para os herbívoros (SCHNEIDER et al., 2009).

71 Ribas (2013) e Lima et al (2005) reportam uma maior incidência de raiva em bovinos no Mato Grosso
72 do Sul e Paraíba, ocorrendo principalmente em animais com idade abaixo de 4 meses, podendo estar

73 relacionado à menor imunidade dos animais jovens, mesmo já primovacinados. Segundo alguns autores, o
74 uso de apenas uma dose de vacina (primovacinados) não é suficiente para proteção dos animais contra a
75 raiva, havendo a necessidade de doses de reforço, para que a vacinação exerça a sua proteção (ALBAS, et
76 al., 2005).

77 Torna-se necessário buscar alternativas para aumentar a eficácia da vacinação contra o vírus da raiva
78 (FERREIRA et al., 2009) e uma possível forma, segundo Arenas et al. (2007), seria a utilização de
79 suplementos como os microrganismos probióticos.

80 Probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta benéficamente o hospedeiro, através
81 da melhoria do balanço microbiano intestinal (NOVAK et al., 2001) com aumento da resposta imune
82 humoral (ARENAS et al., 2009), prevenindo doenças e mantendo a homeostase intestinal (VEMURI;
83 VELAMPATI; TIPPARAJU, 2014) e melhorando o ganho de peso e a eficiência na utilização dos alimentos
84 (PARDO; REIS, 2008). O conceito de probiótico foi introduzido por Elie Metchnikoff em 1908, ao
85 relacionar o consumo de leite fermentado com a maior longevidade de camponeses búlgaros (DILNAWAZ,
86 et al., 2011; AZIZPOUR, et al., 2009), postulando que o leite fermentado produzia seu efeito benéfico no
87 hospedeiro porque antagonizavam bactérias perniciosas no intestino (NOVAK, et al., 2001).

88 Os mecanismos de ação dos probióticos incluem: a) produção de substâncias antimicrobianas; b)
89 competição pelo substrato nutricional com as bactérias patogênicas; c) competição pelo sítio de adesão com
90 as bactérias patogênicas; d) reforçam a barreira intestinal; e) modulam a função imune (imunomodulação)
91 (THIRABUNYANON, 2011). Além disso, esses microrganismos produzem substâncias que alteram o pH,
92 como o ácido lático, acidificando o meio e deixando-o desfavorável a proliferação de patógenos e induzem
93 a quebra de proteínas com potencial alergênico (MORAIS; JACOB, 2006).

94 Alguns autores relatam que os probióticos potencializam as vacinas devido: a) propriedades
95 moduladoras da resposta imunológica; b) aumento da produção de anticorpos; c) ativação de macrófagos; d)
96 proliferação de células T; e) produção de interferon (ROOS et al., 2010); f) capacidade de interação com as
97 placas de Peyer e as células intestinais, estimulando as células B produtoras de IgA; g) migração de células
98 T do intestino (PERDIGÓN; HOLGADO, 2000; PARDO E REIS, 2008).

99 Yasui et al. (1999) comprovaram que a administração de probióticos do gênero *Bifidobacterium*
100 estimulou o sistema imune humoral em camundongos, provocando aumento da produção de IgA anti
101 Rotavírus e de IgG antivírus da Influenza, protegendo-os contra essas duas infecções. Parvinder e Aruna
102 (2012) relataram que o sistema imune pode ser otimizado através da suplementação oral de *Lactobacilos*
103 *acidophilus*.

104 Várias vacinas estão associadas à sub ótima taxas de soroconversão e por isso o efeito protetor não é o
105 ideal e a utilização oral de probióticos durante o período de imunização pode melhorar as taxas de
106 soroconversão (YOUNGSTER et al., 2011).

107 A eficácia na utilização dos probióticos depende da concentração adicionada na dieta (COPPOLA;
108 TURNES, 2004) sendo que estes microrganismos só apresentam efeito biológico no ambiente intestinal e
109 numa quantidade suficiente (MAPA, 2007), devendo ser ingeridas de forma regular, a fim de manter
110 concentrações eficazes das mesmas na microbiota intestinal (WILLIAMS, 2010). Segundo Morais e Jacob

111 (2006), as concentrações dos probióticos usadas devem ser administradas por via oral e em doses que variam
112 de 10^6 a 10^9 UFC (Unidade Formadora de Colônias), o que seguem as normas exigidas pelo Regulamento
113 Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados da Instrução Normativa nº 46 (MAPA, 2007).

114 Por ser a raiva uma das zoonoses de maior importância em saúde pública e que segundo a literatura
115 consultada, a primovacinação em bovinos não conferem um estado imunitário adequado a um possível
116 desafio da doença, este estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações da associação de
117 microrganismos probióticos adicionados à mistura mineral, na produção e manutenção de anticorpos
118 antirrábicos em bovinos vacinados, com uma única dose da vacina contra raiva.

119

120 **Material e Métodos**

121

122 O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, sob nº 1623 pela Universidade do Oeste
123 Paulista de Presidente Prudente, SP, Brasil.

124 O experimento foi desenvolvido entre os meses de setembro e novembro de 2013, com o período de
125 90 dias. Sendo 30 dias para adaptação dos animais ao manejo e ao sistema de pastejo rotacionado com
126 estabelecimento do consumo da mistura mineral e da concentração de probióticos adicionada a mistura
127 mineral (Arenas et al., 2007), seguido pelo período experimental de 60 dias, em uma propriedade rural
128 localizada no município de Pirapozinho, SP, Brasil.

129 Foram utilizados 42 bovinos machos não castrados, puro de origem (PO), da raça Nelore, com 12
130 meses de idade, todos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica (primovacinados) e divididos
131 aleatoriamente em três grupos (n=14), sendo: Grupo controle (GC), onde os animais foram suplementados
132 com 70 gramas de mistura mineral/animal/dia; Grupo Probiótico 2 (G2P), onde os animais foram
133 suplementados com 70 gramas de mistura mineral/animal/dia e 2 gramas de uma associação de
134 microrganismos probióticos e Grupo Probiótico 8 (G8P) onde os animais foram suplementados com 70
135 gramas de mistura mineral/animal/dia e 8 gramas de uma associação de microrganismos probióticos.

