**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR**

# SUPLEMENTAÇÃO COM LEVEDURA AUTOLISADA MELHORA EFICIÊNCIA DE FAGÓCITOS E REDUZ PNEUMONIAS EM NOVILHOS TERMINADOS EM CONFINAMENTO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**GABRIELA GARBOSSA**

**GUARAPUAVA-PR**

**2021**

**GABRIELA GARBOSSA**

# SUPLEMENTAÇÃO COM LEVEDURA AUTOLISADA MELHORA EFICIÊNCIA DE FAGÓCITOS E REDUZ PNEUMONIAS EM NOVILHOS TERMINADOS EM CONFINAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Heloísa Godoi Bertagnon

GUARAPUAVA-PR

2021

Catalogação na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro

G214s

Garbossa, Gabriela
Suplementação com levedura autolisada melhora eficiência de fagócitos sanguíneos e reduz pneumonias em novilhos terminados em confinamento / Gabriela Garbossa. – – Guarapuava, 2021.
xi, 70 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Área de concentração: Saúde e Produção Animal Sustentável, 2021.

Orientadora: Heloísa Godoi Bertagnon
Banca examinadora: Mikael Neumann, Alice Maria Melville Paiva Della Libera

Bibliografia

1. Aditivos. 2. Confinamento. 3. Metabolismo oxidativo. 4. Pneumonia. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD 636

**GABRIELA GARBOSSA**

*SUPLEMENTAÇÃO COM LEVEDURA AUTOLISADA MELHORA EFICIÊNCIA DE FAGÓCITOS E REDUZ PNEUMONIAS EM NOVILHOS TERMINADOS EM CONFINAMENTO*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 12 de fevereiro de 2021.

Heloisa Bertagnon

Profª. Drª Heloísa Godoi Bertagnon

(UNICENTRO)

Prof. Dr Mikael Neumann

(UNICENTRO)

Profª. Drª. Alice Maria Melville Paiva Della Libera

(USP)

GUARAPUAVA-PR

2021

Impresso com recursos próprios por ministra na UNICENTRO

# PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 037/2018 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 05 de Outubro de 2018.

Senhor Pesquisador,

1. Comunicamos que seu projeto de pesquisa intitulado: "Avaliação de leveduras autolisadas na terminação de novilhos confinados", protocolo número 027/2018, foi analisado e considerado **APROVADO,** pela Comissão de Ética no Uso de Animais de nossa Instituição.

2. Deverá ser encaminhado à CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

Os ***Relatórios Parciais*** deverão ser encaminhados à CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da pesquisa**.

Os ***Relatórios Finais*** deverão ser encaminhados à CEUA em até **30 dias após a conclusão da pesquisa.**

**Qualquer alteração na pesquisa** que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise da CEUA.

Pesquisador: Prof. Dr. Mikael Neumann
Atenciosamente,

Heloisa Godoi Bertagnon
PRESIDENTE DA CEUA/UNICENTRO
PORT 1 104-GR/UNICENTRO

Ao senhor
Prof. Dr. Mikael Neumann
UNICENTRO-CEDETEG

Impresso com recursos públicos por orçamento da UNICENTRO

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida e, por me permitir realizar mais essa conquista.

Agradeço aos meus pais, Solange e Jauri, minha irmã Ana Julia, por darem todo apoio que precisei durante esta caminhada. Assim também, aos meus avós, tios e demais familiares, que nunca mediram esforços para me ajudar.

Agradeço ao meu namorado Mauro, por sempre me apoiar, me incentivando todos os dias.

Agradeço também, meus amigos e colegas, os quais tiveram importante participação para que este trabalho pudesse ser concluído da melhor maneira possível.

Aos estagiários do grupo NUPRAN, os quais também contribuíram para a realização desta pesquisa.

Aos professores, Dra. Heloísa Godoi Bertagnon, Dr. Mikael Neumann, Dra. Margarete Kimie Falbo e Dr. Jayme Peres, os quais contribuíram com seus conhecimentos, disponibilizaram tempo e dedicação, ou mesmo, cederam seus laboratórios/equipamentos para que esta pesquisa fosse concluída.

À equipe ICC Brazil, pelo apoio financeiro à pesquisa.

À Capes, pelo apoio financeiro à pesquisa.

# RESUMO

Gabriela Garbossa. Suplementação com levedura autolisada melhora eficiência de fagócitos sanguíneos e reduz pneumonias em novilhos terminados em confinamento.

O uso de aditivos alimentares a base de levedura tem sido estudado com o intuito de melhorar o desempenho e imunidade dos animais sob manejo intensivo. E, embora existam muitas pesquisas utilizando leveduras para melhorar o desempenho dos animais, poucos são os estudos com levedura autolisada em bovinos de corte visando melhora no sistema imune e consequentemente diminuição da incidência de afecções respiratórias. Neste contexto, realizou-se um experimento onde novilhos inteiros ½ sangue Angus, foram confinados durante 105 dias e receberam um dos três tratamentos: Controle; Lev 4– dieta com leveduras (4g animal dia) e Lev 7– dieta com leveduras (7g animal dia). Nos dias 0, 14, 42, 70 e 105 do confinamento avaliou-se hemograma, metabolismo oxidativo neutrofílico, haptoglobina sérica, incidência de secreção nasal mucopurulenta e temperatura orbital. No dia do abate colheu-se fragmentos de pulmão para avaliação histopatológica e analisou-se ocorrência e extensão de lesões pulmonares. Observou-se maior metabolismo oxidativo nos grupos tratados à partir do dia 42 comparado ao grupo controle (D42 P=0.04; D70 P=0.02 e D105 P=0.10), bem como, mais animais nos grupos tratados, sem secreção nasal (D70 Lev 4g e Lev 7g P=0.001; D105 Lev 4g P=0.001) e menores temperaturas (D105 Lev 4g P=0.04). Estes incrementos imunes promoveram menos pneumonias nos grupos tratados (P=0.05) e também, com menor severidade (P=0.01), permitindo inferir que a levedura autolisada incluída na dieta em ambas as doses (4 g e 7g) melhora a imunidade inata e a saúde do trato respiratório dos animais confinados.

**Palavras-chave:** aditivos; confinamento; metabolismo oxidativo; pneumonia.

# ABSTRACT

Gabriela Garbossa. Supplementation with autolyzed yeast improves the oxidative burst and reduces pneumonia in feedlot steers.

The objective was to evaluate whether dietary supplementation with autolyzed yeast influences immunity and respiratory health in feedlot cattle. A randomized longitudinal experimental trial was conducted with 36 steers (Nelore X Angus) for 106 days: control (n=10): diet without yeast; Y4 (n=12): yeast diet (4 g per animal per day); and Y7 (n=7): yeast diet (7 g per animal per day). On days 0, 14, 42, 70, and 105, blood counts, leukocyte oxidative metabolism, and serum haptoglobin were evaluated to determine immune status, and the health of the respiratory tract was evaluated by nasal secretion frequency and orbital temperature. On slaughter day, a lung evaluation was performed. On days 42, 70 and 105 of feedlot finishing, the treated animals showed increased neutrophil oxidative metabolism (D42 P=0.04; D70 P=0.02 e D105 P=0.10) compared to the control group. These animals had a lower frequency of nasal secretion (D70 Y4 g and Y7g P=0.001; D105 Y4 g P=0.001) and a lower orbital temperature (D105 Y4 g P=0.04). These immune increments promoted less pneumonia in the treated groups (P = 0.05) and also, with less severity (P = 0.01), allowing us to infer that the autolyzed yeast fed a diet in both doses (4 g and 7 g) improves innate immunity and respiratory tract health of feedlot cattle.

**Key words**: additives, feedlot, oxidative metabolism, pneumonia.

# LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| *%* | Porcentagem |
| ® | Marca registrada |
| °C | Graus Celcius |
| *BHV-1* | Herpesvírus Bovino tipo 1 |
| *BRSV* | Vírus Sincicial Respiratório Bovino |
| *BVDV* | Vírus da Diarreia Viral Bovina |
| *Ca* | Cálcio |
| *Cu* | Cobre |
| *CRB* | Complexo Respiratório Bovino |
| *dL* | Decilitro |
| *EDTA* | Àcido Etilenodiamino Tetra Acético |
| *EROs* | Espécies Reativas em Oxigênio |
| *g* | Grama |
| *H. somni* | *Histophilus somni* |
| *HE* | Hematoxilina e Eosina |
| *Hp* | Haptoglobina |
| IBR | Vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina |
| *IFN-y* | *Interferon* Gama |
| *IL* | Interleucina |

| | |
|---|---|
| *IM* | Intramuscular |
| *Kg* | Quilograma |
| *Lev* | Levedura |
| *LPS* | Lipopolissacarídeos |
| *M. bovis* | *Micoplasma bovis* |
| *M. haemolytica* | *Mannheimia haemolytica* |
| *Mg* | Magnésio |
| *mg* | Miligramas |
| *mL* | Mililitros |
| *Mn* | Manganês |
| *MOS* | Mananoligossacarídeos |
| *MS* | Matéria Seca |
| *N:L* | Relação Neutrófilo Linfóctio |
| *Na* | Sódio |
| *NBT* | Nitroazul de Tetrazolium |
| *P* | Fósforo |
| *pH* | Potencial Hidrogeniônico |
| *P. multocida* | *Pasteurella multocida* |
| *PIV-3* | Vírus da Parainfluenza Bovina tipo 3 |
| *RTM* | Ração Totalmente Misturada |
| *S* | Enxofre |

| | |
|---|---|
| *ASA* | Amiloide Sérico A |
| *TLRs* | *Toll like receptors* |
| *UI* | Unidade Internacional |
| *μL* | Microlitros |
| *Vit* | Vitamina |
| *YCW* | *Yest cell Wall* |
| *Zn* | Zinco |

**SUMÁRIO**

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CEUA ..... ii

AGRADECIMENTOS ..... iii

RESUMO ..... iv

ABSTRACT ..... v

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS ..... vi

**1. INTRODUÇÃO** ..... 12

**2. REFERENCIAL TEÓRICO** ..... 15

**2.1** Imunidade ..... 15

2.1.1 Como identificar inflamação/infecção ..... 16

**2.2** Sistema de Confinamento ..... 17

**2.3** Complexo respiratório bovino ..... 19

2.3.1 Agentes Etiológicos do CRB ..... 20

2.3.2 Diagnóstico ..... 25

**2.4** Aditivos alimentares na dieta de bovinos confinados ..... 26

2.4.1 Leveduras ..... 26

2.4.1.1 Leveduras vivas e mecanismos de ação ..... 27

2.4.1.2 Leveduras fragmentadas e mecanismos de ação ..... 28

CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 30

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 30

**3 OBJETIVOS** ..... 41

**3.1 Objetivo Geral:** ..... 41

**3.2 Objetivos Específicos:** ..... 41

**CAPÍTULO 1** ..... 42

Supplementation with autolyzed yeast improves the oxidative burst and reduces pneumonia in feedlot steers ..... 43

**Abstract** ..... 44

**Introduction** ..... 45

**Materials and methods** ..... 46

***Animals, Experimental Design and Treatments*** ..... 46

***Food management and facilities*** ..... 47

***Measurements, Sampling, and Analysis*** ..... 47

***Haematological analysis*** ..... 48

***Identification of respiratory disorders*** ..... 49

***Statistical Analysis*** ..... 50

**Results** ..... 51

***Neutrophilic oxidative metabolism*** ..... 51

***Blood count*** ..... 51

***Serum Haptoglobin*** ..... 51

***Identification of respiratory disorders*** ..... 52

**Discussion** ..... 53

**Conclusions** ..... 56

***Conflict of interest statement*** ..... 56

***Acknowledgements*** ..... 56

***References*** ..... 57

**ANEXO 1** ..... 71

**ANEXO 2** ..... 72

# 1. INTRODUÇÃO

A agropecuária brasileira é essencial na economia do país, seja na produção de alimentos para o mercado interno e externo ou mesmo na geração de emprego e renda. Dentre as atividades de destaque do agronegócio nacional, a bovinocultura de corte tem se sobressaído, onde o Brasil é atualmente, líder mundial na exportação de carnes (GOMES et al., 2019).

Devido à alta demanda de carne pelo mercado consumidor, tem-se intensificado a produção de carnes pelo sistema de confinamento, sistema que proporciona vantagens como a terminação de animais mais precoces em qualquer época do ano e maior qualidade da carne (SILVA et al., 2018).

No entanto, situações comumente vivenciadas no confinamento como a intensificação da produção, o manejo de animais, o transporte prévio, as mudanças dietéticas, juntamente com a aglomeração de animais em espaços mais restritos podem, comumente, resultar no aparecimento de doenças, especialmente as infecciosas em decorrência de déficit de imunidade (FULTON et al., 2009).

Por isso, as doenças respiratórias ainda são a principal causa de morbidade e mortalidade em bovinos sob sistema de confinamento, causando perdas econômicas substanciais resultantes da diminuição da eficiência alimentar, aumento dos custos de produção, perda de sanidade do rebanho e pior qualidade de carcaças (CHIRASE et al., 2004, EDWARDS, 2010).

Visando atenuar os efeitos mencionados, o uso de aditivos na dieta dos animais confinados mostra-se como uma alternativa interessante e de fácil aplicabilidade, dado o seu potencial melhorador de desempenho e imunidade, refletindo melhor saúde e bem-estar dos animais. Com as recentes restrições governamentais e eliminação do uso de antibióticos melhoradores de desempenho na alimentação animal na União Européia e Estados Unidos, houve um aumento significativo no interesse no uso de produtos alternativos, incluindo aqueles produtos contendo leveduras (SHURSON, 2018).

As leveduras são microrganismos vivos, amplamente utilizados, especialmente desde que foram reconhecidos como aditivos alimentares na Europa (FRANÇA; RIGO, 2012). Os efeitos de preparações específicas de leveduras sobre o ambiente ruminal e o desempenho de ruminantes já foram documentados e ainda geram interesse científico, uma vez que ainda não foram completamente elucidados. (ARMATO et al., 2016). Há inúmeros aditivos alimentares a base de leveduras, porém, os nutricionistas animais estão ainda incertos sobre quais

formulações tem maior potencial para melhorar a saúde e o desempenho animal, de forma eficiente (SHURSON, 2018).

Tal fato ocorre porque a levedura, bem como seus componentes (parede celular), são conhecidos por serem fonte de vitaminas, enzimas, peptídeos, aminoácidos, carboidratos funcionais e alguns cofatores não identificados, os quais são úteis para aumentar a atividade microbiana no rúmen (NEWBOLD et al., 1996).

Além disso, as leveduras vivas, aumentam o número de bactérias celulolíticas no rúmen, sendo eficazes no consumo de oxigênio e aumento da população bacteriana total, permitindo maior extração de energia da dieta e, por consequência, melhoram o desempenho dos animais (WALLACE, 1994, NEWBOLD et al., 1995). Entretanto, sua utilização é comumente questionada, uma vez que a sua ação no organismo animal depende de fatores como a concentração, viabilidade de células e introdução constante da levedura no rúmen junto à dieta, tendo em vista que a temperatura e o pH ruminal impedem sua sobrevivência prolongada no ambiente ruminal (FRANÇA; RIGO, 2012, PIRES, 2012).

Já as leveduras autolisadas são o resultado do processo de degradação celular ocasionado pelas próprias enzimas da levedura, as quais podem solubilizar os seus constituintes, componentes da sua parede celular e intracelulares, tornando-os prontamente disponíveis (TANGULER; ERTEN, 2009). Sua formulação mais comum é a base de *Saccharomyces cerevisiae* e, conforme sua manipulação, pode ser composta por 29-64% de Beta-glucanas, 31% de mananoligossacarídeos, 13% de proteína, 9% de lipídeos (BORTOLUZZI et al., 2018).

A suplementação dietética com componentes da parede celular de levedura, demonstrou diminuir o número de bactérias gram negativas, por atuarem como ligantes de alta afinidade, removendo estas bactérias do trato digestório e impedindo sua colonização, além de atuarem aumentando o número de bactérias celulolíticas, o que contribuiu para a manutenção do pH ruminal em níveis fisiológicos (NEUBAUER et al., 2018).

Tanto a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, quanto os produtos derivados da sua parede celular, tem ação imunomoduladora (KOGAN; KOCHER, 2007). Enquanto os mananoligossacarídeos podem ativar a resposta imune sem induzir uma resposta inflamatória exacerbada, possivelmente pela indução de citocinas reguladoras, estimulando a migração de células do sistema imune para determinados locais de ação, os Beta Glucanos aumentam a

funcionalidade de macrófagos e neutrófilos (WILLIANS et al., 1996, OLIVEIRA et al., 2010, OLLÉ et al., 2017).

Desta maneira, pesquisas já identificaram que a suplementação com leveduras melhora a imunidade do bovinos leiteiros, seja por diminuir a contagem de células somáticas no leite, por diminuição da incidência de diarreia em bezerros, ou por aumentar a resposta humoral frente à imunização contra rotavírus (HENRICHS et al., 2003, FRANKLIN et al., 2005, OLIVEIRA et al., 2010).

