

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

**PRODUTOS DERIVADOS DE LEVEDURA DIMINUEM  
AFECÇÕES RESPIRATÓRIAS E MELHORAM A  
SAÚDE DE NOVILHOS CONFINADOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**BRUNA FERNANDA ZDEPSKI**

**GUARAPUAVA-PR**

**2022**

**BRUNA FERNANDA ZDEPSKI**

**PRODUTOS DERIVADOS DE LEVEDURA MELHORAM A SAÚDE DE BOVINOS  
CONFINADOS**

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

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Heloísa Godoi Bertagnon

Orientadora

GUARAPUAVA-PR

2022

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

Zdepski, Bruna Fernanda

Z39p      Produtos derivados de levedura diminuem afecções respiratórias e melhoram a saúde de novilhos confinados / Bruna Fernanda Zdepski. – – Guarapuava, 2022.  
viii, 34 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Área de concentração: Saúde Animal, 2022.

Orientadora: Heloísa Godoi Bertagnon

Banca Examinadora: Maiara Blagitz Azevedo, Mikael Neumman

Bibliografia

1. Complexo respiratório bovino (CRB). 2. Espécies reativas de oxigênio (ERO). 3. Levedura. 4. Síndrome acidose ruminal subaguda (SARA). I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD 636

***Bruna Fernanda Zdepski***

*Produtos derivados de levedura diminuem afecções respiratórias e melhoram a saúde de novilhos confinados"*

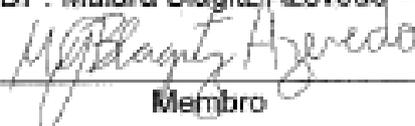
Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 09 de março de 2022.

Profª. Drª. Heloisa Godoi Bertagnon – UNICENTRO

  
\_\_\_\_\_  
Presidente

Profª. Drª. Maiara Blagitz Azevedo – UFFS

  
\_\_\_\_\_  
Membro

Prof. Dr. Mikael Neumann – UNICENTRO

  
\_\_\_\_\_  
Membro

GUARAPUAVA-PR

2022

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar se a administração de duas apresentações de *Saccharomyces cerevisiae* melhoram a saúde de novilhos terminados confinados, 33 novilhos ½ sangue Angus-Nelore, (350 ±10 kg peso vivo e 11 ± 5 meses de vida) alimentados com dieta energética foram avaliados no início (0 e 16 dias), meio (44 e 72 dias) e final (100) de confinamento, por meio de metabolismo oxidativo de leucócitos; o status inflamatório, saúde do trato respiratório e histomorfologia do rúmen e intestino. Os novilhos que receberam *Saccharomyces cerevisiae* na forma de cultura (n=12) apresentaram incremento médio de 7% no metabolismo oxidativo neutrofilico, menores indicadores de doença respiratória e menor status inflamatório na fase intermediária e final do confinamento. Similarmente os novilhos que receberam *S. cerevisiae* na forma autolisada (n=10) tiveram incremento de 10% no metabolismo oxidativo neutrofilico e menor status inflamatório na fase intermediária e final do confinamento, porém apresentaram mais indicadores de doenças respiratórias que o primeiro tratamento. Embora esta apresentação tenha atuado também em papila ruminal, sua ação foi tênue, minimizando apenas o escore de ruminite, mas não impedindo a queratinização de papilas ruminais. Conclui-se que ambas as apresentações de *S. cerevisiae* aumentaram a saúde dos animais em relação ao grupo controle (n=11), destacando-se a suplementação com cultura de *S. cerevisiae*, que resultaram em menor alteração de papilas ruminais compatíveis com menor ocorrência de SARA, melhores resultados do sistema imunológico e menor ocorrência de CRB.

**Palavras-chave:** complexo respiratório bovino (CRB), espécies reativas de oxigênio (ERO), levedura, síndrome acidose ruminal subaguda (SARA).

## ABSTRACT

In order to evaluate if the administration of two presentations of *Saccharomyces cerevisiae* improves the health of feedlot finished steers, 33 ½ blood Angus-Nelore steers (350 ±10 kg body weight and 11± 5 months old) fed an energy diet were evaluated at the beginning (0 and 16 days), middle (44 and 72 days) and end (100) of feedlot by means of leukocyte oxidative metabolism, inflammatory status, health of the respiratory tract and histomorphology of the rumen and intestine. Steers that received *Saccharomyces cerevisiae* as culture (n=12) showed an average 7% increase in neutrophil oxidative metabolism, lower indicators of respiratory disease and lower inflammatory status in the intermediate and final phase of feedlots. Similarly, the calves that received *S. cerevisiae* in autolysed form (n=10) had 10% increase in neutrophilic oxidative metabolism and lower inflammatory status in the intermediate and final phase of the feedlot but presented more indicators of respiratory diseases than the first treatment. Although this presentation also acted on rumen papillae, its action was tenuous, minimizing only the rumenitis score, but not preventing the keratinization of rumen papillae. We conclude that both presentations of *S. cerevisiae* increased the health of animals in relation to the control group (n=11), highlighting the supplementation with culture of *S. cerevisiae*, which resulted in less alteration of rumen papillae compatible with lower occurrence of ARDS, better results of the immune system and lower occurrence of CRB.

**Keywords:** bovine respiratory complex (CRB), reactive oxygen species (ROS), yeast, subacute rumen acidosis syndrome (SARA).

**LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1** - Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total.....32
- Tabela 2**- Leucograma de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.....32

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Metabolismo oxidativo de leucócitos sanguíneos (MO) de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*. .....27
- Figura 2- Haptoglobina sérica (H), temperatura retal (T) e razão neutrófilo/linfócito (N/L) de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*. .....28
- Figura 3- Frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta e pneumonia de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*. .....29
- Figura 4- Histomorfologia papilas ruminais e porcentagem de protozoários ruminais pequenos, médios e grandes, frequência dos escores de índice mitótico e de inflamação ruminal de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*. .....30
- Figura 5- Histomorfologia intestinal de duodeno e jejuno de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*. .....31

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Sistema de confinamento .....	3
2.2 Estresse .....	3
2.3 SARA- Síndrome Acidose Ruminal Subaguda .....	5
2.4 CRB- Complexo doença respiratória bovina .....	7
2.5 Aditivos alimentares .....	9
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>11</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
3.1 GERAL .....	17
3.2 ESPECÍFICOS .....	17
<b>4</b> <b>CAPÍTULO 1 – Efeito da <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em cultura ou lisada na imunidade inata e na morfologia ruminal e intestinal de novilhos terminados em confinamento<sup>1</sup></b> .....	<b>18</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>21</b>
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>24</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A terminação de bovinos em confinamento é elementar para a intensificação do sistema produtivo da carne, pois promove a obtenção de animais melhor acabados em menor tempo e espaço. Entretanto, se trata de um sistema com maior custo de produção e desafios sanitários, principalmente porque os animais são submetidos a dietas energéticas e estresse relacionados ao transporte, segregação de lotes e mudança de ambiente, que acabam prejudicando a homeostase do animal (LOPES; MAGALHÃES, 2005).

Estes desafios predisõem a produção aumentada de cortisol e síndrome acidose ruminal subclínica (SARA), responsáveis tanto pelo menor desempenho animal, como pela diminuição da imunidade, favorecendo a ocorrência de doenças infecciosas, como o complexo doença respiratória dos bovinos (CRB). Ambas as doenças são de difícil diagnóstico precoce, pois a sintomatologia inicial é discreta e inespecífica, perpetuando o problema por longos períodos. Além disso, quando não tratada, a CRB normalmente evolui para casos mais graves e de difícil resposta ao tratamento, podendo atingir 75% de morbidade e 50% da mortalidade (REZENDE, 2010).

Diante deste entrave, o uso de leveduras como aditivo alimentar vem ganhando destaque tanto para melhorar o desempenho animal como para atenuar os efeitos indesejáveis do confinamento bovino (FINCK *et al.*, 2014; BROADWAY *et al.*, 2015).

*Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais utilizada atualmente, sendo produzida em diferentes tipos. Como células vivas íntegras ou desidratadas estimulam o consumo de oxigênio ruminal, conseqüente do crescimento e metabolismo das bactérias anaeróbicas fibrolíticas e bactérias que utilizam ácido lático no rúmen. Tal fato estabiliza o pH ruminal diminuindo a SARA, aumenta a digestibilidade do alimento e promove maior fluxo duodenal de nitrogênio (UYENO *et al.*, 2015).

Como fragmentos de levedura contendo substratos de carboidratos, estimulam seletivamente a atividade ou crescimento de alguns microrganismos pré-existentes no trato digestório, além de fornecerem metabolitos prontamente digeríveis e com propriedades imunológicas. Eles ainda previnem a colonização de agentes patogênicos e asseguram melhor utilização de nutrientes, harmonizando a função digestiva e a saúde do animal (UYENO *et al.*, 2015).

Em seu experimento, Noschang, *et al.* (2019) observaram que levedura a base de *Saccharomyces cerevisiae* hidrolisada na dieta de ovinos confinados promoveu aumento das concentrações plasmáticas de proteína total (PPT) em relação ao grupo controle devido a sua capacidade de estimular crescimento dos microrganismos do rúmen. Mao *et al.* (2013) também viram incremento a proteína microbiana e melhora do ambiente ruminal.

Huber (1997) e Cole *et al.* (1992) verificaram que embora a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* não influenciou a saúde, desempenho ou resposta ao desafio com vírus da rinotraqueíte bovina (IBR) em bovinos confinados, ela possibilitou menor tempo de tratamento, manutenção do peso corpóreo e do consumo de alimento em comparação ao grupo controle.

Sousa (2019) em seu experimento com bovinos nelore, verificou que a suplementação com levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* não interferiu na morfologia e histologia das papilas ruminais, porém atenuou os quadros de ruminite.

Nestes sentido uma série de estudo tem demonstrado a eficiência das diferentes apresentações de levedura no desempenho de bovinos confinados (GONZÁLES; SILVA, 2006; MAO *et al.*, 2013, JUNIOR *et al.*, 2019), porém poucas foram as pesquisas que focaram exclusivamente na imunidade (VIRMOND *et al.*, 2019; GARBOSSA, 2020), redução da inflamação do trato gastrointestinal (DIAZ *et al.*, 2018; SOUSA, 2019) e na redução de CRB (FINCK *et al.*, 2014; KEYSER *et al.*, 2007; VIRMOND *et al.*, 2019; e GARBOSSA, 2020). Além disso, fatores como a idade, o estresse, o tipo e adaptação à dieta e a apresentação das leveduras interferem nos resultados. Portanto, cada tipo de criação, com suas particularidades, e a concentração e formulação das leveduras usadas devem ser analisadas especificamente para cada caso (BROADWAY, CARROLL; SANCHEZ, 2015, UYENO *et al.*, 2015).

Sugere-se que as apresentações de *Saccharomyces cerevisiae*, seja na forma de cultura ou seja na forma de estrato lisado, promovam incrementos na saúde animal, possibilitando que produtores tenham uma opção segura responsável por maior produtividade, saúde e bem-estar animal.

Desta forma, o objetivo do experimento foi avaliar o efeito da administração de apresentações de levedura, na forma de cultura ou na forma autolisada, na imunidade e consequentemente na ocorrência de SARA e CRB em bovinos confinados.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Sistema de confinamento

A bovinocultura de corte tem como sistemas de criação: a pasto, semi-confinado e confinado. Dentre estes sistemas, a terminação de bovinos em confinamento é elementar para a intensificação do sistema produtivo da carne pois, proporciona lotação mais elevada que os regimes de pastejo, reduz idade de abate, gera produtos de melhor qualidade, aumenta o desfrute e o fluxo dos frigoríficos na entressafra, capta maior giro de capital, promove melhor aproveitamento das áreas de pastagens para outras categorias animais e elevada produção de adubo orgânico (LOPES; MAGALHÃES, 2005).

Suas desvantagens, como maior custo de produção e maiores desafios sanitários, induzem desde maior índice de doenças clínicas até alterações não perceptíveis responsáveis pelo enfraquecimento do sistema imunológico do animal, quer pelo estresse e ou pelo manejo alimentar resultados em perdas de produtividade e impactos no bem-estar animal (RICHEY, 2003).

Apesar das desvantagens, o sistema intensivo tem ganhado espaço, transparecendo em R\$ 747,05 bilhões do PIB (Produto Interno Bruto) brasileiro pela pecuária de corte, crescimento de 20,8% em 2020, com aumento da área de pastagem de apenas 0,2%. Apesar do número de abates ter diminuído 4,2% em comparação a 2019, houve aumento de 8% na exportação de carne, pela agregação de mais dois países para a exportação, mas principalmente pela consolidação do mercado. Como a China, que aumentou em 127% seu volume exportado. (ABIEC, 2021).

Tal cenário motiva busca de alternativas que diminuam as desvantagens, sejam por estratégias que busquem a diminuição do custo sem perder a qualidade, seja por medidas de manejo que garantam o conforto dos animais a fim de diminuir o estresse, especialmente no que tange ao fortalecimento do animal frente aos desafios sanitários por meio de suplementações (BARBIERI *et al.*, 2016).