136 Oito piquetes eram formados por *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, na medida de 2.500 m² cada
137 um sendo semelhantes na topografia e solo (Latosolo Roxo), com água a vontade (bebedouro) e sombra,
138 permitindo um adequado sistema de pastejo rotacionado.

139 A associação de probióticos utilizados era composta dos microrganismos: *Lactobacillus acidophilus*
140 ($2,2 \cdot 10^9$ UFC Kg⁻¹); *Streptococcus faecium* ($2,2 \cdot 10^9$ UFC Kg⁻¹); *Bifidobacterium thermophilum* ($2,2 \cdot 10^9$ UFC
141 Kg⁻¹); e *Bifidobacterium longum* ($2,2 \cdot 10^9$ UFC Kg⁻¹), fornecida pela Empresa Brasileira de Aumento de
142 Produtividade Pecuária (Embrapec, Paranaíba, PR, Brasil). A mistura mineral utilizada foi o Fosbovi Seca®
143 (Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, São Paulo, Brasil).

144 A vacina antirrábica utilizada (Vencofarma do Brasil Ltda., Londrina, Paraná, Brasil) continha vírus
145 fixo Pasteur inativado, adsorvido em gel de hidróxido de alumínio e produzido em cultivo celular. A
146 aplicação da vacina foi realizada no dia zero do período experimental em todos os bovinos, numa dose de 2
147 mL por via subcutânea, seguindo as orientações da Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
148 (MAPA, 2013).

149 Nos dias 0, 30 e 60, foram colhidas as amostras de sangue (10 ml) por punção da veia jugular, em
150 todos os bovinos, sendo contidos em tronco tipo brete e após centrifugação, as amostras de soro foram
151 acondicionadas em tubos eppendorf e armazenadas por congelamento em freezer -20°C. Os títulos
152 individuais de anticorpos neutralizantes foram determinados no Laboratório de Raiva do Instituto Butantã
153 por meio da técnica de soroneutralização em células BHK21 clone 13, sendo esse teste baseado no Rapid
154 Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) (GENARO et al., 2014; SMITH; YAGER; BAER, 1998).

155 Foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar o pressuposto de normalidade dos dados, pelo qual
156 foi constatado que as aferições de títulos séricos de anticorpos apresentaram distribuição paramétrica. Desta
157 forma, recorreu-se à análise de variância em uma via (ANOVA one-way) com contrastes pelo método de
158 Tukey para determinar se os grupos experimentais diferiram entre si, dentro de cada momento, e ao teste t-
159 pareado para determinar se ocorreram diferenças entre momentos dentro de cada grupo. Todas as análises
160 foram conduzidas no software Biostat 5.0 e com 5% de nível de significância (AYRES et al., 2007).

161

162 **Resultados e Discussão**

163

164 No dia zero, os soros dos animais não apresentaram anticorpos séricos neutralizantes para a raiva,
165 demonstrando que não houve estímulo antigênico anterior ao do experimento, o que também é descrito por
166 Ferreira et al. (2009) e Genaro et al. (2014) e as variações encontradas nos títulos de anticorpos antirrábicos
167 nos soros destes animais durante o período experimental de 60 dias, foram induzidos pela administração de
168 vacina antirrábica realizada no dia zero e ou pela associação de probióticos em diferentes concentrações
169 adicionadas a mistura mineral.

170 Um indivíduo para ser considerado imune precisa obter títulos de anticorpos $\geq 0,5$ UI mL⁻¹ (Unidades
171 Internacionais por mililitro) (WHO, 1992) e vários estudos sugerem que essa dosagem também deve ser
172 seguida como o mínimo para a proteção nos bovinos (SIHVONEN; KULONEN; NEUVONEN, 1994;
173 ALBAS et al., 1998; RODRIGUES DA SILVA et al., 2000; ALBAS et al., 2005).

174 Dentre os animais do grupo controle (GC), 93% responderam a vacinação antirrábica e apresentaram
175 títulos de anticorpos $\geq 0,50$ UI mL⁻¹, após 30 dias da primovacinação (Tabela 1). Situação semelhante
176 também foi relatada por Albas et al., (1998), Giometti et al. (2006) e Ferreira et al. (2009) na qual obtiveram
177 resultados de títulos mínimo de anticorpos necessários para proteção imunológica entre 88,95% e 95,5%.

178 Portanto, os resultados nesse estudo evidenciam que nem todos os bovinos responderam
179 satisfatoriamente a primovacinação e estes resultados foram semelhantes em outros estudos com vacinas
180 devidamente liberadas, registradas e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
181 (ALBAS et al., 1998, 2005; GIOMETTI et al., 2006; MARIA et al. 2009) e utilizadas nessa mesma espécie
182 animal. Vários autores tem pesquisado a resposta imune da vacina antirrábica em bovinos e constataram que
183 a resposta se apresentou heterogênea, havendo animais não respondedores intercalados com animais que
184 apresentam valores baixos, médios e altos e que a imunidade pode não persistir por mais de 30 dias após a
185 primovacinação (ALBAS et al., 2005).

186 Os grupos de animais suplementados com uma associação de microrganismos probióticos com 2
187 gramas/dia (G2P) e 8 gramas/dia (G8P) adicionados na mistura mineral, apresentaram após 30 dias da
188 primovacinação, 100% dos animais com títulos de anticorpos protetores mínimos $\geq 0,50$ UI mL⁻¹, indicando
189 que correu um aumento da resposta imune humoral dos bovinos primovacinação suplementados com a
190 associação de probióticos (Tabela 1). A elevação dos títulos de anticorpos pela suplementação de associação
191 de microrganismos probióticos pode ser justificada pelo efeito do estímulo ao sistema imunológico
192 (ESPARZA; FRAGOSO, 2010; O'FLAHERTY et al., 2010; NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011;
193 THIRABUNYANON, 2011) e ou atribuídos às bactérias probióticas, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*,
194 presentes em estudos com herbívoros (PARDO; REIS, 2008; GENARO et al., 2014).

