

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção**



**Dissertação**

**Perfil Metabólico e Proteínas de Fase Aguda em Bezerras Suplementadas com  
*Saccharomyces cerevisiae* e Metabólitos de Fermentação de Levedura  
Hidrolisada em Diferentes Sistemas de Criação**

**Paola dos Santos Soares**

**Pelotas, 2017**

**Paola dos Santos Soares**

**Perfil Metabólico e Proteínas de Fase Aguda em Bezerras Suplementadas com  
*Saccharomyces cerevisiae* e Metabólitos de Fermentação de Levedura  
Hidrolisada em Diferentes Sistemas de Criação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino  
Co-orientador: Dra. Viviane Rohrig Rabassa

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S676p Soares, Paola dos Santos

Perfil Metabólico e Proteínas de Fase Aguda em Bezerras Suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e Metabólitos de Fermentação de Levedura Hidrolisada em Diferentes Sistemas de Criação / Paola dos Santos Soares ; Francisco Augusto Burkert Del Pino, orientador ; Viviane Rohrig Rabassa, coorientadora. — Pelotas, 2017.

51 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Ambiente. 2. Bezerras. 3. Diarreia. 4. Probióticos. I. Pino, Francisco Augusto Burkert Del, orient. II. Rabassa, Viviane Rohrig, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

Paola dos Santos Soares

**Perfil Metabólico e Proteínas de Fase Aguda em Bezerras Suplementadas com  
*Saccharomyces cerevisiae* e Metabólitos de Fermentação de Levedura  
Hidrolisada em Diferentes Sistemas de Criação**

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 17/08/2017

Banca examinadora:

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

.....  
Prof. Dra. Ethel Antunes Wilhelm  
Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal de Santa Maria

  
.....  
Prof. Dra. Roselia Maria Spanevello  
Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Aos meus pais, irmã, avós e noivo, com todo amor e gratidão.

Dedico.

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus em primeiro lugar, por me dar saúde e proteção, para que eu alcance meus objetivos.

Aos meus pais, Soni e Claudia, por todo amor, carinho e dedicação, por sempre me apoiarem, serem meus fiéis escudeiros e melhores amigos, pelos ensinamentos e por muitas vezes abdicarem de seus sonhos para tornar possíveis os meus.

A minha irmã Kauana, por todo amor e amizade, por torcer por mim como se fosse por ela mesma, por estar ao meu lado em todos os momentos, sempre com palavras de incentivo e afeto, me dando coragem e força para continuar.

Aos meus amados avós, Genésio, Irene e Maria e a meu avô Osvaldo (que infelizmente não está mais aqui para dividir essa vitória comigo), que são meus tesouros, minhas joias, agradeço por todo amor, carinho e exemplos de vida, por entenderem minhas ausências e se fazerem presentes sempre.

Ao meu noivo Nicholas, pelo apoio incondicional, por estar sempre do meu lado em todos os momentos, independente da distância, com carinho, amor e cuidado, e por me mostrar o verdadeiro significado do amor.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino, pela amizade e oportunidade proporcionada.

A minha coorientadora, Profª Dra. Viviane Rohrig Rabassa e a Dra. Josiane de Oliveira Feijó por todo auxílio, dedicação, e por estarem sempre disponíveis a qualquer momento para ajudar e ensinar.

Ao NUPEEC, pela oportunidade, aprendizado, incentivo e pelos amigos que fiz e que vou levar para o resto da vida.

A UFPel e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção.

A toda minha família e amigos pela torcida sempre.

Agradeço.

*“Tudo posso naquele que me fortalece.”*

*Filipenses 4:13*

## Resumo

SOARES, dos Santos Paola. **Perfil Metabólico e Proteínas de Fase Aguda em Bezerras Suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e Metabólitos de Fermentação de Levedura Hidrolisada em Diferentes Sistemas de Criação**. 2017. 51f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A nutrição de bezerros na fase que compreende o nascimento até o desmame, está relacionado intimamente com o desenvolvimento e função do sistema imune. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada sobre o perfil bioquímico clínico de bezerras leiteiras durante o período neonatal em diferentes sistemas de criação e analisar se a suplementação influenciou o metabolismo do neonato durante o acometimento por diarreia. O estudo foi realizado em uma propriedade leiteira comercial, no município de Rio Grande/RS, utilizando 48 bezerras híbridas, da raça Holandês, a partir de um dia de vida. As bezerras foram alojadas em sistemas diferentes, e divididas em quatro grupos, sendo eles: Baia Levedura (n=14), Baia Controle (n=16), Estaca Levedura (n=8) e Estaca Controle (n=10). Os grupos Levedura receberam 8mL/dia durante 42 dias de *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada. Foram realizadas coletas de sangue por punção da veia jugular, nos dias 1, 7 e 14 após o nascimento, para análise do perfil bioquímico. Neste estudo a suplementação com *S. cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada não teve efeito sobre o perfil bioquímico clínico em bezerras leiteiras durante o período neonatal, mas foi observada diferença em alguns metabólitos em relação ao sistema de criação de bezerras, onde os animais criados em estacas apresentaram menores concentrações séricas de albumina e paraoxonase, indicando maior suscetibilidade a doenças infecciosas, além de menor valor de cálcio total, fósforo e magnésio. Os animais criados em Baías conseguiram manter seus animais mais próximos dos valores de referência, o que mostra uma melhor eficiência de criação desses animais neste tipo de ambiente.

Palavras-chave: Ambiente, bezerras, diarreia, probióticos.



## Abstract

SOARES, dos Santos Paola. **Profile Metabolic and Acute Phase Proteins in Heifers Supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* and Metabolites of Fermentation of Hydrolyzed Yeast in Different Creation Systems.** 2017. 51f. Dissertation (Master in Biochemistry and Bioprospecting) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Nutrition of calves in the stage from birth to weaning is closely related to the development and function of the immune system. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast fermentation metabolites on the clinical biochemical profile of dairy heifers during the neonatal period in different breeding systems and to analyze whether supplementation influenced the neonate's metabolism during Diarrhea. The study was developed out in a commercial dairy farm in the city of Rio Grande / RS, using 48 healthy one-day-old Holstein heifers. The heifers were housed in different systems and divided into four groups: Baia Yeast (n = 14), Control Baia (n = 16), Yeast Stake (n = 8) and Control Stake (n = 10). Yeast groups received 8 ml / day for 42 days of *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolysed yeast metabolites. Blood samples were collected by puncture of the jugular vein on days 1, 7 and 14 after birth to analyze the biochemical profile. In this study, supplementation with *S. cerevisiae* and hydrolyzed yeast fermentation metabolites had no effect on the clinical biochemical profile in dairy heifers during the neonatal period, but a difference was observed in some metabolites in relation to the calf rearing system, where animals were found to have lower concentrations of albumin and paraoxonase, indicating a higher susceptibility to infectious diseases, as well as a lower value of total calcium, phosphorus and magnesium. The bred animals were able to keep their animals closer to the reference values, which shows a better breeding efficiency of these animals in this type of environment.

Keyworlds: Environment, calves, diarrhea, probiotics.

## **Lista de Figuras**

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Sistema de criação em Baías individuais em galpões. .... | 16 |
| Figura 2 - Sistema de criação em estacas a campo.....               | 17 |
| Figura 3 - Mecanismo de ação dos MOS .....                          | 19 |

## Lista de abreviaturas e siglas

|                      |                                                           |
|----------------------|-----------------------------------------------------------|
| MOS                  | Mananoligossacarídeos                                     |
| <i>S. cerevisiae</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                           |
| PFSC                 | Produtos de fermentação de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> |
| AGV                  | Ácidos graxos voláteis                                    |
| FOS                  | Frutoligossacarídeos                                      |
| EDTA                 | Ácido etilenodiamino tetra-acético                        |
| PPT                  | Proteínas plasmáticas totais                              |
| BL                   | Baia levedura                                             |
| BC                   | Baia controle                                             |
| EL                   | Estaca levedura                                           |
| EC                   | Estaca controle                                           |
| ALB                  | Albumina                                                  |
| AST                  | Aspartato amino transferase                               |
| GGT                  | Gama glutamil transferase                                 |
| Ca <sup>t</sup>      | Cálcio total                                              |
| P                    | Fósforo                                                   |
| Na                   | Sódio                                                     |
| Mg                   | Magnésio                                                  |
| K                    | Potássio                                                  |
| Ure                  | Ureia                                                     |
| PON1                 | Paraoxonase                                               |

## Sumário

|          |                                    |           |
|----------|------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>Introdução geral.....</b>       | <b>11</b> |
| <b>2</b> | <b>Objetivo Geral .....</b>        | <b>14</b> |
|          | Objetivos Específicos.....         | 14        |
| <b>3</b> | <b>Revisão de Literatura .....</b> | <b>15</b> |
|          | Diarreia neonatal bovina .....     | 15        |
|          | Probióticos .....                  | 20        |
|          | Prebióticos .....                  | 21        |
| <b>4</b> | <b>MANUSCRITO CIENTÍFICO .....</b> | <b>23</b> |
| <b>5</b> | <b>Conclusão .....</b>             | <b>45</b> |
|          | Referências .....                  | 46        |
|          | Anexos .....                       | 50        |

## 1 Introdução geral

No sistema de criação bovino, o período que compreende o nascimento até o desmame, é a fase mais crítica para o bezerro leiteiro porque apresenta custos diretos sem retorno financeiro ao produtor. Ademais, a nutrição do bezerro nessa fase está relacionada intimamente com o desenvolvimento e função do sistema imune. Porém, devido aos erros no manejo, muitas vezes o fornecimento da alimentação para esses animais acontece de forma inadequada (HUR et al., 2013).

