

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Residência Multiprofissional e em Área Profissional da Saúde



**AVALIAÇÃO CLÍNICA E ZOOTÉCNICA DE BEZERRAS
SUPLEMENTADAS COM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* E
METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA**

Bárbara Scherer

Pelotas, RS, Brasil

2014

Folha de Aprovação para Trabalho de Conclusão de Curso

Bárbara Scherer

Avaliação clínica e zootécnica de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Especialista em Clínica Médica de Ruminantes, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 6 de fevereiro de 2014.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a Viviane Rohrig Rabassa. (Orientador)
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof^a. Dr^a. Bruna da Rosa Curcio
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

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

Relatório apresentado à Comissão de Residência Multiprofissional e em Área Multiprofissional da Saúde - Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista.

Orientador acadêmico: Prof^a. Dr^a Viviane Rohrig Rabassa

Acadêmico: Bárbara Scherer

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por guiar meus passos até a conclusão desta etapa da minha vida que se resume à realização de um sonho.

Agradeço imensamente à minha querida mãe por me apoiar e entender meus momentos de ausência e também pela ajuda em inúmeros momentos de dúvidas, angústias e alegrias até então desconhecidas.

Aos meus familiares e antigos amigos por se fazerem presentes sempre, apesar da distância e da recorrente falta de tempo.

Agradeço aos amigos que fiz em Pelotas, pois sem a participação deles tudo teria sido mais difícil e menos divertido. Os verdadeiros e bons tenho certeza que levarei para toda a vida.

Por último, mas não menos importante agradeço ao grupo de pesquisa ao qual fiz parte nos últimos dois anos, o NUPEEC. Graças às pessoas nele inserido, cresci muito profissional e pessoalmente. Meu futuro profissional com certeza vai ser positivamente influenciado pela competência de meus orientadores e colegas.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
1. INTRODUÇÃO	8
2. RELATÓRIO DE CASUÍSTICA	11
3. ARTIGO NORMAS REVISTA COM WEBQUALIS DA CAPES	15
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
5. REFERÊNCIAS	31
6. ANEXOS	32

LISTA DE TABELAS

Relatório da Casuística

Tabela 1. Animais atendidos pela Residência em Clínica de Ruminantes de março e 2012 a janeiro de 2014 nos diversos cenários de atuação	11
Tabela 2. Casos atendidos na Residência em Clínica de Ruminantes segundo o sistema afetado	12
Tabela 3. Enfermidades diagnosticadas durante o período de Residência em Clínica de Ruminantes no Hospital Veterinário e Fazenda da Palma	13
Tabela 4. Enfermidades diagnosticadas durante o período de Residência em Clínica de Ruminantes na Granja 4 Irmãos.....	14

RESUMO

Scherer, Bárbara. **Clínica Médica de Ruminantes**. 2014. 37 f. Relatório de Conclusão de Especialização, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Este relatório de conclusão de especialização do Programa de Residência Multiprofissional em Área Profissional da Saúde – Residência em Clínica Médica de Ruminantes objetiva descrever a casuística clínica e cirúrgica acompanhada no Hospital de Clínicas Veterinária (HCV) da Universidade Federal de Pelotas, assim como em propriedades parceiras do Núcleo de Ensino, Pesquisa e Extensão em Pecuária (NUPEEC) e nos demais cenários de prática do setor, do período de março de 2012 a março de 2014. Da mesma maneira, está aqui apresentado o projeto intitulado “Avaliação clínica e zootécnica de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada”, realizado no segundo ano de Residência, assim como o artigo escrito com base nos resultados do mesmo, já com versão final submetida nas normas do periódico.

Palavras-chave: ruminantes, clínica, neonato, levedura.

1. INTRODUÇÃO

A residência do Programa de Residência Multiprofissional em Área Profissional da Saúde, na área de concentração Clínica Médica de Ruminantes no Hospital de Clínicas Veterinária (HCV) da UFPel ocorreu do início de março de 2012 até fevereiro de 2014, sob orientação do Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa e da profª Drª Viviane Rohrig Rabassa, além dos outros preceptores da área de clínica de ruminantes.

A carga horária do programa de residência é de 60 horas semanais presenciais no HCV ou em outros cenários de atuação. No caso da Clínica Médica de Ruminantes, essas horas foram divididas por turnos de segunda a sábado.

As atividades se baseiam em atendimentos clínicos dentro e fora do HCV, assim como rotina dos animais internados (curativos, fisioterapia, medicação, etc.), cirurgias, avaliações de rebanhos, atividades laboratoriais e atividades teóricas como seminários, confecções de relatórios e reuniões onde se discutem os casos e o andamento dos mesmos. O Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel, desde sua fundação em 1971 se tornou referência em clínica animal para uma área que abrange 22 municípios nos arredores da cidade de Pelotas. A área de Clínica Médica de Ruminantes conta hoje com duas Médicas Veterinárias residentes, as quais se organizam para realizar atividades como rotina hospitalar, atendimentos externos, encerramentos de contas, confecção de laudos, confecção de seminários e apresentações, demais atividades teóricas, plantões noturnos e de finais de semana. Essas atividades são constantemente supervisionadas pelos professores orientadores: Profª Drª Viviane Rabassa e Prof. Dr. Marcio Nunes Correa, e pelos preceptores da área de clínica de ruminantes.

O Hospital de Clínicas Veterinária - UFPel possui ainda convênio com a Empresa Concessionária de Rodovias do Sul - ECOSUL[®]. Os animais que estão soltos em estradas e rodovias são recolhidos e encaminhados ao HCV para alojamento e atendimento clínico quando necessário.

A fazenda da Palma, propriedade da UFPel, também é assistida pelos residentes do HCV. Os ruminantes que apresentam qualquer enfermidade são atendidos diretamente na fazenda, ou em casos mais graves, são levados ao hospital para internamento.

Outro estabelecimento que tem convênio com a residência em Clínica de Ruminantes é a Granja 4 Irmãos – setor leiteiro, localizada no Taim, no município de Rio Grande. As residentes visitam a propriedade semanalmente para tratar e acompanhar os animais doentes e também, trimestralmente, avaliar o rebanho como um todo.

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo, cresce a uma taxa anual de 4%, superior à de todos os países que ocupam os primeiros lugares. O leite está entre os seis primeiros produtos mais importantes da agropecuária brasileira, ficando à frente de produtos tradicionais, como café beneficiado e arroz. O agronegócio do leite desempenha um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população. O Rio Grande do Sul, durante a última década, manteve uma participação ao redor de 10% na produção nacional de leite. Sendo a produção no ano de 2000, de 2,03 bilhões de litros. Neste aspecto, a indústria de laticínios tem potencializado o valor nutritivo do produto. Por outro lado, deve-se também ressaltar o papel que o leite desempenha no aspecto social do País, principalmente na geração de empregos. Especificamente, no Rio Grande do Sul predominam pequenos produtores, que têm no leite uma forma mais estável de renda. Aproximadamente 66% dos produtores do Estado produzem até 50 litros de leite/dia, sendo responsáveis por 30% do leite sob inspeção federal no RS (EMBRAPA, 2008).

A área da Clínica de Ruminantes tem acompanhado as mudanças do mercado, e por isso algumas adaptações foram gradualmente implantadas. O produtor já enxerga a propriedade não só como uma fonte de renda mas sim um negócio que pode ser lucrativo, por isso a necessidade de acompanhar as mudanças no setor. O Médico Veterinário tem o papel de integrar todos os setores dentro de uma propriedade, analisando cada um deles e identificando os pontos de estrangulamento que estão freando o crescimento da mesma.

Dentro de uma propriedade leiteira, o setor da bezerreira tem papel crucial no sistema produtivo como um todo. As taxas de morbidez e mortalidade de bezerros são extremamente importantes nos sistemas de produção de bovinos leiteiros, uma vez que têm grande peso em planilhas de custo. Taxas de mortalidade em torno de 5% são consideradas normais, entretanto, a maior parte das propriedades apresenta índices bastante superiores. Estatísticas nacionais são raras, dificultando a

elaboração de políticas de treinamento e transferência de tecnologia para produtores e funcionários envolvidos nesta atividade. Já os inúmeros levantamentos internacionais mostram que os principais fatores pré-disponentes de mortalidade de bezerros recém-nascidos são o tamanho do rebanho, diarreias, instalações inadequadas, época de nascimento, alimentação, e o manejo de colostro (Machado Neto *et al.*, 2004).