195 Os probióticos só apresentam efeito biológico no ambiente intestinal se conseguirem atingir um
196 número mínimo acima de 10⁶ a 10⁹ UFC de bactérias lácticas totais e isso pode ser evidenciado nesse estudo,
197 pois todos os animais dos grupos suplementados com a associação de microrganismo probióticos, após 30
198 dias da primovacinação, apresentaram títulos de anticorpos protetores mínimos $\geq 0,50$ UI mL⁻¹ (Tabela 1) e
199 quando comparados estatisticamente entre si, o grupo G8P apresentou diferença estatística significativa com
200 os demais (p<0,05) (Tabela 2). Estes resultados evidenciam um efeito benéfico da concentração e
201 imunomodulador da associação de microrganismos probióticos, pelo aumento na percentagem de animais
202 com títulos de anticorpos protetores e na média dos títulos de anticorpos antirrâbicos.

203 Quando as médias de títulos de anticorpos protetores foram comparadas dentro do mesmo grupo de
204 tratamento e em diferentes períodos, apresentaram diferença significativa nos grupos GC, G2P e G8P. O
205 grupo G8P após 30 dias não apresentou diminuição na percentagem de animais com títulos protetores e
206 diferença significativa na média dos títulos de anticorpos antirrâbicos. O grupo G2P apresentou queda dos
207 títulos de anticorpos antirrâbicos após 30 dias da primovacinação, evidenciado pela redução da percentagem
208 de bovinos com títulos protetores de 100% para 64% e diminuição significava nas médias de títulos
209 antirrâbicos, porém menos acentuado do que no grupo GC. Esses resultados evidenciam que o aumento na
210 concentração na mistura mineral da associação de microrganismos probióticos potencializa o efeito benéfico
211 imunomodular do probiótico, o que também foi descrito por Arenas et al. (2009).

212 Nesse estudo, após os 30 dias da primovacinação, houve o pico na média de títulos de anticorpos nos
213 tratamentos GC, G2P e G8P (Figura 1), sendo que há relatos que o valor máximo de anticorpos
214 neutralizantes contra raiva possa ocorrer mais tardiamente, aos 46 dias pós-vacinação em bovinos
215 (GIOMETTI et al., 2006).

216 Transcorridos 60 dias do início do período experimental, o grupo controle (GC) apresentou uma queda
217 na percentagem (42%) dos bovinos com títulos de anticorpos protetores mínimos (Tabela 1), o que segundo a
218 OMS (Organização Mundial da Saúde), apenas essa percentagem apresentaria um estado imunitário
219 suficiente para proteger os indivíduos ao risco de exposição à infecção à raiva (WHO, 1992) e esse
220 parâmetro de título de anticorpos protetores mínimos é conveniente para avaliar a imunogenicidade da
221 vacina antirrâbica em bovinos (VODOPIJA et al., 1986). O grupo de bovinos G2P apresentou 64% e o grupo
222 GP8 100% dos animais com titulação sérica de anticorpos para níveis acima do mínimo de proteção (Tabela
223 1).

224 Os resultados dos títulos de anticorpos do G2P foram maiores que o do grupo controle, porém não
225 apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Esse aumento mostra um efeito benéfico desta concentração
226 do probiótico neste momento do período experimental e na manutenção dos níveis de anticorpos séricos.
227 Esse efeito benéfico foi potencializado com a inclusão de 8 gramas do probiótico na suplementação animal
228 (GP8), fazendo com que todos os animais apresentassem, aos 60 dias após a primovacinação, níveis acima
229 do mínimo de proteção (Tabela 2).

230 Arenas et al. (2007) e Williams (2010) também obtiveram melhora na imunidade humoral de bovinos
231 primo vacinados contra a raiva e suplementados com probióticos, porém com microrganismos e ou doses
232 diferentes. Segundo Genaro et al. (2014), existe muita diferença entre os resultados das pesquisas e vários
233 fatores podem ser a causa disso como, peso, tamanho e estado nutricional do animais e utilização de
234 diferentes cepas de microrganismos probióticos. Além disso, fatores relacionados às espécies animais (estado
235 fisiológico do animal e capacidade individual de resposta do sistema imunológico), tipo de vacina empregada
236 e diferenças antigênicas dos lotes das vacinas podem estar relacionadas com a discrepância observada nas
237 respostas dos animais (MONTAÑO et al., 1987).

238 Apesar da vacina avaliada neste experimento ter uma boa capacidade de induzir a soroconversão,
239 potencializada pela suplementação da associação probiótica e de manter os títulos de anticorpos antirrábicos
240 considerados protetores nos bovinos primovacinação contra a raiva dentro dos parâmetros de normalidade,
241 segundo seus fabricantes (MARIA et al., 2009), estes resultados não dispensam a necessidade da aplicação
242 da dose de reforço, conforme preconizado pelo Programa de Controle da Raiva em Herbívoros (MAPA,
243 2013).

244

245 **Conclusões**

246

247 A partir dos resultados obtidos neste estudo é possível concluir que: a) a primovacinação contra a
248 raiva em bovinos é capaz de induzir o sistema imunológico produzir anticorpos antirrábicos e
249 somente a primovacinação não foi capaz de induzir proteção mínima de todos os animais; b) o pico
250 dos títulos de anticorpos antirrábicos nos bovinos em todos os grupos foi após 30 dias; c) há
251 evidências para atribuir efeito benéfico à concentração da associação de microrganismos
252 probióticos na imunomodulação na produção de anticorpos antirrábicos; d) o aumento da
253 concentração da associação de microrganismos probióticos incorporados na mistura mineral
254 interferiu beneficemente na resposta imunomoduladora de bovinos primovacinação contra a raiva;
255 e) prorrogar o tempo de experimento, poderia trazer resultados mais incisivos; f) experimento
256 poderia ser feito com outras vacinas e com outras patologias.