Erros de manejo durante o período pré-desmame, podem resultar em diminuição da imunidade, devido à má qualidade do colostro fornecido, elevando com isso as perdas por doenças, resultando em baixo peso ao desmame. Um dos principais problemas de saúde neste período, que afeta grande parte dos bezerros com até 30 dias de idade é a diarreia, representando 50% de todas as doenças encontradas em bezerros com essa idade (HUR et al., 2013; MARCONDES et al., 2016).

Além disso, a criação de bezerras nessa fase exige muitos cuidados e práticas de manejo eficientes, visto que um dos fatores que influencia a incidência de diarreia são os tipos de manejo a que os animais são submetidos, principalmente quanto à higiene do local e pressão infectiva. Portanto, os diferentes sistemas de manejo devem atender a quatro requisitos que são ventilação, isolamento, conforto e economia. Dentre os sistemas de criação o uso de abrigos individuais (Baías) em galpões é bastante frequente, porque facilita a identificação imediata dos primeiros sinais de doença além de reduzir sua propagação. Outro sistema de criação bastante utilizado é o uso de estacas a céu aberto, porém, a desvantagem desse sistema é que os animais ficam sujeitos as intempéries e mais suscetíveis a ficarem doentes (HEINRICHS, 1996; MOURITS et al., 1997).

Sendo uma doença multifatorial, a diarreia neonatal bovina resulta da interação entre o bezerro, nutrição, agente infeccioso e o ambiente (BENESI, 2004). Esta doença é caracterizada por alterações da função gastrointestinal, sendo a

causa de grandes prejuízos econômicos na pecuária, principalmente por reduzir o ganho de peso e aumentar os custos de produção (VEGA et al., 2011), além dos altos índices de morbidade e mortalidade dos bezerros (WEI et al., 2013).

A diarreia neonatal bovina é uma manifestação clínica que envolve toxinas bacterianas, inflamações causadas por parasitas ou bactérias e atrofia de vilosidades intestinais pela ação de vírus ou protozoários. Tais condições estabelecem uma hipersecreção intestinal e difícil absorção e digestão, tendo como resultado a diarreia. Os principais agentes etiológicos causadores de diarreia em bezerros são *Cryptosporidium Parvum*, *Escherichia Coli*, *Salmonella typhimurium*, o coronavírus e rotavírus, podendo provocar infecções múltiplas ou simples, sendo mais comum a infecção múltipla. A presença simultânea ou consecutiva de um ou mais desses patógenos causam aumento na taxa de morbidade e mortalidade (MEGANCK et al., 2014).

A presença de bactérias patogênicas que causam infecção no intestino é a principal causa da diarreia em bezerras. Assim é frequente o uso de antimicrobianos na ração animal em doses sub-terapêuticas, tanto para controlar distúrbios como a diarreia, como para serem promotores de crescimento. Apesar de apresentar efeitos positivos na produção animal, os antimicrobianos podem deixar resíduos em produtos de origem animal e elevar a resistência bacteriana, causando riscos à saúde animal e humana (RABASSA et al., 2011). Portanto, estratégias como a inclusão de pré e probióticos na dieta, podem minimizar os problemas imunes e aumentar a digestibilidade dos alimentos fornecidos aos bezerros.

Os probióticos podem reverter o estresse e os desequilíbrios na microflora intestinal do bezerro, o que levará à restauração da microflora intestinal e permitirá ao animal recuperar o equilíbrio de microorganismos benéficos. Prebióticos, por outro lado, são alimentos indigestíveis, que estimulam seletivamente a atividade e/ou crescimento de uma ou um número limitado de espécies bacterianas no cólon (MARCONDES et al., 2016; RABASSA et al., 2011; SAINZ et al., 2011), podendo ter efeito benéfico para prevenir quadros de diarreia, uma vez que estudos sugerem que a microflora intestinal tem um papel importante na resistência às doenças entéricas, seja por infecção viral ou por colonização de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal (RABASSA et al., 2011).

Como aditivo probiótico é muito comum à utilização de leveduras vivas, onde a *Saccharomyces cerevisiae* é a mais pesquisada pelos benefícios aos ruminantes. Culturas de leveduras possuem células de levedura e compostos que são produzidos durante a fermentação como polifenóis, ácidos orgânicos e vitaminas do complexo B, causando efeitos benéficos ao serem incorporados na dieta sobre o desempenho e saúde do animal, auxiliando também na digestão de carboidratos e no desenvolvimento ruminal destes animais (JENSEN et al., 2008; NETO et al., 2014). Portanto, os probióticos podem ser usados como promotores de crescimento, já que no intestino a preservação de microrganismos benéficos pode ajudar a anular os microrganismos patogênicos, reduzindo ou eliminando as diarreias (NETO et al., 2014).

Ainda, os mananos e glucanos, componentes da parede celular de leveduras, são responsáveis pela ação local e sistêmica das leveduras sobre o sistema imune. Os mananoligossacarídeos (MOS) são capazes de se ligarem à fímbria das bactérias e inibir a colonização do trato gastrointestinal por microrganismos patogênicos (Figura 1). Os  $\beta$ D-glucanos possuem um efeito imunomodulador aumentando a resposta a patógenos (BOUDERGUE et al., 2009).

Uma forma de avaliar a resposta inflamatória de bezerras e através da mensuração de proteínas de fase aguda, como a albumina e a paraoxonase 1, ambas proteínas de fase aguda negativa, a diminuição dessas indica suscetibilidade a doenças infecciosas (SILVEIRA et al., 2015).

Desta forma, um produto que possa ser fornecido para bezerras leiteiras, que contenha uma associação de levedura viva e metabólitos de sua fermentação pode trazer benefícios para o metabolismo e resposta imune de neonatos bovinos.

## 2 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada sobre o perfil bioquímico clínico e proteínas de fase aguda de bezerras leiteiras durante o período neonatal em diferentes sistemas de criação.

### Objetivos Específicos

1. Avaliar o efeito da ingestão de levedura e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada sobre perfil bioquímico clínico em bezerras.
2. Avaliar o efeito da ingestão de levedura e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada sobre os níveis de proteínas de fase aguda de bezerras.
3. Determinar se o sistema de criação (Baia e estaca) interfere no perfil bioquímico de bezerras.
4. Avaliar o efeito da levedura sobre a incidência de diarreia neonatal.



### 3 Revisão de Literatura

#### Diarreia neonatal bovina

Na criação de bovinos, o período que compreende o nascimento até o desmame, é a fase mais crítica para o bezerro leiteiro, pois é onde ocorre maior incidência de doenças, como diarreia e broncopneumonia, onde a saúde dos animais é influenciada fortemente por fatores como transferência de imunidade e higiene local (Hur et al., 2013).

Uma das doenças que mais acometem os bezerros é a diarreia neonatal bovina, ela causa perturbação do bem-estar dos animais, representando 50% de todas as doenças encontradas em bezerros com idade inferior a 30 dias (HUR et al., 2013). Essa enfermidade envolve toxinas bacterianas, inflamações causadas por parasitas ou bactérias e atrofia de vilosidades intestinais pela ação de vírus ou protozoários. Tais condições estabelecem uma hipersecreção intestinal e difícil absorção e digestão, tendo como resultado a diarreia (HUR et al., 2013; MARCONDES et al., 2016).

Como a presença de bactérias patogênicas que causam infecção no intestino é a principal causa da diarreia em bezerras, é comum usar como medida profilática a adição de antimicrobianos na alimentação, porém, a restrição dessa medida é que pode elevar a resistência bacteriana, além das questões de segurança alimentar devido aos resíduos de medicamentos (Vega et al., 2011). Portanto, se buscou algumas alternativas para substituição desse uso, dentre elas a inclusão de prebióticos e probióticos como estratégias na alimentação de bezerros, podem reduzir esses problemas.

#### 3.4 Sistemas de criação

Doenças como a diarreia podem ocorrer na fase inicial da vida dos bezerros, devido ao manejo alimentar e higiene inadequada, assim como o sistema

de criação adotado pela propriedade. Há diversas opções para instalações de bezerras em aleitamento, e deve-se levar em conta que essas instalações devem atender a uma fase bastante delicada, onde os animais são constantemente desafiados pelo ambiente e pela imunidade desses animais ainda depender das defesas adquiridas através do colostro fornecido, que muitas vezes é inadequado (HEINRICHS, 1996).

Dentre os sistemas de criação, as Baías suspensas do solo em galpões, têm sido amplamente utilizados, melhorando a sanidade dos animais na fase de aleitamento, trazendo benefícios aos animais, propiciando um ambiente com menos pressão infectiva e assim reduzindo a disseminação de doenças. Nesse sistema, deve haver uma limpeza diária para retiradas das fezes e retirada dos restos de alimentos. A cama das Baías, que geralmente é de palha, feno, serragem ou areia, deve ser trocada uma vez por semana pelo menos para que o ambiente se mantenha seco e limpo (HEINRICHS, 1996; MOURITS et al., 1997). Pesquisas tem demonstrado que animais em aleitamento criados em Baías individuais apresentaram incidência de diarreia diminuída, em comparação com outros sistemas, além de maior docilidade, o que facilita o manejo durante a fase de bezerras e adultas.



Figura 1 - Sistema de criação em Baías individuais em galpões.  
Fonte: Acervo próprio

As estacas a campo, por sua vez, possuem um custo de implantação mais baixo, porém nesse sistema, os animais estão submetidos a um desafio maior que animais mantidos em Baías, decorrente das condições ambientais, que são limitantes ao desenvolvimento dos animais, e o estresse de manejo, podendo promover uma depressão do sistema imune, o que favorece a incidência de

doenças, além disso, o estresse por calor ou frio afetam mais intensamente os animais jovens que os animais adultos (HEINRICHS, 1996; MOURITS et al., 1997).