### 2.2 Estresse

Fadiga, restrição de água e alimento durante o transporte, segregação de lotes distintos, restrição a espaços pequenos, mudança abrupta na dieta, ambiente, manejo e funcionários, resultam em uma perturbação nas funções endócrinas e neuroendócrinas (MARQUES, 2006).

Fatores que ativam a fase aguda do estresse, onde há resposta rápida do Sistema Nervoso Autônomo Simpático (SNAS), viabilizando a ativação das glândulas suprarrenais, iniciando a secreção hormonal principalmente de adrenalina e noradrenalina que elevam a frequência cardíaca, respiratória e aumentam os níveis de glicose sanguínea (FRANCISCO, 2014; CARROL; FORSBERG, 2007; FORSBERG, 2004; BLECHA, 2000).

No estresse crônico, há secreção contínua do corticosteroide que tem como finalidade manter e restaurar a homeostase do organismo lesado, preservar o aporte de oxigênio para tecidos nobres, mobilizar glicose, reduzir os efeitos dolorosos e manter o equilíbrio da temperatura corpórea, ativando o catabolismo proteico e elevando a glicemia. Esse processo leva a diminuição de ingestão de alimento e conseqüentemente maior gasto de energia. Para tal resposta, há mobilização de reserva corporal, aumentando a concentração de ácidos graxos não esterificados no organismo, resultando em falhas nutricionais com conseqüente queda na produção e diminuição na capacidade de resposta imunológica indiretamente (FRANCISCO, 2014; STOCHE *et al.*, 2001).

Além disso o cortisol promove diminuição da permeabilidade dos capilares sanguíneos, fazendo com que aumente significativamente a quantidade de neutrófilos no sangue e diminua a fagocitose de agentes invasores e das células lesadas, restringindo a ação da imunidade celular. Interfere ainda reduzindo a atividade de fagócitos residentes, como macrófagos alveolares no trato respiratório. Há ainda a atrofia de tecidos linfoides e diminuição da produção de citocinas, o que interfere diretamente na quantidade de células T, B e produção de anticorpos, restringindo também a atividade da resposta imune humoral (ROSA, 2003; FONTENOT, 2015; BROADWAY *et al.*, 2015).

Ainda, o aumento na concentração do cortisol inibe a ação do hormônio antidiurético intensificando a diurese, que juntamente com o aumento da frequência respiratória promovida pelas catecolaminas e a restrição de água por falha do manejo, promovem desidratação, aumentando a concentração sanguínea (PARKER *et al.*, 2003; FERGUSON; WARNER, 2008; PIGHIN *et al.*, 2015).

No que diz respeito ao trato respiratório, a hidratação do animal influencia a produção do muco pelas glândulas submucosa e da taça da região traqueal. Essas secreções contêm

substâncias antimicrobianas, anti e pró-inflamatórias, imunomoduladoras e cicatrizantes e integram um dos principais sistemas de defesa do trato respiratório, a depuração mucociliar. Esta é responsável por aglutinar partículas inaladas depositadas na traqueia e eliminá-las por movimento retropulsor para narinas ou boca. A dificuldade de defesa do trato respiratório aliado a condição de imunossupressão sistêmica causada pelo estresse, favorece a ocorrência de infecções, principalmente causadas por bactérias oportunistas, tornando o complexo respiratório bovino (CRB) uma afecção constata em bovinos confinados (CASWELL, 2014).

No que diz respeito ao sistema gastrointestinal, a mudança abrupta de dieta leva a uma queda do pH ruminal. O animal que já está mais debilitado com os demais fatores estressantes do início do confinamento, se torna ainda mais vulnerável à um quadro de acidose metabólica aguda. Esta é responsável por sintomatologia clínica grave de desidratação, apatia, diminuição na ruminação, laminite e evolução ao óbito do animal muitas das vezes. A porcentagem de mortalidade nos casos não tratados ou tratados indevidamente pode chegar a 90%, e em casos tratados está em torno de 30 a 40% (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Trabalhos que falem sobre a situação do

### **2.3 SARA- Síndrome Acidose Ruminal Subaguda**

Para explorar a maior produção animal, bovinos confinados recebem dietas altamente palatáveis, contendo ingredientes de alta digestibilidade e altos níveis de energia. Essa combinação, impacta diretamente no ambiente ruminal, podendo levar ao aparecimento da acidose clínica em graus variados. Quando o fornecimento dessa dieta ocorre em animais não adaptados, há uma súbita queda do pH ruminal e uma acidose metabólica aguda (KLEEN *et al.*, 2003; RODE, 2002).

No entanto, sua forma mais comum é Síndrome Acidose Ruminal Subclínica (SARA), caracterizada por quedas do pH ruminal abaixo de 6,0 por curtos períodos, mas com frequência considerável. Como a sintomatologia é mais discreta e inespecífica, caracterizada por inapetência, diarreia, perda de peso, menor desempenho dos animais e diminuição dos movimentos ruminais, há dificuldades no estabelecimento do diagnóstico (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A patogenia deste distúrbio ocorre porque a fermentação ruminal produz Ácidos Graxos Voláteis (AGV) mais ácidos, como ácido propiônico e butírico em velocidade que excedem a

capacidade ruminal de absorção e a capacidade tamponante da saliva, resultando em acidose ruminal e ruminite momentânea (DE CARVALHO, 2011). Esta situação interfere na capacidade de barreira seletiva da mucosa ruminal, aumentando tanto a absorção de AGV como de bactérias ruminais pelo sistema porta hepático, podendo levar desde acidose intracelular nos hepatócitos a abscessos hepáticos, o que diminui a funcionalidade hepática do animal (GAYLEAN *et al.*, 1999; MACEDO *et al.*, 2020).

Conforme o pH ruminal diminuí, há a seleção da microbiota, diminuindo os protozoários e aumentando a população de bactérias Gram-positivas como *Streptococcus bovis* (que consome glicídios para a maior produção de ácido láctico) e *Lactobacillus sp.* produtoras de ácido láctico, diminuindo as proporções de acetato e o beta-hidroxibutirato (GONZÁLEZ; CAMPOS, 2003).

Quando a ingestão de amido continua a aumentar de forma rápida, mais ácido láctico será produzido pelas bactérias (especificamente a *S. bovis*), conseqüentemente ocorre a morte progressiva das bactérias Gram-negativas fermentadoras de ácido láctico mais sensíveis a pH ácido, como *Megasphaera eldesnii* e *Selenomonas ruminantium*, aumentando o acúmulo de ácido láctico no líquido ruminal (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007).

Na SARA, a produção de ácido láctico é moderada, portanto ele será metabolizado no fígado, sendo oxidado ou precursor da glicose na neoglicogênese, utilizando íons H<sup>+</sup> e produzindo indiretamente efeito tampão. Assim é possível manter o equilíbrio ácido básico pela utilização de bicarbonato e eliminação de CO<sub>2</sub> pela respiração (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A morte de bactérias Gram negativas libera para o ambiente ruminal lipídeos de sua camada externa, os lipopolissacarídeos (LPS), que ao atingir a corrente sanguínea pré-hepática, ativa a produção de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores em grande quantidade, produzindo uma resposta de fase aguda capaz de levar a quadros de imunodepressão (GOZHO *et al.*, 2005).

Na forma mais grave, há quimiotaxia de neutrófilos para a mucosa ruminal, o que gera depleção destes na circulação sanguínea. Assim, os bovinos apresentam leucopenia por neutropenia e redução da atividade fagocitária, tornando o animal mais susceptível a afeções infecciosas (RODRIGUEZ-LECOMPTE *et al.*, 2014; ENEMARK, 2009; CERONI *et al.*, 2012).

Tanto este estado inflamatório como a própria acidose metabólica podem provocar aumento na secreção de cortisol, hipoglicemia, redução da atividade fagocitária e da velocidade de migração dos neutrófilos, o que contribui para o aumento da susceptibilidade dos bovinos a doenças infecciosas, principalmente as bacterianas, que dependem de resposta neutrofílica para serem combatidas, como o CRB (ENEMARK *et al.*, 2002).

Embora a produção de LPS seja comumente associada à população de bactérias Gram-negativas no rúmen, acredita-se que o aumento de *E. coli* no rúmen ou intestinos seria uma outra explicação para o aumento de LPS na circulação periférica, tendo em vista que o poder inflamatório da LPS de *E. coli* é mais potente. Portanto, embora a absorção de LPS ocorra no ambiente ruminal, parece que o epitélio intestinal representa uma forte barreira para impedir casos de inflamação generalizada e enterotoxemia (GRESSLEY *et al.*, 2011; PHAFIPOUR *et al.*, 2011).

Desta maneira, torna-se importante adequar o rúmen para dietas ricas em grãos, sugerindo-se um período maior de adaptação associado a uma dieta onde parte do amido seja substituído por uma fonte de energia de degradação mais lenta, como subprodutos fibrosos. É necessário também que haja fibra efetiva suficiente para estimular a mastigação, produzindo saliva, prevalecendo a ação tamponante no rúmen, evitando as oscilações de pH e promovendo aumento das populações de bactérias capazes de utilizar o ácido láctico (DIAZ; BRANCO, 2019).

Esta medida não só reduz a acidose ruminal por meio do consumo dos ácidos, como também aumenta a capacidade do epitélio ruminal em absorver AGV. A manutenção do pH ruminal constante mantém íntegra a superfície papilar, não reduzindo nem o número nem o tamanho das papilas ruminais, e ainda mantém o epitélio ruminal funcional. Em ambientes mais ácidos, ocorre uma maior queratinização do epitélio ruminal, alargando e encurtando as papilas ruminais como mecanismo de proteção, o que é associado à redução da absorção de AGV no rúmen e agravamento do quadro de acidose (HINDERS; OWEN, 1965, DIAZ, 2017).

#### **2.4 CRB- Complexo doença respiratória bovina**

Desta maneira, tanto o estresse como a SARA favorecem a ocorrência de doenças infecciosas. Em bovinos confinados, o CRB é conhecido pelo seu significativo impacto econômico negativo, visto que é o principal causador de doença clínica e morte. Nesta afecção,

há um desequilíbrio das defesas naturais do animal devido os fatores AUTernos estressantes em que ele é submetido, facilitando a colonização do trato respiratório por agentes infecciosos (REZENDE, 2010).

Entre eles citam-se os agentes virais de maior relevância: os vírus da Doença Respiratória e Sincicial Bovina (BRSV), da Parainfluenza tipo 3 (PI-3), Herpesvírus Bovino tipo 1 (BHV-1) e o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), que comprometem ainda mais a defesa do trato respiratório, favorecendo que bactérias comensais da microbiota da nasofaringe, como *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovirhinis*, *Mycoplasma dispar*, *Ureaplasma diversum* alcancem os pulmões, agravando a doença (PANSRI *et al.*, 2020; TAYLOR *et al.*, 2010).

O CRB se torna um desafio no sistema intensivo de produção, pois é considerada a causa mais comum de doença pós desmama em bovinos de corte e responde por cerca de 75% da morbidade e 50% da mortalidade em confinamentos americanos (BABCOCK, *et al.*, 2010)

Essa casuística é altamente dependente das situações estressantes vivenciadas no confinamento, que afetam os mecanismos de limpeza e defesa do sistema respiratório (SCHNEIDER *et al.*, 2009). Quanto maior o estresse, maior o risco de ocorrer CRB em bovinos confinados. Desta maneira elenca-se como fatores de alto risco de ocorrência da doença: grandes distância e tempo de transporte, confinamento de grande porte e muitos animais por baía, agrupamento com mistura de animais de diferentes origens ou tamanhos e baixo escore de condição corporal (SANDERSON *et al.*, 2008).

O diagnóstico precoce de CRB é difícil pois os sinais clínicos são inespecíficos, variando desde apatia, diminuição de consumo, até mesmo em casos mais agudos com febre, secreção nasal purulenta bilateral e dispneia. Esse atraso em estabelecer o diagnóstico permite o agravamento da doença tornando o tratamento menos responsivo, mais demorado e com maiores chance de ocorrer o óbito (SLOMPO *et al.*, 2017).

Os antimicrobianos comumente utilizados para o tratamento são oxitetraciclina, sulfa com trimetropim, tilmicosan e ceftiofur durante 15 dias no mínimo. Apesar de serem usados para eliminação de bactérias tanto de causa primária e/ou secundária, a eficácia varia dependendo da sensibilidade dos microrganismos, além do tempo de infecção (CUSACK *et al.*, 2003).

Por se tratar de uma doença de grande impacto econômico e tratamento demorado, faz-se necessário a percepção dos fatores de risco em conjunto ao manejo focado a profilaxia. Neste

sentido, aditivos alimentares têm sido estudados devido suas propriedades de redução de SARA bem como sua ação imunoestimulante, havendo uma grande variedade tipos e apresentações no mercado (SLOMPO *et al.*, 2017).

## 2.5 Aditivos alimentares

A procura dos suplementos alimentares vem sendo cada vez mais intensa pelos pecuaristas, visto que estes podem contribuir para o melhor desempenho dos animais em crescimento e terminação. Classicamente esta ação era exercida pelos ionóforos, cuja crescente restrição pelo mercado consumidor, motivou a busca de alternativas mais sustentáveis. Por este motivo, há grande diversidade de aditivos no mercado, com vantagem de não deixarem resíduo no produto, além de evitarem o aparecimento de bactérias resistentes. Já se sabe que estes aditivos incrementam a produtividade animal, reduzindo os custos de produção, mas nos últimos anos, o foco tem recaído sobre seus efeitos na imunidade e sanidade animal (OLIVEIRA *et al.*, 2005, BRODWAY *et al.*, 2015).