A maioria dos casos de diarreia neonatal em bezerros leiteiros acontece nas duas primeiras semanas de vida, porém, podem haver infecções até os quatro meses de idade, ainda decorrentes da falta de imunidade passiva. As perdas com a doença nesse setor podem chegar a 20% (Motta, 2000). As diarreias podem ser classificadas como nutricionais ou infecciosas, sendo que neste caso alguns agentes são mais comumente associados à enfermidade dependendo da idade do animal. O diagnóstico precoce é de extrema importância e pode ser feito a partir da atenção aos fatores predisponentes. Contudo, para diminuir consideravelmente as taxas de morbidade e mortalidade, medidas preventivas como certificar-se que o animal recebeu imunidade passiva adequadamente, vacinação, alimentação balanceada e cuidados com higiene das instalações e utensílios são fundamentais (Wattiaux, 2005).

Segundo Fey (2000) tem sido comprovado que o uso indiscriminado de antimicrobianos na pecuária é principal causa da emergência e disseminação da resistência aos próprios antimicrobianos.

Por essa razão o uso de leveduras, fungos unicelulares largamente utilizados na indústria alimentícia, como alternativa para a prevenção e tratamento da diarreia neonatal é o foco do projeto de R2 aqui apresentado. Tal mudança no manejo de bezerras leiteiras é visto como um passo muito importante na atualização do setor diante da cadeia produtiva como um todo.

2. RELATÓRIO DE CASUÍSTICA

Durante o período da residência foram atendidos 2896 casos em bovinos, caprinos, ovinos e bubalinos atendidos provenientes de diversos cenários de atuação, sendo eles: o próprio Hospital de Clínicas Veterinária ; a leiteira das Granjas 4 Irmãos S.A. que a anos é parceira do grupo de pesquisa NUPEEC; a fazenda da Palma de propriedade da UFPel; o Biotério da Universidade; e a EMBRAPA. Esta relação está disposta na da Tabela 1.

Tabela 1: Animais atendidos pela Residência em Clínica de Ruminantes no período de março de 2012 a janeiro de 2014 nos diversos cenários de atuação.

Cenário de atuação	Bovinos	Ovinos	Número de Animais	Porcentagem
Granja 4 Irmãos	2742	0	2742	93,39%
Fazenda da Palma	72	4	76	2,58%
ECOSUL®	72	3	75	2,55%
Particulares	17	10	27	0,91%
Pavilhão de ovinos	0	9	9	0,3%
Embrapa	5	0	5	0,17%
Biotério UFPel	0	2	2	0,06%
Total	2908	28	2936	100%

Destes casos atendidos 2883 (98,19%) foram de resolução clínica e 53 (1,8%) foram encaminhados para procedimento cirúrgico.

Dividindo o total de casos segundo o sistema afetado, a maior ocorrência foi de alterações do sistema tegumentar (77,88%), seguido pelos sistemas circulatório (10,58%), digestório (6,58%), genitourinário (1,52%), respiratório (0,33%), musculoesquelético (0,33%) e nervoso (0,23%), conforme exposto na tabela 2.

Tabela 2: Casos atendidos na Residência em Clínica de Ruminantes segundo o sistema afetado.

Sistema afetado	Bovinos	Ovinos	Número de casos	Porcentagem
Tegumentar	2292	4	2296	77,88%
Circulatório	311	1	312	10,58%
Digestório	191	3	194	6,58%
Genitourinário	42	3	45	1,52%
Respiratório	9	1	10	0,33%
Musculoesquelético	9	1	10	0,33%
Nervoso	4	3	7	0,23%
Total	2858	16	2874	100%

Separando o número de casos atendidos por doença específica, a enfermidade com maior prevalência são afecções de casco seguida de diarreia, anaplasiose, cetose, tristeza parasitária, hipocalcemia, metrite, distocia, hérnia umbilical, lacerações de pele, carcinoma de células escamosas, artrite, verminose, abscessos de pele, fratura, enterotoxemia, broncopneumonia, rinotraqueíte infecciosa bovina, acrobustite, má formação congênita e outros, além de animais que após exame clínico foram considerados isentos de qualquer enfermidade, conforme mostrado nas tabela 3 e 4. Lembrando que cada animal atendido pode ter apresentado mais de uma doença.

Tabela 3: Enfermidades diagnosticadas durante o período de Residência em Clínica de Ruminantes no Hospital Veterinário e Fazenda da Palma.

Enfermidade	Número de casos	Porcentagem
Tristeza parasitária	54	46,15%
Hipocalcemia	8	6,83%
Metrite	7	5,98%
Mastite	7	5,98%
Ferimentos de pele	5	4,27%
Distocia	5	4,27%
Verminose	3	2,56%
Abcesso	3	2,56%
Diarreia	2	2,56%
Anaplasmose	2	2,56%
Cetose	2	2,56%
Hérnia umbilical	2	2,56%
Endotoxemia	2	2,56%
Broncopneumonia	2	2,56%
Acrobustite	2	2,56%
Outras	11	9,4%
Total	117	100%

Tabela 4: Enfermidades diagnosticadas durante o período de Residência em Clínica de Ruminantes na Granja 4 Irmãos.

Enfermidade	Número de casos	Porcentagem
Afecções de casco	2266	83,33%
Diarreia	179	6,58%
Anaplasmose	130	4,78%
Cetose	116	4,26%
Artrite	4	0,14%
Hérnia umbilical	3	0,11%
Mastite	3	0,11%
Carcinoma de células escamosas	3	0,11%
Distocia	2	0,07%
Fratura	2	0,07%
Rinotraqueíte Infecciosa Bovina	2	0,07%
Má formação congênita	1	0,03%
Tristeza parasitária	1	0,03%
Outras	7	0,25%
Total	2719	100%

3. ARTIGO NORMAS PERIÓDICO ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Avaliação clínica e zootécnica de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura.

Clinical and zootechnical evaluation of calves supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* and yeast fermentation metabolites

Bárbara Scherer^{I*}; Viviane Rohrig Rabassa^I; Marcio Nunes Corrêa^I; Paula Montagner^I; Francisco Augusto Burkert Del Pino^I; Cassio Cassal Brauner^I; Fernanda Medeiros Gonçalves^I; Raquel Fraga e Silva Raimondo^I; Eduardo Goularte Xavier^{II}.

^IFaculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas

Campus Universitário s/n. Capão do Leão/RS

^{II}Granjas 4 Irmãos S.A.

BR 471 km 501. Rio Grande/RS

*bbscherer@gmail.com

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos da sua fermentação na dieta durante o período neonatal de bezerras leiteiras sobre a incidência de diarreia e desenvolvimento corporal. Foram estudadas 114 bezerras da raça Holandês separadas em grupo Controle e grupo levedura, durante os 42 primeiros dias de vida. A levedura foi administrada diariamente e mensurações zootécnicas (peso, perímetro torácico, altura de cernelha e largura de garupa e ganho médio diário) eram realizadas semanalmente. Os animais eram divididos em dois tipos de alocações: casinhas e estacas, e eram observados quanto a apresentação de diarreia. Caso estivessem doentes eram avaliados clinicamente (frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de perfusão capilar e temperatura corporal) assim como tinham sangue coletado para hemograma. Não houve diferença entre o grupo Controle e grupo Levedura quanto aos parâmetros zootécnicos, parâmetros clínicos e hematológicos, porém analisando os animais que apresentaram diarreia durante o período, os que estavam alocados nas estacas tiveram maior ganho de peso. Já dos animais do grupo Controle que apresentaram diarreia, os que estavam nas estacas apresentaram maior perímetro torácico. Analisando altura de cernelha, largura de garupa e

ganho médio diário, os animais alocados nas casinhas que pertenciam ao grupo Levedura e que tiveram diarreia apresentaram maiores médias. As bezerras alocadas nas estacas do grupo Controle por sua vez também apresentaram médias de ganho médio diário maiores que do grupo Levedura nesta instalação. Hematologicamente houve diferença entre os grupos para o parâmetro eosinófilos, sendo que o grupo Controle teve maiores contagens da célula, assim como um tendência do mesmo grupo a apresentar maiores contagens de neutrófilos bastonetes e monócitos. Concluindo, a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* mostrou alavancar o desempenho zootécnico de animais que apresentam diarreia alojados em ambientes confinados.