Figura 2 - Sistema de criação em estacas a campo  
Fonte: Acervo próprio

Os diferentes sistemas de manejo devem atender a quatro requisitos que são ventilação, isolamento, conforto e economia. Uma ventilação adequada é fundamental para que os problemas sejam reduzidos, por reduzir a transmissão de agentes patogênicos, melhora a umidade da instalação e assim diminui a ocorrência de problemas respiratórios, além de eliminar os odores. O isolamento dos animais é importante para que não ocorra contato entre eles, reduzindo assim os riscos de infecção cruzada e a disseminação de doenças. Conforto, nada mais é que propiciar acesso à água e alimentos de boa qualidade aos animais, com ambiente seco e temperatura controlada (HEINRICHS, 1996; MOURITS et al., 1997). O ideal é garantir condições de higiene e sanidade ao animal para um melhor desenvolvimento.

### Leveduras

As leveduras são fungos, unicelulares, muito favoráveis para a humanidade pelo amplo uso na produção de alimentos. Culturas de leveduras, classificadas como aditivos, são usadas há décadas na alimentação animal. Elas apresentam efeitos benéficos sobre a funcionalidade ruminal e apresentam significativa

contribuição ao serem utilizadas na alimentação de bezerras, ajudando na digestão dos carboidratos e em seu desenvolvimento ruminal (STEWART, 2002).

A levedura que é mais utilizada na maioria das pesquisas é a *Sacharomyces cerevisiae*, sendo usada na produção de pão, combustível, vinho, cerveja, além de agentes bioquímicos e terapêuticos variados. Ela é fonte de vitaminas do complexo B, proteínas de alta qualidade e minerais, principalmente zinco e selênio (ZEOULA et al., 2008). No fornecimento para a nutrição animal, as leveduras podem constituir um produto com elevado número de células de *S. cerevisiae* vivas e sem meio de cultura adicionado, ou esse aditivo pode ser fornecido através da cultura da levedura, que é um produto com células vivas e mortas de *S. cerevisiae* com um meio necessário para o seu crescimento (QUIGLEY, 2005).

Como componentes da parede celular de *S. cerevisiae* destacam-se os oligossacarídeos glucanos e mananos, que estão presentes nas proporções de 30 a 45% cada, dependendo das condições de preparo da cultura. Eles protegem a parede celular do meio externo, favorecendo a integridade estrutural da célula (VAN DER VAART et al., 1995). São responsáveis pela ação local e sistêmica das leveduras sobre o sistema imune. Os mananoligossacarídeos (MOS) são capazes de se ligarem à fímbria das bactérias e inibir a colonização do trato gastrointestinal por microrganismos patogênicos (Figura 3). Alguns microrganismos reconhecem sítios de ligação nesses açúcares como se fossem da mucosa intestinal, com isso, acaba por diminuir a colonização do intestino por bactérias Gram negativas, que possuem a fímbria tipo 1, que é específica para oligossacarídeos, como o MOS, assim, diminui a ocorrência de infecções, e a mucosa mantém-se capaz de desempenhar suas funções de secreção, digestão e absorção de nutrientes (MENTEN, 2001).

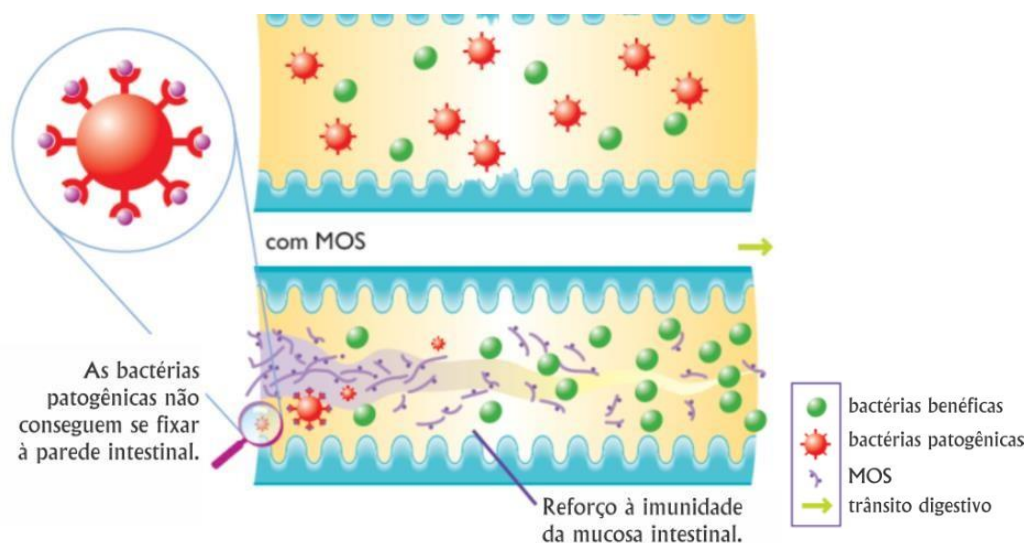


Figura 3 - Mecanismo de ação dos MOS.  
 Fonte: Scielo

Os  $\beta$ D-glucanos possuem um efeito imunomodulador aumentando a resposta a patógenos (BOUDERGUE et al., 2009), por estimularem células do sistema imune, como neutrófilos e macrófagos. Por possuírem receptores para  $\beta$ D-glucanos e MOS, estas células se ligam a eles, são estimuladas e aumentam a atividade imunológica (DAVIS et al., 2004). Os oligossacarídeos desencadeiam uma resposta de defesa rápida por influenciarem diferentes funções de macrófagos e outras funções celulares (QUIGLEY, 2005). Dessa forma, os oligossacarídeos podem beneficiar a resposta imune local ou sistêmica, modulando o sistema imune e resultando em aumento na sua resposta (WHITE et al., 2002).

Os aditivos alimentares com produtos de fermentação de *S. cerevisiae* (PFSC), geralmente são usados em alimentos que contêm oligossacarídeos, aminoácidos, peptídeos, ácidos orgânicos, que podem trazer benefícios a variadas bactérias, fungos e protozoários no trato gastrointestinal. Estudos mostraram que PFSC em ruminantes adultos, influenciaram a produção de leite, pH ruminal, concentrações de ácidos graxos e ingestão de matéria seca. O rúmen é o principal órgão digestivo e de absorção de ácidos graxos voláteis (AGV) e excesso de amônia nos ruminantes. O principal substrato que gera energia produzida no rúmen através da fermentação microbiana são os AGV, que são absorvidos rapidamente através do epitélio do rúmen, podendo contribuir com 80% da necessidade de energia dos ruminantes. A produção e absorção de AGV encontram-se intimamente relacionadas com o desenvolvimento do rúmen, sendo afetado principalmente pelas

concentrações de butirato e propionato e os PFSC possuem a capacidade de aumentar a produção de AGV, melhorando a morfologia ruminal quando esse aditivo é fornecido na etapa inicial da vida do bezerro (BREWER et al., 2014; XIAO et al., 2016).

Existem variadas propostas de ações associadas às culturas de leveduras. Alguns estudos demonstram que as leveduras teriam um importante papel na retirada de oxigênio do ambiente ruminal, resultando em um aumento da viabilidade bacteriana, pois, apesar do rúmen ser considerado um meio anaeróbico, a atmosfera dele contém de 0,5 a 1% de oxigênio e por ser tóxico às bactérias ruminais, inibe o crescimento bacteriano e a adesão à fibra por bactérias celulolíticas, diminuindo então a efetividade do processo de digestão. Contudo, quando culturas de *S. cerevisiae* são inseridas na dieta de ruminantes, aumenta o número de bactérias no rúmen, devido possivelmente à atividade das leveduras, que protegem as bactérias anaeróbias contra danos que o oxigênio causa, proporcionando uma melhor fermentação ruminal (NEWBOLD et al., 1996; ROGER et al., 1990; WALLACE, 1994).

Outro possível mecanismo de ação das leveduras no rúmen seria a diminuição das concentrações de ácido láctico, melhorando a manutenção do pH e maior estabilidade do ambiente ruminal. Como a *S. cerevisiae* não faz uso deste ácido como substrato, pode-se supor que ela reduza a concentração de lactato e assim acabe inibindo a sua produção, ou que ela estimule as bactérias ruminais a utilizarem lactato, mantendo o ambiente ruminal mais adequado e melhorando a ingestão de alimentos por bezerros (CALLAWAY & MARTIN, 1997; YOON & STERN, 1996).

### Probióticos

Os probióticos são suplementos microbianos vivos e viáveis, que auxiliam na recomposição da microbiota do trato digestivo animal, reduzindo a quantidade de microrganismos patogênicos ou indesejáveis (NETO et al., 2014). Além de trazerem benefícios à saúde do hospedeiro, os probióticos não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não contribuem para a resistência as drogas, tornando-os ideais para substituir os antibióticos como aditivos alimentares. Eles apresentam-se não

como substitutos aos antibióticos, e sim como alternativa a eles (RIGOBELLO et al., 2011).

Autores relatam que a adição de probióticos sem resíduo de antibiótico na alimentação de bezerros é uma escolha para diminuir os dias com diarreia, sem prejudicar o consumo e ganho de peso nesses animais. Além disso, como promovem condições inadequadas para que microorganismos patogênicos possam se desenvolver, eles promovem a manutenção da microbiota intestinal e ruminal, influenciando no ganho de peso dos animais (BATISTA et al., 2008; PEREIRA et al., 2008).