A Instrução Normativa 13/04 define aditivo como produtos destinados à alimentação animal, “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizado normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais”. Ainda os aditivos são classificados em categorias, onde um aditivo pode se incluir em uma ou mais destas (BRASIL, 2015).

Os aditivos zootécnicos se trata de toda substância utilizada para influir positivamente na melhoria do desempenho dos animais. Onde podemos incluir a cultura de fungos vivos, em especial a levedura de *Saccharomyces cerevisiae*, são utilizadas como suplemento há anos. Trata-se da levedura mais utilizada atualmente e é produzida de diversos tipos. (LYNCH; MARTIN, 2002).

Seus benefícios na modulação ruminal, como estabilidade do pH ruminal e melhor perfil de produção de ácidos graxos de cadeia curta (PARAPOULI *et al.*, 2020; POPPY, 2008). promovem um ambiente mais favorável para o desenvolvimento de bactérias fibrolíticas (SCHINGOETHE *et al.*, 2004; NOSCHANG *et al.*, 2019).

Fornecidas como células vivas e íntegras, ou na forma desidratada, fornece além das células de leveduras e seus constituintes, o meio fermentativo. Promovem o consumo do oxigênio ruminal, pelo estímulo de crescimento e metabolismo das bactérias anaeróbicas fibrolíticas e bactérias que utilizam ácido lático no rúmen (POPPY, 2008; SHURSON, 2018; ALVES et al., 2015).

Tal fato leva a maior eficiência na produção de ácido propiônico a partir de ácido lático, estabiliza o pH ruminal reduzindo SARA, aumenta a digestibilidade do alimento e promove maior do fluxo duodenal de nitrogênio (DIAZ; BRANCO, 2019).

A forma íntegra tem a vantagem de chegar em maior quantidade no ambiente ruminal, visto que o processo de desidratação torna inativa grande parte da levedura desidratada. E ambas as apresentações não colonizam o rúmen, necessitando de administração diária (DIAZ; BRANCO, 2019)

Nas leveduras autolisadas, o objetivo do processo de autólise é o rompimento da parede celular para maior disponibilidade do seu conteúdo citoplasmático e parede celular. Conforme seu processamento (liofilizada, autólise) ainda tem diferentes concentrações de membrana celular e de conteúdo interno (MORAIS et al., 2011; SHURSON, 2018).

Os componentes da parede celular (MOS e  $\beta$ -glucanos) tem efeito imunomodulador, controlando a resposta imune sem a indução de uma resposta inflamatória exagerada. Além disso se ligam as bactérias patogênicas, toxina e vírus, carreando as mesmas para fora da luz intestinal, e ainda aumentam a atividade fagocitária, especialmente dos macrófagos (FRANKLIN et. al., 2005; BAKER; GONÇALVES, 2012). Já o conteúdo citoplasmático é rico vitaminas do complexo B (B1, B2, B6, ácido pantotênico, niacina, ácido fólico e biotina) que desempenha funções essenciais para a manutenção do metabolismo, produção de energia, diferenciação e crescimento celular (SAID, 2004). Possuem ainda minerais essenciais, proteínas e ácidos nucléicos (teor proteico igual ou superior a 30) que servem de nutrientes aos animais (QUEIROZ *et al.*, 2015).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. Beef Report, Perfil da pecuária no Brasil. **Associação Brasileira das indústrias Exportadoras de Carnes Bovinas**, p. 49, 2019.

ALVES, P. A. P. M. et al. Uso de probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de vitelos bovinos: efeitos sobre o desempenho e a qualidade da carne. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 416-422, 2000.

BABCOCK, A. H.; RENTER, D. G.; WHITE, B. J.; DUBNICKA, S. R.; SCOTT, H. M. Temporal distributions of respiratory disease events within cohorts of feedlot cattle and associations with cattle health and performance indices. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 97, p. 198-219, 2010.

BAKER, V.; GONÇALVES, D. Aspectos biotecnológicos de um polissacarídeo de *Saccharomyces cerevisiae* (manana) na medicina veterinária. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica do Paraná**, Curitiba, v. 2, p. 51-62, 2012.

BARBIERI, R. S.; CARVALHO, J. B. D.; SABBAG, O. J. Análise de viabilidade econômica de um confinamento de bovinos de corte. **Interações (Campo Grande)**, Campo Grande, v. 17, p. 357-369, 2016.

BLECHA, F. Immune system response to stress. **The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare**. Moberg, GP & Mench, ed. JA. 2000. E-book.

BRASIL. Instrução Normativa nº 44, de 15 de dezembro de 2015. **Procedimentos a serem adotados para avaliação de segurança de uso, registro e comercialização dos aditivos utilizados nos produtos destinados à alimentação animal**. 2015.

BROADWAY, P. R.; CARROLL, J. A.; SANCHEZ, N. C. B. Live yeast and yeast cell wall supplements enhance immune function and performance in food-producing livestock: a review. **Microorganisms**, v. 3, n. 3, p. 417-427. 2015.

CARROL, J. A.; FORSBERG, N. E. Influence of Stress and Nutrition on Cattle Immunity. **Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice**, v. 23, n. 1, p. 105-149. 2007.

CASWELL, J. L. Failure of respiratory defenses in the pathogenesis of bacterial pneumonia of cattle. **Veterinary pathology**, v. 51, n. 2, p. 393-409. 2014.

CERONI, V.; TURMALAJ, L.; LIKA, E.; DURO, S. Haematological indicators affected by the subacute ruminal acidosis in dairy cows. **Journal of Animal and Veterinary advances**, v. 11, n. 7, p. 927-930. 2012.

COLE, N. A.; PURDY, C. W.; HUTCHERSON, D. P. Influence of years culture on feeder calves and lambs. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 1682-1690, 1992.

CUSACK, P. M. V.; MCMENIMAN, N.; LEAN, I. J. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. **Australian Veterinary Journal**, v. 11, n. 8, p. 480-487. 2003.

DE CARVALHO, A. U.; FILHO, E. J. F.; FERREIRA, P. M. **A acidose ruminal e suas consequências em bovinos**. v. [s.n], n. [s.n.]. 2008.

DIAZ, T. G. **Uso de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) e mananoligossacarídeos em dietas à base de grãos para ruminantes**. 2017. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Maringá- UEM, Maringá. 79p.

DIAZ, T. G.; BRANCO, A. F. Leveduras vivas e mananoligossacarídeos para prevenção de acidose ruminal subaguda. **Archivos de zootecnia**, v. 68, n. 263, p. 456-462. 2019.

ENEMARK, J. M. D.; JORGENSEN, R. J.; ENEMARK, P. S. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. **Veterinarija ir zootechnika**. v. 20, n. 42, p. 16-29, 2002.

FERGUSON, D. M.; WARNER, R. D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants?. **Meat science**, v. 80, n. 1, p. 12-19. 2008.

FINCK, D. N.; RIBEIRO F. R. B.; BURDICK P. 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, p. 333-341. 2014.

FLORES G. V. B.; THOMAZ G. R.; HORNER NETTO W.; ROSSI P. S.; STRICKLER F.; BERTAGNON H. G.; SEKI M. C.; CARRASCO A. O. T. Efeito do *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* na resposta imunológica, parâmetros hematológicos e ganho de peso de bezerros alimentados com silagem de milho. **Veterinária e Zootecnia**, v. 26, p. 1-11. 2019.

FONTENOT, L. R. **Hematological variables as predictors of bovine respiratory disease in newly received cattle fed in confinement**. 2015. Tese (Doutorado) - West texas A&M University, Canyon, 2016.

FRANCISCO, C. L. **Efeito do temperamento e do estresse nas características da carne de bovinos terminados em confinamento**. 2014. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, 2014.

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

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.

GARBOSSA, G. **Suplementação com levedura autolisada melhora eficiência de fagócitos e reduz pneumonias em novilhos terminados em confinamento**. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, Universidade Estadual do Centro Oeste- UNICENTRO- PR, 2020.

GAYLEAN, M. L.; PERINO, L. J.; DUFF, G. C. Interactin of cattle health/immunity and nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 77, 1120-1134, 1999.

GONZÁLEZ, F. H.; CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. **Simpósio de patologia clínica veterinária da região sul do Brasil**, v. 1, p. 31-47. 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

GOZHO, G. N.; PLAIZIER, J. C.; KRAUSE, D. O.; KENNEDY, A. D.; WITTENBERG, K. M. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 4, p. 1399-1403. 2005.

GRESSLEY, T. F.; HALL, M. B.; ARMENTANO, L. E. Ruminant nutrition symposium: productivity, digestion, and health responses to hindgut acidosis in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 4, p. 1120-1130. 2011.

HINDERS, R. G.; OWEN, F. G. Relation of ruminal parakeratosis development to volatile fatty acid absorption. **Journal of Dairy Science**, v. 48, n. 8, p. 1069-1073. 1965.

HUBER, T. L. Effect of acute indigestion of compartmental water volumes and osmolarity in seep. **American Journal Veterinary Residence**, v. 32, p. 887. 1997.

JUNIOR, E. S. S.; SANTOS, L. C.; BERTAGNON, H. G.; VIRMOND, M. P.; DE SOUZA, A. M.; MIZUBUTI, I. Y.; NEUMANN, M. Desempenho de bovinos em confinamento com inclusão de levedura viva na dieta. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 6, p. 2733-2748. 2019.

KEYSER, S.A.; MCMENIMAN, J. P.; SMITH, D. R.; 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 Animal Science**, v. 85, p. 1264–1273. 2007.

KLEEN, J. L.; HOOIJER, G. A.; REHAGE, J., NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 50, p. 406-414. 2003.

LOPES, M. A.; MAGALHÃES, G. P. Análise da rentabilidade da terminação de bovinos de corte em condições de confinamento: um estudo de caso. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 57, p. 374-379. 2005.

LYNCH, H. A.; MARTIN, S. A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2603–2608. 2002.

MACEDO, G. G.; DA COSTA, K. B.; DE OLIVEIRA, F. L. V. Aspectos gerais da acidose ruminal subaguda. **Ciência Animal**, v.30, n.3, p.85-96. 2020.

MAO, H.L.; WANG, J.X.; LIU, I. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on in vitro fermentation and microbial communities of low-quality forages and mixed diets. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3291–3298. 2013.

MARQUES, J. A. Comportamento de bovinos mestiços em confinamento com e sem acesso a sombra durante o período de verão. **Campo Digital**, v. 1, n. 1. 2006.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Acidosis in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 2, p. 333-350. 2007.

NOSCHANG, J. P.; TAVARES, L.; SCHMIDT, A. P.; ARAÚJO, M. C. N.; SCHMITT, E.; BRAUNER, C. C. Avaliação de proteínas séricas de ovinos suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* submetidos a troca abrupta de dieta. **ENPOS XXI Encontro de pós-graduação**. UFPEL. 2019.

OLIVEIRA, J.S.; ZANINI, A.M.; SANTOS, E.M. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v.6, n.9, p.1-23, 2005.

PANSRI, P.; KATHOLM, J.; KROGH, K. M.; AAGAARD, A. K.; SCHMIDT, L. M. B.; KUDIRKIENE, E.; OLSEN, J. E. Evaluation of novel multiplex qPCR assays for diagnosis of pathogens associated with the bovine respiratory disease complex. **The Veterinary Journal**, v. 256, p. 105425. 2020.

PARKER, A. J.; HAMLIN, G. P.; COLEMAN, C. J.; FITZPATRICK, L. A. Dehydration in stressed ruminants may be the result of cortisol-induced diuresis. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2, p. 512-519. 2003.

PIGHÍN, D. G.; DAVIES, P.; PAZOS, A. A.; CECONI, I.; CUNZOLO, S. A.; MENDEZ, D.; GRIGIONI, G. Biochemical profiles and physicochemical parameters of beef from cattle raised under contrasting feeding systems and pre-slaughter management. **Animal Production Science**, v. 55, n. 10, p. 1310-1317. 2015.

QUEIROZ, P. J. B., ÁVILA FILHO, S. H. D., FERREIRA, K. D., SANTOS, T. P. D., & SILVA, L. A. F. D. Suplementação e metabolismo de biotina em bovinos. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.11, n. 22, p. 2589. 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 (Mestrado) Universidade Federal de Goiás (UFG), 2010.

RICHEY, E. J. **The immune system**. Digital Collections, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. v. [s.n], n. [s.n.]. 2003.

RODE, L. M. Maintaining a healthy rumen – an overview. **Research centre, Agriculture & Agri-food**. Canada. 2002.

ROSA, M. S. D.; NETO, M. C.; COSTA, M. J. R. P. A visão dos bovinos e o manejo. **MILKPOINT**, Jaboticabal, v. [s.n], n. [s.n.], 2003.

RODRÍGUEZ-LECOMPTE, J. C.; KROEKER, A. D.; CEBALLOS-MÁRQUEZ, A. S.; PLAIZIER, J. C.; GOMEZ, D. E. Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, n. 97, v. 12, p. 7777-7787. 2014.

SAID, H. M. Recent advances in carrier-mediated intestinal absorption of watersoluble vitamins. **Annual Review of Physiology**, v. 66, p. 419-446. 2004.

SANDERSON, M. W.; DARGATZ, D. A.; WAGNER, B. A. Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 49, n. 4, p. 373. 2008.

SCHNEIDER, M. J.; TAIT JR, R. G.; BUSBY, W. D.; REECY, J. M. An evaluation af bovine respiratory disease complex in feedlot cattle. Impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 1821-1827, 2009.

SLOMPO, D.; BERTAGNON, H. G.; HORST, E. H.; NEUMANN, M.; MAREZE, J.; DE SOUZA, A. M.; STADLER JÚNIOR, E. S.; GOLDONI, I.; ASKEL, E. J. Manejo do complexo respiratório bovino em confinamento: Revisão. **Pubvet**, v. 11, n. 4, p. 381–392. 2017.

SOUSA, S. L. M. **Desempenho e saúde ruminal de bovinos da raça Nelore em feedlot, suplementados com leveduras vivas e fonte de lipídios**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa. 2019.

STOCHE, R. M.; GARCIA, L. V.; KLAMT, J. G. Anestesia e resposta neuroendócrina e humoral ao estresse cirúrgico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 51, p. 59-69. 2001.

TAYLOR, J. D.; FULTON, R. W.; LEHENBAUER, T. W.; STEP, D. L.; CONFER, A. W. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors?. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 51, n. 10, p. 1095. 2010.

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.

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. Fresh yeast additives improve immune parameters and reduce respiratory disease in heifers finished in feedlots. **Semina: Ciências Agrárias**; v. 41, n. 6, p. 3177-3188. 2020.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Avaliar se as apresentações de *Saccharomyces cerevisiae*: em cultura ou na forma lisada melhoram a imunidade, diminuem a ocorrência de CRB e interferem na histomorfologia de rúmen e intestino de novilho terminados em confinamento submetidos a dieta 60% de concentrado.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar se as leveduras minimizam as alterações histomorfologicas do rúmen características da SARA em bovinos terminados em confinamento.
- 2- Avaliar se as leveduras minimizam os sinais clínicos característicos de CRB em bovinos terminados em confinamento.
- 3- Avaliar se as leveduras atenuam o estatus inflamatório e melhoram a imunidade de bovinos terminados em confinamento.

## 4 CAPÍTULO 1 – Efeito da *Saccharomyces cerevisiae* em cultura ou lisada na imunidade inata e na morfologia ruminal e intestinal de novilhos terminados em confinamento<sup>1</sup>

Bruna F. Zdepski<sup>2</sup>, Jayme A. Perez<sup>2</sup>, Bianca Milla<sup>2</sup>, Sarah N. de Oliveira<sup>2</sup>, Carolina R. de Paoli<sup>2</sup>, Ana C. A. Abreu<sup>2</sup>, Gabriela Garbossa<sup>2</sup> and Heloisa G. Bertagnon<sup>2</sup>

Registro ORCID: Bruna F. Zdepski <https://orcid.org/0000-0002-8704-4385> Jayme A. Perez <https://orcid.org/0000-0002-2784-2385> Bianca Milla <https://orcid.org/0000-0001-7514-1711> Sarah N. de Oliveira <https://orcid.org/0000-0002-0123-2001> Carolina R. de Paoli <https://orcid.org/0000-0003-1152-1824> Ana C. A. Abreu <https://orcid.org/0000-0003-3722-7412> Gabriela Garbossa <https://orcid.org/0000-0001-5127-6670> Heloisa G. Bertagnon <https://orcid.org/0000-0002-6983-1000>

**ABSTRACT** - Zdepski B.F., Perez J.A., Milla B., Oliveira S.N., Paoli C.R., Abreu A.C.A., Garbossa G. & Bertagnon H.G. 2022. **Efeito da *Saccharomyces cerevisiae* em cultura ou lisada na imunidade inata e na morfologia ruminal e intestinal de novilhos terminados em confinamento.** Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). Alameda Élio Antonio Dalla Vecchia, 838. Guarapuava, PR 85040-167, Brazil. E-mail: [hbertagnon@unicentro.br](mailto:hbertagnon@unicentro.br)

In order to evaluate if the administration of two presentations of *Saccharomyces cerevisiae* improves the health of feedlot finished steers, 33 ½ blood Angus-Nelore steers (350 ± 10 kg body weight and 11 ± 5 months old) fed an energy diet were evaluated at the beginning (0 and 16 days), middle (44 and 72 days) and end (100) of the feedlot, through leukocyte oxidative metabolism, inflammatory status, health of the respiratory tract and histomorphology of the rumen and intestine. Steers that received *Saccharomyces cerevisiae* as culture (n=12) showed an average increase of 7% in neutrophil oxidative metabolism, lower indicators of respiratory disease and lower inflammatory status (lower serum haptoglobin levels and lower neutrophil/lymphocyte ratio) in the intermediate and final phases of feedlots. In the histomorphology of rumen papillae, this treatment promoted a 30% reduction in the total width of the papillae and stratum corneum, in addition to lower rumenitis scores. Similarly, the calves that received *S. cerevisiae* in autolysed form (n=10) had a 10% increase in the neutrophilic oxidative metabolism and lower inflammatory status in the intermediate and final phases of the feedlot, but more indicators of respiratory diseases than the first treatment (higher occurrence of animals with mucopurulent nasal secretion and the same occurrence of pneumonia as the other groups). We also observed a 25% increase in the area of the duodenum villi, and a 15% increase in the height of the jejunal villi. Although this presentation also acted on rumen papillae, its action was subtle, minimizing only the rumenitis score, but not preventing the keratinization of rumen papillae. It was concluded that both presentations of *S. cerevisiae* increased the health of animals compared to the control group, highlighting the culture of *S. cerevisiae* supplementation resulted in less alteration of rumen papillae compatible with lower occurrence of SARA, reflecting in immunological gains and lower occurrence of BRD. The autolysate of *S. cerevisiae* showed higher intestinal effect, with lower actuation in rumen papillae. Despite this treatment showed a similar immunological gain as yeast culture, it reflected in lower health of the respiratory tract.

Index Terms: bovine respiratory complex (BRD), Reactive oxygen species (ROS), yeast, subacute ruminal acidosis syndrome (SARA), inflammation.

### INTRODUÇÃO

A terminação de bovinos em confinamento é elementar para a intensificação do sistema produtivo da carne, porém traz importantes desafios sanitários. Os animais são alimentados com dietas energéticas que causam síndrome acidose ruminal subclínica (SARA), uma afecção cuja quedas diárias do pH promovem ruminite, prejudicando a absorção e permeabilidade ruminal, causando um status infamatório ao animal e diminuindo a imunidade (Minami et al. 2021).

Tanto a SARA como o estresse intrínseco do sistema (transporte, segregação de lotes e mudança de ambiente) promovem redução do sistema imune favorecendo a ocorrência de doenças infecciosas, como o Complexo de Doenças Respiratórias dos Bovinos (CRB), podendo atingir até 69% de morbidade e 15% de mortalidade em confinamentos (Estima-Silva et al. 2020, Heidmann et al. 2020).

O uso de leveduras como aditivo alimentar vem ganhando destaque tanto para melhorar o desempenho animal como para atenuar os efeitos indesejáveis deste sistema de manejo animal. Estes aditivos atuam como moduladores da fermentação ruminal, adsorventes de micotoxinas, capazes de influenciar na melhora da saúde intestinal e imunológica, com resultados de maior ou menor monta, dependendo do tipo e do teor de alimentação, da produção e desafios vivenciados pelos animais, bem como das apresentações dos compostos utilizados como aditivos (Zeoula et al. 2008, Broadway et al. 2015).

*Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais utilizada atualmente na alimentação animal, podendo ser ofertada e processada conforme a necessidade e objetivo que se espera alcançar no organismo do animal. Mesmo assim, ainda existem dúvidas em relação ao seu modo de ação e a influência nas diferentes formas de processamento desta devido à baixa compreensão de como cada processamento e meio de fermentação influencia nas características e disponibilidade da levedura (Broadway et al. 2015, Uyeno et al. 2015)

A cultura de levedura é produzida a partir de um processo de fermentação controlada, gerando metabólitos benéficos para a microbiota ruminal relacionados com as vias metabólicas de aminoácidos, metabolismo de carboidratos e ácidos graxos, o que aumenta a população microbiana ruminal. Além disso, as leveduras mortas servem de nutrientes para as bactérias anaeróbicas fibrolíticas e bactérias utilizadoras de ácido láctico no rúmen, enquanto as vivas consomem oxigênio do ambiente ruminal, estimulando o crescimento desta mesma população microbiana. Esta seleção da microbiota colabora com a estabilidade do pH ruminal reduzindo a SARA, melhorando conseqüentemente a saúde ruminal (Uyeno et al. 2015, Diaz & Branco 2019).

Nas leveduras autolisadas, o objetivo do processo de autólise é o rompimento da parede celular para maior disponibilidade do seu conteúdo citoplasmático e parede celular. Os componentes da parede celular (MOS e  $\beta$ -glucanos) tem efeito imunomodulador, controlando a resposta imune sem a indução de uma resposta inflamatória exagerada. Além disso se ligam as bactérias patogênicas, toxina e vírus, carreando as mesmas para fora da luz intestinal, e ainda aumentam a atividade fagocitária, especialmente dos macrófagos (Shurson 2018). O conteúdo citoplasmático é rico vitaminas do complexo B (B1, B2, B6, ácido pantotênico, niacina, ácido fólico e biotina) que desempenha funções essenciais para a manutenção do metabolismo, produção de energia, diferenciação e crescimento celular. Possuem ainda minerais essenciais, proteínas e ácidos nucléicos que servem de nutrientes aos animais (Queiroz et al. 2015).

Embora uma série de estudos tenham demonstrado a eficiência das diferentes apresentações de levedura no desempenho de ruminantes confinados (Mao et al. 2013, Stadler-Junior et al. 2019), poucas foram as pesquisas que focaram exclusivamente na imunidade (Virmond et al. 2019, Garbossa 2020), redução da inflamação do trato gastrointestinal (Diaz et al. 2018, Xiao et al. 2016) ou na redução de CRB (Finck et al. 2014, Virmond et al. 2019, Garbossa 2020). Além disso, fatores como idade, estresse, tipo e adaptação à dieta e a apresentação das leveduras interferem nos resultados. Portanto, cada tipo de criação, com suas particularidades, e a concentração e apresentação das leveduras usadas devem ser analisadas especificamente para cada caso (Broadway et al. 2015, Uyeno et al. 2015).

Desta forma, o objetivo do experimento foi avaliar o efeito da administração de produtos derivados de *Saccharomyces cerevisiae*, na forma de cultura ou autolisada, na morfologia de papila ruminal, vilosidade intestinal e na imunidade inata e conseqüentemente na ocorrência CRB em bovinos terminados em confinamento recebendo dieta energética de 60% concentrado e 40% de silagem de milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pelo CEUA- UNICENTRO, ofício 11/2020 em 08/05/2020.

**Descrição do local de experimento.** O experimento foi realizado na Unidade didática, de pesquisa e extensão em Bovinos de Corte – Confinamento do Núcleo de Produção Animal (NUPRAN) junto ao Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Estadual do Centro-Oeste (CEDETEG/UNICENTRO), localizada em Guarapuava - PR. O clima da região é do tipo subtropical mesotérmico úmido (CFB), sem estação seca, com verões frescos e inverno moderado. Conforme a classificação de Köppen, Guarapuava apresenta-se em altitude de aproximadamente 1.100m,

com precipitação média anual de 1.944mm, temperatura média mínima anual de 12,7° C e média máxima anual de 23,5°C com umidade relativa do ar de 77,9%.

**Material experimental.** Utilizou-se 33 novilhos inteiros ½ sangue Angus-Nelore, com peso médio inicial de 350 ± 10kg e idade média inicial de 11 ± 0,5 meses, sendo os animais previamente vermifugados e não vacinados contra CRB. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos, avaliados em 5 momentos, onde cada animal era uma unidade experimental. O grupo CON – dieta sem leveduras (controle, n= 11); CUL – dieta com cultura de *Saccharomyces cerevisiae* (obtida da fermentação em meio nutritivo controlado contendo melaço de cana e derivados de milho, com a composição: 92% de MS, 45% de PB, 5% de extrato etéreo, 7% de FB, 4% de MM, 0,05% de Ca, 0,78% de P, 0,38% de K, 15 a 17% de β-glucanos, 8 a 10% de mananoligossacarídeos além de metabólitos de fermentação contendo leucina, valina e isoleucina, vitaminas, enzimas e ácidos orgânicos, na dose de 7g animal dia<sup>-1</sup> do produto comercial Cultron - Aleris®, São Paulo, Brasil, n= 12); e AUT – dieta contendo *Saccharomyces cerevisiae* autolisada, (Composição: 94,5% de MS, 32% de PB, 2,5% de extrato etéreo, 1,5% de FB, 5,5% de MM, 0,90% de Ca, 0,70% de P, 0,70% de K, 20 a 22% de β-glucanos, 12 a 13% de mananoligossacarídeos e os constituintes citoplasmático, na dose de 7g animal dia<sup>-1</sup> do produto comercial Cultron Pro - Aleris®, São Paulo, Brasil n= 10).

Os animais vieram de uma propriedade comercial, localizada a aproximadamente 50 km, para o local do experimento, sendo alocados em baias de concreto contendo comedouro de concreto e bebedouro automático, e após 15 dias de aclimação, iniciou-se o experimento, classificado como D0 (dia 0), momento em que também iniciou-se a administração dos aditivos e a troca gradual da dieta da propriedade (60% de silagem de milho e 40% de concentrado), para a experimental, ajustando uma alteração de 2 % a cada 2 dias de cada alimento, até alcançar 40% de silagem de milho e 60% de concentrado, no dia 16. Na sequência as análises ocorreram no período médio do confinamento (D44 e D72) e no final do confinamento, em D100, sendo o abate realizado em D105.

A alimentação foi fornecida de forma ad libitum, permitindo sobras de 5% (Tabela 1). Para fabricação do concentrado foram utilizados os seguintes alimentos: farelo de soja, casca de soja, radícula de cevada, grãos de milho moído, grãos de cevada moído, gérmen de milho, calcário calcítico, fosfato bicálcico, sal comum, uréia pecuária e premix vitamínico-mineral. O consumo voluntário dos alimentos foi registrado diariamente pela pesagem da quantidade oferecida e das sobras do dia anterior, considerando ajuste do consumo diariamente, a fim de manter as sobras em 5% da matéria seca (MS). Os aditivos foram diluídos e homogeneizados em 50 g de concentrado moído e fornecidos sobre a dieta no momento de cada alimentação e os animais do grupo controle receberam apenas os 50g de concentrado moído.

#### **Análises experimentais.**

Foram avaliadas a imunidade inata por meio da mensuração do metabolismo oxidativo leucocitário, o

status inflamatório, por meio de leucograma, dosagem de haptoglobina sérica e temperatura retal, indicadores de doença respiratória por meio de presença de secreção nasal mucopurulenta nos momentos iniciais (D0, D16), intermediário (D44, D72) e final (D100). NO momento do abate avaliou-se a ocorrência de lesões pneumônica, alterações histológicas de rúmen e intestino delgado.

Para tanto, colheu-se amostras de sangue de cada animal por venopunção da jugular externa, em 3 tubos a vácuo. Nas amostras de sangue coletadas com heparina (4mL de sangue), foi mensurado o metabolismo oxidativo dos leucócitos pela técnica quantitativa de NBT (Flores et al. 2019). Nos frascos com EDTA, (4 mL de sangue) realizou-se o leucograma por meio de contador celular automático. As populações celulares foram classificadas de acordo com as características morfotintórias em microscopia ótica. E nas amostras de sangue coletadas sem anticoagulante (8mL de sangue), mensurou-se haptoglobina sérica. Para tanto, o soro sanguíneo foi separado do sangue total por centrifugação a 3500 rpm por 15 min e congelado a -20°C até o final das coletas. A haptoglobina foi mensurada por Kit comercial pela técnica de ELISA (Bovine Haptoglobin EB0011 Fine Test®. WU, China), conforme instruções do fabricante.

A temperatura retal foi aferida por termômetria digital. Observou-se a ocorrência de secreção durante quatro dias de cada período experimental (dois dias antes e dois dias depois dos tempos mencionados), sempre 20 minutos antes do trato da manhã, então estas quatro avaliações de cada momento foram transformadas em frequência média de animais com secreção nasal mucopurulenta e então realizada a análise estatística.

No dia do abate, foram colhidas amostras de líquido ruminal e fragmentos de pulmão, rúmen, duodeno e jejuno. Amostras do conteúdo ruminal foram coletados diretamente do saco ruminal, após sua incisão na linha de abate. Fixou-se 9 mL do líquido com 1mL de formaldeído 18,5%, e confeccionou-se

lâmina de microscopia contendo 10 microlitros da solução e uma gota de lugol. Classificou-se 300 protozoários ciliados, como pequenos, médios e grandes segundo Ogimoto & Imai (1981). Os ciliados foram visualizados sob a luz da microscopia óptica, utilizando-se das objetivas de 10X e 40X para observação.

Aproximadamente 2 cm<sup>2</sup> de fragmento pulmonar foi colhido de cada, onde existiam lesões de consolidação, em área de transição entre o tecido normal. Quando não havia lesões macroscópicas, fragmentos do tecido normal foram colhidos do lobo crânio ventral. Os tecidos foram fixados em formol 10% durante 48h e embebidos em parafina, posteriormente foram seccionados para confecção de lâminas histopatológicas coradas com hematoxilina e eosina (HE) e, finalmente, observados em microscopia óptica. Os fragmentos foram classificados como ausência de pneumonia, pneumonia catarral purulenta, fibrinosa, intersticial ou granulomatosa de acordo com Ceribasi et al. (2014).

Os fragmentos ruminais foram coletados do saco ventral do rúmen (5 cm<sup>2</sup>) e armazenados em álcool 70%, para fixação do material, e emblocadas, cortadas e coradas com Hematoxilina de Harris e Eosina. Mensurou-se as espessuras de papila, camada de queratina do epitélio ruminal, tecido conjuntivo e epitélio não queratinizado em 15 papilas de cada animal por meio do analisador de Imagens Leica Qwin, contido no microscópio eletrônico de luz Leica, no aumento de 40x, pelo *ImageJ* 1.43 software (*ImageJ*, National Institute of Mental Health, Bethesda), conforme descrito por Diaz et al, (2018). A determinação do índice mitótico dos núcleos da camada basal do epitélio ruminal (IM) e o grau de infiltrado neutrofilico em epitélio ruminal foram classificados em escores de 1 a 3, sendo 3 a maior quantidade de índice mitótico e de células inflamatórias.

Os fragmentos duodeno e jejuno (1 cm<sup>2</sup>) foram coletados e armazenados em álcool 70%, para fixação do material. Posteriormente foram emblocados, cortados e corados com Hematoxilina de Harris e Eosina. As mensurações histológicas foram realizadas em 10 vilos por animal, utilizando-se o Analisador de Imagens Leica Qwin, contido no microscópio eletrônico de luz Leica. As imagens de cada corte foram captadas por lentes objetivas em aumentos de 40x e digitalizadas por câmera para as análises morfométricas de: altura de vilos, profundidade de cripta e razão vilosidade e cripta.

**Análise estatística.** A análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico Instat Graphpad. Foram comparadas as médias ou medianas de cada tratamento ao longo do tempo, na interação tempo e as médias ou medianas de todos os tratamentos, em cada momento, interação tratamento. Os dados relativos ao metabolismo oxidativo leucocitário e à haptoglobina sérica não passaram no teste de variância (Barlett) e foram submetidos ao teste de Dunn. A frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta, frequência de pneumonia e frequência de ruminite e índice mitótico nos diferentes escores foram analisados pelo teste do Qui quadrado. Os demais dados foram avaliados pelo teste de Tukey. Para todos os resultados, foram considerados como significantes os dados que apresentaram nível de significância menor ou igual a 5 % ( $P \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Metabolismo oxidativo e status inflamatório

Os dados do metabolismo oxidativo dos leucócitos sanguíneos dos novilhos terminados em confinamento estão na figura 1. Em D16 todos os grupos apresentaram redução do metabolismo oxidativo, e apenas o grupo controle voltou a apresentar esta redução em D100 (CON: D16 e D 100 < D0, D44 e D72,  $P=0,03$ ; CUL: D16<D0,  $P=0,001$  e AUT D16< D0, D44, D72 e D100;  $P=0,004$ ) na interação tempo. Na interação tratamento, CUL e AUT apresentaram aumento de 7 e 10% do metabolismo oxidativo em relação ao controle em D72 e em D100 ( $P=0,02$  e  $P=0,0009$ ).

O status inflamatório está na figura 2, compreendido por razão neutrófilo linfócito, haptoglobina sérica e temperatura retal. Em relação ao leucograma, as contagens de leucócitos totais, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos não apresentaram diferença estatística. A maioria dos animais apresentou leucocitose por neutrofilia e linfocitose em todos os momentos (dados em anexo). Houve aumento de neutrófilos e da razão neutrófilos linfócitos em D72 no controle em relação aos tratamentos ( $P=0,04$  e  $0,05$ ), sem interação tempo. O CUL apresentou maior razão neutrófilo/linfócito em D100 que o D16 ( $P=0,04$ ) e o AUT apresentou maior razão neutrófilo/linfócito em D100 que o D0 ( $P=0,03$ ).

Tanto os teores séricos de haptoglobina, como a temperatura retal foram maiores em AUT em na fase inicial do confinamento seja na comparação entre os momentos, como na comparação entre os tratamentos (haptoglobina sérica- AUT- D0 e D16> D44  $P=0,0001$ , e em D16 AUT > CON e CUL  $P=0,05$ ; temperatura retal, D0> D44, D72 e D100  $P=0,001$  e em D0 AUT > CON e CUL  $P=0,05$ ). Na fase intermediária

e final do confinamento, a haptoglobina sérica foi maior no CON em relação aos tratamentos (haptoglobina sérica CON > CUL e AUT em D72 e em D100  $P=0,02$ ;  $P=0,04$ ), enquanto a temperatura retal foi maior apenas no CON em relação ao AUT em D72 ( $P=0,01$ ).

#### **Indicadores de CRB**

Frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta e a ocorrência de pneumonia identificada por análise histopatológica pulmonar no dia do abate compreenderam os indicadores de CRB e encontram-se na figura 3. A frequência de animais apresentando secreção nasal mucopurulenta foi decrescendo ao longo do tempo, mais rapidamente no CUL, seguida pelo AUT e por fim no CON, notando-se que entre D42 a D46, mais animais do CON apresentaram essa secreção que os demais grupos ( $P=0,001$ ) e entre D70 e D74, foi maior no AUT que nos demais grupos ( $P=0,05$ ). A frequência de pneumonia foi maior em CON que CUL, ( $P=0,002$ ) e igual ao AUT ( $P=0,08$ ). Por sua vez não houve diferença de ocorrência entre os tratamentos com levedura ( $P=0,44$ ).

#### **Histopatológico de rúmen, duodeno e jejuno**

A avaliação histopatológica do rúmen e os protozoários ruminais estão na figura 4. Verificou-se quem a espessura da papila ruminal foi cerca de 30% menor no CUL em comparação a CON e AUT, sendo 25% menor no extrato córneo e 36% menor na largura total da papila ( $P=0,005$ ,  $P=0,0001$ ), enquanto a espessura do epitélio não queratinizado e do tecido conjuntivo não foram afetados pelo tratamento. Em relação ao índice mitótico (IM) e grau de inflamação do epitélio ruminal, todos os grupos foram diferentes entre si, sendo o IM menor no CON, intermediário no CUL e maior no AUT ( $P=0,002$ ). A inflamação ruminal foi maior no CON, intermediária no AUT e menor no CUL ( $P=0,04$ ) Em relação a população de protozoários ruminais, os médios sobressaíram, seguidos dos pequenos e grandes. O tratamento CUL obteve maior porcentagem de protozoários pequenos em relação ao CON ( $P=0,001$ ), sem diferença entre os médios e grandes.

Em relação à capacidade absorptiva intestinal, o AUT apresentou aumento de 30% na vilosidade de duodeno e de 15% em jejuno que os demais grupos ( $P=0,004$  e  $0,001$ ). A razão vilosidade:cripta foi 25% maior no AUT ( $P=0,003$ ) que os demais grupos em duodeno. O CON apresentou 17% de aumento na profundidade de cripta de duodeno que os demais grupos ( $P=0,03$ ) sem diferença para as demais variáveis (Figura 5).

### **DISCUSSÃO**

A cultura de *Saccharomyces cerevisiae* promoveu melhor incremento na saúde animal, pois sua principal ação foi reduzir a inflamação da papila ruminal, observado por meio menor infiltração neutrofílica, e menores espessuras do estrato córneo e da largura de papila ruminais, indicando uma menor ocorrência de SARA. Além disso este tratamento promoveu menor status inflamatório dos bovinos, visto pelas menores dosagens de haptoglobina sérica e menor razão neutrófilo linfócito, o que permitiu maior capacidade imune, visto por maior metabolismo oxidativo leucocitário e menor ocorrência de CRB. O lisado de *Saccharomyces cerevisiae* atuou principalmente em intestino delgado, e embora tenha atenuado a inflamação da papila ruminal, o fez em menor intensidade que o CUL. Além disso, estes animais também apresentaram incremento do metabolismo oxidativo leucocitário, menor status inflamatório que o CON nas fases intermediárias e finais do confinamento, porém tiveram maior frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta em D72 e estatisticamente a mesma frequência de lesões pneumônicas em abate que o CUL e o CON.

Em relação a imunidade, verificou-se que o sistema de confinamento foi desafiante aos animais, visto que a maioria dos animais apresentaram leucocitose por neutrofilia e linfocitose em todos os momentos, segundo os valores de referência por Tizard (2014), provavelmente em virtude do estresse da coleta, tal qual observado por Garbossa (2020) e Virmond et al. (2020). Este estresse foi de maior intensidade nos momentos iniciais, durante o período de adaptação a dieta, quando há maior secreção de cortisol, hormônio responsável pelo decréscimo da atividade de células imunes como os neutrófilos, tal qual observado em nosso estudo, quando todos os grupos apresentaram redução do metabolismo oxidativo leucocitário (Tizard 2014, Estima-Silva et al. 2020).

Metabolismo oxidativo ou explosão respiratória leucocitária é a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) intracelularmente em fagócitos com função bactericida. Como neutrófilos são os principais fagócitos sanguíneos responsáveis pela primeira linha de defesa inespecífica, sua função diminuída promove maior susceptibilidade a doenças infecciosas (Tizard 2014). Em D16 os três grupos tiveram esse

parâmetro diminuído, o que explica porque a maioria dos animais apresentava secreção nasal mucopurulenta no início do confinamento, período em que a incidência de CRB é maior (Heidmann et al. 2021).

Com o passar do tempo, houve aumento da imunidade dos animais, no entanto os animais do CON voltaram a apresentaram redução desta função, além de aumento de neutrófilo, razão neutrófilo linfócito, temperatura retal e dos teores séricos de haptoglobina na fase intermediária e final do confinamento, (D72 e D100). Tal fato indica que estes animais apresentaram algum desafio inflamatório ou infeccioso, e que precisaram aumentar as contagens de neutrófilos para combater esta infecção, enquanto os outros grupos não. Como estes animais não apresentaram novamente indicadores de doenças respiratórias, e a atuação das diferentes apresentações do *Saccharomyces cerevisiae* é no trato gastrointestinal, sugere-se que a inflamação/ infecção do CON ocorreu principalmente devido a SARA especialmente a partir do D72 (Broadway et al. 2015).

Como a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae*, independentemente de sua apresentação: cultura ou autolisada, só começaram a promover efeitos nos neutrófilos a partir de 40 a 50 dias de suplementação (Garbossa 2020, Virmond et al. 2020), acredita-se que o desafio inflamatório/infeccioso ocorreu para todos os animais, porém os grupos tratados estavam mais aptos em manter a homeostase, seja por maior eficiência imune, ou pela menor incidência de transtornos digestivos, ou ainda pela associação de ambos.

A haptoglobina sérica é um marcador inflamatório precoce em comparação ao leucograma, visto que é uma proteína de fase aguda, a qual é sintetizada pelos hepatócitos antes mesmo de haver a resposta leucocitária (Tothova et al. 2014). Ela é secretada cerca de 6 a 8 horas após a injúria, e sua concentração máxima é atingida em 2 a 5 dias. Como as afecções mais comuns em bovinos confinados são o CRB e SARA, a higidez dos animais foi monitorada por meio dos indicadores destas doenças (Malafaia et al. 2016).

Os animais do AUT apresentaram maiores teores de haptoglobina sérica e temperatura retal que o CON, e maior frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta que CUL nos momentos iniciais do confinamento, refletindo em maior frequência numérica de animais com pneumonia que o CUL no momento do abate. Estes achados levantam a hipótese de que os animais estavam doentes antes que a *Saccharomyces cerevisiae* na apresentação lisada começasse a fazer efeito, apesar de não manifestarem sintomatologia clara da doença, situação comum em confinamentos. Magalhães et al. (2017), relataram que 81,1% dos bovinos confinados tinham alterações histopatológicas nos pulmões compatíveis com pneumonia, a qual não foi diagnosticada em vida.

Esta diferença do marcador inflamatório em AUT em comparação ao CUL também pode ter interferência pelo local de ação das leveduras. A cultura de *Saccharomyces cerevisiae* atua no ambiente ruminal, favorecendo o crescimento de microrganismos celulolíticos capazes de manter um pH ruminal estável o que minimiza a ocorrência de SARA (Broadway et al. 2015, Xiao et al. 2016, Kovács et al. 2020). A estabilidade do pH ainda diminui a lise das bactérias Gram-negativas, diminuindo a liberação dos lipopolissacarídeos (LPS) no ambiente ruminal. Na SARA, as alterações das papilas ruminais permitem que os LPS atinjam a corrente sanguínea pré-hepática, ativando a produção de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores em grande quantidade, produzindo uma resposta de fase aguda capaz de levar a quadros de imunodepressão (Broadway et al. 2015, Shen et al. 2019). Embora não tenha sido encontrado trabalhos que comentem quando esta apresentação de levedura começa a fazer efeito no trato gastrointestinal, acredita-se que sua função no tamponamento do pH ruminal seja imediato devido a atividade local, diferente da estimulação imune, que além das leveduras não promoverem uma ação direta, ainda é influenciada por estresse inerente ao confinamento (Diaz & Branco 2019, Heidmann et al. 2020,)

As alterações das papilas ruminais na SARA são paraqueratose com aumento de largura e de seu estrato córneo e diminuição da integridade epitelial. Esta perda de integridade epitelial permite a penetração de bactérias e LPS nas camadas mais internas das papilas ruminais, produzindo inflamação e edema da região, o que aumenta ainda mais a espessura de papila. Toda esta inflamação diminui a capacidade mitose celular (IM), reduzindo a capacidade de renovação do epitélio ruminal, tal qual observado no CON e com menor intensidade no AUT (Kovács et al. 2020, Sanches et al. 2020).

Desta maneira, a menor espessura do extrato córneo e de largura de papila ruminal, com menores escore de inflamação ruminal e índice mitótico intermediários encontrados no CUL indicam menor ocorrência de SARA, o que também já foi relatado por Xiao et al. (2016) ao trabalhar *Saccharomyces cerevisiae* em cultura em bezerras de leite. Outros estudos mostram que a utilização de cultura de levedura auxilia na diminuição do ácido lático e no aumento do butirato, e esta alteração no perfil de AGV é mais benéfica para o desenvolvimento de papilas ruminais saudáveis (Xiao et al. 2016, Shen et al. 2018).

Em relação aos protozoários ruminais, os de tamanho médio foram os mais expressivos em todos os grupos. Protozoários de tamanhos variados podem interferir no fluxo dentro do rúmen, pois os grandes possuem facilidade de limitar os movimentos dos protozoários de tamanho pequeno e médio, “enterrando” eles. Em relação a fermentação ruminal, as espécies menores são mais resistentes a esse processo, portanto o tratamento CUL ajudou na melhor fermentação ruminal por meio do aumento dos protozoários pequenos em relação aos outros tratamentos (Borges et al. 2002, Kamra 2005).

*Saccharomyces cerevisiae* na apresentação autolisada tem em sua composição maiores concentrações de beta-glucanos, mananoligossacarídeos, proteínas e lipídeos, que atuam principalmente em intestino, se ligando a lectina de microrganismos patogênicos da mucosa intestinal, reduzindo bactérias patogênicas em detrimento das benéficas. Além disso, os beta-glucanos são absorvidos pela mucosa intestinal e podem aumentar a eficiência do sistema imune pela ativação de células fagocíticas da circulação sistêmica (Rice et al. 2005, Shurson 2018).

Desta maneira, o grupo AUT apresentou maior efetividade dos fagócitos sanguíneos pelos beta-glucanos ou pela melhor capacidade intestinal absorptiva, tendo em vista que este grupo apresentava maior altura de vilosidade em duodeno e jejuno e maior razão vilosidade: cripta de duodeno que os demais grupos. Para este tratamento, as leveduras também atuaram em rúmen, atenuando a SARA, porém em menor grau que a cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, conforme observado pelos escores intermediários de inflamação ruminal e pouca alteração na morfologia de papila ruminal. Em contrapartida este grupo possuiu maiores escores de índice mitótico, indicando que apesar do insulto ruminal, as células do epitélio estavam se replicando em maior quantidade para promover a reparação tecidual (Diaz et al, 2018).

A razão vilosidade: cripta é um critério útil para estimar a digestibilidade e capacidade absorptiva do intestino delgado. Desta maneira a *Saccharomyces cerevisiae* na apresentação autolisada tornou o epitélio intestinal mais saudável e, portanto, com maior capacidade de proliferação e absorção, o que pode ter contribuído também com o incremento da imunidade. Ressalta-se ainda que mananoligossacarídeos e de  $\beta$ -glucanas podem atuar na modulação do sistema imune por meio da efetividade dos fagócitos sanguíneos e por sua função de adsorvente de micotoxinas e patógenos, visto também em outros estudos (Liu et al. 2008, Broadway et al. 2015, Yuan et al. 2015, Acharya et al. 2017).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que ambas as apresentações de *S. cerevisiae* aumentaram a saúde dos animais em relação ao grupo controle, destacando-se a suplementação com cultura de *S. cerevisiae*, que resultaram em menor alteração de papilas ruminais compatíveis com menor ocorrência de SARA, refletindo em ganhos imunológicos em menor ocorrência de CRB. O autolisado de *S. cerevisiae* demonstrou maior efeito intestinal, com atuação de menor em monta em inflamação ruminal, que embora tenha promovido ganho imunológico similar ao encontrado com a cultura de *S. cerevisiae*, refletiu em menor saúde do trato respiratório.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acharya S., Pretz J.P., Yoon I., Scott M.F. & Casper D.P. 2017. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on the lactational performance of mid-lactation dairy cows. *Transl. Anim. Sci.* 1(2):221-228. <doi: 10.2527/tas2017.0028> < PMID: 32704646> <PMCID: PMC7250431>

Borges N.C., Silva L.A.F., Fioravanti M.C.S., Cunha P.H.J., Moraes R.R., Guimarães P.L. & Martins M.E.P. 2002. Avaliação do suco ruminal de bovinos “a fresco” e após 12 horas de conservação. *Cienc. Anim. Bras.* 3(2):57-63. <doi.org/10.1590/S0100-736X2013001300016> <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/280>

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. *Microorganisms.* 3(3):417-427. <doi: 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(7-8):201-212. Available from: [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\\_1/links/54b3baa60cf28ebe92e2fe11.pdf](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_1/links/54b3baa60cf28ebe92e2fe11.pdf)

Diaz T.G & Branco F.A. 2019. Leveduras vivas e mananoligossacarídeos para prevenção de acidose ruminal subaguda. *Arch. Zootec.* 68(263):456-462. <[doi.org/10.21071/az.v68i263.4208](https://doi.org/10.21071/az.v68i263.4208)>

Diaz T.G., Branco A.F., Jacovaci F.A., Jobim C.C., Bolson D.C. & Daniel J.L.P. 2018. Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Rumen parameters, inflammatory response and rumen morphology. *Plos One.* 13(2), e0193313.

Estima-Silva P., Scheid H.V. & Schild A.L. 2020. Causes of death in feedlot beef cattle and their control: a brief review. *Pesq Vet Bras.* 40(8):571-578. <[doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6657](https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6657)>

Finck D.N., Ribeiro F.R.B., Burdick P.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. *Pro. Anim. Sci.* 30(3):333-341. <[doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30125-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30125-X)>

Flores G.V.B., Thomaz G.R., Horner Netto W., 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://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/353/240>

Garbossa, G. Suplementação com levedura autolisada melhora eficiência de fagócitos e reduz pneumonias em novilhos terminados em confinamento. 2020. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, 67p.

Heidmann M.J., Nascimento C.G. & Castro, B.G. 2020. Complexo respiratório bovino no contexto da sanidade animal. *Sci. Elect. Arch.* 14(4). <[doi.org/10.36560/14420211255](https://doi.org/10.36560/14420211255)>

Junior E.S.S., Santos L.C., Bertagnon H.G., Virmond M.P., De Souza A.M., Mizubuti I.Y. & Neumann, M. 2019. Desempenho de bovinos em confinamento com inclusão de levedura viva na dieta. *Semin. Cienc. Agrar.* 40(6):2733-2748.

Kamra D. N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Curr. Sci.* 89:124-135. <<http://www.jstor.org/stable/24110438>>

Kovács L., Rózsa L., Pálffy M., Hejel P., Baumgartner W. & Szenci O. 2020. Subacute ruminal acidosis in dairy cows - physiological background, risk factors and diagnostic methods. *Veterinarska Stanica.* 51(1). <[doi: 10.46419/vs.51.1.1](https://doi.org/10.46419/vs.51.1.1)>

Liu P., Piao X.S., Kim S.W., Wang L., Shen Y.B., Lee H.S. & Li S.Y. 2008. Effects of chito-oligosaccharide supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and fecal shedding of *Escherichia coli* and *Lactobacillus* in weaning pigs. *J. Anim. Sci.* 86(10):2609-2618. <[doi:10.2527/jas.2007-0668](https://doi.org/10.2527/jas.2007-0668)>

Magalhães L.Q., Fonseca P.A., Menezes G.L., Nogueira G.M., Headley A.S., Fritzen J.T.T., Alfieri A.A. & Sault J.P.E. 2017. Use of metaphylactic protocols based on the risk to develop bovine respiratory diseases in feedlot cattle. *Cienc. Rural.* 47(8): e20161110. <[doi.org/10.1590/0103-8478cr20161110](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20161110)>

Malafaia P., Granato T.A.L., Costa R.M., Souza V.C., Costa D.F.A. & Tokarnia C.H. 2016. Major health problems and their economic impact on beef cattle under two different feedlot systems in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 36(9):837-843. <doi:10.1590/S0100-736X2016000900008>

Mao H. L., Wang J. X. & Liu I. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on in vitro fermentation and microbial communities of low-quality forages and mixed diets. *J. Anim. Sci.* 91:3291-3298. <doi:10.2527/jas.2012-5851>

Minami N.S., Sousa R.S., Oliveira F.L.C., Dias M.R.B., Cassiano D.A., Mori C.S., Minervino H.H. & Ortolani E.L. 2021. Subacute ruminal acidosis in Zebu cattle: clinical and behavioral aspects. *Animals.* 11(1):1-14. <doi:10.3390/ani11010021> <PMID:23572258>

Imai, S., Yanagida, N., Katagiri, K., & Ogimoto, K. 1981. Distribution of the rumen ciliate protozoa, anaerobic bacteria and their products, volatile fatty acids and lactic acid, in the gut of cattle. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 52(8), 606-613.