Palavras chave: bezerras, diarreia, levedura, zootécnico.

Introdução

A cadeia produtiva do leite é uma das mais importantes atividades de produção do complexo agroindustrial brasileiro. Segundo o IBGE (2011), no primeiro trimestre de 2011 foram adquiridos 5,485 bilhões de litros de leite, indicando assim uma variação positiva de 4,1% com relação ao primeiro trimestre de 2010. Em termos de participação, a região Sudeste do país concentrou 40,5% da aquisição de leite cru e o Sul 32,0%. Essa produção tem uma contribuição maior de dois estados, sendo eles: Minas Gerais e Rio Grande do Sul, com 25,1% e 16,4%, respectivamente.

Um dos principais pontos críticos da criação de bovinos de leite se dá na cria de bezerras, que serão as futuras vacas lactantes do rebanho leiteiro. Qualquer problema durante seu desenvolvimento pode prejudicar o potencial produtivo ou atrasar o ingresso destes animais à produção (Santos e Damasceno, 1999). Entre os pontos de estrangulamento da fase de cria se destaca a mortalidade de bezerros no primeiro mês de vida, causada principalmente pela diarreia neonatal, a qual contribui de modo significativo para aumentar em até 20% os custos de produção (Mota *et al.*, 2000).

A principal causa da diarreia em bezerros são as infecções por bactérias patogênicas no intestino (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Eimeria* spp), assim como vírus e parasitas, então como medida profilática os antimicrobianos são comumente adicionados à alimentação (Braidwood e Henry, 1990). No entanto o uso de antibióticos na produção animal pode contribuir para a resistência de bactérias a estes antibióticos (Fey *et al.*, 2000).

Entre as alternativas usadas para prevenção ou tratamento de diarreia neonatal podemos destacar os organismos que recebem o nome genérico de probióticos, que nada mais

são que substâncias adicionadas aos alimentos com o objetivo de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudiquem seu valor nutritivo . Fuller (1989) definiu probióticos como um suplemento microbiano vivo, que afeta benéficamente o animal hospedeiro graças à melhoria no balanço microbiano intestinal. Classificadas como aditivos, as culturas de leveduras são utilizadas na alimentação animal a mais de seis décadas. Suñé e Múhlbach (1998), observaram que o uso da levedura triplicou nos últimos 10 anos nos Estados Unidos, passando de 16,9% para 50,8% o número de produtores que utilizam a levedura como fonte de aditivo alimentar no rebanho leiteiro.

Sobre seu uso em neonatos, Saha *et al.* (1999) observaram que o fornecimento via oral de *Sacharomyces cerevisiae* para bezerros em aleitamento resultou em maior ganho de peso, maior peso vivo e menor incidência de diarreia do nascimento aos 105 dias. Os efeitos produzidos compreendem a manutenção da microbiota intestinal saudável e modulação da resposta imune (Coppola e Turnes, 2004). Devido à sua ação benéfica no hospedeiro, esses microrganismos são utilizados em distúrbios do metabolismo gastrointestinal e na prevenção e tratamento de doenças, podendo ser ingeridos na forma de preparação farmacêutica ou de alimento fermentado ou suplementado (Martins *et al.*, 2005).

Assim como a levedura íntegra, os manonoligossacarídeos (MOS) obtidos a partir da parede da levedura tem sua importância bem estabelecida para o bom funcionamento do trato gastrointestinal superior de bezerras em fase de aleitamento (Uzay *et al.*, 2011). São chamados de prébióticos, ou seja, fibras não digeríveis que afetam benéficamente o organismo, estimulando seletivamente a atividade e crescimento de bactérias não patogênicas presentes no cólon (Gosh, 2011). Os MOS ocupam os sítios de ligação com bactérias patogênicas no intestino, como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* Patógenos que expressam fímbrias do tipo 1 absorvem os MOS ao invés de se ligar ao epitélio intestinal, e assim, transitam pelo intestino sem que haja colonização (Spring *et al.*, 2000, Fairchild *et al.*, 2001, Parks *et al.*, 2001).

Também, o papel dos glucanos como imunomoduladores biológicos ativos tem sido documentado nos últimos 40 anos. O interesse nas propriedades imunomoduladoras dos polissacarídeos obtidos a partir da parede da levedura foi fortalecida após alguns experimentos mostrarem que uma grosseira preparação de leveduras estimulavam os macrófagos via ativação do sistema complemento (Vetvicka *et al.*, 2007).

Assim, a hipótese deste estudo é que um produto que além da levedura viva também forneça substâncias como MOS e glucanos em sua formulação traz maiores benefícios à

manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal de bezerros neonatos, diminuindo a ocorrência de diarreia e contribuindo para um maior desenvolvimento corporal destes animais.

Diante do exposto, objetiva-se avaliar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos da sua fermentação na dieta durante o período neonatal de bezerras leiteiras sobre a incidência de diarreia e desenvolvimento corporal.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira, na cidade de Rio Grande/RS. Foram utilizadas 114 bezerras da raça Holandês, do primeiro ao 42º dia de vida, sendo todos os procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação da Universidade Federal de Pelotas (código 436).

Animais e grupos experimentais

Os animais permaneceram alocados em sistema de confinamento (casinhas, n= 53) ou ao ar livre (estacas, n= 66), recebendo 4 litros de leite/dia, assim como concentrado peletizado (Supra Terneira – Supra®, São Leopoldo - Brasil) e água, de acordo com o NRC (2001).

Os animais que chegavam ao setor da bezerreira tinham sangue coletado em tubos contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Após centrifugação dos tubos, o plasma era avaliado em refratômetro portátil para aferição dos níveis de proteínas plasmáticas totais (PPT), e os animais que apresentavam PPT menor que 5 g/dL não entravam no experimento, por apresentarem baixa concentração sanguínea de imunoglobulinas (Borges *et al.*, 2001).

Os animais foram divididos uniformemente, por ordem de nascimento em dois grupos: grupo Levedura (n=58) e grupo Controle (n=56). A associação de levedura e metabólitos de sua fermentação (Celmanax®, Vi-Cor, Estados Unidos) foi administrado por via oral nos animais do grupo Levedura, em quantidade de 8mL/animal, uma vez ao dia, por um período de 42 dias.

Coleta de dados de desempenho

Os animais foram avaliados a cada 7 dias quanto ao ganho de peso, perímetro torácico, altura de cernelha e largura de garupa com o uso de fitas para tórax próprias para a raça Holandês, perfazendo um total de 6 avaliações.

Avaliações clínicas

As bezerras eram acompanhadas diariamente e tinham seu comportamento e escore de fezes observados. O escore variava de 0 a 3, da seguinte maneira: 0) normal , 1) anormal – fezes tendendo a pastosa, 2) pastosa ou 3) aquosas – diarreia intensa (Leal, 2008). Fezes com escore 2 ou 3 eram consideradas diarreicas e coletadas para análise bacteriológica.

A condição clínica das bezerras foi avaliada no momento do diagnóstico do quadro de diarreia, durante o período de suplementação, através de exame clínico geral. O quadro diarreico se apresentava normalmente durante os 5 primeiros dias de vida do animal .Os parâmetros avaliados foram frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, tempo de preenchimento capilar (TPC) e coloração de mucosas segundo o proposto por Raiser (2003).

A antibioticoterapia preconizada quando os animais apresentaram sinais de diarreia foi a associação de sulfadiazina e trimetoprima (Tribissen, Intervet Shering – Plough, Brasil) na dose de 15mg/Kg de peso vivo, via intramuscular. As bezerras que apresentaram severa desidratação receberam também fluidoterapia via parenteral baseada em infusão de solução de ringer com lactato de sódio (Basa®, Brasil), com volume variando de acordo com o grau de desidratação do animal.