Dentre os mecanismos de ação dos probióticos, está o efeito antagonista contra grupos específicos de organismos e por consequência a exclusão competitiva por sítios de ativação ou nutrientes, a prevenção de acidose ruminal, a síntese de bacteriocinas que atuam como antibióticos naturais e a ativação do sistema imune, afetando as respostas inata, humoral e celular do sistema imunitário (NETO et al., 2014).

Os probióticos podem ser usados como promotores do crescimento, uma vez que a manutenção dos microrganismos que são benéficos ao intestino, pode auxiliar na supressão dos microrganismos patogênicos, reduzindo ou eliminando as diarreias (NETO et al., 2014).

### Prebióticos

O prebiótico é definido como ingrediente seletivamente fermentado que permite alterações específicas na composição e/ou atividade na microbiota gastrointestinal, conferindo benefícios para o bem-estar e saúde (SHOKRYAZDAN et al., 2016). Para um componente da alimentação humana ou animal ser classificado como um prebiótico deve atender aos seguintes requisitos: resistência à acidez gástrica, a hidrólise por enzimas e a absorção gastrointestinal; ser fermentável pela microflora intestinal específica e ser capaz de estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias intestinais associadas à saúde e ao bem-estar do hospedeiro (SHOKRYAZDAN et al., 2016).

Prebióticos podem ter efeitos benéficos na prevenção de casos de diarreia, ao passo que, estudos sugerem que a microflora intestinal tem um importante papel na resistência às doenças entéricas, tanto por colonização de bactérias no trato

gastrointestinal ou por infecção viral. Alguns prebióticos ainda modulam a resposta imune, podendo auxiliar nos quadros de diarreia ao elevar os níveis séricos e intestinais de imunoglobulinas em resposta a patógenos (HOSONO et al., 2003; WHITE et al., 2002). O aumento da função imune acontece devido principalmente ao aumento da população de bactérias benéficas e de seus produtos no intestino, tal fato é considerado um efeito indireto do prebiótico sobre o sistema imunológico (SHOKRYAZDAN et al., 2016).

As hexoses são os prebióticos mais importantes, como a glicose, frutose, galactose, manose e as pentoses como xylose, ribose e arabinose. Os dois grupos mais importantes de prebióticos dos quais a frutose e a manose são componentes são os frutoligossacarídeos (FOS) e mananoligossacarídeos. Os FOS adicionados à ração são produtos que fornecem carboidratos fermentáveis para as bactérias benéficas que colonizam o trato gastrointestinal, assim, minimizam as populações de bactérias patogênicas por exclusão competitiva, onde os microrganismos patogênicos tem sua proliferação inibida pela adição de compostos que beneficiam a proliferação dos microrganismos naturais benéficos do trato gastrointestinal do hospedeiro. Os MOS apresentam como mecanismo de ação a adsorção de bactérias patogênicas, com isso diminui a aderência bacteriana a mucosa do intestino, assim como a sua ligação a sítios receptores em macrófagos, pelo reconhecimento de alguns açúcares, causando uma reação em cascata que vai levar a ativação de macrófagos e liberação de citocinas, também induzindo a síntese de imunoglobulinas (ARAUJO et al., 2007; RABASSA et al., 2011).

A diarreia causa queda na taxa de crescimento dos animais. Em quadros mais graves, a diarreia pode levar a um baixo desempenho durante toda a vida produtiva do animal. Para tentar reduzir os efeitos deletérios da diarreia sobre o desempenho, o uso de prebióticos como os MOS vem sendo bastante estudado por apresentar efeitos benéficos sobre a incidência de diarreia (MIGUEL et al., 2004).



#### **4 MANUSCRITO CIENTÍFICO**

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de manuscrito. Os itens Metodologia, Resultados, Discussão e Referências encontram-se estruturados de acordo com as normas da revista *Journal of Veterinary Science*. O presente manuscrito encontra-se submetido a esta revista científica.

**Metabolic profile in heifers supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* and Metabolites of Fermentation of Hydrolyzed Yeast in Different Creation Systems**

Paola Soares<sup>1</sup>, Josiane Feijó<sup>1</sup>, Catiane Prestes<sup>1</sup>, Marjana Martins<sup>1</sup>, Uriel Londero<sup>1</sup>,  
Bárbara Scherer<sup>2</sup>, Jéssica Halfen<sup>1</sup>, Viviane Rabassa<sup>1</sup>, Francisco Del Pino<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Federal University of Pelotas, Capão do Leão University Campus, s / n - RS,  
96900-010.

<sup>2</sup>Medicine Veterinary.

**Abstract** - The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolysed yeast fermentation metabolites on the clinical biochemical profile of dairy heifers during the neonatal period in different breeding systems and to analyze whether supplementation influenced the neonate metabolism during diarrhea. The study was carried out in a commercial dairy farm in the city of Rio Grande / RS, using 48 healthy Holstein heifers from one day of life. The heifers were housed in different systems, divided into four groups: Bay Yeast (n=14), Bay Control (n=16), Yeast Stake (n=8) and Control Stake (n=10). Yeast groups received 8mL / day for 42 days of *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast fermentation metabolites. Blood samples were collected by puncture of the jugular vein on days 1, 7 and 14 after birth to analyze the biochemical profile. In this study, supplementation with *S. cerevisiae* and hydrolysed yeast fermentation metabolites had no effect on the clinical biochemical profile in dairy heifers during the neonatal period, but a difference was observed in some metabolites in relation to the calf rearing system, where animals were found to have lower serum concentrations of albumin and paraoxonase, indicating greater susceptibility to infectious diseases, as well as lower total calcium, phosphorus and magnesium values. The animals raised in bays had a

lower metabolic challenge, which shows a better breeding efficiency of these animals in this type of environment.

Key words: Environment, heifers, diarrhea, probiotics.

## Introduction

In cattle breeding, the period from birth to weaning is the most critical stage for the dairy calf, since it is where the incidence of diseases such as diarrhea and bronchopneumonia occurs [14]. These may be linked to the system of breeding and improper management of the property, mainly regarding hygiene of the place and infective pressure [13]. Different breeding systems must meet four basic requirements such as ventilation, insulation, comfort and economy. Amongst the systems, the use of individual shelters (bays) in sheds is quite frequent, because it reduces the spread of diseases and facilitates the immediate identification of the first signs of disease. Another system is the use of open piles, where animals are subject to inter-species and more likely to acquire diseases [13,21].

One of the diseases that affect most calves is neonatal bovine diarrhea, which results from the interaction between the calf, nutrition, infectious agent and the environment, thus being a multifactorial disease [2]. It is characterized by alterations in the gastrointestinal function, causing great economic losses in livestock, mainly by reducing weight gain and increasing production costs [29], in addition to high rates of morbidity and mortality of calves [30]. In this way, alternatives for the control of diarrhea are searched, including the inclusion of prebiotics and probiotics as strategies for feeding calves [9].

Probiotics are live and viable microbial supplements, which aid in recomposing the microbiota of the animal digestive tract, reducing the amount of pathogenic or undesirable microorganisms. As a probiotic additive it is very common to the use of live yeasts, which *Saccharomyces cerevisiae* is the most studied for the benefits to ruminants [22]. This yeast when offered for calves orally, has the effect of

maintaining the intestinal microbiota, incidence of decreased diarrhea in the first days of life and, consequently, greater weight gain of the animals [25]. In addition, they can assure the modulation of the immune response, preventing other neonatal diseases, and are then used both to prevent and to treat disorders of gastrointestinal metabolism, and may be ingested as a pharmaceutical preparation or fermented food additive [5]. As components of the cell wall of *S. cerevisiae*, oligosaccharides glucans and mannan, which protect the cell wall of the external environment, favor the structural integrity of the cell [28], besides being responsible for the local and systemic action of the yeasts on the Immune system. Food additives with fermentation products of *S. cerevisiae* (PFSC) are generally used in foods with oligosaccharides, amino acids, peptides, organic acids, which can benefit various bacteria, fungi and protozoa in the gastrointestinal tract [4,31].

As a way to evaluate the effects of disorders such as diarrhea on health, the clinical biochemical profile can be evaluated, being a way to observe the development of the neonate, in addition to revealing imbalances in nutrient homeostasis. This also serves to diagnose the causes of a nutritional or metabolic disorder [10].

Considering the above, the objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast fermentation metabolites on the clinical biochemical profile of dairy heifers during the neonatal period in different breeding systems, as well as the effect of this supplementation when calves were affected by diarrhea.

## Methodology

This work was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEEAA) of the Federal University of Pelotas (CEEAA code: 0436). The study was carried out in a commercial dairy farm located south of Rio Grande do Sul, in the city of Rio Grande (32 ° 16 'S, 52 ° 32' L), 48 healthy Holstein heifers were used from one day of life. After birth, the animals were separated from the mother and received colostrum according to farm management. Blood samples were collected in tubes containing the anticoagulant ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA). After centrifugation of the tubes, the plasma was evaluated in a portable refractometer to measure total plasma protein levels (PPT), and animals with PPT of less than 5 g/dL did not enter the experiment because they had low blood concentrations of immunoglobulins [3].

The animals were housed in different systems, 30 of which were placed in shed with individual stalls and 18 were kept in field stakes, all of which received four liters of milk per day, divided into two meals, one in the morning and the other at the end of the late, with water and concentrated *ad libitum*. The heifers were divided into four groups: Bay Yeast (BL, n=14), Bay Control (BC, n=16), Yeast Stake (EL, n=8) and Control Stake (EC, n=10). The yeast groups received 8 mL/day of *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast (Celmanax®, Mason City, IA, USA) fermentation metabolites in the morning feeding from the first to 42 days of life.