Queiroz P.J.B., Ávila Filho S.H.D., Ferreira K.D., Santos T.P.D. & Silva L.A.F.D. 2015. Suplementação e metabolismo de biotina em bovinos. *Enciclopédia Biosfera.* 11(22):2589. <dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia\_Biosfera\_2015\_229>

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. 2005. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 314(3):1079-1086. <doi:10.1124/jpet.105.085415>

Sanches A.W.D., Montiani-Ferreira F., Santin E., Neumann M., Reck A.M., Bertagnon H.G. & Pachaly J.R. 2020. Isoquinolone alkaloids mitigate microscopic digestive tract lesions induced by sub-acute ruminal acidosis (SARA) in feedlot cattle. *Semin. Cienc. Agrar.* 41(5):1567-1580. <doi:10.5433/1679-0359.2020v41n5p1567>

Shurson G.C. 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 60-76. <doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010>

Shen Y., Davedow T., Ran T., Saleem A.M., Yoon I., Narvaez C., Mcallister T.A. & Yang, W. 2019. Ruminally protected and unprotected *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products as alternatives to antibiotics in finishing beef steers. *J. Anim. Sci.* 97(10):4323-4333. <doi:10.1093/jas/skz270>

Tizard I.R. 2014. *Imunologia Veterinária -Uma Introdução.* ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 9:568.

Tóthóva C., Nagy O. & Kovacon G. 2014. "Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review." *Vet. Med.* 59:163-180. <doi:10.17221/7478-vetmed>

Uyeno Y., Shigemori S. & Shimosato T. 2015. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes Environ.* 30(2):126-132. <doi:10.1264/jsme2.ME14176>

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. *Semin. Cienc. Agrar.* 41(6):3177-3188. <doi:10.5433/1679-0359.2020v41n6Supl2p3177>

Xiao J.X., Alugongo G.M., Chung R., Dong S.Z., Li S.L., Yoon I., Wu Z.H. & Cao, Z.J. 2016. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. *J. Dairy Sci.* 99(7):5401-5412. <doi:10.3168/jds.2015-10563>

Zeoula L.M., Beleze J.R.F., Geron L.J.V., Maeda E.M., Prado I.N. & De Paula M.C. 2014. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. *Ciências Agrárias*. 35(4):2063-2076. <doi:10.5433/1679-0359.2014v35n4p2063>

YUAN, K.; MEDONÇA; L.G.D.; HULBER, L.E.; MAMEDOVA, L.K.; MUCKEY, M.B.; SHEN, Y.; ELROD, C.C. Yeast product supplementation modulated humoral and mucosal immunity and uterine inflammatory signals in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.98, n.5, p. 3236-3246. 2015.

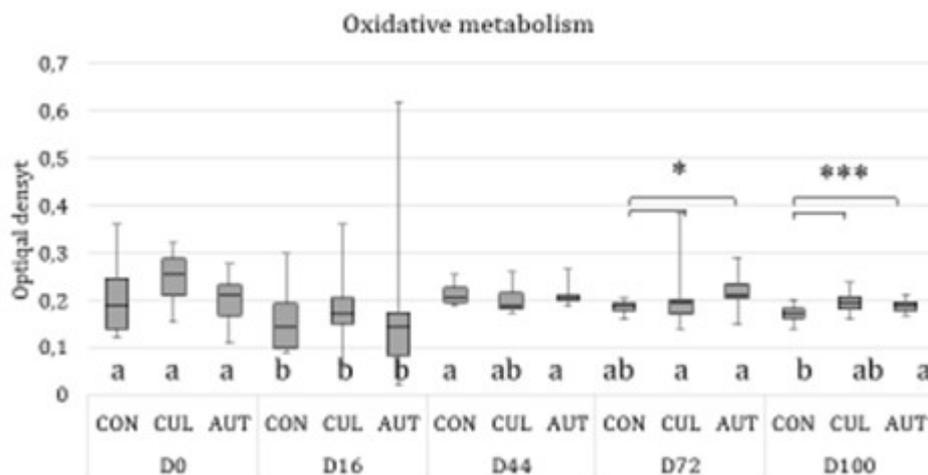


Figura 1- Metabolismos oxidativo de leucócitos sanguíneos (MO) de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

MO-Valores expressos em mediana primeiro e terceiro quartis e valores máximos e mínimos. N/L-Valores expressos em média e desvio padrão. CON- Controle, CUL- cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, AUT- *Saccharomyces cerevisiae* autolisada. Letras minúsculas diferentes no mesmo tratamento, indicam diferença estatística ao longo do tempo ( $P < 0,05$ ); \*  $P < 0,05$ , \*\*\*  $P < 0,0001$  indicam diferença estatística entre os tratamentos, naquele momento.

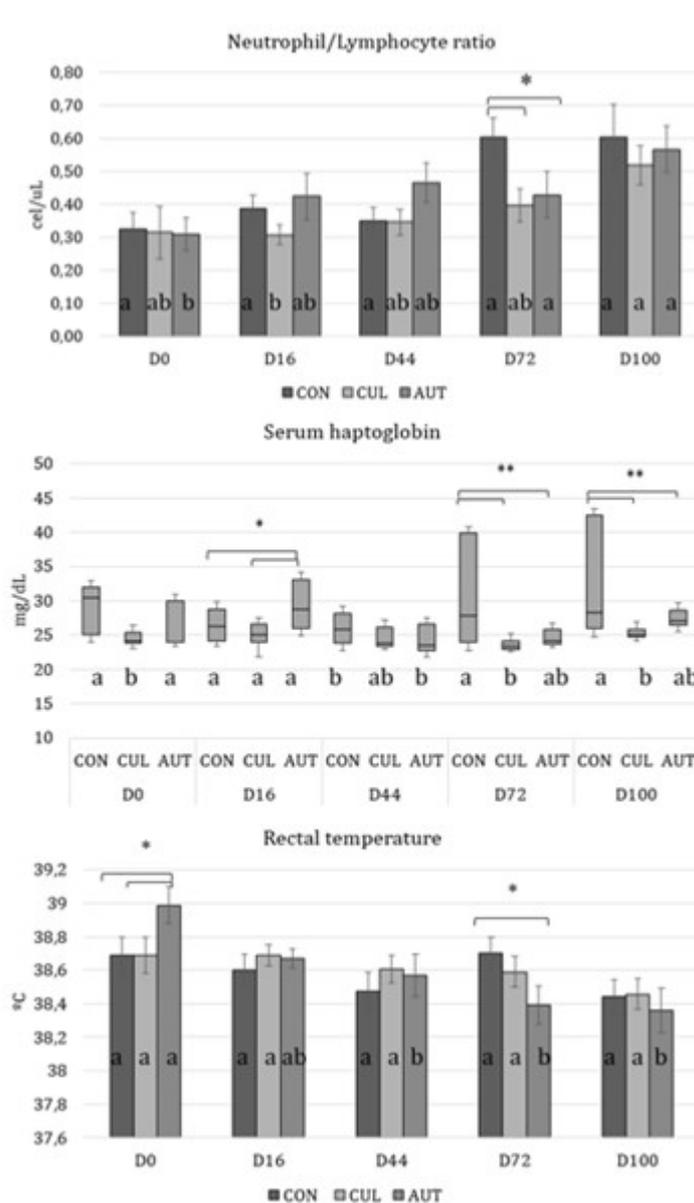


Figura 2- Haptoglobina sérica (H), temperatura retal (T) e razão neutrófilo/linfócito (N/L) de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

H-Valores expressos em mediana primeiro e terceiro quartis e valores máximos e mínimos. T-Valores expressos em média e desvio padrão. CON- Controle, CUL- cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, AUT- *Saccharomyces cerevisiae* autolisada. Letras minúsculas diferentes no mesmo tratamento, indicam diferença estatística ao longo do tempo ( $P < 0,05$ ); \*  $P < 0,05$ , \*\*\*  $P < 0,0001$  indicam diferença estatística entre os tratamentos, naquele momento.

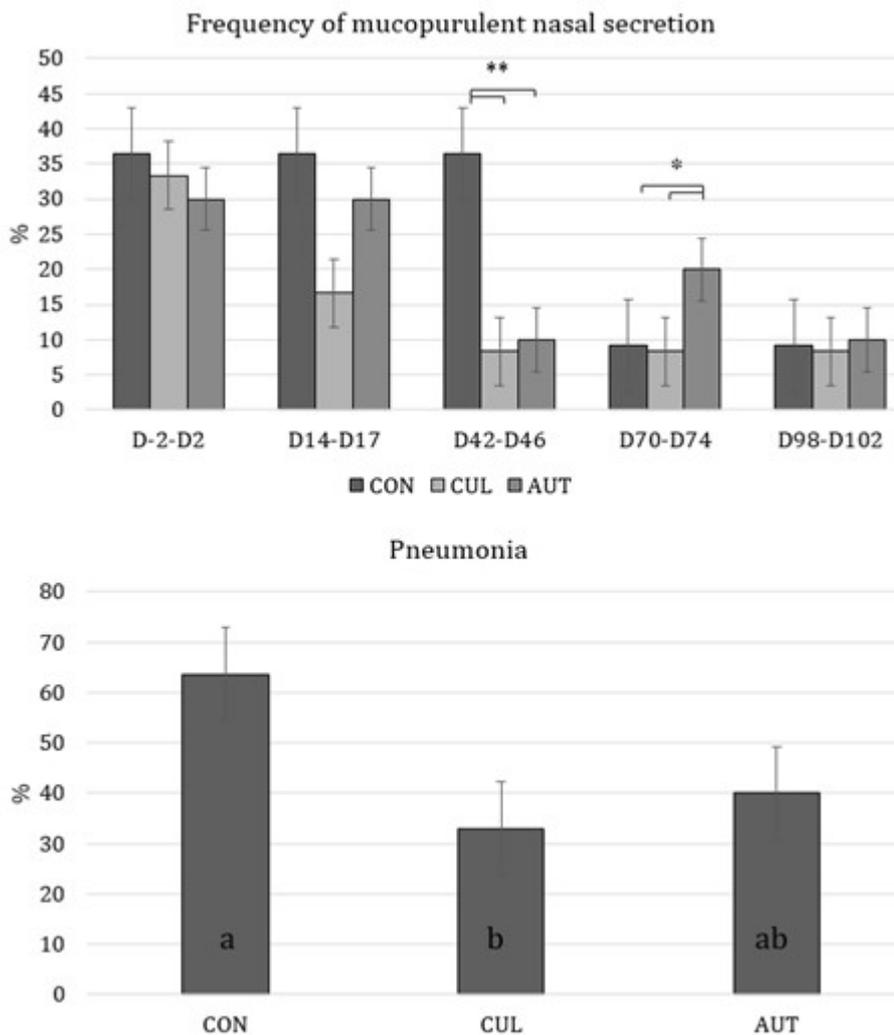


Figura 3- Frequência de animais com secreção nasal mucopurulenta e pneumonia de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

CON- controle, CUL- cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, AUT- *Saccharomyces cerevisiae* autolisada. Letras minúsculas diferentes e asteriscos indicam diferença estatística entre os tratamentos, \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,001$ .

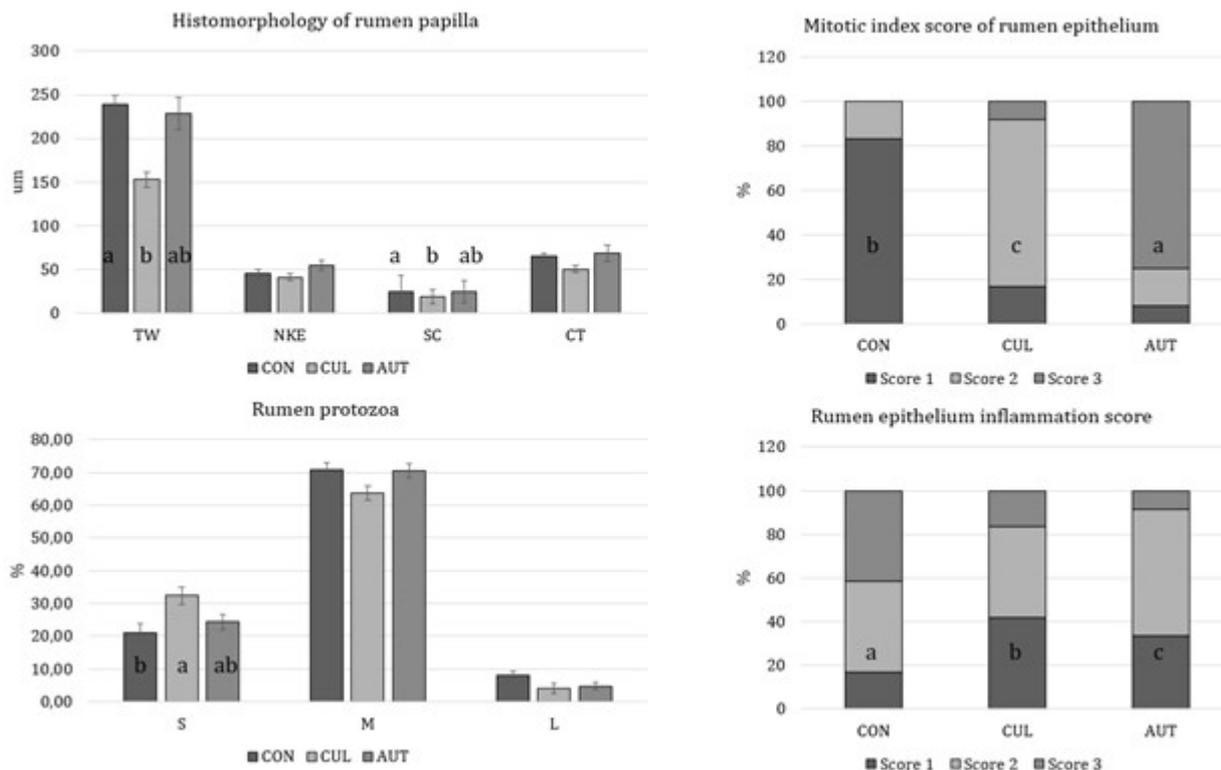


Figura 4- Histomorfologia papilas ruminais e porcentagem de protozoários ruminais pequenos, médios e grandes, frequência dos escores de índice mitótico e de inflamação ruminal de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

CON- controle, CUL- cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, AUT- *Saccharomyces cerevisiae* autolisada. TW- Largura total, NKE- epitélio não queratinizado, SC- extrato córneo, CT- tecido conjuntivo. S- Pequenos, M- Médios, L-Grandes. Considerou-se pequeno (até 40 x 60 µm), médio (até 100 x 150 µm) e grande (maior que 100 x150 µm). Letras minúsculas diferentes na mesma variável indicam diferença estatística entre os tratamentos (P<0,05).

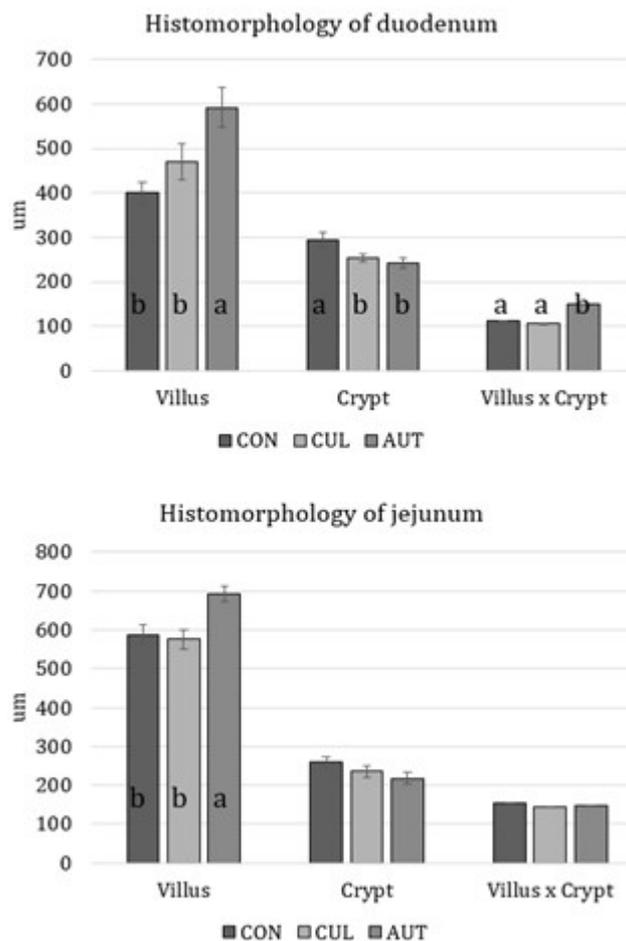


Figura 5- Histomorfologia intestinal de duodeno e jejuno de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

CON- Controle, CUL- cultura de *Saccharomyces cerevisiae*, AUT- *Saccharomyces cerevisiae* autolisada. Letras minúsculas diferentes na mesma variável indicam diferença entre tratamentos ( $P < 0,05$ ).

## ANEXOS

**Tabela 1** - Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total.

Parâmetros	Silagem de milho	Concentrado	Dieta experimental
Matéria seca, % MN	34,22	91,97	63,10
Matéria mineral, % MS	2,64	6,36	4,50
Proteína bruta, % MS	6,57	20,20	13,39
AUtrato etéreo, % na MS	2,43	2,05	2,24
Fibra em detergente neutro, % MS	45,30	31,47	38,39
Fibra em detergente ácido, % MS	26,57	13,08	19,83
Lignina, % MS	3,85	4,73	4,29
Nutrientes digestíveis totais, % MS	69,24	78,68	73,96
Ca, % MS	0,13	1,67	0,90
P, % MS	0,25	0,58	0,42

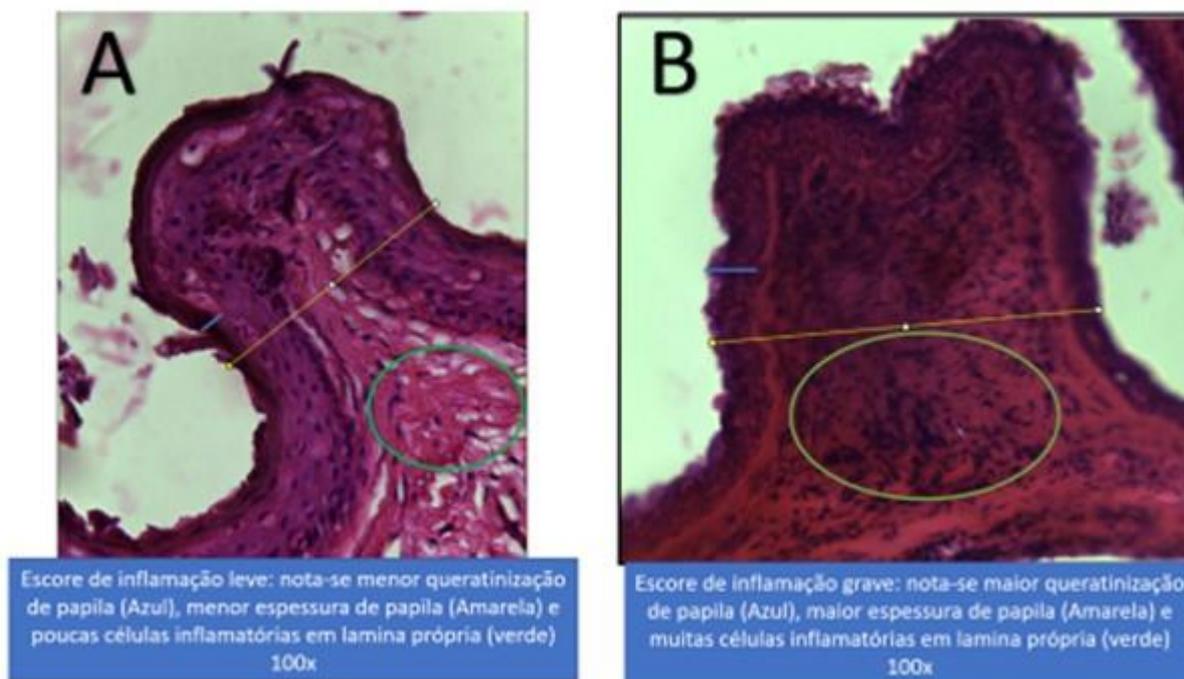
Nível de garantia do premix por kg de concentrado: vit. A: 16000 IU; vit D3: 2000 IU; vit. E: 25 IU; S: 0,36 g; Mg: 0,74 g; Na: 3,6 g; Co: 0,52 mg; Cu: 22,01 mg; F: 18,00 mg; I: 1,07 mg; Mn: 72,80 mg; Se: 0,64 mg; e Zn: 95,20 mg.

**Tabela 2**- Leucograma de novilhos confinados submetidos a cultura e ao lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

Leucócitos	D0	D16	D44	D72	D100
CON	17903.33	20065.56	18341.11	19105.56	19560.00
	1024.00	1187.00	1318.00	1380.00	1181.00
CUL	18052.50	20506.00	20318.00	19847.00	18781.00
	2030.00	1486.00	1715.00	1912.00	1520.00
AUT	20350.00	19941.11	16861.25	19920.00	19427.78
	1389.00	979.20	2535.00	971.30	1003.00
Tukey	0.49	0.94	0.35	0.92	0.90
Neutrófilos					
CON	3706.40	4924.07	4228.31	5863.13	5845.02
	561.85	377.84	621.44	535.74	893.00
CUL	4985.06	4176.30	4460.46	4989.63	5795.89
	1498.20	273.40	494.07	708.56	544.95
AUT	5548.67	5602.93	5007.33	5876.07	6358.70
	1194.40	685.96	833.80	731.50	617.27
Tukey	0.55	0.11	0.7	0.56	0.82
Linfócitos					
CON	12172.91	13208.6	11829.39	10927.61	11811.56
	1072.3	1112.3	655.76	757.09	1147.9
CUL	18699.79	13195	14232.3	13157.41	11228.77
	5355.7	1888.9	1591	1431	1280.5
AUT	12645.96	12317.6	10227.5	12111.78	11047.73
	1120.1	800.15	663.3	643.08	891.34

Tukey	0.33	0.88	0.06	0.33	0.89
<b>Eosinófilos</b>					
CON	92,785	89,805	139,15	125,44	93,412
	25,717	26,119	27,067	54,57	17,698
CUL	65,35	74,069	58,713	65,443	62,15
	10,939	17,991	11,32	17,917	12,507
AUT	66,502	77,047	90,412	51,526	96,553
	23,043	18,109	35,629	16,906	43,274
Tukey	0,56	0,85	0,09	0,30	0,58
<b>Monócitos</b>					
CON	8,024	14,149	10,079	9,3	14,658
	3,843	5,379	4,843	7,792	6,546
CUL	13,149	40,761	7,68	21,361	9,543
	4,517	10,295	3,289	5,705	3,872
AUT	16,067	32,464	2,71	14,592	8,328
	6,656	17,985	2,71	6,108	5,034
Tukey	0,54	0,27	0,40	0,42	0,67

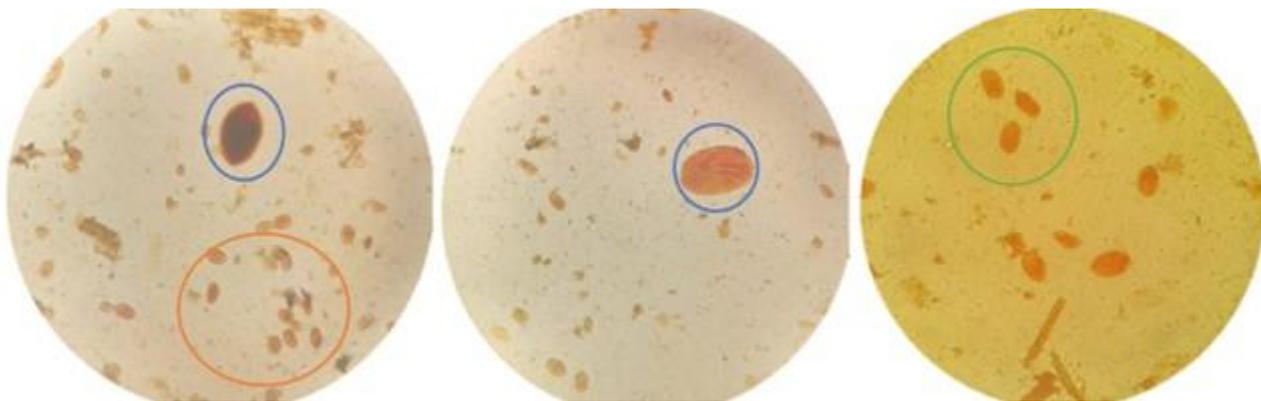
Legenda: CON- controle. CUL- cultura de *Saccharomyces cerevisiae*. AUT- *Saccharomyces cerevisiae* lisada.



Anexo 1- Histomorfologia de papila ruminal de novilhos terminados em confinamento. no momento do abate.

Legenda- linha azul- extrato córneo. Linha laranja: largura total de papila. círculo- índice mitótico.

A- CUL. B- AUT e CON. Nota-se diferença aumento da espessura da papila e do extrato córneo queratinizado e maior quantidade de infiltrado inflamatório em lâmina própria na prancha B.



Anexo 2- Protozoários ruminais classificados em grandes e pequenos. Observados em lâmina de microscopia, aumento na objetiva de 40x. Circulados em azuis classificados em grandes, em verde os médios e em laranja os pequenos.