257

258

259

260

261 **Referências Bibliográficas**

262

263 ALBAS, A.; PARDO, P.E.; GOMES, A.A.B.; BERNARDI, F.; ITO, F.H. Effect of a booster-dose of rabies
264 vaccine on the duration of virus neutralizing antibody titers in bovine. *Revista da Sociedade Brasileira de*
265 *Medicina Tropical*, Uberaba, v. 31, n. 4, p. 367-371, 1998.

266

267 ALBAS, A.; PARDO, P.E.; BREMER-NETO, H.; GALLINA, N.M.F.; MOURÃO FUCHES, R.M.;
268 SARTORI, A. Vacinação anti-rábica em bovinos: comparação de cinco esquemas vacinais. *Arquivos do*
269 *Instituto Biológico*, São Paulo, v. 72, n. 2, p.153-159, 2005.

270

271 ARENAS, S.E.; REIS, L.S.L.S.; FRAZATTI-GALLINA, N.M.; GIUFFRIDA, R.; PARDO, P.E. Efeito do
272 probiótico proenzime® no ganho de peso em bovinos. *Archivos de Zootecnia*, Córdoba, v.56, n.213, p.75-78,
273 2007.

274

275 ARENAS, S. E.; REIS, L. S. L. S.; FRAZATTI-GALLINA, N. M.; FUJIMURA, S.H.; BREMER NETO, H.;
276 PARDO, P. E. Probiotic increase the antirabies humoral immune response in bovine. *Archivos Zootecnia*,
277 Cordoba, v. 58, n. 224, p. 733-6, 2009.

278

279 AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. (ed.) *Bio Estat*. Aplicações estatísticas
280 nas áreas da ciências médicas. 5.ed. Belém. p.339, 2007.

281

282 AZIZPOUR, K.; BAHRAMBEGYI, S.; MAHMOODPOUR, S.; AZIZPOUR, A. History and basic of
283 probiotics. *Res. J. Biol. Sci.*, v.4. n.4, p.109-426, 2009.

284

285 CAPPOLA, M.M.; TURNES, C.G. Probióticos e resposta imune. *Ciência Rural*, v.34, n.4, p.1297-1303,
286 2004.

287

288 DILNAWAZ, P.; SHAKEEL, M.; ZIYAURRAHMAN, A.R.; TABREEZ, S. A review on probiotics.
289 *Internacional Research Journal of Pharmacy*, v.2, n.7, p.26-33, 2011.

290

291 ESPARZA, J.A.; FRAGOSO, R.L.S. ¿Qué sabe Ud. acerca de los probióticos?. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*,
292 v.41, p.60-63, 2010.

293

294 FERREIRA, L.A.; PARDO, P.E.; FRAZATTI-GALLINA, N.M.; MOURÃO-FUCHES, R.M.; VENTINI, D.
295 C.; KRONKA, S. N.; ARENAS, S. E.; REIS, L.S.L.S. Avaliação da vacinação antirrábica e da
296 suplementação com probióticos na resposta imune humoral em bovinos. *Semina: Ciências Agrárias*,
297 Londrina, v.30, n.3, p.655-660, jul./set., 2009.

298

- 299 GENARO, S.C.; PARDO, P.E.; GIUFFRIDA, R.; FRAZATI-GALLINA, N.M. Suplementação nutricional
300 na produção de anticorpos séricos contra o vírus rábico em ovinos vacinados contra raiva. *Semina: Ciências*
301 *Agrárias*, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1359-1368, 2014.
- 302
- 303 GIOMETTI, J.; CHIACCHIO, S.B.; ALBAS, A.; PARDO, P.E.; BREMER NETO, H.; GIOMETTI, A. I.;
304 REIS, L.S.L.S. Influência da suplementação com cromo na resposta imune humoral antirrábica em
305 bovinos. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v.73, n. 4, p.421-427, 2006.
- 306
- 307 INSTITUTO PASTEUR – Morcegos. Quem são, afinal, estas estranhas criaturas?. Disponível no site:
308 www.pasteur.saude.sp.gov.br; acessado em 28/08/2012.
- 309
- 310 KANITZ, F.A.; KOWALSKI, A.P.; BATISTA, H.B.C.R.; CARNIELI JUNIOR, P.; OLIVEIRA, R.N.;
311 WEIBLEN, R. FLORES, E.F. Epidemiologia molecular de surto de raiva bovina na região central do Rio
312 Grande do Sul, 2012. *Ciência Rural*, v.44, n.5, p.834-840, 2014.
- 313
- 314 LIMA, E.F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S.; GOMES, A.A.B.; LIMA, F.S. Sinais clínicos, distribuição
315 das lesões no sistema nervoso central e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil.
316 *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.25, n.4, p.250-264, Oct./Dec., 2005.
- 317
- 318 MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro
319 de 2007, que adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Publicado no
320 Diário Oficial da União: Brasília, Distrito Federal, em 24 de outubro de 2007. Seção 1, página 5. 2007.
- 321
- 322 MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) - MANUAL TÉCNICO – CONTROLE DE
323 RAIVA DOS HERBÍVOROS. Brasília/DF, 2009. Acessado em 2012 em www.google.com.br/mapa e vacina
324 contra a raiva; www.agricultura.gov.br...or/Animal/programa...e
- 325
- 326 MAPA (Ministério da Agricultura, e Abastecimento), 2013. Disponível no site:
327 www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Animal/programa%20nacional%20dos%20herbivoros/Dados%20controlado%20raiva%20herb%20C3%ADvoros%20Brasil%20ate%202012.pdf. Acesso em: 11 fev., 2014.
- 328
- 329
- 330 MARIA, E.K.; PARDO, P.E.; FRAZATTI-GALLINA, N.M.; PAOLI, R.L.; MOURÃO-FUCHES, R.M.;
331 REIS, L.S.L.S. Efeito com a suplementação de zinco na resposta imune humoral antirrábica em bovinos.
332 *Archivos de Zootecnia*, Córdoba, v.58. n.1, p.605-608, 2009.
- 333
- 334 MOCHIZUKI, N.; KAWASAKI, H.; SILVA, M.L.C.R.; AFONSO, J.A.B.; ITOU, T.; ITO, F.H.; SAKAI, T.
335 Molecular Epidemiology of livestock rabies viroses isolated in the northeastern Brazilian states of Paraíba
336 and Pernambuco from 2003-2009. *BMC Research Notes*, v.5, p.32, 2012.

- 337 MONTAÑO, J. A.; POLACK, G. W.; MORA, E. F. Raiva bovina em animais vacinados. II – Situação
338 epidemiológica no Estado do Paraná, Brasil – 1984. *Arquivo de Biologia e Tecnologia*, v.30, n.2, p.367-
339 380, 1987.
- 340
- 341 MORAIS, M.B.; JACOB, C.M.A. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. *Jornal de*
342 *Pediatria*, v.82, n.5, p.189-197, 2006.
- 343
- 344 NOGUEIRA, J. C. R.; GONÇALVES, M. C. R. Probiotics in allergic rhinitis. *Brazilian Journal of*
345 *Otorhinolaryngol*, São Paulo, v.77, n.1, p.129-34, 2011.
- 346
- 347 NOVAK, F.R.; ALMEIDA, J.A.G.; VIEIRA, G.O.; BORBA, L.M. Colostro humano: fonte natural de
348 probióticos? *Jornal de Pediatria*, v.77, n.4, p.265-270, 2001.
- 349
- 350 O'FLAHERTY, S.; SAULNIER, D.M.; POT, B.; VERSALOVIC, J. How can probiotics and prebiotics
351 impact mucosa immunity? *Gut Microbes*, Landes Bioscience, v.1, n.5, p.293-300, sep./oct., 2010.
- 352
- 353 PARDO, P.E.; REIS, L.S.L.S. Nutrientes e nutracêuticos em grandes animais. In: ANDRADE, S.F. In:
354 *Manual de Terapêutica Veterinária*, 3. ed. São Paulo: Rocha, capítulo 29, p.808-814, 2008.
- 355
- 356 PARVINDER, K.; ARUNA,B. Comparison of the immunomodulatory properties of four probiotic strains of
357 *Lactobacillus*: prediction for *in vivo* efficacy. *International Journal of the Sciences Biotechnology and*
358 *Pharma Research*, v.1, n.2, abril, 2012.
- 359
- 360 PERDIGÓN, G.; HOLGADO, A.P.R. Mechanism involved in the imunomodulation by latic acid bactéria.
361 In: FULLER, R.; PERDIGÓN, A.P.R. *Probiotics 3: Immunomodulation by the gut microflora and*
362 *probiotics*. Dordrecht: Klewer Academic, p.213-33, 2000.
- 363
- 364 QUEIROZ, L.H.; CARVALHO, C.; BUSO, D.S.; LUCCA FERRARI, ANDRE PEDRO, W. Perfil
365 epidemiológico da raiva na região Noroeste do Estado de São Paulo no período de 1993 a 2007. *Revista da*
366 *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.42, n.1, p.9-14, 2009.
- 367
- 368 RIBAS, N.L.K.S. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. *Pesquisa*
369 *Veterinária Brasileira*, v.33, n.10, p.1183-1194, 2013.
- 370
- 371 RODRIGUES DA SILVA, A. C.; CAPORALE, G. M. M.; GONÇALVES, C. A.; TARGUETA, M. C.;
372 COMIN, F.; ZANETTI, C. R.; KOTAIT, I. Antibody response in cattle after vaccination with inactivated
373 and attenuated rabies vaccines. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Uberaba, v. 42, n. 2,
374 p. 95-98, 2000.

- 375 ROOS, T. B.; TABELEÃO, V.C.; DÜMMER, L. A.; SCHWEGLERA, E.; GOULART, M. A.; MOURA,
376 S.V.; CORRÊA, M.N.; LEITE, F.P.L.; GIL-TURNES, C. Effect of *Bacillus cereus* var. Toyoi and
377 *Saccharomyces boulardii* on the immune response of sheep to vaccines. *Food and Agricultural Immunology*,
378 v.21, n. 2, p.113-118, 2010.
- 379
- 380 SIHVONEN, L; KULONEN, K.; NEUVONEN, E. Immunization of cattle against rabies using inactivated
381 cell culture vaccines. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Copenhagen, v.35, n.4. p.371-376, 1994.
- 382
- 383 SCHEFFER, K.C.; CARRIERI, M.L.; ALBAS, A.; SANTOS, H.C.P. DOS; KOTAIT, I.; ITO, F.H. Vírus da
384 raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São
385 Paulo, v.41, n.3, p.389-395, 2007.
- 386
- 387 SCHNEIDER, M.C.; ALMEIDA, G.A.; SOUZA, L.M.; DIAZ, R.C. Rabies transmitted by vampire bats to
388 humans: an emerging zoonotic disease in Latin America?. *Revista Panamericana de Salud Pública*. v.25,
389 p.260-269, 2009.
- 390
- 391 SMITH, J.S.; YAGER, P.A.; BAER, G. M. A rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) for determining
392 rabies virus-neutralizing antibody. In: MESTIN, F.X.; KAPLAN, M.M.; KOPROWSKI, H. (Ed.).
393 *Laboratory techniques in rabies*. Geneva: World Health Organization. p.181-192, 1998.
- 394
- 395 THIRABUNYANON, M. Biotherapy for and protection against gastrointestinal pathogenic infection via
396 action PF probiotic bacteria. *Maejo Int. J. Sci Technol.*, v.5, n.1, p.108-128, mar., 2011.
- 397
- 398 VEMURI, P.K.; VELAMPATI, R.H.P; TIPPARAJU, S.L. Probiotics: A novel approach in improving the
399 values of human life. *Int. Pharm. Sci.*, v.6, n.1, p.41-43, 2014.
- 400
- 401 VODOPIJA, I.; SUREAU, P.; LAFON, M.; BAKLAIC, Z.; LJUBIEIĆ, M.; SVJETLIEIĆ, M.; SMERDEL,
402 S. An evaluation of second generation tissue culture rabies vaccines for use in man: a four-vaccine
403 comparative immunogenicity study using a pre-exposure vaccination schedule and an abbreviated 2-1-1
404 postexposure schedule. *Vaccine*, v.4, p.246-248, 1986.
- 405
- 406 WHO. *Expert committee on rabies*. Geneva: [s.n], 1992. 92 p. (Technical report series, 824).
- 407
- 408 WILLIAMS, N.T. Probiotics. *Am. J. Health-Syst Pharm.*, v.67, p.449-458, 2010.
- 409
- 410 WILLOUGHBY JR., R.E.; TIEVES, K.S.; HOFFMAN, J.M.; GHANAYEM, N.S.; AMLI LEFOND, C.M.;
411 SCHWABE, M.J.; CHUSID, M.J.; RUPPRECHT, C.E.. Survival after treatment of rabies with induction of
412 coma. *N. Engl. Journal Medicine*, v.352, p.2.508-2.514, 2005.

413 YASUI, H.; SHIDA, K.; MATSUZAKI, T.; YOKOKURA, T. Immunomodulatory function of lactic acid
414 bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*,
415 Dordrecht, v.76, n.1, p.383-389, 1999.

416

417 YOUNGSTER, I.; KOZER, E.; LAZAROVITCH, Z. BROIDE, E.; GOLDMAN, M. Probiotics and the
418 immunological response to infant vaccinations: a prospective, placebo controlled pilot study. *Arch. Dis.*
419 *Child.*, v.96, p.345-349, 2011.

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

448 **Tabela 1.** Porcentagem de bovinos primovacinados contra a raiva que receberam suplementação de
 449 microrganismos probióticos e a resposta imune humoral¹.

Dias após primovacinação	Porcentagem de bovinos com títulos de anticorpos antirrábicos		
	Grupos experimentais ²		
	GC	G2P	G8P
0	0	0	0
30	93	100	100
60	42	64	100

450 1. Considerou-se bovinos com títulos de anticorpos antirrábicos protetores, todos aqueles que apresentaram títulos
 451 $\geq 0,5$ UI mL⁻¹.

452 2. Os bovinos foram suplementados com 0 (GC), 2 (G2P) e 8 (G8P) gramas da associação de microrganismos
 453 probióticos/bovinos/dia adicionado em 70 gramas de mistura mineral.

454 **Fonte:** Elaboração dos autores.

455
 456

457

458

459

460 **Tabela 2.** Efeito da concentração da suplementação de probióticos adicionados na mistura mineral sobre o
 461 título de anticorpos antirrábicos de bovinos primovacinados contra a raiva^{1,2,3}.

Colheita (dias)	Títulos de anticorpos antirrábicos (UI mL ⁻¹)		
	Grupos experimentais		
	GC	G2P	G8P
0	0 ^{Aa}	0 ^{Aa}	0 ^{Aa}
30	0,62 ± 0,10 ^{Ab}	1,30 ± 0,91 ^{Ab}	3,22 ± 1,31 ^{Bb}
60	0,44 ± 0,09 ^{Ab}	0,86 ± 0,53 ^{Ab}	2,18 ± 1,30 ^{Bb}

462 1. Os resultados são a média ± SD. n=14.

463 2. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha ou letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças
 464 estatísticas significativas (P<0,05).

465 3. Os bovinos foram suplementados com 0 (GC), 2 (G2P) e 8 (G8P) gramas da associação de microrganismos
 466 probióticos/bovinos/dia adicionado em 70 gramas de mistura mineral.

467 **Fonte:** Elaboração dos autores.

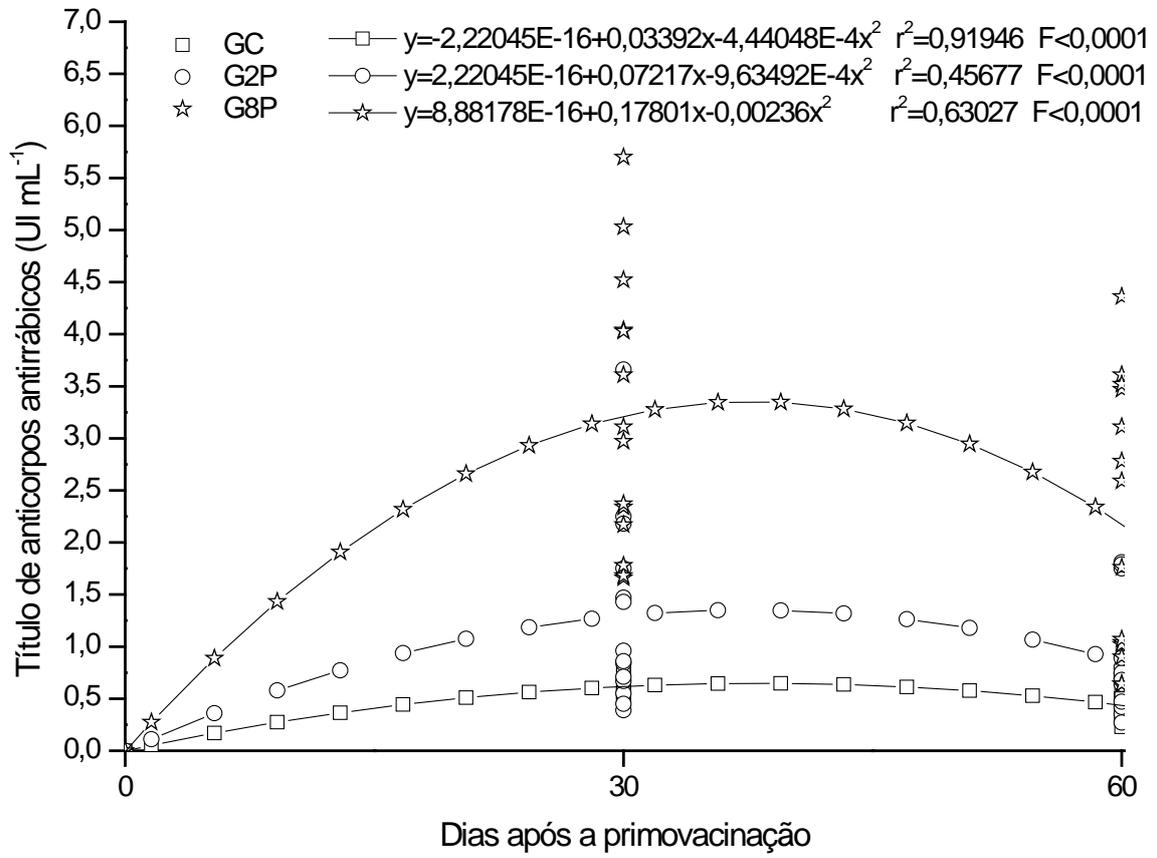
468

469

470

471

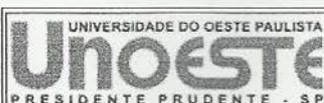
472 **Figura 1.** Efeito do tempo de vacinação sobre o título de anticorpos antirrábicos em bovinos
 473 primovacinados contra a raiva.
 474



475 **Fonte:** Elaboração dos autores.
 476

ANEXOS

ANEXO 1 –Aprovação do trabalho pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA)
da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE



Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Sistema Gestor de Pesquisa (SGP)

Título do Projeto: Suplementação nutricional com probiótico na produção de anticorpos séricos contra o vírus rábico em bovino vacinados contra a raiva

Palavras chave: Raiva. Probiótico. Bovino. Resposta Imune.

Curso(s): MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL*

Tipo de Projeto: PPG

Projeto sem custos

Protocolo CCPq: 1623



[Arquivo do projeto \(Download\)](#)

Resumo do Projeto:

RESUMO

O objetivo desse estudo será de avaliar o efeito da suplementação do probiótico sobre a resposta imune humoral em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica. Serão realizados 5 experimentos (GP1, GP2; GP3; GP4 e GP8) contendo 70 bovinos machos cada, inteiros, Puro de Origem(P.O), da raça Nelore, com idade de 12 meses, todos vacinados com dose única de vacina antirrábica, divididos aleatoriamente em 5 grupos (14 bovinos/grupo): O GP1 (grupo controle) de cada grupo, receberá 70 gramas de suplemento mineral/animal/dia. O grupo GP2 receberá 2 gramas de probiótico adicionados em 70 gramas de suplemento mineral/animal/dia; o grupo GP3 receberá 3 gramas

de probiótico adicionados em 70 gramas de suplemento mineral/animal/dia; o grupo GP4 receberá 4 gramas de probiótico adicionado em 70 gramas de suplemento mineral/animal/dia e o grupo GP8 receberá 8 gramas de probiótico adicionado em 70 gramas de suplemento mineral/animal/dia. Às análises estatísticas serão comparadas entre os Grupos 0,2 e 8 gramas; entre os Grupos 0, 3 e 8 gramas e entre os Grupos 0,4 e 8 gramas, Os títulos individuais de anticorpos neutralizantes serão determinados por meio da técnica de soroneutralização baseado no Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) e no Fluorescent Inhibition Microtest (FIMT). Os resultados obtidos serão comparados pelo teste t não pareado, e os títulos sorológicos dentro de cada grupo, aos 30 e 60 dias pós-vacinação, pelo teste t-pareado para amostra relacionadas.

Palavras Chaves: Raiva, probiótico, bovino, resposta imune.

Cronograma de Execução

Fase	<u>JU</u> 13	<u>AG</u> 13	<u>SE</u> 13	<u>OU</u> 13	<u>NO</u> 13	<u>DE</u> 13	<u>JA</u> 14	<u>FE</u> 14	<u>MA</u> 14	<u>AB</u> 14
1			X							
2	X	X	X							
3			X							
4			X	X						
5				X	X					
6					X	X				
7							X	X		
8									X	X

Legenda:

- 1 -
- 2 - COLHEITA DE MATERIAL
- 3 - COLHEITA DE MATERIAL
- 4 - RESULTADOS
- 5 - RESULTADOS
- 6 - ANÁLISE DOS RESULTADOS

7 - ANÁLISE DOS RESULTADOS
8 - CONCLUSÃO E REDAÇÃO DO TRABALHO

Participante(s) do Projeto

Docentes Participantes

Nome	Titulação	Email
HERMANN BREMER NETO (Coordenador)	DOUTOR	hermann@unoeste.br

Técnicos Participantes

Nenhum técnico inscrito no projeto.

Discentes Participantes

Nome	Curso	Email
CRISTINA CECÍLIA AUGUSTO VELLA BONANCÉA	MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL	cristina.cecilia@hotmail.com
RENATA MARIA BOTTINO VIZZOTTO	MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL	renatambv@superig.com.br
THAÍS CRISTINA DE SOUZA GEROTI	MEDICINA VETERINÁRIA	gerotithais@yahoo.com.br

Participantes Externos

Nenhum participante externo inscrito no projeto.

Informações Adicionais

Pesquisa envolve Seres Humanos

O projeto envolve a participação direta de ser(es) humano(s) como objeto de pesquisa?

NÃO

Pesquisa Envolve Animais

O projeto envolve a participação direta de animais como objeto de pesquisa?

SIM

A) Tipo de animal que será utilizado na pesquisa?

BOVINA

B) Quantidade?

70

C) Procedência?

FAZENDA SANTA FÉ

D) Local onde serão mantidos durante o experimento (comprovar viabilidade)?

FAZENDA SANTA FÉ

E) Envolve procedimento invasivo?

SIM

F) Coleta de Materiais?

SIM

Especifique:

COLHEITA DE SANGUE

Dados para Fomento

O projeto solicita algum tipo de auxílio financeiro?

NÃO

ANEXO 2 – Normas de publicação da revista científica a qual o artigo será submetido

Semina: Ciências Agrárias

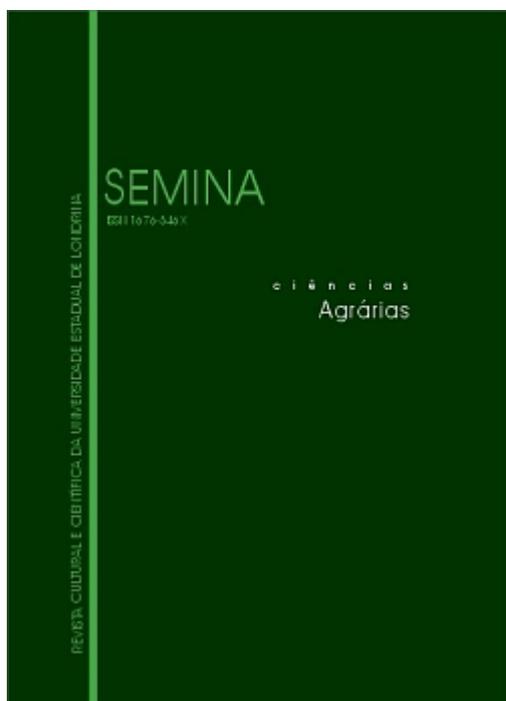
informamos que a Revista Semina: Ciências Agrárias está aberta para recebimento de novas submissões.

A PARTIR DE 01/04/2014 FORAM ALTERADAS AS DIRETRIZES PARA AUTORES DA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS. ASSIM, RECOMENDAMOS QUE OS AUTORES AS CONSULTEM ATENTAMENTE, POIS NÃO SERÃO ACEITOS TRABALHOS QUE NÃO ESTEJAM RIGOROSAMENTE DE ACORDO COM AS REFERIDAS DIRETRIZES.

A Revista **Semina: Ciências Agrárias** é uma publicação trimestral de divulgação científica e tecnológica vinculada à Universidade Estadual de Londrina. Publica artigos originais e artigos de revisão, relatos de casos e comunicações ligados à grande área das Ciências Agrárias.

Qualis CAPES - 2012 - Ciências Agrárias: B1

Fator de impacto - 0,182



Diretrizes para Autores

ATENÇÃO AUTORES:

A PARTIR DE 01/04/2014 FORAM ALTERADAS AS DIRETRIZES PARA AUTORES DA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS. ASSIM, RECOMENDAMOS QUE OS AUTORES AS CONSULTEM ATENTAMENTE, POIS NÃO SERÃO ACEITOS TRABALHOS QUE NÃO ESTEJAM RIGOROSAMENTE DE ACORDO COM AS REFERIDAS DIRETRIZES.

Taxa de Submissão de novos artigos: R\$ 80,00. Em caso de rejeição do artigo, esta taxa não será devolvida.

A Taxa de Publicação (trabalhos aprovados) será de acordo com o número de páginas do manuscrito:

Até 9 páginas: **R\$ 150,00**

De 10 a 14 páginas: **R\$ 200,00**

De 15 a 19 páginas: **R\$ 250,00**

De 20 a 25 páginas: **R\$ 300,00**

Em caso de **aceite do artigo para publicação**, o valor pago de **R\$ 80,00** referente à taxa de submissão, **não será deduzido da taxa de publicação**.

O **comprovante de depósito** deverá ser digitalizado e anexado no sistema como documento suplementar

Depósito em nome do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, em uma das três contas abaixo:

Banco do Brasil (001)

Agência: 1212-2

Conta corrente: 43509-0

Caixa Econômica Federal (104)

Agência: 3076

Conta corrente: 0033-4

Operação: 003

Itaú (341)

Agência: 3893

Conta corrente: 29567-9

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

A partir de 01 de abril de 2014, os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente **traduzidos para o inglês**.

Os artigos enviados para a revista até esta data e que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

American Journal Experts

Editage

Elsevier

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

O autor principal deverá anexar no sistema o **documento comprobatório** dessa correção na página de submissão em "**Docs. Sup.**".

OBSERVAÇÕES:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação; b) Não tenha sido realizado o **cadastro completo** de todos os autores nos metadados de submissão; **Exemplo:** Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função
- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar "**Docs. Sup.**" no ato da submissão;
- e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL.
- f) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

RESTRIÇÃO POR ÁREA:

PARA A ÁREA DE AGRONOMIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;
- b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;

- c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;
- d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;
- e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

PARA A ÁREA DE VETERINÁRIA

- a) A publicação de relatos de casos é restrita e somente serão selecionados para tramitação àqueles de grande relevância ou ineditismo, com real contribuição ao avanço do conhecimento para a área relacionada.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em "Docs Supl." na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos**... *Áreas de estudo*...1. *Área rural*...2. *Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos. Opcionalmente, as conclusões podem estar no final da discussão.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologias completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.

2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.

5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

6. *Numero de autores*: Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO**.
3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

1. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.

2. Efetuar o pagamento da Taxa de Submissão de artigos e anexar o comprovante como documento suplementar "Docs. Sup."

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Informo que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares serão carregados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DO MÉRITO.**
3. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

4. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

5. A **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
6. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB).

O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.

7. Atesto que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação por Comitê de Ética e Termo de Livre consentimento caso sejam solicitados. Tendo sido citado no texto a obediência aos preceitos éticos cabíveis.
8. Deve ser incluído no campo **COMENTÁRIOS PARA O EDITOR**, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas
9. **Taxa de Submissão de novos artigos**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br