All animals were evaluated daily and, as soon as any changes in behavior, physical condition and performance were detected, a thorough clinical examination was performed, in search of signs indicative of impairment of the digestive tract. A stool specimen was collected by rectal stimulation, where the characteristics of the degree of fluidity, color, odor, quantity and presence of abnormal substances were observed. Of

the animals with voluntary defecation, there was presence of dyschezia. The fecal score was monitored by daily visual observations, being classified from 0 to 3, according to the fluidity of the faeces, as follows: 0) normal faeces, 1) faeces tending to pasty, 2) pasty faeces or 3) faeces watery - intense diarrhea [18]. Feces with a score of 2 or 3 were considered diarrheal.

Blood samples were collected by puncture of the jugular vein using the Vacutainer system (BD Diagnostics, São Paulo, Brazil) in all cases without anticoagulant, in the first, second and third week after birth. The samples were centrifuged at 1,800 xg to obtain the serum, which were then stored in microtubes and frozen at -80 ° C for further analysis of albumin, aspartate aminotransferase, gamma glutamyl transferase, total calcium, phosphorus, sodium, magnesium, potassium, total proteins and urea using commercial kits LaBLest Diagnóstica®, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil). The analyzes were performed in the automatic biochemical analyzer Labmax Plenno (LaBLest®, Minas Gerais, Brazil), with appropriate wavelength light for each test. In order to analyze the serum concentrations of paraoxonase, the kinetic method was carried out through the amount of phenol formed by the phenyl acetate cleavage catalyzed by paraoxonase through a commercial kit (Arylesterase / paraoxonase assay kit, Zeptometrix Corporation, Buffalo, United States).

Statistical analyzes were performed on the SAS statistical program (SAS® Institute Inc., Cary, NC, USA, 2016). The averages were analyzed through the MIXED MODELS package, with comparison of repeated measures, considering the group, the collection and their interaction. Values of  $P < 0.05$  were considered significant. For the comparison between animals that had or not diarrhea, the collection of the third week of life was used, because in this phase the clinical cases occurred. In order to analyze the metabolites in the animals that had diarrhea, the breeding system was excluded and the

number of animals was Healthy Yeast (n=7), Yeast Diarrhea (n=3), Healthy Control (n=7) and Control Diarrhea (n=6). In order to analyze the metabolites in the animals that had diarrhea, considering the breeding system, the treatment was excluded, and the number of animals remained Healthy Bay (n=7), Bay Diarrhea (n=5), Healthy Stake (n=8), Diarrhea Stake (n=3).

## Results

It was possible to observe changes in the concentrations of PPT ( $P < 0.0001$ ), albumin ( $P < 0.0001$ ), PON1 ( $P = 0.006$ ),  $Ca^{T}$  ( $P < 0.0001$ ), P ( $P < 0.0001$ ) and Mg ( $P = .05$ ), which were higher for bred (BC and BL) than for post bred (EC and EL), however there was no effect of yeast treatment (Figure 1). For the other metabolites, there were no differences between the production systems, nor between animals treated with yeast, as shown in table 1. It is observed that there is a difference in the concentrations of the ALB and PPT metabolites when comparing only the system of rearing animals with or without diarrhea, being larger in stalls ( $P = 0.0008$  and  $P = 0.03$ , respectively) (Table 2). No effect was observed on the analyzed metabolites of the yeast treatment when the animals presented diarrhea, as shown in Table 3.

## Discussion

Diseases such as diarrhea may occur in the early stages of calf life due to inadequate food management and hygiene, as well as the breeding system adopted by the farm [13].

Among the breeding systems, the suspended soil bays in sheds have been widely used for the benefits to animals, providing an environment with less infective pressure and thus reducing the spread of diseases. Field stakes, on the other hand, have a lower



implantation cost, but in this system, the animals are submitted to a greater challenge than animals kept in bays, due to the environmental conditions and the management stress, being able to promote a depression of the immune system, which favors the incidence of diseases [13,21].

The PPTs are essentially formed by albumin, fibrinogen and globulins, being synthesized for the most part in the liver [11]. In calves, plasma proteins may vary due to factors such as age and colostrum intake, and changes due to dehydration, nutritional factors or inflammation may also be observed [12,17]. In this study, when the breeding systems were compared, the results showed that the animals raised in the field had lower PPT values than in stalls, being below the reference value for cattle that is 66 to 75 g/L [15]. This decrease can be due to the fact that the animals raised in the cutting also had lower concentrations of albumin than those raised in the bay, also being below the limits reported by Kaneko [15], which would be between 30 and 35 g/L. Albumin is a functional protein that participates in innumerable reactions, responsible for the plasma oncotic pressure and transport of several ions and molecules, besides being a negative acute phase protein [6], being that the animals created in cutting, because they have concentrations may be more susceptible to inflammatory conditions [13,21].

In addition to albumin, PON1 is an enzyme synthesized in the liver, also being considered a negative acute phase protein, where its decrease may indicate susceptibility to infectious diseases [27]. In this study, the animals that stayed in field stakes had lower concentrations of PON1 and albumin, than the animals in the bays, both of which were negative acute phase proteins, and could predict infectious conditions [27], since the liver function markers did not were altered, not associating the decrease of these proteins to liver problem. The use of bays facilitates the immediate identification of the first signs of disease, facilitating the treatment, which may explain the better response of

the group bred (BC and BL) in relation to the group created in stakes (EC and ET), where animals are subject to inter- species and more likely to acquire diseases [13,21]. In addition, when the animals that presented diarrhea were compared with the breeding systems, the animals raised in cuttings presented lower concentrations of Albumin and PPT, which shows a worse efficiency of this type of breeding.

It is also observed that there are alterations in the minerals, calcium, phosphorus and magnesium, where these concentrations were smaller in the animals raised in stakes. Calcium is a mineral of great importance in the body, since it maintains the structural integrity of the bones and teeth and acts as second messenger or regulating ion of diverse physiological functions and has important role in the immunity, like flag and activator of immune cells 24. In this study, bred animals had total serum calcium concentrations within the reference values reported for the species [26], while the animals in the stake group showed below-normal concentration. Fagliari et al. [7] found serum concentrations of this mineral similar in calves of the Dutch and Nelore breeds, from birth to 45 days of age. There is significant influence of age on total serum calcium levels in the first months of life in Holstein calves, with significantly higher levels in the first days of life compared to the other moments [20]. Feijo et al [8] observed that the decrease in calcium changes the synthesis of acute phase proteins, and in the present study the animals in the stem group, which presented reduced concentrations of ALB and PON1, also showed to have reduced levels of calcium in relation to animals allocated in stalls.

Serum phosphorus concentrations range from 2.5 to 6.0 mg/dL in adult animals, however, it has higher concentrations in young animals [24]. In this study, in all groups, serum phosphorus levels were higher than the reference range, in agreement with the results found by Rocha [23]. The highest serum phosphorus concentration in calves,

compared to adult cattle, is due to the action of growth hormone, which has high activity in young animals and increases renal phosphate reabsorption [23].

Magnesium acts on body metabolism in enzymatic reactions, as a cofactor, in most metabolic pathways. It also participates in muscular functions, nerve conduction and mineral formation of bones. The plasma concentration of magnesium in cows is between 1.8 and 2.4 mg/dL [23], where in this study the animals kept in bays maintained their closest levels of these values, while the majority of the animals raised on cuttings presented below the reference values. According to Rosol & Capen, [24] Mg content may decrease 30% in calves fed Mg-deficient diets, where animals begin to mobilize Mg from bone to soft tissues in these young animals when dietary intake is inadequate, which may to explain the lower concentration of this mineral in the stake group. This syndrome has been closely associated with feeding of calves over a period of time and occurs due to a dietary deficiency of Mg, being related to the reduction of the availability of dietary Mg that occurs with the increase of the age, as the animals begin to feed of more solid foods with higher Mg content. Hypomagnesemia can also be exacerbated by diarrhea [24], increasing the loss of this mineral in feces, a fact that can be observed in this study where the concentration of this mineral was lower in the third week of life, a fact explained by the animals presenting a higher index of diarrhea in this week. The bred animals were able to keep their animals closer to the reference values, which shows a better breeding efficiency of these animals in this type of environment

Some studies have also shown that there is no difference between metabolites when animals are supplemented with *S. cerevisiae*. Lesmeister and Heinrichs [19] did not observe a difference in PPT levels. Ayad [1], demonstrated that yeast incorporation did not alter plasma albumin levels in a study in dairy cows. In addition, Kowalik [16], when evaluating supplementation with *S. cerevisiae* in sheep under the concentration of

sodium, phosphorus and magnesium, also did not observe changes. Zaworski [32] also supplemented dairy cows with *S. cerevisiae* fermentation products (PFSC), and this did not affect serum calcium concentrations. The lack of effect of the supplementation of *S. cerevisiae* and its metabolites on the profile of heifers may be due to the fact that these animals do not yet present the fully developed rumen, since there are results that show a yeast effect in adult bovines.

## **Conclusion**

Supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* had no effect on the clinical biochemical profile during the first weeks of life or during diarrhea in dairy heifers during the neonatal period, but an effect was observed in some metabolites in relation to the calf rearing system, where the animals raised in stakes have lower serum concentrations of albumin, PPT and PON1, as well as lower total calcium, phosphorus and magnesium values. The bred animals were able to maintain metabolic levels closer to the reference values, which shows a lower metabolic challenge in calves raised in this system.