Coletas e análises coprológicas

Foram realizadas coletas de fezes para avaliação bacteriológica quando os animais apresentavam quadro de diarreia. Após a coleta as amostras foram congeladas e posteriormente enviadas ao Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), setor de bacteriologia da Universidade Federal de Pelotas - UFPel. As amostras foram semeadas em ágar sangue desfibrinado ovino a 8% e em ágar MacConkey e logo depois incubadas a 37° em estufa bacteriológica por 24-48 horas. As colônias foram caracterizadas bioquimicamente.

Hemograma

Foram coletadas amostras sanguíneas para realização de hemograma completo apenas no dia do diagnóstico de diarreia, pois novas coletas ao longo do período de

suplementação teriam seus resultados alterados em razão da terapia realizada nesses animais como protocolo da propriedade. O hemograma foi realizado através da contagem do número de eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito e leucócitos totais, em contador automático CC-530 (CELM, São Paulo, Brasil). O teor plasmático de fibrinogênio foi obtido pelo método de precipitação pelo calor e leitura em refratômetro (Millar *et al.*, 1971).

Os esfregaços sanguíneos foram corados com o Romanowky Panótico Rápido (LaborClin[®], Brasil), e através da visualização em microscópio ótico foi realizada a identificação de 100 células, a fim de obter o diferencial celular (George *et al.*, 2010)

Análise estatística

Os resultados obtidos neste estudo foram analisados através do programa SAS[®] (1986), utilizando a análise de variância para medidas repetidas, com comparação entre médias (gupos, coletas e grupo x coleta) de acordo com o Teste de Tukey HSD ($P < 0,05$), para os parâmetros zootécnicos (ganho de peso, perímetro torácico, altura de cernelha e largura de garupa). Para os parâmetros hematológicos (eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, linfócitos, eosinófilos, monócitos, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio) e clínicos (frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de perfusão capilar e temperatura corporal), avaliados no momento do diagnóstico da diarreia, foi utilizada a análise de One Way ANOVA. Todas as variáveis foram analisadas quanto ao efeito do ambiente de criação (estaca ou casinha).

Resultados

Entre os grupos Levedura e Controle não houve diferença ($p > 0,05$) para incidência de diarreia ($p = 0,47$), sendo de 74% no grupo Controle e 66% no grupo Levedura. Os índices zootécnicos, da mesma forma, não apresentaram diferenças quando comparados grupo x coleta, tampouco houve diferença quando comparados os grupos Levedura e Controle. Foram observadas diferenças apenas quando as coletas semanais foram comparadas entre si, conforme demonstrado na Tab. 1.

Tabela 1. Parâmetros zootécnicos (média e erro padrão da média) de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura.

Parâmetros	Grupos			Valor de p	
	Levedura	Controle	Grupo	Coleta	Grupo x Coleta
Peso corporal (kg)	47,9 ($\pm 0,5$)	48,3 ($\pm 0,5$)	0,59	0,0001	0,29
Altura de cernelha (cm)	81,3 ($\pm 0,4$)	81,5 ($\pm 0,4$)	0,80	0,0001	0,24
Perímetro torácico (cm)	81,2 ($\pm 0,3$)	81,3 ($\pm 0,3$)	0,91	0,0001	0,91
Largura de garupa (cm)	29,3 ($\pm 0,2$)	29,1 ($\pm 0,2$)	0,26	0,0001	0,95

No momento do diagnóstico da diarreia foi encontrada diferença estatística para o grupo Controle no parâmetro hematológico eosinófilos (Tab. 2). Há também uma tendência de maiores níveis de monócitos e neutrófilos bastonetes no grupo Controle.

Tabela 2. Parâmetros clínicos e hematológicos (média e erro padrão da média) no momento da apresentação de sinais clínicos de diarreia, de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura.

Parâmetros	Grupos		Valor de p
	Levedura	Controle	
Frequência cardíaca (bpm)	112,5 (±4,4)	112,0 (±9,2)	0,93
Frequência respiratória (mpm)	30,6 (±2,1)	30,8 (±4,0)	0,93
Tempo de perfusão capilar (segundos)	2,4 (±0,1)	2,6 (±0,2)	0,48
Temperatura corporal (°C)	38,8 (±0,1)	39,1 (±0,2)	0,63
Eritrócitos (x10 ⁶ /μL)	8,3 (±0,4)	9,1 (±1,2)	0,50
Hematócrito (%)	30,5 (±1,7)	28,4 (±1,7)	0,36
Hemoglobina (g/dL)	9,5 (±0,5)	9,3 (±0,7)	0,65
Leucócitos totais (/μL)	18.700 (±2.100)	19.000 (±3.100)	0,89
Neutrófilos segmentados (/μL)	8.283,5 (±1.264,1)	14.162,2 (±7.054,2)	0,19
Neutrófilos bastonetes (/μL)	635,9 (±162,5)	2.205,3 (±1.696,4)	0,09
Linfócitos (/μL)	7.456,9 (±1.262,5)	8.160,5 (±1.891,3)	0,77
Eosinófilos (/μL)	139,9 (±41,3) ^a	431,5 (±229,2) ^b	0,05
Monócitos (/μL)	1.744,3 (±508,5)	16.044,3 (±14.749,9)	0,08
Proteínas plasmáticas totais (g/dL)	6,8 (±0,3)	7,6 (±0,9)	0,11
Fibrinogênio (mg/dL)	475,0 (±149,3)	266,6 (±66,6)	0,37

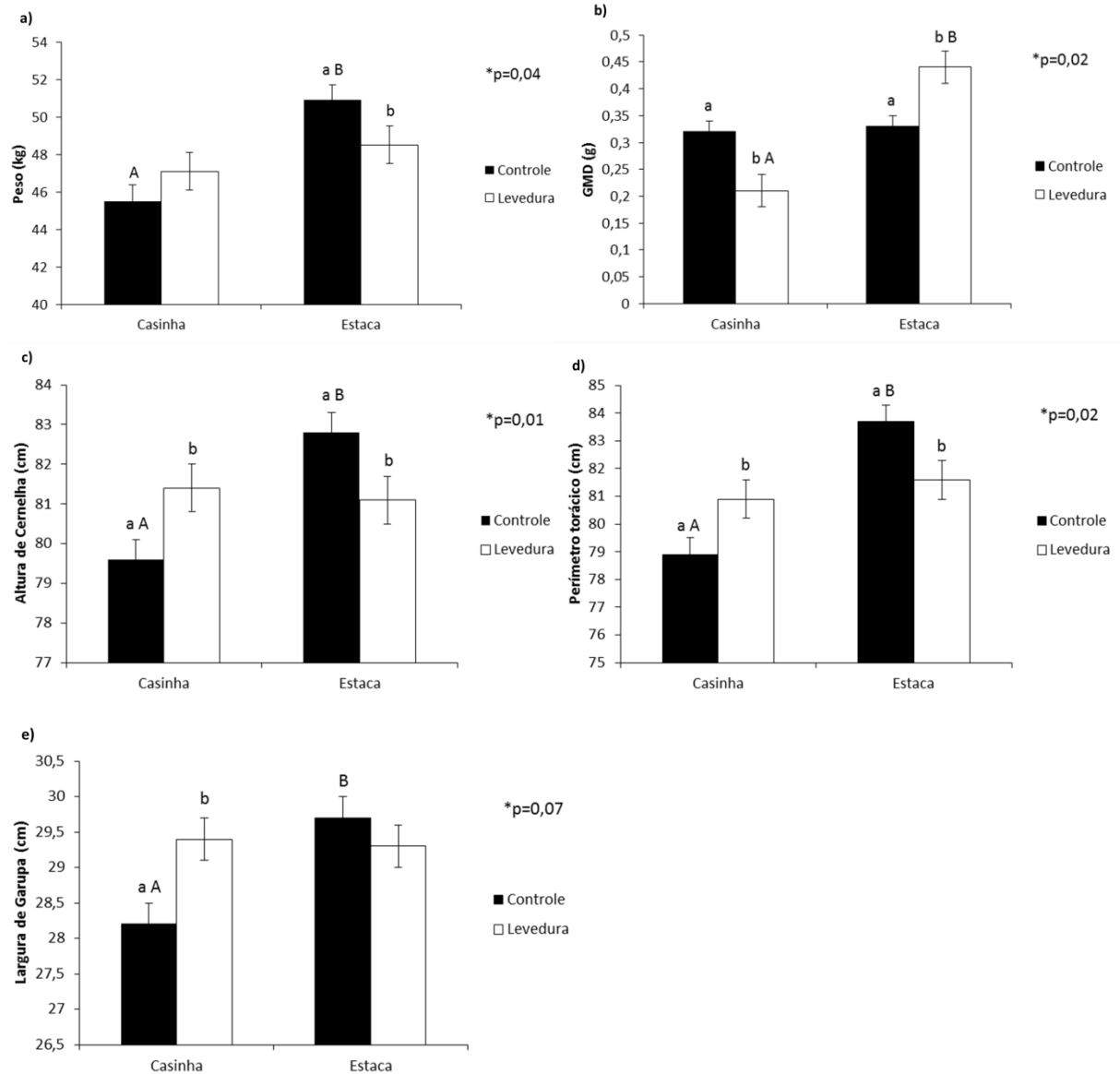
^{a,b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre grupos (p≤0,05).

Analisando os animais que apresentaram diarreia durante as seis semanas do experimento, foram encontrados dados com diferença estatística em relação aos parâmetros zootécnicos, os quais estão demonstrados na figura 1. Dos animais com sintomatologia de diarreia neonatal, os animais do grupo Controle alocados nas estacas tiveram maior ganho de peso, altura de cernelha, perímetro torácico e largura de garupa do que aqueles em sistema de casinha. No grupo Levedura o sistema de criação influenciou somente no GMD, sendo que este foi maior em animais criados em estacas.

Quanto à comparação entre grupos dentro do mesmo sistema de criação, foi observado maior ganho de peso, altura de cernelha e perímetro torácico nos animais do grupo Controle alojados em estacas, em comparação ao grupo Levedura. Porém, o grupo Levedura apresentou maior GMD no sistema de estaca, quando comparado ao Controle (Figura 1).

Quando considerado o sistema de casinha, o grupo Levedura apresentou maior altura de cernelha, perímetro torácico e largura de garupa em comparação ao grupo Controle, porém com menor GMD (Fig. 1).

Figura 1. Parâmetros zootécnicos (média e erro padrão da média) de bezerras com diarreia suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura e mantidos em diferentes sistemas de criação.



*Valor de p para a interação entre grupo, presença de diarreia e sistema de criação.

^{a,b} Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre grupos dentro do mesmo sistema de criação ($p \leq 0,05$).

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre sistemas de criação dentro do mesmo grupo ($p \leq 0,05$).

O resultado da análise bacteriológica mostrou que 52,38% das amostras de fezes coletadas continham *Enterococcus sp.*, 47,61% continham *Escherichia coli* não hemolítica (parte da microflora bacteriana local), 33,33% poliflora bacteriana e em 4,76% das amostras não houve crescimento bacteriano.

Discussão

Como apresentado anteriormente, não houve diferença para incidência de diarreia entre os grupos, diferentemente de Magalhães *et al.* (2008), que observou que animais suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram menor incidência da doença quando comparados aos não suplementados e também melhor escore fecal e menos dias com sinais clínicos da doença que o grupo controle. Um grau menor de severidade da doença também foi relatado por Gosh e Mehla (2011).

Rogers *et al.* (1992) relatou ter observado a presença de *Enterococcus durans* no epitélio intestinal de bezerras mestiças com quadro diarreico, e Cho *et al.* (2013) em seu experimento, observou que mais da metade das amostras fecais de bezerros com diarreia analisadas tinham envolvimento de múltiplos agentes, como observado neste estudo.

Em comparação aos índices zootécnicos que da mesma maneira, não foram diferentes entre os dois grupos, Uzmay *et al.*, (2011) obteve um resultado similar já que o grupo suplementado com MOS não apresentou crescimento ósseo superior ao grupo controle, apesar de Lesmeister *et al.* (2004) relatar uma maior largura de garupa ao final do experimento nos bezerros que recebiam *Saccharomyces cerevisiae* até os 42 dias de vida. Da mesma forma, Malik e Bandla (2010) encontram diferença para ganho médio diário e peso final em bezerros bubalinos que recebiam dieta suplementada com probióticos, ao contrário do que foi observado em nosso estudo e no de Quigley *et al.* (1992) que também não observou diferença de ganho de peso entre os grupos.

O efeito positivo da levedura em animais com diarreia criados em casinhas provavelmente se dê porque os mesmos sofrem um desafio maior que outras bezerras criadas em ambientes abertos. A alta pressão infectiva causada pelo acúmulo de dejetos, umidade e má ventilação causa depressão do sistema imune, tendo a levedura melhor efeito em casos onde os animais são mais desafiados. Segundo Ross (2006) há indicativos de que leveduras

alavancam o funcionamento do sistema imune, porém o mecanismo deste processo ainda não está bem elucidado.

Num estudo realizado por Masanetz *et al.* (2011), bezerros pré-ruminantes suplementados com prebióticos não apresentaram contagem de eosinófilos diferente entre grupo suplementado e grupo controle, diferente do observado em nosso trabalho. Mas em compensação, a contagem de monócitos também apresentou tendência a ser menor no grupo suplementado.

Segundo Jones (2007), a tendência observada para o número mais elevado de monócitos e neutrófilos no grupo Controle indica que há um grau mais intenso da enfermidade neste grupo. Esse dado é reforçado pela também tendência de neutrófilos bastonetes estarem em maior número na circulação dos animais do mesmo grupo, o que representa um prognóstico reservado da saúde nestes animais. Assim, o grupo Levedura, por apresentar menores números de células de defesa teve a severidade da diarreia diminuída ou a saúde do animal se restabelecendo mais rapidamente.

Conclusão

Concluimos que a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* apresentou efeito sobre a contagem de eosinófilos e nos parâmetros zootécnicos de animais com diarreia criados em confinamento, favorecendo seu desenvolvimento corporal e condição clínica.

Referências

BORGES, A.S., FEITOSA, F.L.F., BENESI, F.J. *et al.* 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. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec, v. 2001, 2001.

BRAINDWOOD, J. C. e HENRY, N. W. Clinical efficacy of chlortetracycline hydrochloride administred in milk replacer to calves. Veterinary Records, v. 127, p. 297-301, 1990.

CHO, Y.I., HAN, J. I., WANG, C. *et al.* Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. Vet Microbiol, v. 166, p. 375-385, 2013.

COPPOLA, M.M., CONCEIÇÃO, F.R., GIL-TURNES, C. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. *Food and Agricultural Immunology*, v. 16, p.1297-1303, 2004.

FAIRCHILD, A.S., GRIMES, J.L., JONES, F.T., *et al.* Effects of hen age, Bio-Mos® and Flavomycin® on poult susceptibility to oral *Escherichia coli* challenge. *Poultry Sci*, v. 80, p. 562-571, 2001.

FEY, P. D.; SAFRANEK, T. J.; RUUP, M. E. *et al.* Ceftriaxone-resisant salmonella infection acquired by a child from cattle. *New England Journal of Medicine*, v.432, p. 1242-1249, 2000.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 66, p. 365-378. 1989.

GEORGE, J.W., SNIPES, J., LANE, V.M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 39, p. 138–148, 2010.

GOSH, S., MEHLA, R.K., SIROHI, S.K., TOMAR, S.K. Performance of crossbred calves with dietary supplementation of garlic extract. *Animal Physiology And Animal Nutrition*, v. 95, p. 449-455, 2010.

INDICADORES IBGE, 2011. Disponível em: www.ibge.com.br/home/estatistica/economia/ppm/.../ppm2011.pdf. Acessado em 20 de set. 2012.

JONES, M.L., ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet. Clin. Food Anim*, v. 23, p. 377-402, 2007.

LEAL, M.L.R, CYRILLO, F.C., MORI, C.S. *et al.* Modelo de indução de diarreia osmótica em bezerros holandeses. *Ciência Rural*, v. 38, p. 1650-1657, 2008.

LESMEISTER, K.E., HEINRICHS, A.J., GABLER, M.T. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 1832-1839, 2004.

MAGALHÃES, V.J., SUSCA, F., LIMA, F.S. *et al.* Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 91, p. 1497-1509, 2008.

MALIK, R., BANDLA, S. Effect of source and dose of probiotics and exogenous fibrolytic enzymes (EFE) on intake, feed efficiency, and growth of male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 42, p. 1263-1269, 2010.

MARTINS, F. S., TIAGO, F.C.P., BARBOSA, F.H.F. *et al.* Utilização de leveduras como probióticos. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 5, 2005.

MASANETZ, S., PREIBINGER, W., MEYER, H.H.D., PFFAFL, M.W. Effects of the prebiotics inulin and lactulose on intestinal immunology and hematology of preruminant calves. *The Animal Consortium*, v. 5, p. 1099-1106, 2011.

MILLAR, H. R.; SIMPSON, J. G., SRALKEN, A. L. An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. *Journal of Clinical Pathology*, v. 24, p. 827-830, 1971.

MOTA R.A., SILVA K.P.C., RIBEIRO T.C.F. *et al.* Eficácia do Nuflor no tratamento de diarreias em bezerros e leitões. *Hora Veterinária*, v118,p.21-24. 2000.

PARKS, C.W., GRIMES, J.L., FERKET, P.R., FAIRCHILD, A.S. The effect of mannanoligosaccharides, bambarmycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. *Poultry Sci*, v. 80, p. 718-723, 2001.

QUIGLEY, J.D., WALLIS, L.B., DOWLEN, H.H., HEITMANN, R.N. Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth, and intake in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 3531-3538, 1992.

RAISER, A.G., MAZZANTI, A., LOPES, S.T.A. *et al.* Material alternativo de coleta de sangue em bovinos para transfusão. *Hora Vet.*, v. 23, p. 39-42, 2003.

ROGERS, D.G., ZEMAN, D.H., ERICKSON, E.D. Diarrhea associated with *Enterococcus durans* in calves. *J Vet Diagn Invest.* v. 4, p. 471-472, 1992.

ROSS, T.B. *Efeito de Saccharomyces boulardii e Bacillus cereus var. toyoi na resposta imune de cordeiros vacinados contra Escherichia coli e Herpes vírus bovino-5.* 2006. 70f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SAHA, S. K., SENANI, S., PADHI, M.K. *et al.* Microbial manipulation of rumen using *Saccharomyces cerevisiae* as probiotics. *Current Science*, v.77, p. 696-697, 1999

SPRING, P., WENK, C., DAWSON, K.A., NEWMAN, K.E. (2000) The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Sci*, V. 79, P. 205-211, 2000.

SUÑÉ, R.W., MUHLBACH, P.R.F. Efeito da adição da cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Cepa 1206 na produção e qualidade do leite de vacas holandesas em pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.27, p.1248-1252, 1998.

UZMAY,C., KILIÇ.A., KAYA,I. *et al.* Effect of mannan oligosaccharide addition to wholemilk on growth and health of Holstein calves. *Archiv Tierzucht*, v. 2, p. 127-132, 2011.

VETVICKA,V., VETVICKOVA, J. Physiological effects of different types of β -glucan. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, v.151, p. 225-231, 2007.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, a experiência clínica prática e teórica, assim como a experiência pessoal assimiladas durante o período de residência juntamente com o processo de formulação e realização do projeto de pesquisa foram de suma importância para a qualidade da minha formação como pós-graduanda e acima de tudo, como Médica Veterinária.

5. REFERÊNCIAS

FEY, P. D.; SAFRANEK, T. J.; RUUP, M. E.; DUNNE, E. F.; RIBOT, E. Ceftriaxone-resistant salmonella infection acquired by a child from cattle. **New England Journal of Medicine**. 432: 1242-1249, 2000.

MACHADO NETO, R.; FARONI, C.E.; PAULETTI, P.; BESSI, R. Levantamento do manejo de bovinos leiteiros recém-nascidos: desempenho e aquisição de proteção passiva. **R. Bras. de Zootecnia**, v.33, p.2323-2329, 2004.

MOTA R.A., SILVA K.P.C., RIBEIRO T.C.F. *et al.* Eficácia do Nuflor no tratamento de diarreias em bezerros e leitões. **Hora Veterinária**, v118,p.21-24. 2000.

Sistema de criação de bovinos de leite para a região Sudoeste do Rio Grande do Sul. Disponível em:

[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/BovinoLeiteRegiao SudoesteRioGrandeSul/importancia.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/BovinoLeiteRegiaoSudoesteRioGrandeSul/importancia.htm). Acessado em 1 de dezembro de 2013.

Wattiaux, M. A. Heifer raising - birth to weaning. Neonatal diarrhea. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. 2005. University of Wisconsin-Madison.

6. ANEXOS

Avaliação clínica e zootécnica de bezerras suplementadas com *Saccharomyces cerevisiae* e metabólitos de fermentação de levedura hidrolisada.

1. Caracterização do problema

A cadeia produtiva do leite é uma das mais importantes atividades de produção do complexo agroindustrial brasileiro. Segundo o IBGE (2011), no primeiro trimestre de 2011 foram adquiridos 5,485 bilhões de litros de leite, indicando assim uma variação positiva de 4,1% com relação ao primeiro trimestre de 2010. Em termos de participação regional tem-se que o Sudeste do país concentrou 40,5% da aquisição de leite cru e o Sul 32,0%. Essa produção tem uma contribuição maior de dois estados, sendo eles: Minas Gerais e Rio Grande do Sul, respectivamente, 25,1% e 16,4%.

A pecuária nacional, particularmente a bovinocultura, apresenta vários pontos de estrangulamento, sendo um deles a mortalidade de bezerros no primeiro mês de vida – principalmente diarreia neonatal, a qual contribui de modo significativo para aumentar os custos de produção. Um dos principais pontos críticos da produção de leite se dá na cria de bezerras, que serão as futuras vacas lactantes do rebanho leiteiro. Qualquer problema durante seu desenvolvimento pode prejudicar o potencial produtivo ou atrasar o ingresso destes animais à produção (SANTOS & DAMASCENO, 1999).

A diarreia neonatal é uma das principais causas de mortalidade em terneiros e também de perdas econômicas na pecuária, principalmente por retardo de crescimento e de mortalidade, a qual pode chegar a 20% (MOTA et al.,2000). A principal causa da diarreia em terneiros são, as infecções por bactérias patogênicas no intestino, e como medida profilática, antimicrobianos, são comumente adicionados à alimentação (BRAIDWOOD E HENRY, 1990). No entanto o uso de

antibióticos na produção animal pode contribuir para a resistência de bactérias a estes antibióticos (FEY et al., 2000).

Entre as alternativas usadas para prevenção ou tratamento de diarreia neonatal podemos destacar os organismos que recebem o nome genérico de probióticos. Fuller (1989) definiu probióticos como um suplemento microbiano vivo, que afeta benéficamente o animal hospedeiro graças à melhoria no balanço microbiano intestinal.

Classificadas como aditivos, as culturas de leveduras são utilizadas na alimentação animal a mais de seis décadas. Jordan & Fourdraine (1993), citados por Suñé & Múhlbach (1998), observaram que o uso da levedura triplicou nos últimos 10 anos nos Estados Unidos, passando de 16,9 para 50,8% o número de produtores que utilizam a levedura como fonte de aditivo alimentar no rebanho leiteiro.

Saha et al., (1999) observaram que o fornecimento via oral de *Sacharomyces cerevisiae* para terneiros em aleitamento resultou em maior ganho de peso, maior peso vivo e menor incidência de diarreia do nascimento aos 105 dias.

Os efeitos produzidos compreendem a manutenção da microbiota intestinal saudável e modulação da resposta imune (COPPOLA; TURNES, 2004). Devido à sua ação benéfica no hospedeiro, esses microrganismos são utilizados em distúrbios do metabolismo gastrointestinal e na prevenção e tratamento de doenças, podendo ser ingeridos na forma de preparação farmacêutica ou de alimento fermentado ou suplementado (MARTINS et al., 2005).

Diante do exposto, objetiva-se avaliar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* na dieta durante o período neonatal de bezerras leiteiras sobre a incidência de diarreia, metabolismo e desenvolvimento corporal.

2. Objetivos e Metas

Objetivo Geral:

Avaliar o efeito da suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* na dieta durante o período neonatal de bezerras leiteiras sobre a incidência de diarreia, resposta imune e desenvolvimento corporal.

Metas:

1. Determinar um padrão clínico das bezerras estudadas;
2. Avaliar o desenvolvimento corporal de bezerras suplementadas com metabólitos de fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*;
3. Determinar epidemiologicamente a incidência de diarreia em animais suplementados com metabólitos de fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*;
4. Determinar o perfil hematológico das bezerras durante o estudo;
5. Determinar o perfil bioquímico (minerais, proteínas totais, proteínas de fase aguda, glicose) das bezerras;
6. Avaliar a resposta imune humoral dos animais estudados

Metodologia e Estratégia de ação

Instalações

O experimento será realizado em uma propriedade leiteira ao sul do Rio Grande do Sul, no município de Rio Grande, nas coordenadas geográficas 32 ° 16 'S, 52 ° 32' E.

Os animais serão mantidos em sistema intensivo de produção sob mesmas condições de manejo. Os mesmos ficarão alocados em um galpão com baias individuais, com uma pressão infectiva baixa, tendo em vista que será habitado após um vazio sanitário. Diariamente, serão levantados dados do ambiente ao qual eles serão submetidos, como: temperatura ambiental, umidade do ar e nível pluviométrico.

Recursos Humanos

Este projeto está vinculado às linhas de pesquisa referente à Clínica Metabólica, nas quais já viemos desenvolvendo atividades dentro do grupo de pesquisa NUPEEC - Estudos em Metabolismo Animal. Serão envolvidos orientados dos Programas de Pós-Graduação em Biotecnologia, Medicina Veterinária e Zootecnia, bem como, estudantes de iniciação científica dos cursos de graduação em Biotecnologia, Medicina Veterinária e Zootecnia, nas atividades de pesquisa relacionadas ao projeto, sendo um importante instrumento de formação de recursos humanos.

Estudo

Serão utilizadas 120 bezerras híidas, da raça Holandês, com um dia de vida.. Após o nascimento, os animais serão separados da mãe, e receberão colostro de acordo com o manejo da fazenda. As bezerras serão alojadas em abrigos individuais, e passarão a receber quatro litros de leite dia, divididos em duas refeições (7 e 17h), e terão livre acesso à água e ao concentrado inicial peletizado (Supra Terneira Laminado, Supra[®], São Leopoldo, Brasil).

Os animais serão acompanhados desde o nascimento até a 10^a semana de vida, neste período, os mesmos serão avaliados clinicamente duas vezes por semana. Ao nascerem os animais serão divididos em dois grupos de 60 animais cada, sendo eles: grupo *Saccharomyces cerevisiae* e grupo Controle. O grupo *Saccharomyces cerevisiae* terá 8 mL/terneira/dia de *Saccharomyces cerevisiae* incorporado na dieta líquida.

Avaliações zootécnicas

Os animais serão pesados ao nascer e semanalmente, em balança mecânica, sempre antes do fornecimento da dieta no período da manhã, até a 6^a semana. Semanalmente, serão feitas medidas de altura na cernelha e largura na garupa com o auxílio de régua graduada em centímetros; e perímetro torácico com fita flexível, também graduada em centímetros.

Avaliações Clínicas

Os animais serão observados diariamente e, assim que qualquer alteração no comportamento, condição física e desempenho forem percebidos, deve-se realizar

um exame clínico minucioso, em busca de sinais indicativos de comprometimento do trato digestório. Serão determinados os sinais clínicos, compreendendo frequência cardíaca através da auscultação da área cranial da caixa torácica esquerda utilizando fonendoscópio, frequência respiratória através da auscultação do perímetro pulmonar em caixa torácica direita ou esquerda, ou auscultação da traquéia, temperatura corporal aferida por termômetro de mercúrio inserido na ampola retal, lateralizado a fim de tocar a mucosa do reto e ali posicionado por dois minutos, e o grau de desidratação individual observado através do tempo de demora da pele a retornar ao local original após prega manual realizada na tábua do pescoço, realizados diariamente e considerando os parâmetros fisiológicos propostos por Raiser (2003).

Durante o exame clínico, uma amostra de fezes será coletada mediante estimulação retal, sendo observadas as características quanto ao aspecto, coloração, odor, quantidade, e presença de substâncias anormais. Dos animais com defecação voluntária, será observado presença de disquezia. Serão caracterizadas como diarréicas as fezes de consistência mole a líquida. O monitoramento do escore fecal será realizado através de observações visuais diárias (Tab. 1).

Tabela 1 – Classificação do Escore de Fezes de acordo com a fluidez

Escore de Fezes	Fluidez
1	Normal
2	Mole
3	Corrente
4	Aquosa
5	Líquida

Fonte: Adaptado de Larson (1977).

Coleta e processamento das amostras

Amostras de sangue serão coletadas duas vezes por semana de todos os animais desde o nascimento até o aparecimento de sinais clínicos ou até a 6ª semana.

A metodologia utilizada será a venopunção jugular, após assepsia local com álcool iodado, utilizando-se tubos vacuolizados contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), sendo coletados 5 mL de sangue para a realização do hemograma. Os mesmos procedimentos serão empregados para a coleta de amostras de 10 mL de sangue em tubos sem anticoagulantes, para as análises bioquímicas e imunológicas do soro sanguíneo.

As amostras de sangue venoso que serão coletadas com anticoagulante EDTA serão aferidas em relação às contagens de hemácias e de leucócitos e ao teor de hemoglobina, em aparelho semi-automático. O volume globular será obtido em microtubos de 50 µL submetidos à centrifugação a 13.000 x g, durante 5 minutos. Os cálculos dos índices hematimétricos serão realizados utilizando-se as fórmulas matemáticas destinadas a tal fim (THRALL, 2007). A contagem diferencial de leucócitos será realizada em esfregaço sanguíneo corado com corante de Rosenfeld modificado, após contagem de 100 células, em microscopia óptica (THRALL, 2007).

A partir das amostras de sangue sem anticoagulante serão feitos ensaios bioquímicos. Para determinar os teores séricos de proteína total, glicose, albumina, globulinas, uréia, creatinina, cálcio, fósforo, potássio, cloretos, sódio, bicarbonato e magnésio. As leituras das amostras serão realizadas em espectrofotômetro BioEspectro[®] SP 220 (Bioespectro, Curitiba, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste.

Já a haptoglobina é mensurada através do método colorimétrico, pela reação de peróxido de hidrogênio com a hemoglobina que oxida o guaiacol liberando luz, segundo protocolo de Connell & Smithies (1959). E o fibrinogênio, através de refratometria, em que dois tubos serão analisados quanto às proteínas totais, sendo que um dos tubos fica sob alta temperatura para precipitação do fibrinogênio antes de ser mensurada a quantidade de proteínas totais. Dessa forma pode se conhecer a quantidade de fibrinogênio na amostra.

Exames coprológicos serão realizados no dia em que será identificada a doença, pelo Laboratório Regional de Diagnósticos e Laboratório de Parasitologia – UFPel, com o intuito de isolamento do agente e como diagnóstico diferencial de endoparasitoses intestinais.

O colostro e leite fornecido às bezerras serão analisados físico-quimicamente e microbiologicamente, três vezes durante o experimento. Os parâmetros físico-químicos avaliados serão: detecção de resíduos de antibióticos, acidez titulável em graus Dornic, estabilidade ao álcool, determinação de densidade a 15 °C e determinação do índice crioscópico, segundo metodologia convencional recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). Além disso, serão feitas análises referentes ao teor de gordura, determinação do extrato seco desengordurado e teor de proteína. As amostras serão submetidas à pesquisa de *Salmonella* sp., determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 35 °C e Coliformes a 45 °C, contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e contagem total de bactérias aeróbias psicotróficas, segundo metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

Os hemogramas serão realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, as análises bioquímicas no Laboratório de Bioquímica Clínica, os testes de soro-neutralização no Laboratório de Virologia e os exames coprológicos, citológicos e microbiológicos serão realizados junto ao Laboratório Regional de Diagnóstico Veterinário da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Análise Estatística

Os dados obtidos destes experimentos serão analisados no programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, EUA). As médias serão analisadas através do método MIXED MODELS, considerando o animal, o grupo e o momento da coleta. A comparação de médias individuais será feita através do teste de Tukey-Kramer. Médias pontuais serão analisadas através do método One-way ANOVA. A correlação entre as variáveis será feita através do coeficiente de correlação de Pearson. Serão considerados significativos valores de $P < 0,05$.

Resultados e Impactos esperados

Indicadores de Progresso ao final de cada 6 meses de projeto:

Serão publicados resumos e artigos em congressos da área descrevendo os resultados parciais obtidos nos experimentos.

Indicadores de resultados ao final do projeto:

- Produzir um artigo de conclusão de residência e uma dissertação de mestrado.
- Publicar pelo menos 2 artigos em revistas de circulação nacional ou internacional, com boa classificação no “*Sistema de Classificação de Periódicos, Anais e Revistas*” da CAPES, além de uma revisão bibliográfica sobre a temática proposta neste projeto.
- Divulgar os resultados em congressos da área em âmbito nacional.
- Divulgar os resultados em congressos da área em âmbito local e regional, tais como Congressos de Iniciação Científica e Encontros de Pós-graduação.

Repercussão e/ou impactos dos resultados:

Acreditamos que este estudo possa trazer informações sobre o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* sobre a incidência de diarreia e índices zootécnicos em bezerras, servindo de base para posteriores estudos nesta área, trazendo informações incrementais no âmbito da pesquisa básica.

Também acreditamos que poderemos contribuir para que essa alternativa possa ser utilizada a fim de controlar e prevenir diarreia neonatal em bezerros de raças leiteiras.

Cronograma

Cronograma:

Tabela 1 – Lista de atividades a serem desenvolvidas durante a execução do projeto.

Atividades	2013			2014
	1º semestre	2º semestre	3º semestre	4º semestre
Revisão bibliográfica				
Seleção dos animais				
Acompanhamento dos animais e coletas de dados				
Administração do metabólitos de fermentação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>				
Administração de vacina				
Coleta de sangue				
Análises bioquímicas				
Análise estatística				
Preparação de artigos				
Submissão de artigos				
Reuniões semanais				

3. Referências Bibliográficas

- BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M, YANG, W.Z., NEWBOLD, C.J. Enzymes and direct fed microbials in diets for dairy cows. **Tri-State Dairy Nutrition Conference**. p. 85-95, 2000.
- BRAINDWOOD, J. C. & HENRY, N. W. Clinical efficacy of chlortetracycline hydrochloride administered in milk replacer to calves. **Veterinary Records**. 127: 297-301, 1990.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasil: Ministério da Saúde, p. 819-877, 2005.
- CALLAWAY, T. R., ANDERSON, R. C.; EDRINGTON, T. S.; GENOVESE, K. J.; NISBET, D. J. What are we doing about Escherichia coli O157 H7 in cattle. **Journal of Animal Science**. 82: 93-99, 2004
- CONNELL, G. F.; SMITHIES, O. Human Haptoglobins: Estimation and Purification. **Biochemical Journal**. V. 72, p. 115-121, 1959.
- COPPOLA, M.M., CONCEIÇÃO, F.R., GIL-TURNES, C. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. **Food and Agricultural Immunology**, Basingstoke, v. 16, 2004.
- DAWSON, K.A. **Some limestone in our understanding of yeast culture supplementation in ruminants and their implications in animal production systems**. In: PROCEEDINGS OF the 16th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry, 16, Nottingham, 2000.
- ECKLES, C.H. WILLIAMS, V.M. Yasts as a supplementary feed for lactating cows. **Journal of Dairy Science**. v.8, p. 89-93, 1925.
- FEY, P. D.; SAFRANEK, T. J.; RUUP, M. E.; DUNNE, E. F.; RIBOT, E. Ceftriaxone-resistant salmonella infection acquired by a child from cattle. **New England Journal of Medicine**. 432: 1242-1249, 2000.

FRANKLIN, S.T.; NEWMAN, K.E.; MEEK, K.I. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**. 2005.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**. 66: 365-378, 1989.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa. Estatística da Produção Pecuária. **Indicadores IBGE**, 2011.

JORDAN, E. R., AND R. H. FOURDRAINE. Management for herds to produce 30,000 pounds of milk: characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. **Journal of Dairy Science**. 76:3247-3258. 1993.

LEEK, B.F. Digestion in the ruminant stomach. In: Swenson M.J., Reece W.O. (eds.): **Dukes' Physiology of Domestic Animals**. 11th ed. Cornell University Press, Ithaca, New York, USA, 387–416, 1993.

MARTINS, F. S. et al. Utilização de leveduras como probióticos. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, 2005. Disponível em: <<http://www.uepb.edu.br/eduep/rbct/sumarios/pdf/leveduras.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2007.

MCGUIRK, S. M. University of Wisconsin - Madison. **School of Veterinary Medicine**. 2009. <http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/8calf/calf_respiratory_scoring_chart.pdf> Data de acesso: 03 de jan. 2012.

MOTA R.A., SILVA K.P.C., RIBEIRO T.C.F., RAMOS G.A.B., LIMA E.T., SILVA L.B.G. & Züniga C.E.A. 2000. Eficácia do Nuflor no tratamento de diarreias em bezerros e leitões. **Hora Veterinária, Porto Alegre**, 118:21-24, 2000.

OIE. **Manual of standards for diagnostic test and vaccines**. Paris: Office International des Epizooties, p. 651-659, 1996.

PANDA, A. K., RAMESHWAR-SINGH, PATHAK, N.N., SINGH, R. Effect of dietary inclusion of *Saccharomyces cerevisiae* on rumen fermentation in crossbred calves. **Indian Journal of Animal Nutrition**. v.16, n.4, p.291-294, 1999.

PEREIRA, E.S., QUEIROZ, A.C., PAULINO, M.F., CECON, P.R., VALADARES FILHO, S.C., MIRANDA, L.F., ARRUDA, A. M. V., FERNANDES, A. M., CABRAL, L.S. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de

cana-de-açúcar para novilhos : consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p. 563-572, 2001.

POND W.G., CHURCH D.C., POND K.R. **Basic Animal Nutrition and Feeding**. 4th ed. John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 1995.

RADCLIFF, R.P., MCCORMACK, B.L., CROOKER, B.A., LUCY, M.C. Growth hormone (GH) binding and expression of GH receptor 1A mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3933-3940. 2003.

RAISER, A. G. Alterações no equilíbrio hidroeletrólítico. In: RAISER, A. G. **Patologia cirúrgica veterinária**. Santa Maria, cap.01, p. 01-21, 2003.

SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J. C. Nutrição e alimentação de bezerras e novilhas. **Anais...**Belo Horizonte, v. 1, p. 39-64. 1999.

SAHA, S. K., SENANI, S., PADHI, M.K., SHOME, B.R., AHLAWAT, S. P. S., SHOME, R. Microbial manipulation of rumen using *Saccharomyces cerevisiae* as probiotics. **Current Science**, v.77, n.5, p. 696-697, 1999

SIMAS, J.M., NUSSIO, C.M. **Uso de aditivos para vacas leiteiras**. In : SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE : NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2, Lavras, 2001.

SUÑÉ, R.W., MUHLBACH, P.R.F. Efeito da adição da cultura de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) Cepa 1206 na produção e qualidade do leite de vacas holandesas em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.27, n.6, p.1248-1252, 1998.

VAN SOEST P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA, 1994.

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