Já em bovinos de corte, as pesquisas são focadas na melhoria da performance e poucas estudaram a saúde animal. Apenas Keyser et al. (2007) e Finck et al. (2014) notaram que a suplementação com levedura trouxe algum tipo de benefício contra o complexo respiratório bovino, seja por reduzir a morbidade, mortalidade ou o número de tratamento dos bovinos confinados, não sabendo exatamente por qual mecanismo imunológico.

Frente a limitadas informações sobre os efeitos da suplementação com leveduras no sistema imunológico e na saúde de novilhos de corte, o presente estudo objetivou avaliar a imunidade inata de novilhos confinados e a incidência de afecções respiratórias destes animais em confinamento, recebendo tratamento diário de 0, 4g e 7g de levedura autolisada na dieta, por animal/dia.

Caso seja observada melhora na imunidade dos animais suplementados com leveduras autolisadas na dieta durante o período experimental, possibilitar-se-á menores custos de produção para os pecuaristas, incluindo aqueles voltados ao manejo e tratamento de pneumonias, além de maior bem-estar aos animais confinados e redução do uso de medicamentos profiláticos ou curativos que deixam resíduos na carcaça.

# 2. REFERENCIAL TEÓRICO

## **2.1** Imunidade

Diariamente os animais estão expostos a diferentes patógenos, mas a maioria deles se mantem hígido graças ao sistema imune eficiente, que por meio de uma complexa rede de tecidos, células e moléculas, combatem os agentes estranhos ao organismo (SORDILLO, 2016).

Embora a imunidade seja composta por dois sistemas: a inata ou inespecífica e a imunidade adaptativa, ou específica, o sistema imune inato é a primeira linha de defesa, neutralizando uma ampla variedade de patógenos, e é ele que recruta o sistema imune adaptativo, que só desenvolverá uma resposta específica aos patógenos após contato prévio, o que poderá levar de horas até vários dias (AITKEN et al., 2011, SORDILLO et al., 2016).

Assim os componentes do sistema imune inato respondem de imediato a qualquer lesão tecidual, por meio de barreiras físicas e mecânicas, fagócitos, endotélio vascular e mediadores solúveis. As barreiras físicas como pele, lágrima e muco, fazem a primeira proteção, mas se os patógenos forem capazes de burlar esses mecanismos, os demais componentes do sistema imune inato agem imediatamente (SORDILLO et al., 2016).

Neste momento são acionados os fagócitos residentes do tecido como macrófagos e células dendríticas, ou os fagócitos da circulação, como neutrófilos e monócitos, que reconhecem moléculas de superfície existente apenas em patógenos, chamadas de padrões moleculares associados a patógenos, por meio de receptores de reconhecimento, tais como os *Toll-like*. (KUMAR et al., 2011). Então os patógenos são encapsulados em fagossomos, e serão destruídos pelo metabolismo oxidativo e sistemas não dependentes de oxigênio (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013).

No metabolismo oxidativo, há ativação da enzima NADPH oxidase, que catalisa a redução da molécula de oxigênio em ânion superóxido, de modo que a reação depende da contínua redução de NADP em NADPH, gerada pelo aumento da glicólise pela via das pentoses, sendo os produtos, de atividade microbicida (AFONSO et al., 2002).

Se estas células não conseguirem eliminar os patógenos, eles produzem quimiocinas, proteínas solúveis, que têm a função de quimioatrair mais fagócitos como neutrófilos e monócitos para o sitio inflamatório. Eles também produzem citocinas que potencializam a ação celular resultando em resposta inflamatória mais intensa (KUMAR et al., 2009).

Os neutrófilos, também possuem grânulos, contendo proteínas antibacterianas (catepsinas, defensinas, lactoferrina e lisozima) responsáveis pela lipoperoxidação da

membrana dos patógenos. Tanto o sistema NADPH como os grânulos podem permanecer nos fagossomos ou ir para o meio extracelular, atuando então nos patógenos intra ou extracelulares, respectivamente (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013). Como a graduação da resposta inflamatória é dependente do número e da patogenicidade dos patógenos e da quantidade de citocinas pró inflamatórias e quimiocinas secretadas, esses mecanismos podem ocorrer de forma exacerbada, gerando dano tecidual adjacente, devido à excessiva degranulação neutrofílica e do metabolismo oxidativo. Em resposta a isso, algumas proteínas de fase aguda e citocinas regulatórias são produzidas, a fim imunomodular a resposta inflamatória, evitando que os danos patológicos sejam intensos, protegendo o hospedeiro (THOTOVA et al., 2014; (CARRETTA et al., 2016).

### 2.1.1 Como identificar inflamação/infecção

Desta maneira, torna-se importante identificar e graduar o processo inflamatório que ocorre no organismo animal, a fim de intervir para que este processo não gere ainda mais danos.

A análise da série branca sanguínea, também chamada de leucograma, permite avaliação quantitativa e diferencial dos leucócitos (NAOUM; NAOUM, 2008). Através deste, é possível inferir se há um processo inflamatório/infeccioso ativo no organismo animal e, ainda, a intensidade deste processo (TRHALL et al., 2004). No entanto, este processo é mais tardio e, em bovinos, a resposta leucocitária não é tão intensa como nas demais espécies, especialmente em relação ao aumento do número de neutrófilos circulantes, visto que sua proporção média em relação a de linfócitos é bem menor (0,5:1), refletindo em menor quantidade de neutrófilos no pool marginal, o que atrasa ainda mais alterações no leucograma de bovinos (THRALL et al., 2004, TOTHOVA et al., 2014).

Desta maneira, as proteínas de fase aguda são marcadores inflamatórios bem mais precoces. Trata-se de proteínas sanguíneas sintetizadas pelos hepatócitos durante a fase aguda da inflamação antes mesmo de haver a resposta leucocitária. Essa resposta é inespecífica e envolve um complexo de reações do organismo, deliberada por diferentes estímulos, tais como injúria tecidual, trauma, estresse, inflamação, infecção, bem como, neoplasias (TOTHOVA et al., 2014).

A resposta de fase aguda inicia-se nos sítios de inflamação, quando células da imunidade inata produzem e liberam uma série de citocinas inflamatórias como interleucina-1; interleucina-6; fator de necrose tumoral alfa (TOTHOVA et al., 2014). Essas citocinas induzem

reações sistêmicas, hormonais e metabólicas, como aumento na produção de hormônio adrenocorticotrófico e glicocorticoides, ativação da coagulação sanguínea, diminuição das concentrações séricas de cálcio, zinco, ferro, vitamina A e, aumento nas concentrações de proteínas plasmáticas de fase aguda, produzidas no fígado, sendo uma das alterações mais marcantes (GRUYS et al., 2005).

Em geral, a principal função dessas proteínas, relaciona-se à proteção do hospedeiro contra danos patológicos, auxílio na restauração da homeostase e regulação de diferentes estágios da inflamação. Além disso, tais proteínas, pela alta sensibilidade e precocidade, tem importante papel no diagnóstico de doenças, revelando uma inflamação/ infecção subclínica (CERON et al., 2005).

Em ruminantes, as proteínas utilizadas com função diagnóstica são haptoglobina (Hp) e amiloide sérico A (ASA) (ECKERSSAL; BELL, 2010). Devido a alta incidência das afecções respiratórias em bovinos confinados e a baixa resposta leucocitária em bovinos, a haptoglobina sérica tem sido correlacionada como indicador de doenças agudas respiratórias nesta espécie, sendo sua elevação proporcional a gravidade da afecção (CARTER et al., 2002, TOTHOVA et al., 2010).

Porém, qualquer quadro inflamatório pode desencadear a produção aumentada da haptoglobina, tal como: mastite, metrite, pericardite, reticuloperitonite, deslocamento de abomaso, laminite e doenças metabólicas, além das doenças respiratórias já mencionadas. O estímulo para a síntese da haptoglobina, ocorre cerca de 6 a 8 horas após o evento causador e, a concentração máxima é alcançada em 2 a 5 dias (KOGIKA et al., 2003). Considera-se uma concentração sérica de até 20mg/dL para animais saudáveis, entre 20 e 40mg/dL para animais com leve inflamação e, acima de 40mg/dL, uma sugestiva severa inflamação (HANTHORN et al., 2014). Quando produzida, se quela com ferro sérico e com hemoglobina, impedindo que este metabólito seja usado para replicação de micro-organismos (TOTHOVA et al., 2014).

## **2.2** Sistema de Confinamento

O sistema de confinamento busca intensificar a produção, favorecendo o menor risco da atividade e maior lucratividade. Dentre outras vantagens, este sistema possibilita a programação da época de abate, abater animais mais precoces, produzir carne de melhor qualidade, maior rendimento de carcaça e, a venda de animais no período de entressafra, com maior valor no preço da arroba (SILVA et al., 2018).

Entretanto, também aumenta-se o risco do desenvolvimento de doenças respiratórias, uma vez que os animais confinados, são expostos a fatores estressantes como o transporte, aglomeração, mistura de animais de diferentes origens em ambientes mais restritos e recebem dietas mais energéticas (SILVA et al., 2019).

O estresse afeta a imunidade do organismo animal quando ocorre de maneira aguda, pela liberação de catecolaminas, bem como, de forma crônica, pela liberação de glicocorticoides. As catecolaminas prejudicam a resposta imune inata por reduzir a fagocitose e inibir a proliferação de linfócitos, secreção de anticorpos e produção de citocinas pró-inflamatórias, enquanto que, os glicocorticoides, continuamente sob estimulação das células efetoras do sistema imune, induzem tolerância e impedem uma resposta imune eficiente. Além disso, em um animal estressado, a expressão de proteínas nos neutrófilos é reduzida, diminuindo a migração destes para os locais de infecção, bem como, a sua capacidade de atacar os patógenos. (FORSBERG, 2004, CARROL; FORSBERG, 2007).

Além disso, com a intensificação da produção pecuária, é comum a utilização de dietas com alta concentração energética com a finalidade de alcançar índices mais produtivos (FRANÇA; RIGO, 2012). Porém, quando há baixa inclusão de fibras, estas dietas favorecem uma baixa motilidade ruminal, bem como o acúmulo de ácidos orgânicos fortes, como o ácido propiônico e o ácido láctico no rúmen, promovendo a queda do pH ruminal (KRAUSE; OETZEL, 2006). Este processo favorece a ocorrência de lesões como a ruminite, condição inflamatória local que ativa macrófagos teciduais a produzirem citocinas pró-inflamatórias, culminando em uma resposta inflamatória de fase aguda (PLAIZIER et al., 2011). O fígado então, produz proteínas de fase aguda, tais como a haptoglobina, amilóide sérico A, α1-antitripsina e, α2-macroglobulina, que em baixas concentrações ativam a resposta imune, mas em altas concentrações impactam a resposta, evitando danos teciduais exagerados, mas deixando o hospedeiro mais suscetível a outras infecções (TOTHOVA et al., 2014).

Além disso, estas dietas mais energéticas promovem acidose ruminal e sanguínea (ALARCON et al., 2011, PLAIZIER et al., 2012). Esse processo desencadeia um influxo de cálcio intracelular nos neutrófilos com a finalidade de restaurar o pH intracelular neutrofílico, o que ativa as funções de metabolismo oxidativo e degranulação dos neutrófilos, mas impacta a fagocitose, resultando em resposta imune deficiente (CARRETTA et al., 2013; KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013).

Este impacto na resposta imune facilita a ocorrência de doenças infecciosas, particularmente o Complexo respiratório bovino, com uma incidência estimada de 21,2% em bovinos confinados (JOHNSON; PENDELL, 2017).

**2.3** Complexo respiratório bovino

A ocorrência do CRB é conhecida pelo impacto econômico negativo nos confinamentos de bovinos, especialmente no tocante aos custos com tratamento, prejuízos no desempenho e bem-estar, sendo considerado o maior problema de confinamento em países como Estados Unidos e Austrália, dada a significativa perda de animais e o difícil controle da doença (SNOWDER et al., 2006). O Brasil, como um dos maiores países produtores de carne bovina no mundo, tem intensificado a sua produção e cada vez mais utilizado o sistema de confinamento, aumentando também a ocorrência de doenças respiratórias (REZENDE et al., 2015).

O CRB é uma doença infecciosa de causas multifatoriais, as quais podem suprimir o sistema imune do animal, permitindo rápida multiplicação dos agentes no trato respiratório. Sua ocorrência está diretamente relacionada à imunossupressão e fatores externos que favorecem a doença (REZENDE, 2010). Os agentes descritos associados a esta enfermidade são *vírus sincicial respiratório bovino* (BRSV), *vírus da parainfluenza bovina tipo 3* (PIV-3), *herpesvírus bovino tipo 1* (BHV-1), responsável pela rinotraqueíte bovina infecciosa (IBR) *e vírus da diarreia viral bovina* (BVDV), que diminuem ainda mais a defesa do trato respiratório, permitindo que bactérias oportunistas presentes no trato respiratório anterior como *Mannheimia haemolytica, Pasteurella multocida, Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis* causem pneumonia agravando ainda mais o quadro (GRIFFIN et al., 2010, CERQUEIRA, 2017).

A doença possui alta morbidade, uma vez que, a transmissão se dá pelo contato direto, exposição a fômites contaminados nos currais e aerossóis (SLOMPO et al., 2016). A mortalidade também é alta, alcançando taxas de 40 a 50% do rebanho, com custo médio por tratamento de 13 dólares por animal acometido (EDWARDS, 2010, HAY et al., 2016). Estima-se que, anualmente, haja uma perda de 800 a 900 milhões de dólares para os confinamentos americanos, devido aos custos com tratamento e diminuição da produção (BLAKEBROUGH-HALL et al., 2020).

No que diz respeito aos sinais clínicos, nota-se depressão, letargia, respiração laboriosa ou rápida, perda de peso, presença de secreção nasal mucosa ou purulenta, focinho seco, orelhas

caídas e pelo áspero. Esses sinais devem ser identificados observando-se os animais nas baias como forma de triagem, assim, os animais visualmente acometidos devem ser separados para a realização de um exame clínico específico. Comumente, são observados sons respiratórios anormais, após avaliação da ausculta respiratória, como também, febre (EDWARDS, 2010).

Os antimicrobianos são indicados para o tratamento do CRB, envolvendo tanto infecção bacteriana primária quanto secundária. Alguns comumente usados são oxitetraciclina, sulfa com trimetropim, tilmicosan e ceftiofur e, a eficácia de seu uso é muito variável, dependendo da sensibilidade dos micro-organismos, e da identificação precoce dos casos (CUSACK et al., 2003).

Os bovinos criados em sistemas intensivos, como o confinamento, são mais propensos ao desenvolvimento do CRB, devido ao maior risco de exposição aos fatores estressantes, tais como o transporte, a aglomeração em baias, a mistura de animais de diversas origens, disputas de coxo e dominância, bem como as variações climáticas (SILVA et al., 2019). Por isso, a identificação dos fatores predisponentes à doença torna-se primordial para o seu controle no rebanho. Deve-se estabelecer pontos cruciais de controle no confinamento para evitar a disseminação, adotar boas práticas de manejo, visando a diminuição da morbidade através de medidas como sanitização, desinfecção do confinamento, correta higienização dos cochos de alimentação e água, ventilação das baias e colocação de abrigos (EDWARDS, 2010, STOKKA, 2010).

A vacinação também tem sido utilizada no controle e prevenção do CRB. De modo geral, cerca de 75% dos animais vacinados são efetivamente imunizados, uma vez que a exposição do sistema imune ao antígeno não impede a ocorrência da doença, mas promove a atenuação dos sinais clínicos (EDWARS, 2010, SLOMPO et al., 2016).

A metafilaxia também é utilizada, visando eliminar ou controlar o surto de doenças respiratórias e consiste na terapia antimicrobiana em massa de um grupo de animais, cerca de 10% do rebanho, por 2 a 3 dias consecutivos, em um momento oportuno, que precede eventos estressantes aos animais (EDWARDS, 2010). Apesar desta terapia ter se mostrado efetiva, aumenta-se os custos de produção e os riscos de resistência microbiana aos antibióticos (DUFF; GALYEAN, 2007).

### 2.3.1 Agentes Etiológicos do CRB

O CRB, frequentemente, é causado por uma pneumonia bacteriana precedida por uma infecção respiratória viral, sendo os agentes BRSV, PIV-3, BHV-1, BVDV, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis* os mais comumente encontrados (CUSACK et al., 2003).

O *Herpesvírus* (BHV-1) se apresenta clinicamente como rinotraqueíte infecciosa bovina e vulvovaginite ou balanopostite pustular infecciosa. No Brasil, estudos demonstram que ele é amplamente distribuído em várias regiões (ARRUDA et al., 2019). Em Goiás, Barbosa et al. (2005) relataram a prevalência de 51,9%. Em Minas Gerais e São Paulo, Alexandrino et al. (2011) relataram 54,6% e, 57,54% em Santa Catarina (PASQUALOTTO et al., 2015).