### Bibliographic references

1. **Ayad MA, Benallou B, Saim MS, Smadi MA, Meziane T.** Impact of Feeding Yeast Culture on Milk Yield, Milk Components, and Blood Components in Algerian Dairy Herds. *J. Veterinar. Sci. Technolo.* Vol. 4, pp.2, Tiaret, 2013.
2. **Benesi FJ, Coelho CS, Leal MLR, Mirandola RMS; Lisbôa JAN.** Parâmetros bioquímicos para avaliação da função renal e do equilíbrio hidroeletrolítico em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.* Vol.42. pp.291-298, São Paulo, 2005.
3. **Borges AS, Feitosa FLF, Benesi FJ, Birgel EH, Mendes LCN.** Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, p. 629-634, 2001.
4. **Brewer MT, Anderson KL, Yoon I, Scott M, and Carlson SA.** Amelioration of salmonellosis in pre-weaned dairy calves fed *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products in feed and milk replacer. *Veterinary Microbiology.* 172:248–255, 2014.
5. **Coppola MM, Conceição FR, Gil- Turner C.** Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. *Food and Agricultural Immunology.* Vol. 16, Basingstoke, 2004.
6. **Cray C, Zaias J, Altman NH.** Acute Phase Response in Animals: A Review. *Comparative Medicine.* 6th ed. Vol. 59. pp.517-526, Memphis, 2009.

7. **Fagliari JJ, Santana AE, Lucas FA, Campos FE, Curi PR.** Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*), e holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.
8. **Feijó J, Pereira RA, Montagner P, Del Pino FAB, Schmitt E, Corrêa MN.** Dynamics of acute phase proteins in dairy cows with subclinical hypocalcemia. *Canadian Journal of Animal Science*. 2017.
9. **Fuller R.** Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Microbiology*. 1989, **66**: 365-378.
10. **González FHD, Barcellos JO, Ospina H, Ribeiro LAO.** Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
11. **González FHD, Silva SC.** Introdução à bioquímica clínica veterinária. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2<sup>da</sup> ed. pp.357, Porto Alegre, 2006.
12. **Hammon HM, Donkin SS.** Growth hormone influences growth performance, but does not affect gluconeogenesis from lactate or propionate in 60-d old veal calves. *Journal of Animal Science*. **80**, pp. 337, Quebec, 2002.
13. **Heimrichs AJ.** Nutrition and management of replacement cattle. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 59. pp.155-166, Amsterdam, 1996.
14. **Hur TY, Jung YH, Choe CY, Cho YI, Kang ST.** The dairy calf mortality: the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. *Korean Journal of Veterinary Research* 2013, **53**, 103–108.
15. **Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds.)** Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.

16. **Kowalik B, Skomial J, Miltko R, Majewaska M.** The effect of live *Saccharomyces cerevisiae* yeast in ram diets on the digestibility of nutrients, nitrogen and mineral retention, and blood serum biochemical parameters. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science. Vol. 40. pp. 534-539, Jablonna, 2008.
  
17. **Leal MLR, Benesi FJ, Lisbôa JAN, Coelho CS, Mirandola RMS.** Proteinograma sérico de bezerras sadias, da raça holandesa, no primeiro mês pós nascimento. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. Vol.40. pp.138-145, São Paulo, 2003.
  
18. **Leal MLR, Cyrillo FC, Mori CS, Michima LES, Nichi M, Ortolani EL, Benesi FJ.** Modelo de indução de diarreia osmótica em bezerros holandeses. Ciência Rural. 6th Ed. Vol. 38. pp. 1650-1657, Santa Maria, 2008.
  
19. **Lesmeister KE, Heinrichs AJ.** Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. Journal of Dairy Science. Vol.87. pp.3439–3450, Champaign, 2004.
  
20. **Mohri M, Sharifi K, Eidi S.** Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. Research in Veterinary Science, London, v. 83, p. 30-39, 2007.
  
21. **Mourits MCM, Dijkhueizen AA, Huirne RBM, Galliagan DT.** Technical and economical models to support heifer management decisions: basic concepts. Journal of Dairy Science. Vol.80. pp.1406-1415, Champaign, 1997.
  
22. **Neto TA, Gomes IPO, Dias ALG, Córdova HA, Pizzol JGD, Rodrigues RS.** Desempenho de bezerros da raça holandesa suplementados com probiótico a base de

- Saccharomyces cerevisiae*, cepa ka500 e *Pediococcus acidilactici*. Archives of Veterinary Science. 4th ed. Vol.19. pp.10-16, Curitiba, 2014.
23. **Rocha TG, Nocitic.FRP, Jorge RLN, Fagliari JJ.** Concentrações séricas de cálcio, fósforo, magnésio, ferro, sódio e potássio em bezerros mestiços canchim-nelore e da raça holandesa do nascimento aos 30 dias de idade. Ciência Animal Brasileira, Jaboticabal, 2009.
  24. **Rosol TJ, Capen CC.** Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, fifth edition, 1997.
  25. **Saha SK, Senani S, Padhi MK, Shome BR, Ahlawat SPS, Shome R.** Microbial manipulation of rumen using *Saccharomyces cerevisiae* as probiotics. Current Science. 5th Ed. Vol.77. pp. 696-697, Bengaluru, 1999.
  26. **Signoretti RD, Silva JFC, Valadares SCF, Pereira JC, Cecon PR, Queiroz AC, Araújo GGL, Assis GML.** Consumo e absorção aparente total de macromelementos minerais (Ca, P, Mg, Na e K) de dietas em diferentes níveis de volumoso. Revista Brasileira de Zootecnia. 1st. Ed. Vol. 28. pp. 178-184, Juiz de Fora, 1998.
  27. **Silveira PAS, Schwegler E, Montagner P, Krause ART, Acosta DAV, Halfen J, Garlet T, Barros CC, Corrêa MN. Schneider A.** Characterization of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the bovine paraoxonase 1 (PON1) gene affecting serum enzyme activity in dairy cows. The Veterinary Journal, 2015, **205**, pp. 101–103.

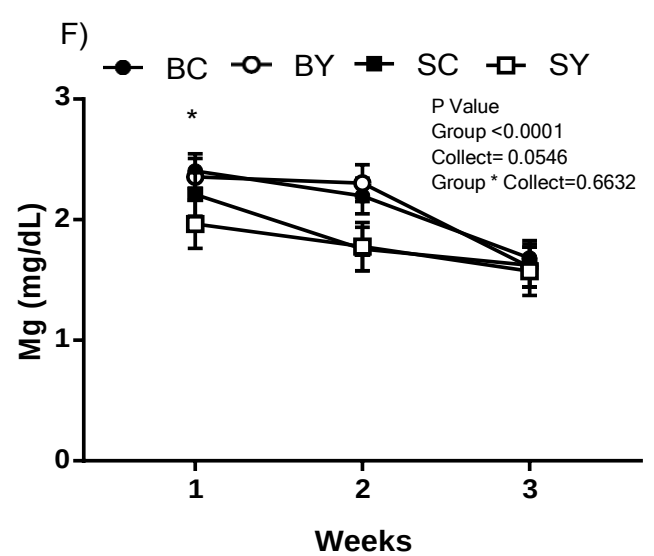
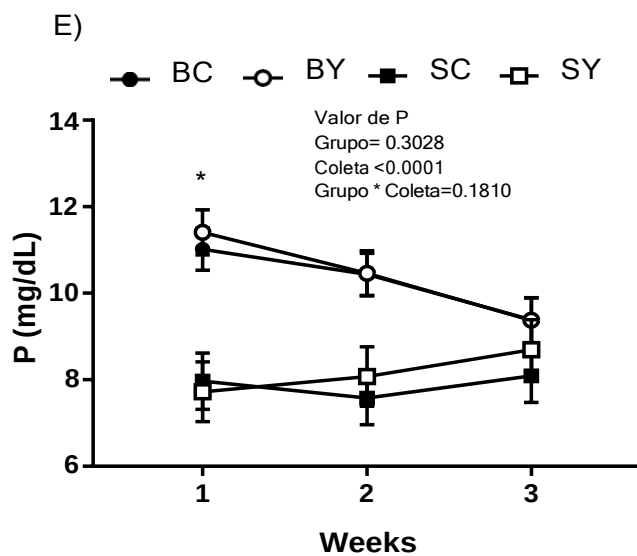
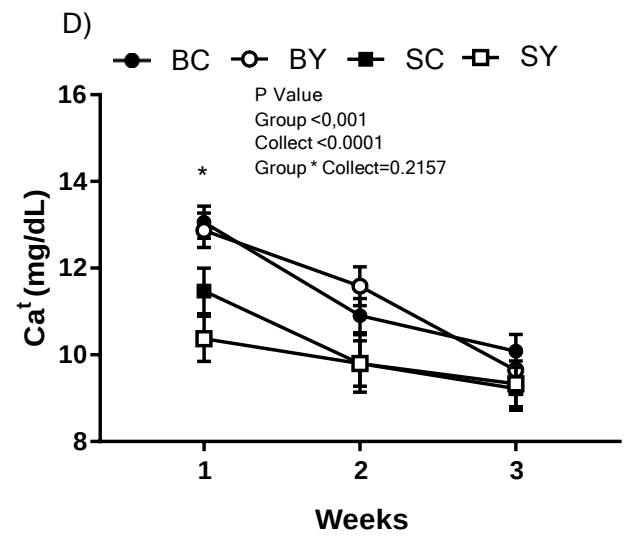
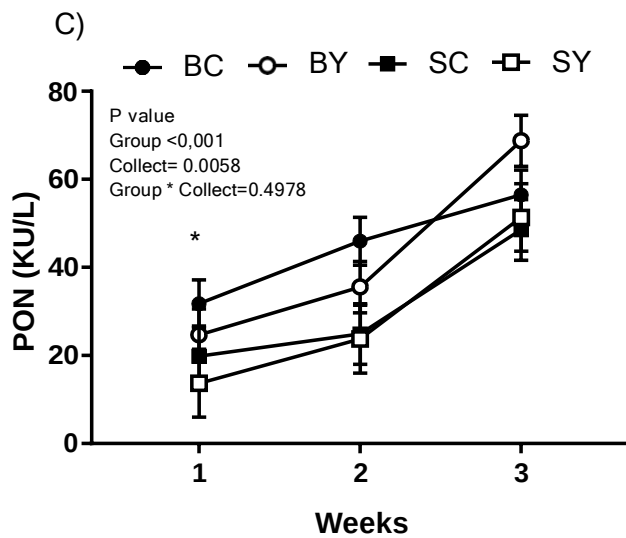
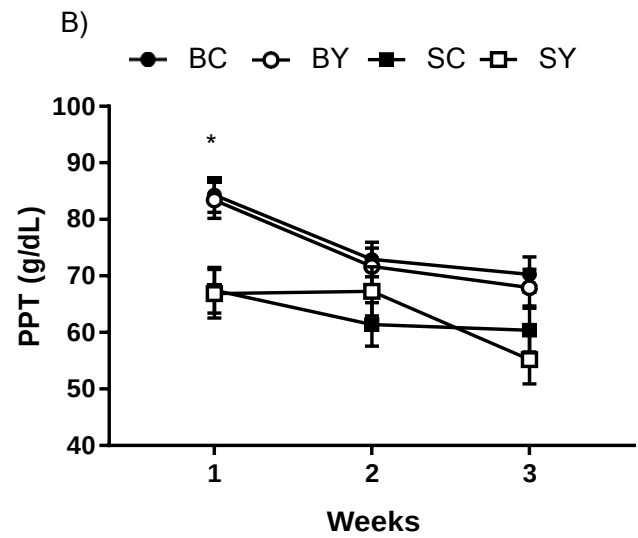
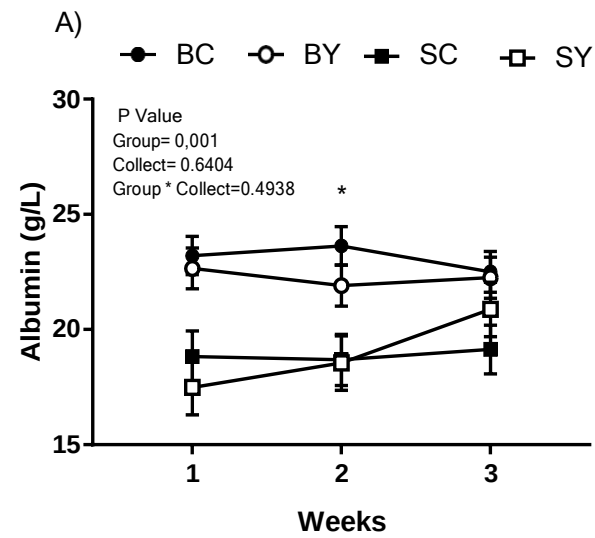


28. **Van Der Vaart JM., Caro LHP, Chapman JW, Klis FM, Verrips TC.** Identification of three mannoproteins in the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Bacteriology. Vol 177. pp. 3104-10, New York, 1995.
29. **Vega C, Bok M, Chacana P, Saif L, Ferdandez F, Parreno V.** Egg yolk IgY: protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. Veterinary Immunology and Immunopathology. Vol. 142. pp. 156-169, Amsterdam, 2011.
30. **Wei S. Gong Z, Che T, Guli A, Tian F.** Genotyping of calves rotavirus in China by reverse transcription polymerase chain reaction. Journal of Virology. Methods. 1st ed. Vol. 189. pp. 36-40, Amsterdam, 2013.
31. **Xiao JX, Alugongo GM, Chung R, Dong SZ, Li SL, Wu ZH, Cao ZJ.** Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. Journal of Dairy Science, v. 99, n. 7, p. 5401-5412, 2016.
32. **Zaworski EM, Shriver-Munsch CM, Fadden NA, Sanches WK, Yoon I, Bobe G.** Effects of feeding various dosages of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in transition dairy cows. Journal of Dairy Science. 5th ed. Vol. 97. pp. 3081-3098, Champaign, 2014.

**Table 1:** Metabolic profile of heifers followed from birth to the third week of life, housed in different breeding systems (bay and stake) and supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast fermentation metabolites.

| Metabolites             | Bay                     |                         | Stake                   |                         | P Values |      |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------|------|
|                         | Control<br>(n=16)       | Yeast<br>(n=14)         | Control<br>(n=10)       | Yeast<br>(n=8)          | Grupo    | G*S  |
| Alb (g/L)               | 23.12±0.49 <sup>a</sup> | 22.27±0.51 <sup>a</sup> | 18.89±0.63 <sup>b</sup> | 18.97±0.68 <sup>b</sup> | <0.0001  | 0.49 |
| PON1(KU/L)              | 44.72±3.17 <sup>a</sup> | 43.02±3.36 <sup>a</sup> | 31.09±3.97 <sup>b</sup> | 29.61±4.44 <sup>b</sup> | 0.006    | 0.50 |
| PPT(g/L)                | 75.83±1.78 <sup>a</sup> | 74.35±1.88 <sup>a</sup> | 63.11±2.26 <sup>b</sup> | 63.12±2.48 <sup>b</sup> | <0.0001  | 0.59 |
| Ure (mg/dL)             | 25.19±0.91              | 23.45±0.95              | 22.24±1.19              | 21.58±1.32              | 0.09     | 0.09 |
| AST (U/L)               | 38.89±1.64              | 38.47±1.69              | 39.55±2.14              | 36.71±2.16              | 0.80     | 0.57 |
| GGT (U/L)               | 100.02±19.11            | 140.28±20.06            | 114.72±26.45            | 157.52±27.96            | 0.29     | 0.32 |
| Ca <sup>t</sup> (mg/dL) | 11.53±0.22 <sup>a</sup> | 11.36±0.24 <sup>a</sup> | 10.16±0.29 <sup>b</sup> | 9.83±0.33 <sup>b</sup>  | <0.0001  | 0.21 |
| K (mmol/L)              | 5.63±0.09               | 5.73±0.10               | 5.80±0.12               | 5.51±0.14               | 0.39     | 0.86 |
| Mg (mg/dL)              | 2.09±0.08 <sup>a</sup>  | 2.09±0.09 <sup>a</sup>  | 1.86±0.10 <sup>b</sup>  | 1.77±0.11 <sup>b</sup>  | 0.05     | 0.66 |
| Na mmol/L)              | 150.26±2.13             | 148.58±2.29             | 152.23±2.77             | 153.86±2.95             | 0.51     | 0.49 |
| P (mg/dL)               | 10.28±0.29 <sup>a</sup> | 10.42±0.29 <sup>a</sup> | 7.88±0.36 <sup>b</sup>  | 8.17±0.39 <sup>b</sup>  | <0.0001  | 0.11 |

G\*S= group\*weeks; Alb = albumin; PON1 = paraoxonase; PPT = total plasma proteins; Ure = urea; AST = aspartate amino transferase; GGT = gamma glutamyl transferase; Cat = total calcium; K = potassium; Mg = magnesium; Na = sodium; P = phosphorus. Different lowercase letters on the same line =  $P \leq 0.05$  indicating difference between bay and stake systems.



**Figure 1:** Effect of supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolyzed yeast fermentation metabolites in different breeding systems on the metabolism of heifers. A) Albumin; B) Total plasma proteins (PPT); C) Paraoxanase (PON1); D) Total Calcium (Cat); E) Phosphorus (P); F) Magnesium (Mg); Groups: BC = control bay; BL = bacillus yeast; EC = stake control; EL = yeast cutting; \*  $P \leq 0.05$  indicating the difference between bay and stake systems.

**Table 2:** Metabolic profile of heifers that presented or not diarrhea in different breeding systems (Bay and Stake).

| Metabolites             | Bay<br>Healthy<br>(n=7) | Bay<br>Diarrhea<br>(n=5) | Stake<br>Healthy<br>(n=8) | Stake<br>Diarrhea<br>(n=3) | P Value |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|---------|
| Alb (g/L)               | 22.87±0.78 <sup>a</sup> | 24.42±0.82 <sup>a</sup>  | 20.95±0.78 <sup>b</sup>   | 17.85±1.03 <sup>b</sup>    | 0.0008  |
| PON 1(KU/L)             | 73.93±9.99              | 76.18±11.82              | 47.82±9.99                | 49.16±13.22                | 0.16    |
| PPT (g/L)               | 71.21±4.02 <sup>a</sup> | 69.5±4.76 <sup>a</sup>   | 54.2±4.02 <sup>b</sup>    | 61.92±5.32 <sup>b</sup>    | 0.03    |
| Ure (mg/dL)             | 22.57±2.37              | 25.4±2.80                | 19.43±2.37                | 19.5±3.14                  | 0.38    |
| AST (U/L)               | 42.57±3.72              | 34.6±4.41                | 32.71±3.72                | 39.25±4.93                 | 0.29    |
| GGT (U/L)               | 45.57±12.62             | 47.0±16.7                | 71.14±12.62               | 80.25±16.7                 | 0.28    |
| Ca <sup>t</sup> (mg/dL) | 10.48±0.42              | 10.58±0.65               | 9.59±0.42                 | 8.57±0.56                  | 0.06    |
| P (mg/dL)               | 10.33±0.53              | 10.37±0.63               | 8.56±0.53                 | 8.75±0.70                  | 0.07    |
| Mg (mg/dL)              | 1.76±0.14               | 2.02±0.22                | 1.77±0.14                 | 1.54±0.19                  | 0.49    |

Alb = albumin; PON1 = paraoxonase; PPT = total plasma proteins; Ure = urea; AST = aspartate amino transferase; GGT = gamma glutamyl transferase; Cat = total calcium; K = potassium; Mg = magnesium; P = phosphorus; Na = sodium.  $P \leq 0.05$  indicating the difference between bays and stakes.