O BHV-1 adentra no hospedeiro comumente através das membranas mucosas do aparelho respiratório e mucosas genitais, sendo que, o contato direto das narinas entre os animais é a principal via de transmissão (COSTA et al., 2017).

O mesmo ainda causa imunossupressão, podendo reduzir a migração de neutrófilos e a comprometer a atividade funcional de macrófagos alveolares. Se replica em células da mucosa, submucosa e anéis traqueais, causando destruição do epitélio do trato respiratório anterior, especialmente o sistema de depuração mucociliar favorecendo uma broncopneumonia secundária (CUSACK et al., 2003).

O vírus da *Parainfluenza bovina* tipo 3 (PI-3) é considerado endêmico em rebanhos bovinos leiteiros e de corte (ELLIS, 2010). No Brasil, também há relatos da detecção do vírus, tanto em animais saudáveis, quanto em doentes, no Rio Grande do Sul, São Paulo e Bahia (SARDI et al., 2002, GONÇALVES et al., 2003, GAETA et al., 2018). A infecção ocorre mais comumente por via respiratória, sendo transmitida nas mucosas nasais, secreções oculares e gotículas, com risco mais alto quando há aglomeração, como em leilões e durante o transporte (ELLIS, 2010).

Os animais infectados pelo PI-3 podem ser clinicamente assintomáticos ou apresentar pneumonia grave (GAETA et al., 2018). Ele se replica em células do trato respiratório anterior e posterior, provocando bronquite, bronquiolite e alveolite. É capaz de infectar macrófagos alveolares inibindo assim a resposta inata pulmonar, deixando o animal suscetível à pneumonia bacteriana secundária (CUSACK et al., 2003).

O BVDV é um vírus de distribuição mundial e sua prevalência é muito variável (FIGUEIREDO et al., 2019). Figueiredo et al. (2019) relataram 24% de prevalência do BVDV em animais nos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Goiás. Possivelmente a sua

ampla prevalência se deve às várias formas de disseminação, por meio de fluidos corporais, tais como, secreção nasal, urina, leite, sêmen, saliva e fluidos fetais (LANYON et al., 2014).

O vírus possui duas cepas, citopatogênica e não citopatogênica, ambas responsáveis por causar imunossupressão, pois promovem leucopenia, apoptose de linfócitos e supressão da atividade fagocítica de macrófagos, tornando o animal infectado susceptível a infecções secundárias. As duas cepas estão associadas a distúrbios reprodutivos, infertilidade temporária, mortalidade embrionária ou fetal, abortos e mumificações, malformações fetais e nascimento de bezerros fracos e inviáveis, além disso, a cepa não citopatogênica pode também, induzir a infecções clinicamente inaparentes, como consequência da exposição fetal no início da gestação, gerando indivíduos persistentemente infectados, geralmente soronegativos, os quais disseminam o vírus no rebanho (LANYON et al., 2014).

Quanto às infecções respiratórias, o vírus BVDV promove inflamação aguda catarral na cavidade nasal e traqueia, e pode sozinho promover pneumonia intersticial focal intralobular (BAULE et al., 2001).

O vírus *Sincicial Respiratório Bovino* (BRSV) tem distribuição mundial e apresenta elevadas taxas de morbidade e mortalidade, 60-80% e até 20%, respectivamente. Sua transmissão pode ocorrer por contato direto, bem como, através de aerossóis (VALACHER; TAYLOR, 2007). Hoppe et al. (2018) relataram soropositividade de 79,5% em animais oriundos do estado de São Paulo, para o BRSV.

Tal vírus promove a destruição do epitélio ciliado e infecta macrófagos alveolares, deprimindo a imunidade celular local (CUSACK et al., 2003). Macroscopicamente, causa consolidação pulmonar, com áreas deprimidas e irregulares, de coloração vermelha e atelectasia, principalmente em lobo pulmonar cranioventral, caracterizada, microscopicamente, por septos alveolares espessados, com infiltrado de macrófagos e linfócitos, necrose de células epiteliais bronquiolares e células sinciciais multinucleadas (SACCO et al., 2012). Pode também induzir pneumonia broncointersticial, caracterizada por necrose epitelial, alveolite exsudativa ou proliferativa e células sinciciais ocasionais (TAYLOR et al., 2017).

Em relação às bactérias, a *Mannheimia haemolytica* é uma bactéria oportunista, existente na microbiota natural da nasofaringe de bovinos saudáveis. Em animais imunocomprometidos, seja por estresse ou por uma infecção viral, ela se prolifera e ao ser inalada, chega aos pulmões, podendo ocasionar uma pleuropneumonia fibrinosa (RICE et al., 2007). Esta bactéria produz uma leucotoxina, que juntamente com seu lipopolissacarídeo, são

responsáveis por inflamação exacerbada, com ampla migração de leucócitos, ocasionando uma grave inflamação pulmonar e dano tecidual extenso (SINGH et al., 2011).

A *Pasteurella multocida* é uma bactéria comumente identificada em animais acometidos por doenças respiratórias, porém, a alta prevalência desta bactéria em animais clinicamente normais, sugere que esta seja comensal do trato respiratório (GRIFFIN et al., 2010). Estudos demonstram que há poucas cepas associadas com doenças e, que ocorre transmissão horizontal (TAYLOR et al., 2010). O patógeno tem importância na ocorrência do complexo respiratório bovino e, no Brasil, tem sido identificado em infecções secundárias (BAPTISTA et al., 2017).

O *Mycoplasma bovis* é uma bactéria comensal das superfícies mucosas, incluindo a respiratória, intestinal e do trato genital, sendo encontrada também, na glândula mamária bovina. Uma importante forma de transmissão é o contato direto entre os animais no rebanho (CASWELL; ARCHAMBAULT, 2007).

Quando causa CRB, *M. bovis* está quase sempre associado a outros patógenos, como a *M. haemolytica*, *P. Multocida* e, menos frequentemente, *H. somni* e patógenos virais (CASWELL; ARCHAMBAULT, 2007). A *M. bovis* infecta células epiteliais e imunes, induz citotoxicidade e apoptose de macrófagos alveolares e, inibe a produção de óxido nítrico pelos neutrófilos, possibilitando assim, sua disseminação e infecção simultânea com agentes virais, tais como BVDV, BHV-1 e BRSV (JIMBO et al., 2017, OLIVEIRA et al., 2019).

O *M. bovis* é responsável por causar pneumonia caseonecrótica em bovinos, e também, outras formas, como a broncopneumonia (CASWELL; ARCHAMBAULT, 2007). As lesões *post mortem* mais comumente identificadas em animais infectados por essa bactéria se caracterizam por áreas avermelhadas de consolidação multilobular distribuídas nas regiões cranioventrais (RADAELLI et al., 2008).

Poucos são os estudos no Brasil quanto à prevalência da *M. bovis* em pneumonias. Em estudo conduzido na região centro-oeste do Paraná, a *M. bovis* esteve presente em 50% dos casos de pneumonia em bovinos leiteiros (OLIVEIRA et al., 2019). Também esteve associada a outros patógenos em doenças respiratórias de bovinos leiteiros em São Paulo (TORTORELLI et al., 2017). Porém em estudos recentes que buscaram os agentes etiológicos do CRB em bovinos confinados de diferentes regiões do Brasil, este patógeno não foi encontrado (HEADLEY et al., 2014, BAPTISTA et al., 2017, HEADLEY et al., 2018).

*Histophilus somni* também é uma bactéria residente da microbiota da nasofaringe dos bovinos, que em situações de imunodepressão respiratória, chega ao trato respiratório posterior.

Ela produz histamina e exopolissacarídeo, os quais tem importante papel na patogenia da doença, pois a proteína de ligação à imunoglobulina, proteína da própria superfície do patógeno, a qual relaciona-se com a virulência da bactéria, possui atividades citotóxicas, atingindo as células endoteliais, aumentando a permeabilidade dos vasos e propagando o patógeno por via hematógena (GRIFFIN et al., 2010).

Assim, definir o agente viral e/ou bacteriano causal do CRB é importante para entender melhor a patogênese da doença e propor melhores estratégias de manejo e controle (ZHANG et al., 2019). No entanto, nem sempre é factível devido aos custos e, por não haver uma prova ouro estabelecida para o diagnóstico (WOLFGER et al., 2015).

Tendo em vista que as pneumonias do CRB podem ser classificadas em catarral purulenta, intersticial, broncointersticial, granulomatosa e fibrinosa, Ceribasi et al. (2014) e Zhang et al. (2019) propuseram verificar se a avalição histopatológica pulmonar poderia indicar qual o agente microbiológico seria o causador da lesão.

Enquanto Cerebasi et al. (2014) notaram que independente do agente viral causal (PIV-3, BRSV, BHV-1) da CRB, a maioria dos pulmões apresentava focos vermelho-púrpura ou cinza consolidados e focos irregulares de atelectasia, bem como aderências entre os lobos e aparência turva na pleura e microscopicamente, apresentaram espessamento de septo interalveolar e fibrose, hiperplasia, degeneração ou descamação do epitélio bronquiolar, peribronquiolar e infiltração interalveolar de células mononucleares e, em alguns casos, exsudato com infiltrado celular, inclusão intracitoplasmática no epitélio bronquiolar, enfisema, formação de células sinciciais, bronquiolite necrótica, inclusão intranuclear e atelectasia. ZHANG et al. (2019), identificaram que estes agentes causam mais casos de broncopneumonia fibrinosa, porém, nenhum dos vírus detectados foi considerado como patognomônico de qualquer tipo de patologia pulmonar.

Em relação às pneumonias bacterianas, a *M. haemolytica* associou-se positivamente à pneumonia fibrinosa, *H. somni* com broncopneumonia supurativa e, *P. multocida* com broncopneumonia e broncopneumonia intersticial. Já Griffin et al. (2010) notaram que *P. multocida* e *M. haemolytica* causam deposição maciça de fibrina nos pulmões, no entanto, pneumonias causadas por *P. multocida* são difíceis de serem diferenciadas das pneumonias causadas por *M. haemolytica* e *H. somni*, pois nos três casos há broncopneumonia cranioventral, com diferentes tipos de exsudato. As alterações histológicas consistem tipicamente em

brônquios e bronquíolos cheios de neutrófilos, macrófagos e epitélio necrótico intercalado com fibrina (DABO et al., 2007).

### 2.3.2 Diagnóstico

A observação dos sinais clínicos é o método mais comum para a identificação de animais acometidos pelo complexo respiratório bovino, além disso, o uso de escores clínicos pode ser útil para médicos veterinários e pesquisadores. Tipicamente, os animais apresentam taquipneia, febre, dispneia, secreção nasal, inapetência e tosse e, em casos de pneumonia, sons respiratórios anormais, tais como, estertoração e sibilos são notados na ausculta torácica (KUMAR et al., 2019).

Infelizmente o diagnóstico através da observação de sinais clínicos nem sempre é preciso, especialmente nas fases iniciais da doença, sendo necessário realizar exames complementares, como radiografia torácica, ultrassonografia pulmonar, swab nasal e nasofaríngeo, endoscopia das vias aéreas e lavados transtraqueais e broncoalveolares (CAPIK et al., 2017, KUMAR et al., 2019). Dentre os diferentes métodos, um exemplo é o lavado broncoalveolar, que envolve a lavagem da região respiratória, buscando obter amostras de células e secreções das cavidades alveolar e brônquica através de endoscopia. É menos invasivo que o lavado transtraqueal e, geralmente bem tolerado pelos bovinos, e possibilita realizar citologia, isolamento bacteriano e imunoensaios a partir destes materiais coletados (KUMAR et al., 2019).

Amostras coletadas *post-mortem*, preferencialmente de animais não tratados, em estágio inicial da doença, podem ser usadas para o diagnóstico. Para tanto, amostras de pulmão entre áreas afetadas e de tecido normal, devem ser coletadas para exame histopatológico (COOPER; BRODERSEN, 2010). Entretanto, o exame histopatológico não é suficiente para o diagnóstico, pois as lesões causadas por diferentes agentes são muito similares. Assim, outros métodos são mais indicados tais como: isolamento viral, cultura de células, reação em cadeia da polimerase, técnica indireta de fluorescência de anticorpos, técnica direta de fluorescência de anticorpos e microscopia eletrônica (CERIBASI et al., 2014).

Os métodos sorológicos também são usados para o diagnóstico, entretanto, as vacinações e o momento de coleta das amostras podem distorcer os resultados, sendo necessária a escolha de uma população adequado para estes exames (COOPER; BRODERSEN, 2010).

## **2.4** Aditivos alimentares na dieta de bovinos confinados

Com os avanços tecnológicos na pecuária de corte nos últimos anos, bem como a adoção de sistemas mais intensivos pelos pecuaristas, a nutrição animal também tem dado grandes passos, a fim de tornar o sistema mais produtivo e eficiente (DIAZ; BRANCO, 2019). No entanto, uma dieta mais energética pode ocasionar o aumento de determinados ácidos de cadeia curta no rúmen, diminuindo o pH e, por consequência, ocasionando acidose ruminal (KRAUSE; OETZEL, 2006). Isto tem exigido a utilização de aditivos alimentares nas dietas com alto teor de concentrado, visando minimizar os possíveis efeitos deletérios ao organismo animal. Desta maneira, antibióticos ionóforos passaram a fazer parte da formulação de ração de bovinos com o intuito de modular a fermentação e equilibrar o pH ruminal (GONÇALVES et al., 2013).

No entanto estes produtos deixam resíduos na carcaça além de favorecerem a ocorrência de resistência bacteriana aos antibióticos, o que fez com que a União Europeia e outros países banissem a sua utilização em 2006, motivando a procura de outros produtos, mais sustentáveis na nutrição animal (DIAZ; BRANCO, 2019).

Estes produtos podem ser classificados como probióticos e prebióticos. Os probióticos são caracterizados como suplementos alimentares a base de micro-organismos vivos, sejam eles, bactérias, fungos e leveduras, dentre os quais, *Saccharomyces cerevisiae* é um dos mais utilizados. Já os prebióticos, são ingredientes alimentares não digestíveis, tais como substratos de carboidratos, os quais estimulam seletivamente a atividade ou o crescimento de alguns microrganismos pré-existentes (UYENO et al., 2015).

### 2.4.1 Leveduras

As leveduras são microrganismos unicelulares, oriundas do processo de fermentação alcóolica. Não são habitantes normais do sistema digestório e, recentemente, passaram a ser incorporadas na dieta de bovinos, como fonte direta de proteína, geralmente a partir de resíduos de fermentados industriais ou então, como probióticos a partir da ingestão direta de células viáveis (PIRES, 2012).

Quando utilizadas como probióticos, proporcionam efeitos benéficos, como a estabilidade da microbiota intestinal, previnem patologias intestinais, aumentando a capacidade digestiva ou mesmo, promovendo maior imunidade de mucosa (UYENO et al., 2015).

Quando utilizadas como prebióticos, são constituídos basicamente por fragmentos de parede de levedura, contendo polissacarídeos, oligossacarídeos e proteínas, como mananoproteínas e, β-glucanos, todas substâncias biológicas naturais, as quais já tem demonstrado incrementar a imunidade e o desempenho dos animais de produção (LI et al., 2011).

2.4.1.1 Leveduras vivas e mecanismos de ação

As leveduras vivas de *Saccharomyces cerevisiae* têm sido amplamente exploradas na nutrição de ruminantes, por seus efeitos sobre a eficiência alimentar e desempenho dos animais. Esses ganhos têm sido associados, em parte, pelo aumento na taxa de quebra da fibra e aumento do fluxo duodenal de nitrogênio absorvido. Sugere-se uma maior atividade microbiana, pelo aumento do número de bactérias anaeróbicas no fluido ruminal (BARBOSA et al., 2004).

Para a utilização das leveduras vivas como aditivos alimentares, é necessário que estas passem por algum método de preservação, cuja função é manter a viabilidade e estabilidade desses micro-organismos, geralmente, através do retardamento do metabolismo celular. Esses métodos consistem na secagem e desidratação, ou, congelamento e liofilização. A liofilização, que é considerado o processo mais efetivo, consiste na retirada do vapor de água da levedura congelada e posteriormente, secagem contínua à vácuo (ALCARDE; BASSO, 1997).

Considera-se que a ação das leveduras vivas esteja relacionada às mudanças no ambiente ruminal. As células da levedura viva são capazes de captar oxigênio no rúmen, favorecendo um ambiente anaeróbico e, por consequência, a sobrevivência de importantes bactérias. Apesar do rúmen ser um ambiente anaeróbico, o oxigênio pode estar presente, uma vez que adentra no rúmen pela ruminação, ingestão de água e alimentos. O oxigênio prejudica alguns grupos de bactérias, tais como as celulolíticas e assim, reduz a absorção de fibras da dieta, comprometendo a digestão do alimento (DURAND et al., 2012).

Os efeitos das leveduras vivas também se relacionam a estabilização do pH ruminal, uma vez que estimulam o crescimento e/ou a atividade metabólica de bactérias ruminais utilizadoras de lactato como substrato energético. Assim, um maior número de bactérias utilizadoras de lactato no rúmen contribui para a redução desse ácido, o que favorece a regulação do pH ruminal (DURAND et al., 2008). A estabilidade do pH ruminal é de extrema importância para evitar distúrbios metabólicos, tais como a acidose ruminal subaguda e os

demais problemas associados a ela, especialmente em dietas mais energéticas, comumente utilizadas durante o confinamento (KRAUSE; OETZEL, 2006).

Apesar dos benefícios já mencionados, o uso das leveduras vivas pode ser limitado, pois tais leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, não crescem naturalmente no microambiente ruminal, devido a características de temperatura e pH do rúmen, as quais não favorecem o seu desenvolvimento. Como a temperatura adequada para seu desenvolvimento é em torno de 27°C e o pH, de 3,5 a 5,0, a inclusão junto à dieta deve ser de forma contínua (DURAND et al., 2012).

Inúmeros são os trabalhos que analisaram os efeitos das leveduras na performance bovina. A inclusão de leveduras vivas na dieta de bovinos tem demonstrado melhorar a sanidade do rebanho frente a desafios imunes (DIAZ et al., 2018).

#### 2.4.1.2 Leveduras fragmentadas e mecanismos de ação

As leveduras são obtidas através da indústria alcooleira como subprodutos e, em grande disponibilidade em algumas regiões do Brasil. A levedura do gênero *Saccharomyces* provém da fermentação anaeróbica do caldo de cana ou do melaço, durante o processo de produção do álcool, sendo obtida por centrifugação ou recolhida do fundo das dornas de fermentação e, posteriormente, é submetida à algum processo de secagem (ZANUTTO et al., 1999).

Estas são amplamente utilizadas na indústria alimentar em forma de extratos. Estes extratos possuem frações solúveis das células das leveduras, como peptídeos, aminoácidos e minerais (TANGULER et al., 2009).

Os três principais métodos para a produção de extratos de leveduras incluem a autólise, plasmólise e hidrólise. Dentre esses, o mais utilizado é a autólise, o qual consiste em um processo de degradação, ocasionado pelas próprias enzimas da levedura, permitindo a solubilização dos seus componentes celulares e extracelulares. Essas enzimas hidrolíticas, comumente localizadas na matriz celular da levedura, são os responsáveis pela degradação das proteínas e ácidos nucleicos em peptídeos, aminoácidos derivados e nucleotídeos (TANGULER et al., 2009).

A autólise pelas enzimas endógenas da levedura pode ocorrer naturalmente, quando estas completam seu ciclo de crescimento celular e morrem. Quando induzido, o processo autolítico requer aplicação e controle cuidadosos do calor, para matar as células sem inativar as enzimas da levedura. Geralmente, é realizado sob agitação e aquecimento, com temperaturas

entre 30 e 60°C, durante cerca de 12 a 24 horas (FERREIRA et al., 2010). Outros métodos utilizados para autólise incluem os físicos, pela radiação ultravioleta ou interrupção mecânica, ou ainda, através de indutores químicos, os quais, rompem a membrana da levedura, dissolvendo lipídeos e proteínas e, alteram o pH, induzindo a proteólise (POZO-DENGRA et al., 2006).

O extrato de levedura é geralmente produzido a partir de *Saccharomices cerevisiae.* A composição da levedura autolisada varia dependendo do processo de fabricação, mas usualmente contém 29-64% de β-glucanas, 31% de mananoligossacarídeos, 13% de proteínas e 9% de lipídeos (BORTOLUZZI et al., 2018).

Os efeitos benéficos destes componentes não estão totalmente esclarecidos, mas alguns componentes de extratos de leveduras já têm demonstrado melhorar a imunidade e desempenho dos animais suplementados (LI et al., 2011). Por exemplo, os mananoligossacarídeos, podem se ligar a uma gama de micro-organismos patogênicos no trato digestório, impedindo que estes colonizem as mucosas, pois as mananoproteínas tem elevada afinidade de ligação com lectinas, presentes nas fímbrias tipo 1 de bactérias patogênicas, tais como *Pseudomonas spp, Staphylococcus aureus, Salmonella spp e Escherichia coli,* o que permite a preservação da integridade intestinal do hospedeiro (HENRICHS et al., 2003).

Os β-glucanos têm sido usados para aumentar a eficiência do sistema imune contra infecções, pela ativação e macrófagos e neutrófilos (KIM et al., 2006). Rice et al. (2005), demonstraram que os glucanos solúveis são capazes de se translocar do trato gastrointestinal para a circulação sistêmica de animais normais, produzindo efeitos biológicos significativos.

Embora estes efeitos ainda não sejam bem compreendidos, alguns autores citam que podem promover tanto ativação, como inibição da resposta imune (BROWN, 2005). A tese mais aceita, é que os β-glucanos ativam o receptor dectina-1, presente na superfície dos fagócitos, macrófagos, neutrófilos e células *natural killers.* Em resposta, eles produzem citocinas anti-inflamatórias (IL-4; IL10 e IL13), que por sua vez atenuam os efeitos das interleucinas inflamatórias (IL1, IL6, TNF-α e óxido nítrico) produzidas por outras células imunes (DIAZ; BRANCO, 2018).

Mohammed et al. (2013) e Lei et al. (2013) observaram maior eficiência alimentar, maior ganho de peso e maior digestibilidade da dieta para os animais suplementados com prebióticos mananoligossacarídeos (MOS), β-glucanas e extrato de parede celular.

A suplementação com componentes da parede celular de leveduras por Lei et al. (2013) também demonstrou melhorar a sanidade dos animais suplementados pela diminuição de endotoxinas no plasma e trato gastrointestinal e, redução de haptoglobina plasmática.

Pukrop et al. (2018) e Sanchez et al. (2013) sugeriram melhora na saúde geral dos animais, por permitirem melhor resposta ao estresse imunológico, com redução da IL-6 sérica, cortisol, temperatura retal e, indicadores do catabolismo de gordura. Quando os animais foram desafiados com lipopolissacarídeos (LPS), houve diminuição sérica da citocina pró inflamatória IFN-y.

Fink et al. (2014) observaram aumento no consumo de matéria seca e no ganho médio diário de novilhos confinados. Estes animais também tiveram numericamente menor taxa de mortalidade e, menor número de animais que necessitaram de mais de um tratamento para doenças respiratórias quando suplementados.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista que o sistema de confinamento em bovinos é vantajoso para a performance animal, é preciso envidar esforços para que qualquer prejuízo que este sistema possa representar à saúde animal seja minimizado. Neste cenário, o uso de leveduras parece atenuar o estresse do confinamento e reduzir a incidência de SARA, garantindo que o sistema imune em pleno funcionamento seja capaz de debelar doenças como o CRB, a principal enfermidade infecciosa encontrada em bovinos terminados em confinamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, J.A.B.; CIARLINI, P.C.; KUCHEMBUCK, M.R.G.; KOHAYAGAWA, A.; FELTRIN, L.P.Z.; CIARLINI, L.D.R.P.; LAPOSY, C.B.; MENDONÇA, C.L.; TAKAHIRA, R.K. Metabolismo oxidativo dos neutrófilos de ovinos tratados com monensina sódica e experimentalmente submetidos à acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.22, n.4, p.129-134, 2002.

AITKEN, S.L.; CORL, C.M.; SORDILLO, L.M. Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.16, n.4, p.291-304, 2011.

ALARCON, P.; CONEJEROS, I.; CARRETTA, M.D.; CONCHA, C.; JARA, E.; TADICH, N.; HIDALGO, M.A.; BURGOS, R.A. D-Lactic acid interferes with the effects of platelet

activating factor on bovine neutrophils. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.144, p.68–78, 2011.

ALCARDE, A.R.; BASSO, L.C. Efeito da trealose na manutenção da viabilidade de células de leveduras desidratadas por liofilização. **Scientia Agricola**, v.54, p.189-194, 1997.

ARMATO, L.; GIANESELLA, M.; MORGANTE, M.; FIORE, E.; RIZZO, E.; GIUDICE, E.; PICCIONE, G. Rumen volatile fatty acids× dietary supplementation with live yeast and yeast cell wall in feedlot beef cattle. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science**, v.66, n.2, p.119-124, 2016.

ARRUDA, E.F.; SILVA, T.I.B.; ARAGÃO, B.B. Soroprevalence of bovine alphaherpesvirus type 1 (BoHV-1) and risk factors associated with dairy properties of the municipality of Senador Guiomard, Acre, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.86, p.1-6, 2019.

BAPTISTA, A.L.; REZENDE, A.L.; FONSECA, P.A.; MASSI, R.P.; NOGUEIRA, G.M.; HEADLEY, S.A.; MENEZES, G.L.; SAUT, J.P.E. Bovine respiratory disease complex associated mortality and morbidity rates in feedlot cattle from southeastern Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v.11, n.10, p.791-799, 2017.

BARBOSA, A.C.V.; BRITO, W.M.E.D.; ALFAIA, B.T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1368-1373, 2005.

BARBOSA, F.A.; DE FARIA, G.A.; VILELA, H. Leveduras vivas na nutrição de bovinos (UMA REVISÃO). **Bioscience Journal**, v.20, n.1, 2004.

BAULE, C.; KULCSAR, G.; BELAK, K.; ALBERT, M.; MITTELHOLZER, C.; SOOS, T.; KUCSERA, L.; BELAK, S. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type I. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, p.146-153, 2001.

BLAKEBROUGH-HALL, C.; MCMENIMAN, J.P.; GONZÁLEZ, L.A. An evaluation of the economic effects of bovine respiratory disease on animal performance, carcass traits, and economic outcomes in feedlot cattle defined using four BRD diagnosis methods. **Journal of Animal Science**, v.98, n.2, p.005, 2020.

BORTOLUZZI, C.; BARBOSA, J.G.M.; PEREIRA.; FAGUNDES.; RAFAEL, J.M.; MENTEN, J.F.M. Autolyzed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation improves performance while modulating the intestinal immune-system and microbiology of broiler chickens. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v.2, p.85, 2018.

BROWN, G.D. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. **Nature Reviews Immunology**, v.6, p.33–43, 2005.

CAPIK, S.F.; WHITE, B.J.; LUBBERS, B.V.; APLEY, M.D.; DEDONDER, K.D.; LARSON, R.L.; HARHAY, G.P.; CHITKO-McKNOWN, C.G.; HARHAY, D.M.; KALBFLEISH, T.S.; SCHULLER, G.; CLAWSON, M.L. Comparison of the diagnostic performance of bacterial

culture of nasopharyngeal swab and bronchoalveolar lavage fluid samples obtained from calves with bovine respiratory disease. **American Journal of Veterinary Research**, v.78, p.350–358, 2017.

CARRETTA, M.D.; CONEJEROS, I.; HIDALGO, M.A.; BURGOS, R.A. Propionate induces the release of granules from bovine neutrophils. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.4, p.2507-2520, 2013.

CARRETTA, M.D.; HIDALGO, A.L.; BURGOS.; OPAZO.; CASTRO, L.; HIDALGO, M.A.; FIGUEROA, C.D.; TAUBERT, A.; HERMOSILLA, C.; BURGOS, R.A. Butyric acid stimulates bovine neutrophil functions and potentiates the effect of platelet activating factor. **Veterinary Immunology and Immunopathology,** v.176, p.18-27, 2016.

CARROLL, J.A.; FORSBERG, N.E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.23, p.105-149, 2007.

CARTER, J.N.; MEREDITH, G.L.; MONTELONGO, M.; GILL. R.; KREHBIEL, C.R.; PAYTON, M.E.; CONFER, A.W. Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease. **American Journal of Veterinary Research**, v.63, 2002.

CASWELL, J.L.; ARCHAMBAULT, M. Mycoplasma bovis pneumonia in cattle. **Animal Health Research Reviews**, v.8, n.2, p.161-186, 2007.

CERIBASI, A.O.; OZKARACA, M.; CERIBASI, S.; OZER, H. Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. **Revue Méd. Vét**, v.165, p.201-212, 2014.

CERON, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTINEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v.34, p.85–99, 2005.

CERQUEIRA, A.B. Doença respiratória em bovinos confinados: Aspectos patológicos e de desempenho produtivo. Dissertação - Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-graduação em ciência animal, 2017.

CHIRASE, N.K.; GREENE, W.; PURDY, C.W.; LOAN, R.W.; AUVERMANN, B.W.; PARKER, D.B.; WALBORG JR, E.F.; STEVENSON, D.E.; XU, Y.; KLAUNIG, J.E. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 65, n.6, p.860-864, 2004.

COOPER, V.L.; BRODERSEN, B.W. Respiratory Disease Diagnostics of Cattle. Veterinary Clinics of North America. **Food Animal Practice**, v.26, p.409–416, 2010.

CUSACK, P.M.V.; McMENIMAN, N.; LEAN, I.J. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, p.480-487, 2003.

DA COSTA, E.P.; QUEIROZ, V.L.D.; SILVA JUNIOR, A.; GUIMARÃES, J.D.; ALVES, S.V.P.A.; SANTOS, M.R.; SOUZA, L.F.L. BoHV-1 (o vírus da IBR) e sua relação com estruturas e órgãos genitais da fêmea bovina. 2017. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte**, v.41, n.1, p.254-263, 2017.

DABO, S.M.; TAYLOR, J.D.; CONFER, A.W. Pasteurella multocida and bovine respiratory disease. **Animal Health Research Reviews**, v.8, p.129-150, 2007.

DIAZ, G.; FERRIANI BRANCO, A.; JACOVACI, F.A.; CABREIRA, J.C.; PRATTI, D. J.L.; IANK BUENO, A.V.; GONÇALVES RIBEIRO, M. Use of live yeast and mannan-oligosaccharides in grain-based diets for cattle: Ruminal parameters, nutrient digestibility, and inflammatory response. **PLOS ONE**, v.13, 2018.

DIAZ, T. G.; BRANCO, A. Ferriani. Leveduras vivas e mananoligossacarídeos para prevenção de acidose ruminal subaguda. **Archivos De Zootecnia**, v.68, p.456-462, 2019.

DUFF, G.C.; GALYEAN, M.L. Board-invited review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, p.823-840, 2007.

DURAND, F.C.; CHAVEAUX, E.; MARTIN, C.; FORANO, E. Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre degradation, and microbiota according to the diet. **Probiotic in Animals**, v.1, p.119-152, 2012.

DURAND, F.C.; WALKER, N.D.; BACH, A. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p.5-26, 2008.

EDWARDS, T.A. Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. **Veterinary clinics: Food animal** practice, v.26, p.273-284, 2010.

EKCERSALL, P.D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v.185, p.23–27, 2010.

ELLIS, J.A. Bovine parainfluenza-3 virus. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.26, p.575-593, 2010.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J. G. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, n.2, p.77-84, 2010.

FIGUEIREDO, P.O.; OLIVEIRA, D.B.; FIGUEIREDO, L.B.; COSTA, G.B.; ALVES, P.A.; GUEDES, M.I.M.C.; STANCIOLI, E.F.B.; BRUMOND, B.P.; ABRAHÃO, J.S.; KROON, E.G.; TRINDADE, G.S. Molecular detection and phylogeny of bovine viral diarrhea virus 1

among cattle herds from Northeast, Southeast, and Midwest regions, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.50, n.2, p.571-577, 2019.

FINCK, D.N.; RIBEIRO, F.R.B.; BURDICK, N.C.; PARR, S.L.; CARROLL, J.A.; YOUNG, T.R.; BERNHARD, B.C.; CORLEY, J.R.; ESTEFAN, A.G.; RATHMANN, R.J.; JOHNSON, B.J. Yeast supplementation alters the performance and health status of receiving cattle. **The Professional Animal Scientist**, v.30, n.3, p.333-341, 2014.

FORSBERG, N.E. Recent insights into ruminant immune function: effects of stress and immunostimulatory nutritional products. Florida Ruminant Nutrition Symposium; University of Florida: Gainesville, p. 81-92, 2004.

FRANÇA, R.A.; RIGO, E.J. Utilização de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) na nutrição de ruminantes–uma revisão. **FAZU em Revista**, n.8, p.187-195, 2012.

FRANKLIN, S.T.; newman, M.C.; MEEK, K.L. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n.2, p.766-775, 2005.

FULTON, R.W.; BLOOD, K.S.; PANCIERA, R.J.; PAYTON, M.E.; RIDPATH, J.F.; CONFER, A.W.; SALIKI, J.T.; BURGE, L.T.; WELSH, R.D.; JOHNSON, B.J.; RECK, A. Lung pathology and infectious agents in fatal feedlot pneumonias and relationship with mortality, disease onset, and treatments. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.21, n.4, p.464-477, 2009.

GAETA, N.C.; RIBEIRO, B.L.M.; ALEMAN, M.A.R.; THOMAZELLI, L.M.; DURIGON, E.L.; NOGUEIRA, A.H.C.; STEFANO, E.; OKUDA, L.H.; PITUCO, E.M.; GREGORY, L. Evaluation of bovine Parainfluenza type-3 virus and Influenza virus D participation in bovine respiratory disease of calves from Brazilian family farming. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.11, n.4, p.227-232, 2018.

GOMES, M.M.A.; FARIA, C.U.; BEZERRA, B.S.B.R.; MIGUEL, J.M.; BORGES, G.C.; MNDES, E.D.M. Associação entre eficiência alimentar e ganho em acabamento de carcaça de bovinos da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, p.2017-2024, 2019.

GONÇALVES, D.A.; SPILKI, F.R.; CHIMINAZZO, C.; OLIVEIRA, M.A.; FRANCO, A.C.; ROEHE, P.M. Isolamento do vírus Parainfluenza bovino tipo 3 no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.953-956, 2003.

GONÇALVES, M.F.; MARTINS, J.M.S.; OLIVEIRA, M.V.; CARVALHO, C.C.M.; ANTUNES, M.M.; FERREIRA, I.C.; PEREIRA, C.F.; OLIVALVES, L.C. Ionóforos na alimentação de bovinos. **Veterinária Notícias, Uberlândia**, v.18, n.2, p.131-146, 2013.

GRIFFIN, D.; CHENGAPPA, M.M.; KUSZAK, J.; McVEY, D.S. Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.26, p.381-394, 2010.

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M.J.; NIEWOLD, T.A.; KOOPAMNS, S.J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of Zhejiang University Science**, v.6, p.1045-1056, 2005.

HANTHORN, C. J.; DEWELL, G. A.; DEWELL, R. D.; COOPER, V. L.; WANG, C.; PLUMMER, P. J.; LAKRITZ, J. Serum concentrations of haptoglobin and haptoglobin-matrix metalloproteinase 9 (Hp-MMP 9) complexes of bovine calves in a bacterial respiratory challenge model. **BMC Veterinary Research**, v.10, p.1-7, 2014.

HAY, K.E.; AMBROSE, R.C.K.; MORTON, J.M.; HORWOOD, P.F.; GRAVEL, J.L.; WALDRON, S.; COMMINS, M.A.; FOWLER, E.V.; CLEMENTS, A.C.A.; BARNES, T.S.; MAHONY, T.J. Effects of exposure to Bovine viral diarrhoea virus 1 on risk of bovine respiratory disease in Australian feedlot cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v.126, p.159-169, 2016.

HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.F.; OLIVEIRA, V.H.; BEUTTEMMULLER, E.A.; ALFIERI, A.A. Histophilus somni is a potential threat to beef cattle feedlots in Brazil. **Veterinary Record**, v.175, p.249, 2014.

HEADLEY, S.A.; OKANO, W.; BALBO, L.C.; MARCASSO, R.A.; OLIVEIRA, T.E.; ALFIERI, A.F.; NEGRI FILHO, L.C.; MICHELAZZO, M.Z.; RODRIGUES, S.C.; BAPTISTA, A.L.; SAUT, J.P.; ALFIERI, A.A. Molecular survey of infectious agents associated with bovine respiratory disease in a beef cattle feedlot in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.30, n.2, p.249-251, 2018.

HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICHS, B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.12, p.4064-4069, 2003.

HOPPE, I.B.A.L.; MEDEIROS, A.S.R.; ARNS, C.W.; SAMARA, S.I. Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in non-vaccinated dairy cattle herds in Brazil. **BMC Veterinary Research**, v.14, n.1, p.208, 2018.

JIMBO, S.; SULEMAN, M.; MAINA, T.; PRYSLIAK, T.; MULONGO, M.; CASAL, J.P. Effect of Mycoplasma bovis on bovine neutrophils. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.188, p.27-33, 2017.

JOHNSON, K.K.; PENDELL, D.L. Market impacts of reducing the prevalence of bovine respiratory disease in United States beef cattle feedlots. **Frontiers in Veterinary Science**, v.4, p.189, 2017.

KEYSER, S.A.; McMENIMAN, J.P.; SMITH, D.R.; McDONALD, J.C.; GALYEAN, M.L. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* subspecies boulardii CNCM I-1079 on feed intake by healthy beef cattle treated with florfenicol and on health and performance of newly received beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.85, n.5, p.1264-1273, 2007.

KIM, S.Y.; SONG, H.J.; LEE, Y.Y.; CHO, K.H.; ROH, Y.K. Biomedical issues of dietary fiber β-glucan. **Journal of Korean Medical Science**, v.21, p.781-789, 2006.

KOGAN, G.; KOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. **Livestock Science**, v.109, n.1-3, p.161-165, 2007.

KOGIKA, M.M.; PEREIRA, D.A.; ELIAS, F.; NOTOMI, M.K.; DELAYTE, E.H.; KAWAHARA, R.; HAGIWARA, M.K. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e alfa-glicoproteína ácida em cães com gastrenterite hemorrágica. **Ciência Rural**, v.33, p.513-517, 2003.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v.13, p.159-175, 2013.

KRAUSE, K.M.; OETZEL, G.R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, n.3-4, p.215-236, 2006.

KUMAR H.; KAWAI, T.; AKIRA S. Pathogen recognition in the innate immune response. **Biochemical Journal**, v.420, p.1–16, 2009.

KUMAR, H.; KAWAI, T.; AKIRA, S. Pathogen Recognition by the Innate Immune System. **International Reviews of Immunology**, v.30, p. 16–34, 2011.

KUMAR, P.; JAIN, V.K.; GOEL, P.; RANA, Y.S. Diagnostics of bovine respiratory disease: An updated review. **The Pharma Innovation Journal**, v.8, p.420-423, 2019.

LANYON, S.R.; HILL, F.I.; REICHEL, M.P.; BROWNLIE, J. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. **The Veterinary Journal**, v.199, p.201–209, 2014.

LEI, C.L.; DONG, G.Z.; JIN, L.; ZHANG, S. Effects of dietary supplementation of montmorillonite and yeast cell wall on lipopolysaccharide adsorption, nutrient digestibility and growth performance in beef cattle. **Livestock Science,** v.158, p.57-63, 2013.

LI, G.H.; LING, B.M.; QU, M.R.; YOU, J.M.; SONG, X.Z. Effects of several oligosaccharides on ruminal fermentation in sheep: an in vitro experiment. **Rev Méd Vét**, v.162, n.4, p.192-197, 2011.

MOHAMMED, H.H.; EL-SAYED, B.M.; ALI, M.A. Effects of commercial feed additives on performance, economic efficiency, blood metabolites and some maintenance behaviour in goats. **Journal of Veterinary Science and Medical Diagnosis**, v.2. p.2-7, 2013.

NAOUM, P.C.; NAOUM, F.A. **Interpretação Laboratorial do Hemograma**. São José do Rio Preto, Brazil, p.1-11, 2008.

NEUBAUER, V.; PETRI, R.; HUMER, E.; KROGER, I.; MANN, E.; REISINGER, N.; WAGNER, M.; ZEBELI, Q. High-grain diets supplemented with phytogenic compounds or autolyzed yeast modulate ruminal bacterial community and fermentation in dry cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, n.3, p.2335-2349, 2018.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B.; McINTOSH, F.M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, v.73, n.6, p.1811-1818, 1995.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; McINTOSH, F.M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed aditive for ruminants. **British Journal Nutrition**, v.76, p.249-261, 1996.

OLIVEIRA, B.M.L.; BITENCOURT, L.L.; SILVA, J.R.M.; DIAS JÚNIOR, G.S.; BRANCO, I.C.C.; PEREIRA, R.A.N.; PEREIRA, M.N. Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1174-1182, 2010.

OLIVEIRA, T.E.S.; PELAQUIM, I.F.; FLORES, E.F.; MASSI, R.P.; VALDIVIEZO, M.J.J.; GIORDANO, L.G.P.; ALFIERI, A.A.; SAUT, J.P.E.; HEADLEY, A. Mycoplasma bovis and viral agents associated with the development of bovine respiratory disease in adult dairy cows. **Transboundary and Emerging Diseases**, p.1-12, 2019.

OLLÉ, M.D.A.; FLUCK, A.C.; PAVEGLIO, P.; COSTA, P.T.; MOREIRA, S.M.; BRAUNER, C.C. Suplementação com leveduras na alimentação de bovinos. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v.18, n.12, p.1-16, 2017.

PASQUALOTTO, W.; SEHNEM, S.; WINCK, C.A. Incidência de Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD) e Leptospirose em Bovinos Leiteiros da Região Oeste de Santa Catarina-Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.8, n.2, p.249-270, 2015.

PIRES, L.C.B. Utilização de leveduras na alimentação de ruminantes. **Cadernos de Pós-Graduação da FAZU**, v.2, p.1-8, 2012.

PLAIZIER, J.C.; KHAFIPOUR, S.L.; GOZHO, G.N.; KRAUSE, D.O. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. **Animal Feed Science and Technology**, v.172, n.1-2, p.9-21, 2012.

POZO-DENGRA, J.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, S.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, A. I.; LAS HERAS-VÁZQUEZ, F. J.; RODRÍGUEZ-VICO, F.; CLEMENTE-JIMÉNEZ, J. M. Screening of autolytic yeast strains for production of L-amino acids. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 1, p. 46-50, 2006.

PUKROP, J.R.; BRENNAN, K.M.; FUNNEL, B.J.; SCHOONMAKER, J.P. Effect of a hydrolyzed mannan-and glucan-rich yeast fraction on performance and health status of newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science,** v.96, p.3955-3966, 2018.

RADAELLI, E.; LUINI, M.; LORIA, G.R.; NICHOLAS, R.A.; SCANZIANI, E. Bacteriological, serological, pathological and immunohistochemical studies of Mycoplasma bovis respiratory infection in veal calves and adult cattle at slaughter**. Research in Veterinary Science**, v.85, p.282-290, 2008.

REZENDE, A.L.; BAPTISTA, A.L.; FONSECA, P.A.; MOURA, R.L.; JUSTO, F.B.; NOGUEIRA, G.M.; SAUT, J.P.E. PREVALÊNCIA DO COMPLEXO RESPIRATÓRIO BOVINO EM ANIMAIS CONFINADOS NO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Veterinária Notícias, Uberlândia**, v.20, n.1, p.52, 2015.

REZENDE, M.L.G. Avaliação de parâmetros clínicos, hematológicos e viabilidade econômica do uso do Florfenicol na metafilaxia das afecções respiratórias inespecíficas de bovinos confinados no Estado de Goiás. Dissertação – Universidade Federal de Goiás, 2010.

RICE, J.A.; CARRASCO-MEDINA, L.; HODGINS, D.C.; SHEWEN, P.E. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. **Animal Health Research Reviews**, v.8, n.2, p.117-128, 2007.

RICE, P.J.; ADAMS, E.L.; SKELTON, T.O.; GONZALEZ, A.J.; GOLDMAN, M.P.; LOCKHART, B.E.; BARKER, L.A.; BREUEL, K.F.; DEPONTI, W.K.; KALBFLEISCH, J.H.; ENSLEY, H.E.; BROWN, G.D.; GORDON, S.; WILLIANS, D.L. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.314, n.3, p.1079-1086, 2005.

SACCO, R.E.; NONNECKE, B.J.; PALMER, M.V.; WATERS, W.R.; LIPPOLIS, J.D.; REINHART, T.A. Differential expression of cytokines in response to respiratory syncytial virus infection of calves with high or low circulating 25-hydroxyvitamin D3. **PloS One**, v.7, p.1-12, 2012.

SANCHEZ, B.N.C.; YOUNG, T.R.; CARROLL, J.A.; CORLEY, J.R.; RATHMANN, R.J.; JOHSON, B.J. Yeast cell wall supplementation alters aspects of the physiological and acute phase responses of crossbred heifers to an endotoxin challenge. **Innate Immunity,** v.19, p.411-419, 2013.

SARDI, S.I.; CAMPOS, G.S.; BARROS, S.B.; EDELWEISS, G.L.; MARTINS, D.T. Detecção de anticorpos contra o vírus da parainfluenza bovina tipo 3 (pi-3) e o vírus da leucose bovina (vlb) em bovinos de diferentes municípios do Estado da Bahia, Brasil. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.1, n.1, p.61-65, 2002.

SHURSON, G.C. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. **Animal Feed Science and Technology**, v.235, p.60-76, 2018.

SILVA, G.P.; CONTIN, T.L.M.; DOS SANTOS, A.C.R. Custos de confinamento de bovinos de corte no município de Colômbia, SP. **Revista IPecege**, v.4, n.4, p.7-15, 2018.

SILVA, M.S.; CAIXETA, D.F.; OLIVEIRA, M.H.R.; BITTAR, D.Y. eficácia de dois controles preventivos para doenças respiratórias de bovinos confinados. **Ipê Agronomic Journal**, v.3, n.2, p.84-91, 2019.

SINGH, K.; RITCHEY, J.W.; CONFER, A.W. *Mannheimia haemolytica*: bacterial–host interactions in bovine pneumonia. **Veterinary Pathology**, v.48, p.338-348, 2011.

SLOMPO, D.; BERTAGNON, H.G.; HORST, E.H.; NEUMANN, M.; MAREZE, J.; SOUZA, A.M.; STADLER JUNIOR, E.S.; GOLDONI, I.; ASKEL. Manejo do complexo respiratório bovino em confinamento: Revisão. **PUBVET**, v.11, p.313-423, 2016.

SNOWDER, G.D.; VAN VLECK, L.D.; CUNDIFF, L.V.; BENNETT, G.L. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: environmental, genetic, and economic factors. **Journal of Animal Science**, v.84, n.8, p.1999-2008, 2006.

SORDILLO, L.M. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. **Journal of Dairy Science**, v.99, n.6, p.4967-4982, 2016.

STOKKA, G.L. Prevention of respiratory disease in cow/calf operations. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.26, p.229-241, 2010.

TANGÜLER, H.; ERTEN, H. The effect of different temperatures on autolysis of baker's yeast for the production of yeast extract. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.33, p.149-154, 2009.

TAYLOR, G. Animal models of respiratory syncytial virus infection. **Vaccine**, v.35, p.469-480, 2017.

TAYLOR, J.D.; FULTON, R.W.; DABO, M.; LEHENBAUER, T.W.; CONFER, A.W. Comparison of genotypic and phenotypic characterization methods for Pasteurella multocida isolates from fatal cases of bovine respiratory disease. **Journal of Veterinary Diagnostic investigation**, v.22, n.3, p.366-375, 2010.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. 1th ed, Fort Collins, Colorado, Lippincott Willians and Wilkins, 618p, 2004.

TOETORELLI, G.; CARRILLO, G.N.; MENDONÇA, R.B.L.; MIRANDA, M.L.; TIMENETSKY, J.; Gregory, L. Evaluation of *Mollicutes* microorganisms in respiratory disease of cattle and their relationship to clinical signs. **Journal of Veterinary Internal Medicine,** v.31, p.1215–1220, 2017.

TÓTHOVÁ, C.; NAGY, O.; SEIDE, H.; KOVAC, G. The effect of chronic respiratory diseases on acute phase proteins and selected blood parameters of protein metabolism. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v.123, p.307-313, 2010.

TOTHOVA, C.S.; NAGY, O.; KOVAC, G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review. **Veterinarni Medicina**, v.59, p.163-180, 2014.

UYENO, Y.; SHIGEMORI, S.; SHIMOSATO, T. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. **Microbes and Environments,** v.30, n.2, p.126-132, 2015.

VALARCHER, J.F.; TAYLOR, G. Bovine respiratory syncytial virus infection. **Veterinary Research**, v.38, n.2, p.153-180, 2007.

WALLACE, R.J. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v.72, n.11, p.2992-3003, 1994.

WILLIAMS, D.L.; MUELLER, A.; BROWDER, W. Glucan-based macrophage stimulators. **Clinical Immunotherapeutics**, v.5, n.5, p.392-399, 1996.

WOLFGER, B.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; BARKEMA, H.W.; PAJOR, E.A.; LEVY, M.; ORSEL, K. Feeding behavior as an early predictor of bovine respiratory disease in North American feedlot systems. **Journal of Animal Science, v.**93, n.1, p.377-385, 2015.

ZANUTTO, C. A.; MOREIRA, I.; FURLAN, A. C.; SCAPINELLO, C.; MURAKAMI, A. E. Utilização da levedura de recuperação (*Saccharomyces sp*.), seca por rolo rotativo ou por spray-dry, na alimentação de leitões na fase inicial. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.21, p. 705-710, 1999.

ZHANG, M.; HILL, J.E.; GODSON, D.L.; NGELEKA, M.; FERNANDO, C.; HUANG, Y. The pulmonary virome, bacteriological and histopathological findings in bovine respiratory disease from western Canada. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.67, 2019.

# 3 OBJETIVOS

## 3.1 Objetivo Geral:

Verificar se a levedura autolisada na dieta melhora a sanidade de bovinos terminados em confinamento.

## 3.2 Objetivos Específicos:

Verificar se a levedura autolisada na dieta melhora a imunidade sistêmica e reduz o status inflamatório de bovinos de corte terminados em confinamento.

Verificar se a levedura autolisada na dieta diminui manifestações respiratórias compatíveis com complexo respiratório de bovinos em novilhos terminados em confinamento.

.

# CAPÍTULO 1

# Supplementation with autolyzed yeast improves the innate immunity and reduces pneumonia in feedlot steers

Gabriela Garbossa[a], Dailis Delarezi[a], Patrícia S. Rossi[a], Gabriela R. Thomaz[a], Gabriel B. Flores[a], Willi Horner[a], Mikael Neumann[a], Jayme A. Peres[a], Heloisa G. Bertagnon[a*]

[a]Department of Veterinary Medicine, State University of the Midwest (UNICENTRO), Av. Alameda Élio Antonio Dalla Vecchia n 838, Guarapuava, Paraná, 85040-167, Brazil.

* Corresponding author. Current address: State University of the Midwest – UNICENTRO, Department of Veterinary Medicine, Av. Alameda Élio Antonio Dalla Vecchia n 838, PR, Brazil. E-mail address: hbertagnon@hotmail.com (Heloísa G. Bertagnon).

**Abstract**

Bovine respiratory disease (BRD) is a common disease in feedlot cattle, and although yeast may improve animal immunity, few studies have verified whether this improvement of the immune system can minimize the incidence of the disease in feedlot cattle. Therefore, our objective was to evaluate whether dietary supplementation with autolyzed yeast influences systemic immunity and respiratory health in feedlot cattle. A randomized longitudinal experimental trial was conducted with whole steers with half Angus blood for 106 days: control (n=10): diet without yeast; Y4 (n=12): yeast diet (4 g per animal per day); and Y7 (n=7): yeast diet (7 g per animal per day). On days 0, 14, 42, 70, and 105, blood counts, leukocyte oxidative metabolism, and serum haptoglobin were evaluated to determine immune status, and the health of the respiratory tract was evaluated by nasal secretion frequency and orbital temperature. On slaughter day, a lung evaluation was performed. On days 42, 70 and 105 of feedlot finishing, the treated animals showed increased leukocyte oxidative metabolism (D42 P=0.04; D70 P=0.02 e D105 P=0.10) compared to the control group. These animals had a lower frequency of mucopurulent nasal secretion (D70 Y4 g and Y7g P=0.001; D105 Y4 g P=0.001) and a lower orbital temperature (D105 Y4 g P=0.04). These immune increments promoted less pneumonia in the treated groups (P = 0.05) with less severity (P = 0.01), allowing us to infer that the autolyzed yeast fed a diet in both doses (4 g and 7 g) improves innate immunity and respiratory tract health of feedlot cattle.

## Introduction

The feedlot system has several advantages for intensifying meat production; however, situations commonly experienced under feedlot can result in the appearance of diseases, especially infectious diseases such as bovine respiratory disease (BRD), which is the result of an immune deficit and causes substantial economic losses (Fulton et al., 2009).

To mitigate these effects, the use of additives in the diet of feedlot steers is considered interesting because it may improve performance and immunity (Shurson, 2018). The main yeast used is *Saccharomyces cerevisiae*, as either live yeast or products derived from its cell wall.

This approach has attracted attention in the scientific community because yeast exert immunomodulatory effects and because they do not leave a residue in the animal carcass or induce bacterial resistance (Kogan; Kocher, 2007).

These additives contain mannan oligosaccharides, which can activate the immune response without inducing excessive inflammation, possibly by inducing regulatory cytokines and stimulating the migration of immune cells to certain sites. Additionally, these additives contain beta-glucans, which increase the functionality of macrophages and neutrophils (Willians et al., 1996, Oliveira et al., 2010, Ollé et al., 2017).

Despite the potential of these components to improve the health of feedlot steers, there are few studies in beef cattle concerning the benefits of these additives for the immune system and respiratory diseases. Only Keyser et al. (2007) and Finck et al. (2014) noted that supplementation with yeast additives reduced morbidity, mortality, and the number of treatments for this disease, but the authors did not study any immunological mechanism.

Because autolyzed yeast supplementation in the diet of feedlot steers may improve animal immunity, we believe that this supplementation can also minimize the occurrence of

diseases such as BRD, which occurs frequently in beef cattle subjected to intensive management. This work aimed to evaluate whether daily supplementation of autolyzed yeast interferes with innate immunity and reduces the incidence of respiratory disorders in finished feedlot steers.

## Materials and methods

This study was approved by the Animal Care and Use Committee (Protocol No. 027/2018 CEUA/UNICENTRO; 05/10/2018).

### *Animals, Experimental Design and Treatments*

The experimental design was completely randomized and developed as a blind model study. Thirty-six crossbred ½ Angus-Nelore steers (BW 355 ± 10 kg, 11 ± 0.5 months), previously dewormed, without vaccines against CRB, were used. These animals were from a property near the experimental unit and were housed in a feedlot at the Núcleo de Produção Animal (NUPRAN) at the Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), located in Guarapuava, Paraná, Brazil, with 2 animals/pen.

The animals were homogeneously distributed among the three treatments, with 12 replicates: control: diet without yeast; Y4: yeast diet (4 g per animal day$^{-1}$ of the product RumenYeast®, São Paulo, ICC Brazil); and Y7: yeast diet (7 g per animal day$^{-1}$ of the product RumenYeast®, São Paulo, ICC Brazil).

The product RumenYeast® is composed of 100% autolysed yeast based on *Saccharomyces cerevisiae* from the fermentation of sugar cane, with approximately 21% β-glucans and 12% mannan oligosaccharides. It is produced by the company ICC Brazil, and classified as a vegetable ingredient.

***Food management and facilities***

The food was provided twice a day, at 6:00 am and at 5:30 pm, in the form of a total mixed ration (TMR). The original and experimental diets were the same, consisting of 5% ryegrass haylage, 35% corn silage and 60% commercial concentrate, on a dry basis. To manufacture the concentrate, the following foods were used: soybean meal, soybean husk, barley root, ground corn grains, calcite limestone, dicalcium phosphate, common salt, livestock urea and vitamin-mineral premix (Table 1).

To adjust the volumes of feed provided, leftover food was weighed daily in the trough, and the food was adjusted so that 5% of the dry matter was left.

The experimental facilities consisted of 18 feedlot stalls, with an area of 15 m2 each (2.5 m x 6.0 m). Each stall had a concrete feeder measuring 2.30 m long, 0.60 m wide and 0.35 m high and an automatic metallic waterer.

***Measurements, Sampling, and Analysis***

The experiment lasted 106 days, with 105 days to finish the animals in the feedlot and slaughter on day 106. The animals were previously acclimated to the experimental facilities for a period of one week. Then, the first blood collection occurred (day 0), and at this timepoint, yeast supplementation started, according to the treatment groups. The prebiotic was distributed longitudinally in the feeding trough during administration of the diet. After 14 days, at 42, 70 and 105 days, additional samples were taken. The animals that presented clinical signs compatible with BRD at the beginning of feedlot, like an increase in rectal temperature, pulmonary auscultation compatible with pneumonia, changes in the color of mucous membranes compatible with parasitic sadness and reduced consumption, between the period of adaptation, until the first collection of samples, were

removed from the experiment. Within those criteria, two animals in the control group (2/12) and five animals in the 7 g yeast group (5/12) were removed from the experiment. They were treated and recovered clinically from the disease 7 to 14 days later, but they stayed out of experiment.

As the objective of the research was to verify whether yeast interfere with animal innate immunity and the health of the respiratory tract, none sick animal between the period of day 16 until the day 106, were removed from the experiment.

***Haematological analysis***

The animals' innate immunity was evaluated by means of the complete blood count, leukocyte oxidative metabolism (ROS- reactive oxygen species) and serum haptoglobin measurement.

Therefore, at the sampling timepoints, blood samples (8 mL) were collected by venipuncture of the external jugular into vacuum flasks containing heparin, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) or no anticoagulants. In blood samples containing EDTA, the blood count was performed in an automatic cell counter (SDH-3 VET, Labtest, São Paulo, Brazil). Leukocyte cell populations were classified according to the morphological characteristics of the blood smear and observed under optical microscopy at 1000 magnification.

In the blood samples with heparin, the leukocyte oxidative metabolism test was performed using the 5% NBT (tetrazolium nitroblue) quantitative technique (Sigma®, São Paulo, Brazil), according to Choi et al. (2006), adapted by Flores et al. (2019).

In blood samples without anticoagulant, serum haptoglobin was measured. The serum was immediately separated from the whole blood by centrifugation at 3500 rpm (rotations

per minute) x 15 min at room temperature. Subsequently, the serum was frozen at -20°C until the end of blood collection. Haptoglobin was measured by a commercial kit using the ELISA technique (Bovine Haptoglobin EB0011 Fine Test®, WU, China) according to the manufacturer's instructions.

***Identification of respiratory disorders***

For the identification of clinical signs of respiratory disease, bovine nasal secretions and orbital temperature were evaluated on days 0, 14, 42, 70 and 105. These observations were performed at the same time of day on each of five consecutive days after each experimental timepoint. The occurrence of lung lesions was evaluated on the day of slaughter.

Bovine mucopurulent nasal secretions were evaluated by direct inspection. The animals' orbital temperatures were measured with an infrared thermometer (AKSO, AK30 New, China) at a distance of approximately one metre from the animal's eye, with the observer outside the animals' pens.

After every five days of observation, the medians of the scores for each sample timepoint were calculated. From these medians, the frequency of animals with mucopurulent nasal discharge was identified.

The cattle that presented clinical manifestations compatible with BRD, such as apathy, nasal and ocular discharge, cough, tachypnea or dyspnoea and reduced dry matter intake, were subjected to general physical examination and specific respiratory tract tests to identify pneumonia. If pneumonia was confirmed by pulmonary auscultation, the animals were treated with marbofloxacin (8 mg/kg IM, in a single dose, Resolutor®, Ouro fino, São Paulo, Brazil).

On the day of slaughter, the lungs of all animals were examined macroscopically and by histopathological evaluation. The severity of pneumonia was based on the extent of pulmonary consolidation, according to Ceribasi et al. (2014), with modifications: score of 1 for the absence of injury; score of 2 for injury in up to 50% of the cranioventral lobe; score of 3 for injury in between 50% and 75% of the cranioventral lobe; and score of 4 for injuries in more than 75% of the cranioventral lobe (right and left) based on visual inspection and palpation. Then, fragments of the right cranioventral lobe were collected in the transition area between normal tissue and consolidation areas preferencially of approximately 2 $cm^2$. The tissues were fixed in 10% formaldehyde for 48 hours and embedded in paraffin. Then, they were sectioned to generate histopathological slides with 5 micrometre (µm) sections of lung tissue, stained with haematoxylin and eosin (HE) and finally observed under an optical microscope. The fragments were classified as absence of pneumonia or purulent, fibrinous, interstitial or granulomatous pneumonia according to Ceribasi et al. (2014).

***Statistical Analysis***

Statistical analysis of the data was performed using the statistical software Instat GraphPad. To assess the differences between the mean results, one-way analysis of variance (ANOVA; unstacked) and Tukey's test were performed for repeated samples and data with a normal distribution. The results related to the scores (nasal secretion, macroscopic lung score and histopathology) were analysed using the chi square test and expressed as the frequency of animals with the change. For all results, data that presented a level of significance less than or equal to 5% ($P \leq 0.05$) were considered significant, and data that presented a level of significance greater than 5% and less than or equal to 10% were considered to show a statistical trend ($0.05 > P \leq 0.1$).

## Results

### *Leukocyte oxidative metabolism*

Compared to the initial time points in the time course, all animals had a reduction in leukocyte oxidative metabolism at 105 days of evaluation (Figure 1). This reduction occurred continuously for the control (P= 0.0001 D0 and D14 differed from D42; D70 and D105) and occurred only on D105 compared to D70 for treated groups (Y4 group, P = 0.06 and P=0.10). For the treatment interactions, the treated groups had higher leukocyte oxidative metabolism than the control at D42 and D70 (P = 0.04, P 0.02, respectively) and tended to be higher than the control at D105 (P=0.10).

### *Blood count*

Most animals had leukocytosis due to neutrophilia throughout the experiment (supplementary data). Only the N:L ratio of the control tended to be statistically higher than that of the Y7 group on day 105 (P = 0.06) and had no influence on time interaction for this variable (Figure 2).

### *Serum Haptoglobin*

For the time interaction, D70 and D105 tended to be higher than D0 and D14 in the Control group (P=0.1). The Y7 group had higher serum haptoglobin on day 105 (D105 differed from D14, D42 and D70, P=0.001).

On D70, the animals in the Control group had higher serum haptoglobin than animals in the other groups (P=0.05). At D105, the Y7 group had a higher serum haptoglobin level than the others (P=0.006) (Figure 3).

***Identification of respiratory disorders***

Figure 4 shows the frequency of animals with mucopurulent nasal discharge. The treated groups had a lower frequency of animals with mucopurulent nasal discharge than the control at D70, (Y4 P = 0.001 and Y7 P = 0.001) and at D105 the Y4 group had a lower frequency of animals with mucopurulent nasal discharge than the control (P = 0.001). The Y7 group had a higher frequency of animals with mucopurulent nasal secretion than the other groups at day 14 (P=0.01 for control group and P=0.003 for Y4 group). At the first timepoint, the Y4 had higher frequency of animals with mucopurulent nasal secretion than the Y7 group (P=0.05).

Figure 5 shows the mean orbital temperature over the experimental period. The Y4 group had higher orbital temperature than the control on D0 (P=0.003) but a lower orbital temperature than the control at D105 (P=0.04). As this variable is influenced by the environmental temperature, statistical analysis of time interaction was not performed.

The data of lung lesions are shown in Figure 6.

The macroscopic lesions were used for classify the severity of pneumonia and were characterized by reddish-purple consolidation and focal lobes with atelectasis. There was no change in the pleura or adhesions between the pulmonary lobes. No animal had a lesion score of 4 of the pneumonia severity. The Y4 group had a lower severity of pneumonia than the control group (P = 0.01) and the same severity as the Y7 group (P = 0.27). The microscopic lung lesions analysis were used for identify the presence and the type of pneumonia. The treated groups showed less pneumonias than the control group (P=0.05).

The different types of pneumonia showed an equal distribution between the groups; Interstitial pneumonia (Figure 7) was formed mainly by thickening of the interalveolar septum, degeneration or desquamation of the bronchiolar epithelium and interalveolar and peribronchiolar mononuclear infiltrate. Fibrinous pneumonia (Figure 8) was characterized by exudate predominantly composed of fibrin in the lumen of bronchi, bronchioles, and alveoli, as well as fibrosis or necrosis. Purulent, granulomatous catarrhal pneumonia was not found.

## Discussion

Supplementation with autolyzed yeast at a dose of 4 g and 7 g promoted greater immune enhancements and improved respiratory tract health in feedlot steers compared to the steers in the control group.

Supplementation with yeast 4 g and 7 g promoted higher leukocyte oxidative metabolism than observed in the control group starting on the 42nd day of the experiment. Although all groups showed a reduction in this parameter on day 105, the treated groups continued to present higher values for this parameter than the control group.

Phagocytes are the body's first line of defence against the invasion of microorganisms, and they have the function of phagocytosing and eliminating pathogens mainly by oxidative metabolism, although it is not the main resident cell of the respiratory system, they are the first ones recruited from the blood to the tissues when there is pulmonary insult (Tizard, 2014). A decrease in this activity indicates an impairment of the innate immune system, and therefore, the other components of the immune system must perform this activity to avoid infectious diseases (Tizard, 2014).

Virmond et al. (2020) reported previously that feedlot management promotes a reduction in leukocyte oxidative metabolism due to stressful events such as previous transport, dietary changes, and agglomeration, a situation that can be mitigated by food additives, such as live yeast. Similarly, our study found that the use of yeast in autolyzed formulations also attenuated this immune suppression. Similar results were also observed by Magalhães et al. (2008) in dairy cows fed a diet supplemented with live yeast of *Saccharomyces cerevisiae*.

Most likely, higher phagocytic oxidative metabolism occurs because beta-glucans, components of the yeast cell wall, can activate macrophages and neutrophils directly, stimulating their phagocytic, cytotoxic, and antimicrobial activity through cellular receptors (Murphy et al., 2007).

On day 105 of the experiment, the oxidative metabolism of all groups decreased. This may have occurred because in this period, there was a sudden climatic change, characterized by a drop in the ambient temperature (thermal amplitude of more than 10°C during the day, according to data from the university's weather station) and high relative humidity in the air, which may have stressed immune cells, such as neutrophils (Tizard, 2014). This event had a weaker effect on the treated groups, indicating that this treatment worked as an immunostimulant during smaller challenges (in the intermediate phase of the feedlot period), as well as in the most aggressive challenges, (at day 105 of the feedlot period).

In general, the animals of all groups showed mild inflammation throughout the experimental period, as indicated by a high concentration of serum haptoglobin, with a serum concentration of up to 20 mg/dL indicating healthy animals, a serum concentration between 20 and 40 mg/dL indicating animals with mild inflammation and a serum concentration above 40 mg/dL indicating severe inflammation (Hanthorn et al., 2014).

However, on D70, the animals in the Control group had higher serum haptoglobin than animals in the other groups, the same time that they had more nasal discharge.

Regarding leukocytes, all groups presented leukocytosis due to neutrophilia and lymphocytosis at all times (Kaneko et al., 2008). Virmond et al. (2020) and Reck (2017) reported similar findings in Angus cattle finished in the feedlot, indicating that this breeding system promotes constant stress for the animals, altering the leukogram pattern. However, Wolfger et al. (2015) reported that increases in serum haptoglobin and leukocytosis due to neutrophilia are strong indications of respiratory diseases in feedlot steers.

Therefore, the N/L ratio is an important marker for the identification of an active inflammatory and/or infectious process (Weiss; Wardrop, 2010). As supplementation promoted an increase in phagocytic oxidative metabolism in both groups, there was not necessity of an increase in blood neutrophils, so the Y7 group tended to have a lower N/L ratio than the control group on D70.

Reinforcing the hypothesis that a more efficient immune system reflects a lower occurrence of BRD, it can be noted that there was a lower frequency of animals with mucopurulent nasal secretions in treated animals compared to the control group and a lower orbital temperature in animals supplemented with 4g of yeast compared to the animals in the control group. As hyperthermia may be the first evidence of the occurrence of respiratory diseases in feedlot steers, infrared thermography of the orbital region can be an early marker of BRD without manipulating the animals, which would avoid stress and false-positive examination results (Schaefer et al., 2007).

The indicators of respiratory disease were effective in characterizing BRD, as evidenced by histopathological lung injury, with the lowest frequency of pneumonia in the treated groups. These effects may have occurred because the cellular components of autolyzed

yeast modulate and alter the production of pro-inflammatory cytokines, activating the immune system, and because beta-glucans increase the functionality of macrophages, the main resident cell in the bronchoalveolar compartment (Ackerman et al., 2010, Broadway et al., 2015).

As some animals had BRD in the beginning of feedlot, more research is needed to understand whether the supplementation of steers before they enter the feedlot could prevent BRD and to understand if the supplementation of steers with BRD could decrease the severity of the disease.

## Conclusions

Supplementation with autolyzed yeast in the diet has been shown to improve the innate immunity and respiratory tract health of feedlot steers in both dosage.

### *Conflict of interest statement*

To our knowledge, there are no conflicts of interest among authors, institutions or organizations.

### *Acknowledgements*

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 88882.429820/2019-01 and financial code 001.

***References***

Ackermann, M.R., Derscheid, R., Roth, J. A, 2010. Innate immunology of bovine respiratory disease. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 26, 215-228. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.001.

Broadway, P.R., Carroll, J.A., Sanchez, N.C.B, 2015. Live yeast and yeast cell wall supplements enhance immune function and performance in food-producing livestock: A review. Microorg. 3, 417-427. https://doi.org/10.3390/microorganisms3030417.

Ceribasi, A.O., Ozkaraca, M., Ceribasi, S., Ozer, H, 2014. Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. Revue Méd. Vét. 165, 201-212. https://www.researchgate.net/profile/Ali_Osman_Ceribasi/publication/266602240_Histopathologic_immunoperoxidase_and_immunofluorescent_examinations_on_natural_cattle_pneumonia_originated_from_Parainfluenza_type_3_Respiratory_Syncytial_virus_Adenovirus_type_3_and_Herpesvirus_type_/links/54b3baa60cf28ebe92e2fe11.pdf

Chirase, N.K., Greene, W., Purdy, C.W., Loan, R.W., Auvermann, B.W., Parker, D.B., Walborg Jr, E.F., Stevenson, D.E., Xu, Y., Klaunig, J.E, 2004. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. Am. J. Vet. Res. 65, 860-864. https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.860.

Choi, H.S., Kim, J.W., Cha, Y.N., Kim, C, 2006. A quantitative nitroblue tetrazolium assay for determining intracellular superoxide anion production in phagocytic cells. J. Immunoassay Immunochem. 27, p.31-44. https://doi.org/10.1080/15321810500403722.

Edwards, T.A, 2010. Control methods for bovine respiratory disease for feedlot cattle. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 26, 273-284. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.03.005.

Finck, D.N., Ribeiro, F.R.B., Burdick, N.C., Parr, S.L., Carroll, J.A., Young, T.R., Bernhard, B.C., Corley, J.R., Estefan, A.G., Rathmann, R.J., Johnson, B.J, 2014. Yeast supplementation alters the performance and health status of receiving cattle. Prof. Anim. Sci. 30, 333-341. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30125-X.

Flores, G.V.B., Thomaz, G.R., Netto, W.H., Rossi, P.S., Strickler, F., Bertagnon, H.G., Seki, M.C., Carrasco, A.O.T, 2019. Efeito do Enterococcus faecium e Saccharomyces cerevisiae na resposta imunológica, parâmetros hematológicos e ganho de peso de bezerros alimentados com silagem de milho. Vet. Zootec. 26, 1-11. https://doi.org/10.35172/rvz.2019.v26.353.

Franklin, S.T., Newman, M.C., Meek, K.L, 2005. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. J. Dairy Sci. 88, 766-775. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72740-5.

Fulton, R.W., Blood, K.S., Panciera, R.J., Payton, M.E., Ridpath, J.F., Confer, A.W., Saliki, J.T., Burge, L.T., Welsh, R.D., Johnson, B.J., Reck, A, 2009. Lung pathology and infectious agents in fatal feedlot pneumonias and relationship with mortality, disease onset, and treatments. J. Vet. Diagn. Invest. 21, 464-477. https://doi.org/10.1177/104063870902100407.

Hanthorn, C.J., Dewell, G.A., Dewell, R.D., Cooper, V.L., Wang, C., Plummer, P.J., Lakritz, J, 2014. Serum concentrations of haptoglobin and haptoglobin-matrix metalloproteinase 9 (Hp-MMP 9) complexes of bovine calves in a bacterial respiratory challenge model. BMC Vet. Res. 10, 1-7. https://doi.org/10.1186/s12917-014-0285-5.

Jones, M.L., Allison, R.W, 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 23, 377-402. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.002.

Kaneko, J.J, Harvey, J.W., Bruss, M. L, 2008. Clinical biochemistry of domestic animals, sixth edition, New York.

Keyser, S.A., Mcmeniman, J.P., Smith, D.R., Mcdonald, J.C., Galyean, M.L, 2007. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* subspecies boulardii CNCM I-1079 on feed intake by healthy beef cattle treated with florfenicol and on health and performance of newly received beef heifers. J Anim Sci. 85, 1264-1273. https://doi.org/10.2527/jas.2006-751.

Kogan, G., Kocher, A, 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. Livest Sci. 109, 161-165. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.134.

Magalhães, V.J.A., Susca, F., Lima, F.S., Branco, A.F., Yoon, I., Santos, J.E.P, 2008. Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. J Dairy Sci. 91, 1497-1509. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0582.

Murphy, E.A., Davis, J.M., Brown, A.S., Carmichael, M.D., Ghafar, A., Mayer, E. P, 2007. Oat beta-glucan effects on neutrophil respiratory burst activity following exercise. Med Sci Sports Exerci. 39, 639-644. https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3180306309.

Oliveira, B.M.L., Bitencourt, L.L., Silva, J.R.M., Dias Júnior, G.S., Branco, I.C.C., Pereira, R.A.N., Pereira, M.N, 2010. Suplementação de vacas leiteiras com *Saccharomyces cerevisiae* cepa KA500. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 62. 1174-1182. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352010000500021.

Ollé, M.D.A., Fluck, A.C., Paveglio, P., Costa, P.T., Moreira, S.M., Brauner, C.C, 2017. Suplementação com leveduras na alimentação de bovinos. Rev. electrón. Vet. 18, 1-16. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63654640002.

Reck, A.M. **O efeito da sanguinarina na imunidade inata de novilhos submetidos à dieta isenta de forragem.** State University of the Midwest, Master's thesis (Masters in Veterinary Sciences), Guarapuava, 2017.

Schaefer, A.L., Cook, N.J., Church, J.S., Basarab, J., Perry, B., Miller, C., Tong, A.K.W, 2007. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. Res. Vet. Sci. 83, 376-384. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.01.008.

Shurson, G.C, 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. Anim Feed Sci Technol. 235, 60-76. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010.

Tizard, I. R, 2014. Imunologia Veterinária, ninth edition, Rio de Janeiro.

Virmond, M. P.; Rossi, P. S.; Antunes, A. V.; Mattei, R. I.; Schllemer, N. R.; Thomaz, G. R.; Garbossa, G.; Neumann, M.; Bertagnon, H. G, 2020. Fresh Yeast Additives Improve Immune Parameters And Reduce Respiratory Disease In Heifers Finished In Feedlots. Semina: Ciênc. Agrár. 41, 6, 3177-3188.

Wallace, R.J, 1994. Ruminal microbiology, biotechnology, and ruminant nutrition: progress and problems. J Anim Sci. 72, 2992-3003. https://doi.org/10.2527/1994.72112992x.

Weiss, D. J., Wardrop, K. Jane, 2010. Schalm's veterinary hematology, sixth edition.

Williams, D.L., Mueller, A., Browder, W, 1996. Glucan-based macrophage stimulators. Clin Immunother. 5, 392-399. https://doi.org/10.1007/BF03259335.

Wolfger, B., Schwartzkopf-Genswein, K.S., Barkema, H.W., Pajor, E.A., Levy, M., Orsel, K, 2015. Feeding behavior as an early predictor of bovine respiratory disease in North American feedlot systems. J Anim Sci. 93, 377-385. https://doi.org/10.2527/jas.2013-8030.

Wolfger, B., Timsit, E., White, B.J., Orsel, K, 2015. A systematic review of bovine respiratory disease diagnosis focused on diagnostic confirmation, early detection, and prediction of unfavorable outcomes in feedlot cattle. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 31, 351-365. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2015.05.005.

Zhang, M., Hill, J.E., Godson, D.L., Ngeleka, M., Fernando, C., Huang, Y, 2019. The pulmonary virome, bacteriological and histopathological findings in bovine respiratory disease from western Canada. Transbound Emerg Dis. 67, 924-934.

**Table 1.** Chemical composition of the feed used for animal feeding and average values of the experimental ration, based on total dry matter.

| Parameter | Ryegrass haylage | Corn Silage | Concentrate | Experimental Diet[1] |
|---|---|---|---|---|
| Dry Matter, % MN | 57.35 | 40.63 | 90.40 | 71.33 |
| Mineral Matter, % DM | 5.59 | 2.51 | 6.36 | 4.97 |
| Crude protein, % DM | 12.43 | 8.44 | 20.20 | 15.70 |
| Ethereal extract, % DM | 3.28 | 2.65 | 2.05 | 2.32 |
| Neutral detergent fibre, % DM | 48.89 | 46.14 | 31.47 | 37.48 |
| Acid detergent fibre, % DM | 37.89 | 25.98 | 13.08 | 18.84 |
| Lignin, % DM | 6.90 | 3.43 | 4.73 | 4.38 |
| Total digestible nutrients, % DM | 54.74 | 68.66 | 78.68 | 73.98 |
| Ca, % DM | 0.58 | 0.14 | 1.67 | 1.08 |
| P, % DM | 0.26 | 0.22 | 0.58 | 0.44 |

[1]Premix guaranteed level per kg of concentrate: vit. A: 16000 IU; vit D3: 2000 IU; vit. E: 25 IU; S: 0.36 g; Mg: 0.74 g; Na: 3.6 g; Co: 0.52 mg; Cu: 22.01 mg; F: 18.00 mg; I: 1.07 mg; Mn: 72.80 mg; Se: 0.64 mg; Zn: 95.20 mg.

**Figure 1.** Leukocyte oxidative metabolism of feedlot steers fed a diet supplemented with autolyzed yeast. D.O.- optical density. Different letters at the same time indicate a trend (0.05> P ≤ 0.1) or significant difference (*) (P ≤ 0.05) in the treatment interaction.

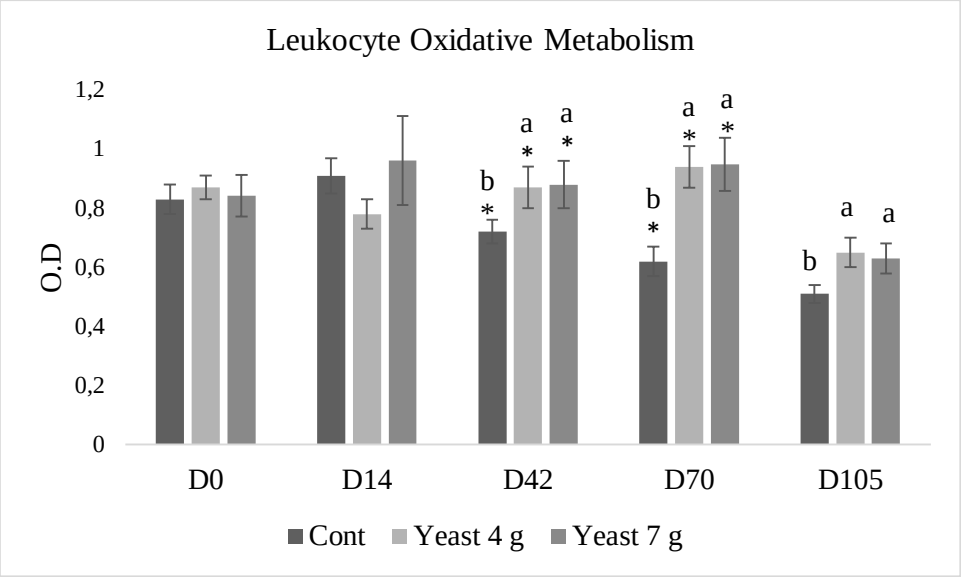


**Figure 2**. N:L ratio of feedlot steers fed a diet supplemented with autolyzed yeast. Different letters at the same time indicate a trend (0.05> P ≤ 0.1) or significant difference (*) (P ≤ 0.05) in the treatment interaction.

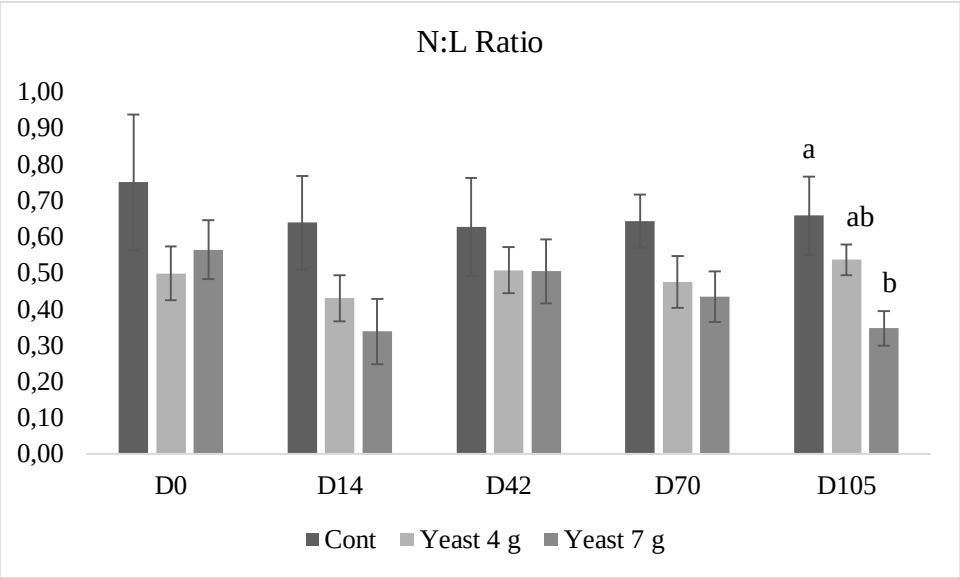


**Figure 3.** Serum haptoglobin (mg/dL) of feedlot steers fed a diet supplemented with autolyzed yeast. Different letters at the same time indicate a trend (0.05> P ≤ 0.1) or significant difference (*) (P ≤ 0.05) in the treatment interaction.

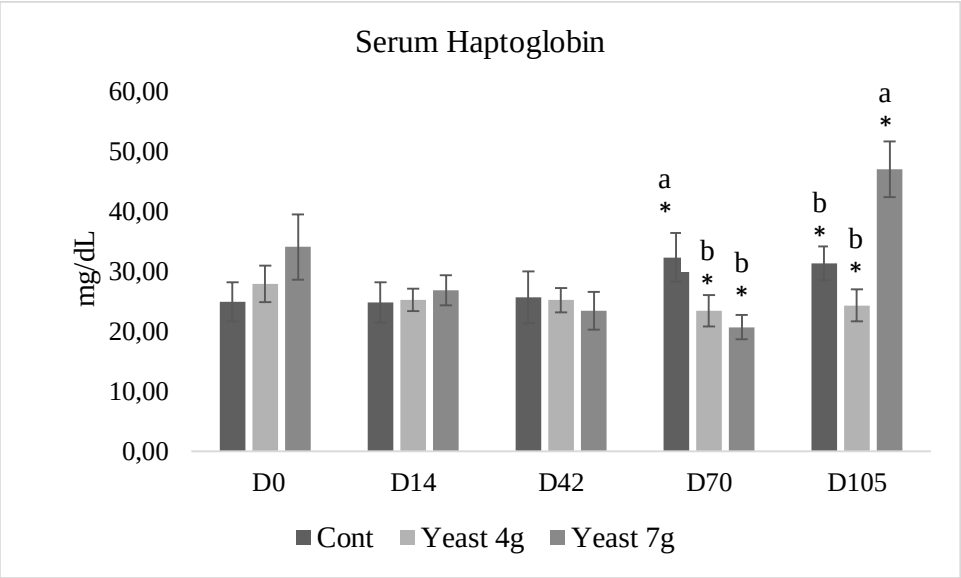


**Figure 4.** Frequency of feedlot steers with mucopurulent nasal secretion after dietary supplementation with autolyzed yeast. Different letters at the same time indicate a significant difference (*) ($P \leq 0.05$) in the treatment interaction.

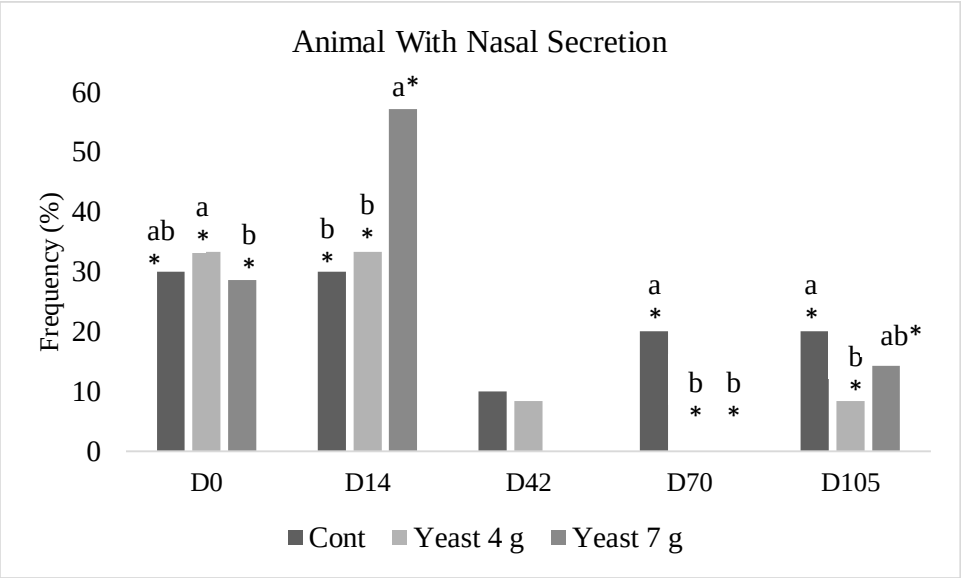


**Figure 5.** Orbital temperature of feedlot steers fed a diet supplemented with autolyzed yeast. Different letters at the same time indicate a significant difference (*) ($P \leq 0.05$) in the treatment interaction.

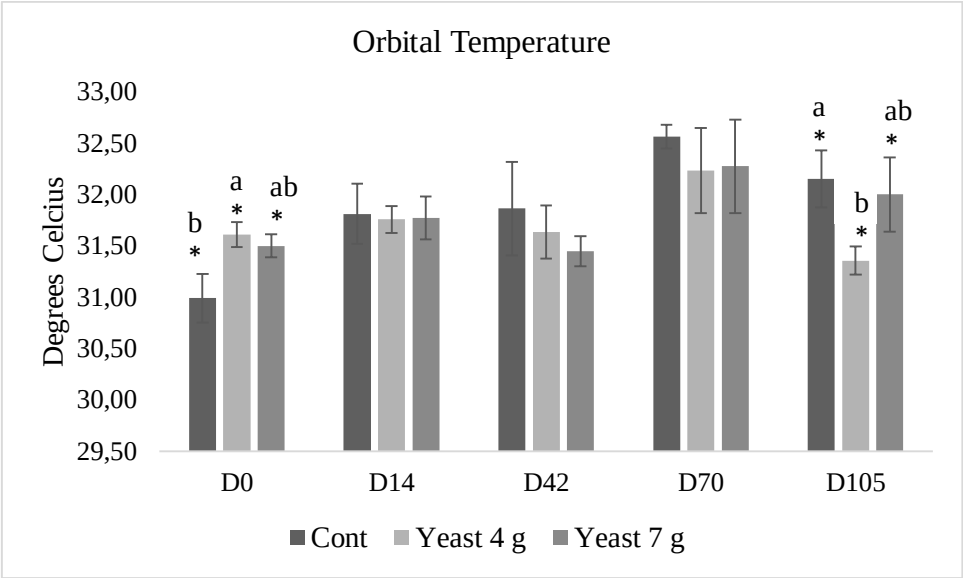


**Figure 6.** Frequency and severity of pneumonia in feedlot steers fed a diet supplemented with autolyzed yeast. Macroscopic lung injury were classify as Score 1: Absence of injury; Score 2: lesions in up to 50% of the pulmonary cranial lobe; Score 3: lesions in between 50% to 75% of the pulmonary cranial lobe; and Score 4: lesions in over 75% of the pulmonary cranial lobe. Letters indicate differences (*) ($P \leq 0.05$) or statistical trends ($0.05 > P \leq 0.1$) in the treatment interaction. Chi-square test.

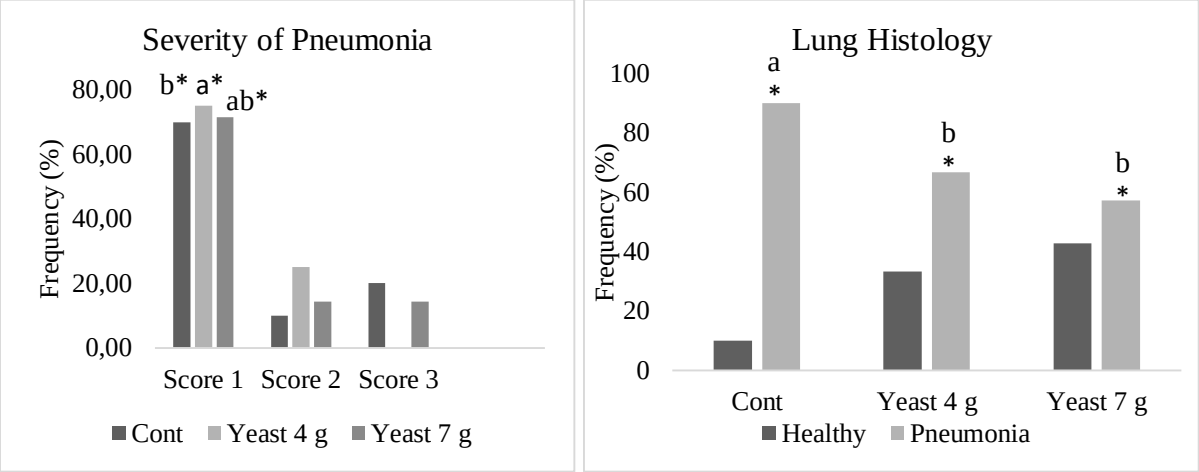


**Figure 7.** Interstitial pneumonia in the bovine lung. A: Degeneration and desquamation of the bronchiolar epithelium. B: Mononuclear inflammatory infiltrate. C: Thickening of the alveolar epithelium. 10x magnification. D: Interstitial alveolitis with the presence of squamous metaplasia. 40x magnification. Haematoxylin and eosin staining.

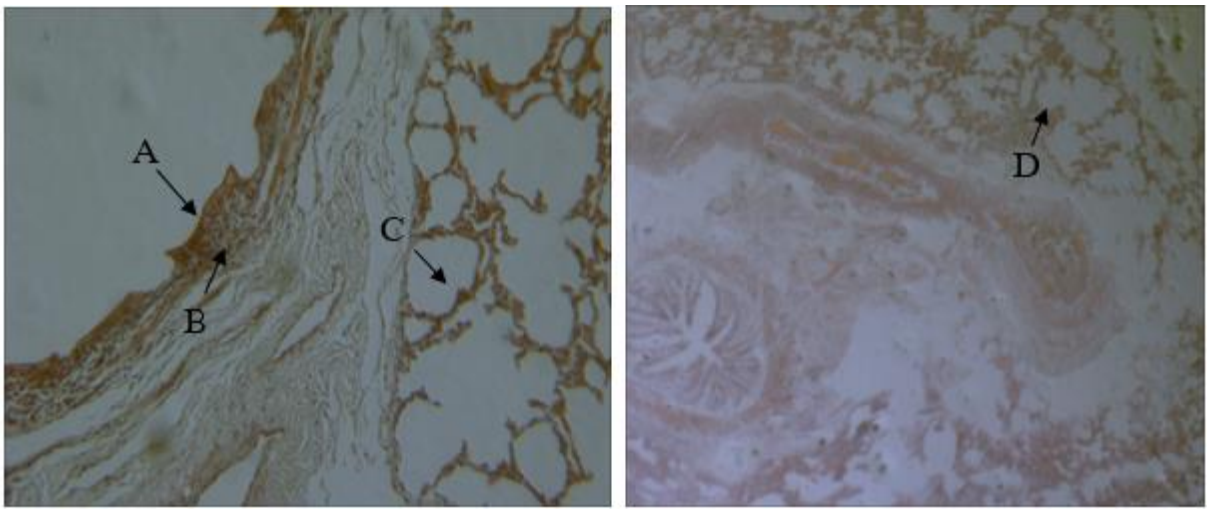
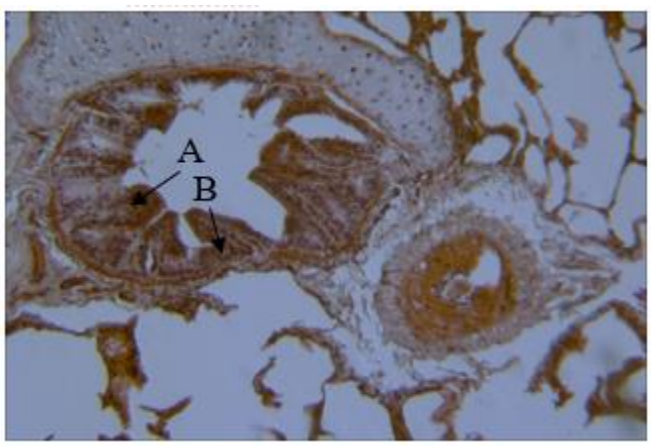


**Figure 8.** Fibrinous pneumonia in the bovine lung characterized by A: epithelial coagulative necrosis and B: mild fibroplasia of the epithelium.



**ANEXO 1**

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO PARA A REVISTA LIVESTOCK SCIENCE

15/12/2020 Email – Gabriela Garbossa – Outlook

Tudo | Livestock Science | Reunir agora | GG

Nova mensagem | Responder | Excluir | Arquivar | Lixo Eletrônico | Mover para | ...

Pastas

Caixa de En... 5890

Lixo Eletrônico 48

Rascunhos 39

Itens Enviados

Itens Excluídos

Arquivo Morto

Anotações 13

Histórico de Conv...

RSS Feeds

**manuscript LIVSCI_2020_1524 received by Livestock Science**

LS Livestock Science <EviseSupport@elsevier.com>
Sex, 02/10/2020 11:42
Para: Você

Dear Miss. Garbossa,

We have received the manuscript 'Supplementation with autolyzed yeast improves the oxidative burst and reduces pneumonia in feedlot steers' for consideration for publication in Livestock Science. You have designated heloisa bertagnon as the Corresponding Author of this manuscript.

The manuscript can now only be accessed by heloisa bertagnon - it no longer appears on your homepage under 'My Submissions'. All further communications related to this submission will be sent to heloisa bertagnon.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Livestock Science

# ANEXO 2

## ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS E DESCRIÇÃO DO PRODUTO RUMEN YEAST

RumenYeast®

| DESCRIÇÃO DO PRODUTO | | |
|---|---|---|
| **RumenYeast® é a nutrição ideal para a flora ruminal. RumenYeast® estimula a atividade das bactérias celulolíticas, impulsionando a condição da microflora do rúmen, o que levará a uma produção de leite e carne significativamente maior e à melhoria na saúde geral e bem-estar dos ruminantes. RumenYeast® possui alta quantidade de β-glucanas e MOS que atravessam o rúmen sem serem degradados (by pass) chegando ao intestino grosso e agindo na aglutinação de bactérias (fimbria tipo 1) e adsorção de micotoxinas.** | | |
| **ANÁLISES TÍPICAS:** | | |
| Contagem total de células | Cells/g | $2,0 \times 10^{10}$ |
| NPN | g/kg | 0,50 |
| Extrato Etéreo | g/kg | 10,0 |
| Fibra Bruta | g/kg | 90,0 |
| Cinzas | g/kg | 70,0 |
| Digestibilidade Ileal | %(p/p) | 75,0 |
| Mananoligossacarideos | g/kg | 120,0 |
| B- Glucanas | g/kg | 210,0 |
| Energia Digestivel | kcal/kg | 3,432 |
| Densidade | g/L | 500,0 |
| Tamanho médio da partícula | mesh | 120 |

| GARANTIAS: | | | |
|---|---|---|---|
| **ANÁLISES BROMATOLÓGICAS:** | | | |
| Metabolitos de Fermentação | g/kg | mín. | 400,0 |
| Umidade | g/kg | máx. | 80,0 |
| Proteína Bruta | g/kg | mín. | 350,0 |
| **ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS:** | | | |
| Bactérias aeróbias mesófilas totais | UFC/g | máx. | 15.000 |
| Coliformes Totais | NMP/g | máx. | 10 |
| Coliformes termotolerantes | NMP/g | - | Ausente |
| Bolores e leveduras | UFC/g | máx. | 100 |
| *E. coli* | /1g | - | Ausente |
| Salmonellas | /25g | - | Ausente |
| **ANÁLISES TÍPICAS DE VITAMINAS:** | | | |
| Tiamina (B1) | ppm | | 3,20 |
| Riboflavina (B2) | ppm | | 5,10 |
| Niacina (B3) | ppm | | 61,0 |
| Ácido Pantotênico(B5) | ppm | | 78,0 |
| Piridoxina (B6) | ppm | | 1,5 |
| Colina(B7) | ppm | | 1.320,0 |
| Biotina (B8) | ppm | | 0,3 |
| Ácido Fólico (B9) | ppm | | 0,2 |
| Cobalamina (B12) | ppb | | 2,79 |
| **CARACTERISTICAS FÍSICAS:** | | | |
| Pó fino, de coloração bege a marrom, de boa fluidez e livre de aglomerações. Odor típico. | | | |

**O **RumenYeast®** é um produto natural que apresenta variação de cor devida diferentes matérias-primas utilizadas no processo fermentativo, porém esta variação não interfere na sua qualidade funcional.*

| ANÁLISES TÍPICAS DE MINERAIS: | | |
|---|---|---|
| Cálcio | % | 0,11 |
| Enxofre | % | 0,31 |
| Fósforo | % | 0,62 |
| Magnésio | % | 0,08 |
| Potássio | % | 0,75 |
| Sódio | % | 0,03 |
| Cobre | ppm | 0,00 |
| Cromo | ppm | 1,15 |
| Ferro | ppm | 470,83 |
| Manganês | ppm | 47,50 |
| Selênio | ppm | 001 |
| Zinco | ppm | 96,67 |
| **AMINOÁCIDOS TOTAIS TÍPICOS** | | |
| Ácido Aspártico | % | 4,17 |
| Ácido Glutâmico | % | 4,31 |
| Alanina | % | 2,00 |
| Arginina | % | 2,00 |
| Cistina | % | 0,46 |
| Fenilalanina | % | 2,25 |
| Glicina | % | 1,43 |
| Histidina | % | 1,18 |
| Isoleucina | % | 1,36 |
| Leucina | % | 2,80 |
| Lisina | % | 2,63 |
| Metionina | % | 0,61 |
| Prolina | % | 1,19 |
| Serina | % | 1,91 |
| Taurina | % | *Não detectado* |
| Tirosina | % | 1,22 |
| Treonina | % | 1,22 |
| Triptofano | % | 0,54 |
| Valina | % | 2,35 |

**DOSAGEM:**

**Gado de Corte:**

Bezerros: (7 g/cabeça/dia)

Engorda: (7 g/cabeça/dia)

**Gado Leiteiro:**

Bezerros: (7 g/cabeça/dia) Transição: (14 g á 28g/cabeça/dia) Novilhas: (7 g/cabeça/dia)

**** Durante o período de transição, a dose recomendada pode ser aumentada até 28 g/cabeça/dia.***

**Lactação: (14 g/cabeça/dia)**

***** Em situações de estresse, recomenda-se dobrar a dosagem de alimentação.***

**EMBALAGEM:**

Saco de papel de 25 kg com polietileno interno/ bag de 800 kg

**ARMAZENAGEM:**

Armazenar em local seco e fresco longe da luz solar e de insetos.

**VALIDADE:**

24 Meses da data de fabricação

**ESTE PRODUTO É GMO Free**

** ESTA FICHA DE ESPECIFIÇÃO É APENAS PARA FINS INDICATIVOO*