**Table 3:** Effect of treatment with *Saccharomyces cerevisiae* and hydrolysed yeast fermentation metabolites on the metabolic profile of heifers that presented or not diarrhea.

| Metabolits              | Healthy Control (n=7) | Diarrhea Control (n=6) | Yeast Healthy (n=6) | Yeast Diarrhea (n=6) | Valor de P |
|-------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|----------------------|------------|
| Alb (g/L)               | 22.47±1.37            | 20.43±1.48             | 21.02±1.37          | 23.63±2.09           | 0.56       |
| PON 1 (KU/L)            | 47.48±10.04           | 60.39±10.84            | 77.39±10.04         | 71.22±15.33          | 0.22       |
| PPT (g/L)               | 70.82±3.04            | 67.13±3.28             | 65.58±3.04          | 64.13±4.64           | 0.57       |
| Ure (mg/dL)             | 21.85±1.93            | 23.16±2.08             | 17.0±1.93           | 22.0±2.94            | 0.17       |
| AST (U/L)               | 39.71±4.16            | 35.5±4.50              | 29.28±4.16          | 39.0±6.36            | 0.34       |
| GGT (U/L)               | 68.28±11.87           | 75.80±14.05            | 50.28±11.87         | 43.33±18.13          | 0.38       |
| Ca <sup>t</sup> (mg/dL) | 9.79±0.52             | 9.91±0.62              | 9.58±0.52           | 8.22±0.98            | 0.52       |
| K (mmol/L)              | 5.07±0.26             | 5.81±0.28              | 5.39±0.26           | 5.29±0.40            | 0.33       |
| Mg (mg/dL)              | 1.49±0.12             | 1.93±0.15              | 1.69±0.12           | 1.29±0.23            | 0.10       |
| Na (mmol/L)             | 146.14±5.05           | 152.40±5.98            | 157.43±5.05         | 132.33±7.72          | 0.08       |
| P (mg/dL)               | 9.36±0.63             | 9.45±0.68              | 8.29±0.63           | 10.05±0.97           | 0.80       |

Alb = albumin; PON1 = paraoxonase; PPT = total plasma proteins; Ure = urea; AST = aspartate amino transferase; GGT = gamma glutamyl transferase; Cat = total calcium; K = potassium; Mg = magnesium; P = phosphorus; Na = sodium.

## **5 Conclusão**

A suplementação de bezerras com levedura e seus metabólitos de fermentação, não alterou o perfil bioquímico clínico e as proteínas de fase aguda, tampouco teve efeito quando os animais foram acometidos por diarreia. Além disso, pode-se notar que os animais alojados em Baías individuais em galpões tiveram um menor desafio metabólico, mostrando ser um ambiente mais adequado para esses neonatos.

## Referências

ARAÚJO, G. G. L. et al. Consumo e absorção aparente total de macromelementos minerais (Ca, P, Mg, Na e K) de dietas em diferentes níveis de volumoso, In: **Reunião Anual da Sociedade brasileira de Zootecnia**, 34, Juiz de Fora, MG, 1997. Juiz de Fora: SBZ, 1997, p.237-239.

BATISTA, C.G; COELHO, S.G; RABELO, E. et al. Desempenho e saúde de bezerras alimentadas com leite sem resíduo de drogas antimicrobianas ou leite de vacas tratadas contra mastite adicionado ou não de probióticos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.185-191, 2008.

BENESI, F.J.; COELHO, C.S.; LEAL, M.L.R.; MIRANDOLA, R.M.S; LISBÔA, J.A.N. Parâmetros bioquímicos para avaliação da função renal e do equilíbrio hidroeletrólítico em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.42, n.4, p.291-298, 2005.

BOUDERGUE, C. et al. Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. **European Food Safety Authority Supporting Publication**, p. 192, 2009.

BREWER, M. T., K. L. Anderson, I. Yoon, M. Scott, and S. A. Carlson. 2014. Amelioration of salmonellosis in pre-weaned dairy calves fed *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products in feed and milk replacer. **Veterinary Microbiology** 172:248-255.

CALLAWAY, E. S.; MARTIN, S. A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2035-2044, 1997.

DAVIS, M. E. et al. Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 82, n. 6, p. 1882-1891, 2004.

HEINRICHS, A. J., Nutrition and management of replacement cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.59, ns. 1-3, p.155-166, 1996.



HOSONO, A.; OZAWA, A.; KATO, R.; OHNISHI, Y.; NAKANISHI, Y.; KIMURA, T.; NAKAMURA, R. Dietary fructooligosaccharides induce immunoregulation of intestinal IgA secretion by murine Peyer's patch cells. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 64, n. 4, p. 758-764, 2003.

HUR, Tai-Young et al. The dairy calf mortality: the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 2, p. 103-108, 2013.

JENSEN, G. S.; PATTERSON, K. M.; YOON, I. Nutritional yeast culture has specific antimicrobial properties without affecting healthy flora - Preliminary results. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.17, p.247-252, 2008.

MARCONDES, M. I. et al. Performance and health of Holstein calves fed different levels of milk fortified with symbiotic complex containing pre-and probiotics. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, n. 8, p. 1555-1560, 2016.

MEGANCK, Vanessa et al. Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 118, n. 1, p. 64-70, 2015.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 141-157, 2001.

MIGUEL, J. C.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; PETTIGREW, J. E. Efficacy of a mannan oligosaccharide (Bio-Mos) for improving nursery pig performance. **Journal of Swine Health and Production**. v. 12, n. 6, p. 296-307, 2004.

MOURITS, M. C. M.; DIJKHUIZEN, A. A.; HUIRNE, R. B. M.; GALLLIGAN, D. T. Technical and economical models to support heifer management decisions: basic concepts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, p.1406-1415, 1997.

NETO T. A. et al. Desempenho de bezerros da raça holandesa suplementados com probiótico a base de *Saccharomyces cerevisiae*, cepa ka500 e *Pediococcus acidilactici*. **Archives of Veterinary Science** ISSN 2317-6822 v.19, n.4, p.10-16, 2014.

NETO, R. M. et al. Proteína total sérica em bezerros da raça holandesa submetidos a diferentes regimes de aleitamento. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 43, n. 1, p. 265-284, 1986.

NEWBOLD, Charles James; WALLACE, R. J.; MCINTOSH, F. M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 76, n. 2, p. 249-261, 1996.

NETO, André Thaler et al. Desempenho de bezerros da raça holandesa suplementados com probiótico a base de *Saccharomyces Cerevisiae*, *Cepa Ka500* E *Pediococcus Acidilactici*. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 4, 2014.

QUIGLEY, J. D. 2005. Mannan-oligosaccharides and other non-antibiotic alternatives to the management of enteric disease of cattle. In Proceedings of the 38th **Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners**, Salt Lake City, Utah.

RABASSA, et al. Efeito da suplementação com mananoligossacarídeo sobre parâmetros clínicos e ganho de peso vivo de bezerras. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1547-1556, out./dez. 2011.

RIGOBELLO E. C. et al. Desempenho de frangos de corte suplementadas com probiotico. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.27, n.2, 111-115, 2011.

ROGER, Valérie et al. Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the ruminal bacteria *Ruminococcus flavefaciens* and *Fibrobacter succinogenes* subsp. *succinogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 10, p. 3081-3087, 1990.

SAINZ, R. D. et al. Effects of a direct-fed microbial and fibrolytic enzyme product on somatic cell counts in milk produced by crossbred dairy cows in the Brazilian Cerrado. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 126, 2011.

SHOKRYAZDAN, Parisa et al. Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 206, n. 1, p. 1-9, 2017.

SILVEIRA, Pedro AS et al. Characterization of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the bovine paraoxonase 1 (PON1) gene affecting serum enzyme activity in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 205, n. 1, p. 101-103, 2015.

STEWART, G. G. Yeast: a single cell organism with multiple roles in the food and beverage industries. In: **Proceedings of Alltech's 18th Annual Symposium on Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries**, Lexington, Kentucky. p. 295-300, 2002.

VAN DER VAART, J. MARCEL et al. Identification of three mannoproteins in the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of bacteriology**, v. 177, n. 11, p. 3104-3110, 1995.

VEGA, C. et al. Egg yolk IgY: protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 142, n. 3, p. 156-169, 2011.

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

WEI, S. et al. Genotyping of calves rotavirus in China by reverse transcription polymerase chain reaction. **Journal of virological methods**, v. 189, n. 1, p. 36-40, 2013.

WHITE, L. A.; NEWMAN, M. C.; CROMWELL, G. L.; LINDEMANN, M. D. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2619-2628, 2002.

XIAO, J. X. et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5401-5412, 2016.

YOON, I. K.; STERN, M. D. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* Cultures on Ruminal Fermentation in Dairy Cows<sup>1</sup>. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 3, p. 411-417, 1996.

ZEOULA, Lucia Maria et al. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 563-571, 2008.

## **Anexos**

## Anexo A – Comitê de ética



Pelotas, 20 de fevereiro de 2013

**De:** Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

*Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEE A)*

**Para:** Professora Viviane Rohig Rabassa

*Faculdade de Veterinária*

Senhora Professora:

A CEEA analisou o projeto intitulado: “**Avaliação clínica e zootécnica de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada**”, processo nº23110.000436/2013-80, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer e assiná-lo, reenviar o processo à CEEA. Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa e Iniciação Científica para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 0436).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva**

*Presidente da CEEA*

Ciente em: 01 / 03 / 2013

Assinatura da Professora Responsável: