



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**BRUNA DANTAS NOGUEIRA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA LEITÕES**  
**DE DIFERENTES CATEGORIAS DE PESO NA FASE DE CRECHE**

**FORTALEZA**

**2018**

BRUNA DANTAS NOGUEIRA

SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA LEITÕES DE  
DIFERENTES CATEGORIAS DE PESO NA FASE DE CRECHE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- N71s Nogueira, Bruna Dantas.  
Suplementação de levedura autolisada em dietas para leitões de diferentes categorias de peso na fase de creche / Bruna Dantas Nogueira. – 2018.  
43 f.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe.
1. Desmame. 2. Glucanos. 3. Mananoligossacarídeos. 4. Saúde Intestinal. I. Título.

CDD 636.08

---

BRUNA DANTAS NOGUEIRA

SUPLEMENTAÇÃO DE LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA LEITÕES DE  
DIFERENTES CATEGORIAS DE PESO NA FASE DE CRECHE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura

Aprovada em: 10/08/2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Faviano Ricelli da Costa e Moreira  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN)

## RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com levedura autolisada em dietas para leitões de diferentes categorias de peso na fase de creche sobre o desempenho, morfometria e imuno-histoquímica intestinal, parâmetros sanguíneos, microbiológicos e viabilidade econômica. Foram utilizados 480 leitões, distribuídos em um arranjo fatorial 3 x 2, sendo considerados 3 níveis de adição de levedura autolisada (0; 0,4 e 0,8%) e 2 categorias de peso (leves e pesados,  $5,71 \pm 0,21$ kg e  $6,99 \pm 0,25$ kg, respectivamente), considerando a baia com 20 leitões como unidade experimental. Houve interação significativa entre níveis de levedura autolisada e categoria de peso no período de 21 a 42 dias de idade, com os animais pesados apresentando maior ganho diário de peso quando suplementados com níveis de 0,4% e 0,8% de levedura autolisada. Animais pesados suplementados com 0,4% e 0,8% de levedura na dieta apresentaram maior espessura de mucosa, maior altura de vilosidades no duodeno e no jejuno apresentaram maior espessura de vilo e melhor relação vilo: cripta para animais suplementados com 0,8% de levedura autolisada. A suplementação de levedura autolisada (0,4% e 0,8%) resultou em maior número de células em mitose ( $P < 0,05$ ) no duodeno, e no jejuno a suplementação em 0,8% resultou em maior valor para a mesma variável em relação ao nível de 0,4% e este superior ao tratamento sem inclusão do aditivo. A inclusão dietética de levedura autolisada melhora os parâmetros de desempenho em leitões pesados, bem como aumenta o número de células em mitose no duodeno e jejuno e diminui a concentração de células leucocitárias de animais pesados. A inclusão de levedura autolisada na dieta nos níveis de 0,4 e 0,8% mostrou-se economicamente viável.

**Palavras-chave:** desmame; glucanos; mananoligossacarídeos; saúde intestinal.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of supplementation with autolyzed yeast in diets for piglets of different weight categories in the day care phase on performance, intestinal morphometry and immunohistochemistry, blood parameters, microbiological parameters and economic viability. A total of 480 piglets were distributed in a 3 x 2 factorial arrangement, with 3 levels of autolyzed yeast addition (0, 0.4 and 0.8%) and 2 weight categories (light and heavy,  $5.71 \pm 0$ ), 21 kg and  $6.99 \pm 0.25$  kg, respectively), considering the bay with 20 piglets as experimental unit. There was a significant interaction between levels of autolyzed yeast and weight category in the period from 21 to 42 days of age, with heavy animals presenting higher daily gain when supplemented with levels of 0.4% and 0.8% of autolyzed yeast. Heavy animals supplemented with 0.4% and 0.8% of yeast in the diet had a higher mucosal thickness, higher villus height in the duodenum and jejunum presented higher villus thickness and better villus ratio: crypt for animals supplemented with 0.8 % of autolyzed yeast. Supplementation of autolyzed yeast (0.4% and 0.8%) resulted in a higher number of mitotic cells ( $P < 0.05$ ) in the duodenum, and in jejunum supplementation in 0.8% resulted in a higher value for same variable in relation to the level of 0.4% and this higher than the treatment without inclusion of the additive. Dietary inclusion of autolyzed yeast improves performance parameters in heavy piglets, as well as increases the number of cells in mitotic duodenum and jejunum, and decreases the concentration of leukocyte cells in heavy animals. The inclusion of autolyzed yeast in the diet at levels of 0.4 and 0.8% was economically feasible.

**Keywords:** weaning; glucans; mannanoligosaccharides; intestinal health.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal e nutricional das dietas oferecidas aos animais nas fases pré-inicial I (21 a 28 dias), pré-inicial II (29 a 42 dias), inicial I (43 a 50 dias) e inicial II (51 a 63 dias).....	22
Tabela 2 - Valores mínimos dos ingredientes encontrados na composição dos núcleos utilizados na formulação das dietas oferecidas aos animais nas fases pré-inicial I (21 a 28 dias), pré-inicial II (29 a 42 dias), inicial I (43 a 50 dias) e inicial II (51 a 63 dias).....	23
Tabela 3 - Desempenho de leitões leves e pesados alimentados com dietas contendo diferentes níveis levedura autolisada em três períodos.....	27
Tabela 4 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para ganho diário de peso de leitões no período II (21 aos 42 dias).....	27
Tabela 5 - Parâmetros morfométricos e número de células calciformes do duodeno e jejuno de leitões leves e pesados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.....	29
Tabela 6 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para altura de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno de leitões.....	30
Tabela 7 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para espessura de mucosa ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno de leitões.....	30
Tabela 8 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para espessura de mucosa ( $\mu\text{m}$ ) do jejuno de leitões.....	30
Tabela 9 - Número de células em mitose no duodeno e jejuno de leitões leves e pesados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.....	32
Tabela 10 - Hemograma, leucograma e plaquetograma de leitões leves e pesados aos 35 e 63 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.....	33

Tabela 11 -Desdobramento da interação entre nível levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de eosinófilos (%) de leitões aos 35 dias de idade. ....	34
Tabela 12 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de neutrófilos segmentados (%) de leitões aos 63 dias de idade. ....	34
Tabela 13 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de linfócitos (%) de leitões aos 63 dias de idade. ....	34
Tabela 14 - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de monócitos (%) de leitões aos 63 dias de idade. ....	35
Tabela 15 -Contagem (UFC em log 10) de coliformes totais e Escherichia coli do íleo e ceco de leitões leves e pesados, aos 35 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada. ....	36

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>11</b>
2.1	O desmame na suinocultura e seus impactos	11
2.2	A levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como biorreator industrial	13
2.3	Obtenção da levedura autolisada	14
2.4	Uso da levedura autolisada na nutrição de suínos	15
2.5	Efeitos da levedura autolisada sobre o desempenho de leitões	17
2.6	Efeitos dos mananoligossacarídeos sobre a microbiota intestinal	18
2.7	Efeitos dos componentes sobre o sistema imune	19
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>21</b>
3.1	Animais e delineamento experimental	21
3.2	Parâmetros de desempenho	24
3.3	Parâmetros hematológicos	24
3.4	Parâmetros histológicos	24
3.5	Parâmetros microbiológicos	25
3.6	Viabilidade econômica	26
3.7	Análise estatística dos dados	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>26</b>
4.1	Parâmetros de desempenho	26
4.2	Parâmetros histológicos	29
4.3	Parâmetros hematológicos	33
4.4	Parâmetros microbiológicos	36
4.5	Viabilidade econômica	36
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>38</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O desmame é um período crítico para os leitões devido aos desafios nutricionais, sociais e ambientais (BUDIÑO et al., 2016). Dentre as principais consequências enfrentadas pelos leitões desmamados aos 21 dias estão os distúrbios entéricos, que estão relacionados com a imaturidade do sistema digestório do animal, principalmente nas semanas iniciais pós-desmame, somada a capacidade limitada de digestão e absorção de nutrientes (CALDARA et al., 2010), além de encontrar-se susceptível e exposto à desafios sanitários, que são impulsionados pelo baixo potencial digestivo e absorptivo.

A saúde intestinal de um leitão no pós desmame assume uma condição de vulnerabilidade, tendo em vista a transição entre a imunidade passiva e a imunidade ativa, facilitando a instalação de processos infecciosos. Outro fator de relevância é o baixo consumo nos primeiros dias, onde há o estresse por troca do leite materno para uma dieta sólida e de matriz vegetal (BUDIÑO et al., 2016).

Esses fatores aliados à diminuição de alimento continuamente no trato digestório e o desafio sanitário que o animal está exposto, podem cooperar para alterações morfofisiológicas na mucosa intestinal. Tais alterações consistem na atrofia das vilosidades, estruturas que abrigam os enterócitos, e ainda acarretam em hiperplasia das células das vilosidades. Essas mudanças resultam em uma menor relação altura de vilo e profundidade de cripta, o que não é benéfico para a digestibilidade e absorção dos nutrientes, tendo em vista as funcionalidades penalizadas pelo dano sofrido no tecido (TUCCI et al., 2011).

Decorrente de um ambiente propício para o estabelecimento de infecções entéricas, tem-se outra problemática que consiste na variação de pesos de leitões no desmame. Em função da heterogeneidade das leitegadas na fase de maternidade, assume-se uma variabilidade de peso ao nascer, de modo que os leitões de baixo peso apresentam baixa ingestão de colostro, aliada a uma exposição a um maior desafio sanitário, podendo sofrer consequências nas fases posteriores (MANZKE et al., 2016).

Visando melhor desempenho dos leitões após o desmame, o uso de aditivos constitui-se em ferramenta importante para a modulação da saúde intestinal dos

animais, com destaque para a levedura autolisada (*Saccharomyces cerevisiae*), que consiste em um coproduto da indústria obtida através de autólise (AMORIM e LOPES, 2009). A composição da levedura autolisada consiste em uma estrutura de um complexo de (1,3) - $\beta$ -D-glucano, (1,6) - $\beta$ -D-glucano e quitina, que conferem rigidez à parede, e seus componentes amorfos matriciais na parede da superfície da célula como as mananoproteínas (GANNER e SCHATZMAYR, 2012). A fração solúvel da levedura, caracterizada pelo extrato do conteúdo intracelular, consiste ainda em aminoácidos funcionais, nucleotídeos e Inositol (TIBBETTS, 2002).

As leveduras quando submetidas ao processo de autólise podem dispor em amplo espectro os componentes da parede celular e do extrato de levedura, podendo serem creditados efeito duplo de imunomodulação e combate aos patógenos, agindo de forma a beneficiar a saúde dos animais suplementados (KOGAN e KOCHER, 2007). Nesse sentido, Eicher et al. (2006) relataram efeitos benéficos da suplementação de parede celular de levedura sobre o ganho de peso diário de leitões, corroborados por Shen et al. (2009) que também encontraram maior ganho de peso diário para leitões desmamados que receberam a suplementação com culturas de levedura, melhorando também as vilosidades e aumentando a relação altura de vilosidade: profundidade de cripta.

Desta maneira, sugere-se que os efeitos sinérgicos dos componentes da levedura autolisada podem melhorar a resposta imunofisiológica dos animais que estão frente à desafios, como os leitões no período que sucede o desmame, considerando ainda a variabilidade de peso dos animais e a imaturidade fisiológica dos animais com menor peso no pós-desmame.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar a suplementação de levedura autolisada em dietas para leitões de categorias diferentes de peso sobre o desempenho, morfometria e imuno-histoquímica intestinal, parâmetros sanguíneos, microbiológicos e viabilidade econômica, na fase de creche.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O desmame na suinocultura e seus impactos

A suinocultura brasileira vem aumentando significativamente os seus índices produtivos, o que resulta em um maior desenvolvimento desta atividade. O desmame de leitões em torno de 21 dias, período inferior ao aleitamento natural do animal, tem ganhado espaço desde a década de 90, quando o desmame precoce se tornou uma tendência (KUMMER et al., 2009). Em linhas gerais o desmame precoce tem sido praticado em larga escala com o objetivo de otimizar a produção, tendo impacto direto sobre o número de leitões desmamados por porca ao ano e no número de partos por porca ao ano (BARBOSA et al., 2007; BUDIÑO et al., 2016).

No entanto, toda essa influência no ciclo de vida natural do animal, torna o desmame um período crítico e o animal recém desmamado susceptível aos desafios à que são expostos (BUDIÑO et al., 2016). Os desafios incluem o estresse pelo estabelecimento de ordem social, mudança de ambiente, perda de contato com a mãe e mudança na forma física do alimento, que varia da forma líquida e altamente digestível do leite materno para a ração composta principalmente por alimentos de origem vegetal, sólida e que apresenta nutrientes de difícil digestão, ainda, para os animais nesta fase (SILVA et al., 2012)

Dentre as principais consequências enfrentadas pelos leitões desmamados estão os distúrbios entéricos, decorrentes de uma série de eventos intimamente relacionados com a situação do sistema digestório do animal desmamado, que pode ser considerado ainda imaturo, com uma capacidade limitada de digestão e absorção de nutrientes (CALDARA et al., 2010).

A produção de enzimas pelo sistema digestório do leitão com idade média de 21 dias não apresenta-se eficiente para digerir os alimentos complexos que compõem sua ração. Isto porque até os 28 dias de idade o sistema digestório dos leitões produz insuficientes quantidades de amilases, lipases e outras enzimas essenciais para a digestão de produtos de origem vegetal, que estão contidos na matérias-primas das dietas (BARBOSA et al., 2007). Outro aspecto que ressalta a imaturidade do sistema

digestório do leitão desmamado é a baixa secreção de suco gástrico. Nos leitões recém-nascidos uma baixa atividade proteolítica é constatada pelas glândulas gástricas nas duas primeiras semanas de vida (REGO et al., 2012), de modo que mesmo quando o leitão é desmamado aos 21 dias de vida ainda pode ser constatada uma secreção gástrica má desenvolvida (CORASSA et al., 2004).

Tendo em vista a situação da fisiologia digestiva no período pós-desmame, os processos de digestão e absorção de nutrientes são prejudicados. Dessa maneira o animal se encontra em uma situação de aporte energético insuficiente que ainda se intensifica pelo baixo consumo nas primeiras semanas de desmame (ROBLES-HUAYNATE et al., 2013).

Um dos grandes impactos da queda de consumo no pós-desmame é a queda na concentração de substrato energético disponível para a manutenção e renovação do epitélio intestinal, tecido esse que representa área absorptiva de nutrientes. Como consequência há um prejuízo à morfologia do epitélio intestinal, podendo ser observada atrofia da mucosa, o que gera prejuízos ainda maiores na absorção dos nutrientes (KUMMER et al., 2009).

Com o desmame, a imunidade passiva transmitida pela porca através do leite materno é cessada e o animal tem o desafio de desenvolver a imunidade ativa (MIGUEL et al., 2011). Porém esse período de transição apresenta-se favorável ao estabelecimento de infecções (BUDIÑO et al., 2010), visto que o animal será exposto a agentes estressores, o que pode contribuir para falhas na ativação do sistema imune (BARBOSA et al., 2012). Ao se levar em consideração a imaturidade no sistema digestório do leitão recém-desmamado, deficiências na digestão e absorção, o comprometimento estrutural do epitélio intestinal, sistema imune em processo de transição além do estresse do desmame e exposição à patógenos, pode-se estabelecer uma fase desafiadora para o animal (HOBLES-HUAYNATE et al., 2013).

Considerando ainda a variabilidade de peso, observa-se que os animais mais leves enfrentam um maior desafio no desmame (KOKETSU e DIAL, 1998). Os leitões que nascem menores, quando não há manejo de mamadas, tem acesso mais limitado às tetas da mãe, tanto durante a secreção do colostro, como nos demais dias do aleitamento. Este conjunto de fatores pode cooperar para o aparecimento da síndrome

da refugagem multissistêmica dos suínos. Os animais acometidos podem sofrer consequências nas fases posteriores à lactação, podendo-se destacar que além de possuírem menor peso e serem menos desenvolvidos, apresentam maior susceptibilidade aos desafios ambientais, com efeito sobre as fases subsequentes (KUMMER et al., 2009).

Desta forma, de maneira geral, os leitões desmamados estão predispostos à contraírem infecções, principalmente de ordem entérica, sendo a manutenção da saúde intestinal a partir do uso de aditivos uma importante ferramenta para a adaptação do leitão à esta etapa do ciclo produtivo, sem maiores prejuízos no desempenho (SILVA et al., 2012), com destaque para a levedura e seus componentes, em função de sua ação prebiótica e moduladora da fisiologia intestinal.

## **2.2 A levedura *Saccharomyces cerevisiae* como biorreator industrial**

Em um contexto industrial, a *Saccharomyces cerevisiae* tem função relevante, onde apresenta-se fundamental em processos inerentes às indústrias de alimentos, como em produção de bebidas fermentadas, como a cerveja, e de biocombustíveis, especificamente o etanol. Em sua forma ativa, esse fungo tem se apresentado de real importância através de seu potencial fermentativo, princípio que enquadra e justifica a utilização deste em tais processos (YAMADA et al., 2003).

Do ponto de vista industrial, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* nada mais é do que um catalisador do processo de fermentação alcoólica da glicose (SILVA e OLIVEIRA, 2017), onde a fonte da glicose irá variar de acordo com o produto final, diferindo para produção de etanol ou cerveja. Para a obtenção de etanol, a fonte de glicose modaliza-se conforme a região do mundo onde é produzido. No Brasil utiliza-se a cana-de-açúcar para a produção deste biocombustível, enquanto que na Europa e Estados Unidos, o que predomina é a beterraba e o milho, respectivamente (KOHLHEPP, 2010).

Quando o fermento, composto por *Saccharomyces cerevisiae*, é inoculado a soluções ricas em carboidratos, tem-se início o processo de fermentação, sendo assim, um conjunto de reações enzimáticas em que uma molécula orgânica é degradada a compostos mais simples (GNANSOUNOU e DAURIAT, 2005). Assim a *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada no processo em questão, fermenta os açúcares

e produz álcool etílico e gás carbônico (SILVA e OLIVEIRA, 2017). A levedura consiste assim no bioagente, que durante o processo, tem sua massa multiplicada de 3 a 5 vezes (BRIGGS et al., 2004).

Nos processos industriais, após a fermentação alcoólica, há a separação entre as leveduras e o produto, essa separação ocorre, na maioria das vezes, por um mecanismo de centrifugação. Usualmente, ocorre a recirculação da massa de leveduras, sendo até benéfica do ponto de vista produtivo, tendo em vista que as células que já estavam em atividade não precisarão de substrato para crescer, além de já estarem aptas à fermentação, excluindo-se assim o período adaptativo (FURTADO e SCANDIFFIO, 2006).

De modo a garantir a qualidade do processo e a manter as propriedades e características do produto, seja etanol puro ou bebidas fermentadas, há um limite para a reutilização do fermento. A exemplo, na indústria cervejeira a reciclagem das leveduras dura até 5 ciclos em média (PAULA e FARIA, 2017). Assim, ao serem esgotadas as possibilidades de reutilização da massa de células, estas são descartadas, o que gera um resíduo, que na indústria da cerveja, por exemplo, representa de 1,5 a 3,0 kg (úmido) para cada 100 L de cerveja produzida (MATHIAS et al., 2014; OLAJIRE, 2012).

### **2.3 Obtenção da levedura autolisada**

Em processos industriais, como destilarias de etanol e cervejaria, são produzidos resíduos da fermentação, caracterizados, principalmente, pelos excedentes das células de levedura. Esse residual em específico pode ser utilizado de maneira direta, como células íntegras de levedura, ou mesmo processado para obtenção de derivados deste produto. A exemplo do destino da célula íntegra está a utilização para a alimentação animal, e um dos principais derivados consiste em autolisado de levedura (YAMADA et al., 2003).

O processo de autólise é conduzido através da agitação das células em temperatura determinada entre 40-55°C, causando um efeito no funcionamento da própria célula e alterando a atividade de enzimas endógenas. Este processo dura em torno de 12 a 36 horas para finalizar. O autolisado deve permanecer sob agitação e quando a biomassa autolisada estiver com 70-80% dos sólidos totais solúveis deve

ser seca pelo método “spray dryer”. Terminado o processo de autólise das células, tem-se a levedura autolisada, constituído pela fração solúvel (extrato de levedura) e fração insolúvel (parede celular) (DZIEZAK, 1987; BABAYAN et al., 1991).

No autolisado de levedura, há um rompimento parcial das paredes celulares, significando uma maior disponibilidade dos composto intracelulares para o organismo que as ingerir. Quando se considera a composição centesimal do autolisado, observa-se que não há muitas modificações quanto à levedura íntegra, isto porque todos os componentes presentes na célula íntegra, compõem a levedura autolisada, porém, nesta última, há maior disponibilidade dos compostos. Em linhas gerais a levedura autolisada apresenta 40,4% de proteína e 31,2% de fibra total, sendo 30,4% de fibra solúvel e 1,0% de fibra insolúvel (YAMADA et al., 2003).

Quanto à caracterização das frações da levedura autolisada, o extrato de levedura contém, aproximadamente, 40% de aminoácidos livres, 5 a 7% de nucleotídeos, peptídeos, minerais e vitaminas (RUTZ et al., 2006). Dentre os aminoácidos em sua composição, está o glutamato ou ácido glutâmico e glutamina, contando ainda com o Inositol, substância considerada como fator de crescimento (TIBBETTS, 2002). Quando se trata de composição da parede celular de levedura, pode-se afirmar que quase 75% do seu peso é constituído de polissacarídeos. A sua estrutura é composta por um complexo de (1,3) - $\beta$ -D-glucano, (1,6) - $\beta$ -D-glucano e quitina, que conferem rigidez à parede, e seus componentes amorfos matriciais na parede da superfície da célula: as mananoproteínas (SHURSON, 2018).

Desta forma, tal especificidade dos componentes da parede celular de levedura, bem como dos compostos nitrogenados, tem levantado questionamentos sobre os efeitos dos glucanos e mananos como prebióticos e moduladores do sistema imune, além da possibilidade de ação sinérgica com os nucleotídeos também presentes.

#### **2.4 Uso da levedura autolisada na nutrição de suínos**

Tendo em vista a necessidade de produtos que pudessem atuar como estratégias nutricionais para superar os desafios pós-desmame, diversos aditivos e alimentos denominados funcionais (VIZZOTTO *et al.*, 2010) foram alvo de estudos para a identificação de propriedades que pudessem beneficiar o animal nesta fase

(SANTOS *et al.*, 2016). De acordo com Gibson e Roberfroid (1995) os prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento e a atividade de uma ou poucas espécies de bactérias no intestino, melhorando a saúde do animal.

Os mananos, agem no organismo animal como mecanismo de defesa, sendo uma das suas principais ações elucidadas o ligamento às fímbrias das bactérias patogênicas, carreando-as para fora do intestino do animal e impedindo a colonização e posterior infecção do trato gastrointestinal (OLLÉ *et al.*, 2017). Os glucanos, por sua vez, estimulam o sistema imune do animal e a produção de macrófagos que, através do processo de fagocitose, destroem e eliminam microrganismos patogênicos (COSTA, 2004). Desta maneira pode-se sugerir que os efeitos sinérgicos de tais componentes podem melhorar a resposta imunofisiológica dos animais que estão frente à desafios, como os leitões no período que sucede o desmame.

Os aminoácidos presentes na levedura autolisada, por sua vez, desempenham funções que podem ser consideradas benéficas para os suínos, principalmente nos pós desmame, onde o animal é exposto à vários fatores que desencadeiam o estresse, o que pode causar imunossupressão, além do desafio sanitário, aliado à imaturidade do sistema digestório nesta fase. A glutamina é combustível energético para os enterócitos e as células de defesa, assim como é precursora de nucleotídeos, moléculas importantes para o desenvolvimento de células imunes e intestinais, além de atuar como substrato energético das células da mucosa intestinal, o que está relacionado de maneira direta com a manutenção da integridade da mucosa intestinal (ABREU *et al.*, 2010).

O glutamato, por sua vez, pode substituir a glutamina em seus papéis metabólicos, principalmente quando este é dietético, podendo, dessa forma, também ser fonte de substrato energético para as células do intestino (BURRIN, 2001). É importante ressaltar que ambos os aminoácidos tem sua função aumentada em situações de estresse (FOX *et al.*, 1988). O Inositol pode ser considerado um nutriente vitamínico que desempenha diversas funções fisiológicas importantes como estruturar e participar das funções das membranas, mediador das respostas celulares, estimulador da síntese de biotina, de modo que, sob condições estressantes, os

animais podem apresentar necessidade desse nutriente (COMBS, 1998; TIBBETTS, 2002).

Os nucleotídeos, que também participam da fração solúvel da levedura autolisada, atuam no desenvolvimento do trato gastrointestinal, no funcionamento do sistema imune e, ainda, na manutenção da flora intestinal, estando aliados à processos que envolvem a rápida multiplicação de tecido. Nucleotídeos sintetizados endogenamente podem custar caro do ponto de vista metabólico, desta forma, uma fonte exógena de nucleotídeos poderia beneficiar os animais, principalmente sob condições estressantes, onde sua utilização pelo organismo do animal, aumenta (BURRELS et al. 2001).

## **2.5 Efeitos da levedura autolisada sobre o desempenho de leitões**

O desempenho de leitões está representado diretamente pelas variáveis ganho de peso diário, consumo de ração, conversão e eficiência alimentar. Todas essas variáveis ficam comprometidas quando o animal está submetido à situações de estresse ou é afetado por doenças. Com o objetivo de reduzir as consequências do estresse, como o sofrido no desmame, e das doenças sobre o desempenho, é considerado o uso de aditivos, como a levedura autolisada (BROADWAY et al., 2015).

Diversos trabalhos tem demonstrado o efeito da utilização de produtos à base de levedura como fonte de mananoligossacarídeos (MOS) sobre os parâmetros de desempenho de leitões desmamados. Dentre esses estudos, Rozeboom et al. (2005) obtiveram resultados satisfatórios com a inclusão de levedura como fonte de MOS, com melhora no ganho diário de peso e conversão alimentar, assumindo ainda que o resultado apresentado pelo produto equiparava-se aos alcançados com o uso de antimicrobianos, sugerindo ainda que pudesse ser utilizado como alternativa ao uso de antibióticos promotores de crescimento.

Corroborando com esses resultados, Kim et al. (2000), também testando leveduras como fonte de MOS, encontraram resultados positivos referentes ao desempenho em leitões desmamados, se comparados ao grupo de leitões que não foi suplementado. Eicher et al. (2006) por sua vez, ao adicionarem levedura na dieta de leitões como fonte de betaglucanos, observaram maior ganho de peso diário. Quando Shen et al. (2009) experimentaram a inclusão de cultura de levedura para

leitões em uma concentração de 0,5% na dieta, obtiveram aumento de 21% no ganho de peso diário em comparação à dieta controle, acompanhando, na ocasião, o mesmo desempenho de animais que receberam antibióticos promotores de crescimento em sua dieta.

Embora tais resultados evidenciem os efeitos benéficos da inclusão de produtos à base de levedura em dietas para leitões desmamados sobre o desempenho, ainda não se é elucidado completamente os modos de ação pelos quais isto acontece, de forma direta ou indireta. Entende-se que com a melhora da saúde do animal proporcionada pelos componentes da levedura, resultado de ações como modulação da flora e do sistema imunológico como se observa em outros estudos, o animal esteja melhor preparado e sofra com menor intensidade as consequências dos desafios (BROADWAY et al., 2015).

## **2.6 Efeitos dos mananoligossacarídeos sobre a microbiota intestinal**

Na composição da fração de parede celular de levedura autolisada tem-se mananoligossacarídeos, os MOS, que por sua vez são associados, segundo diversos estudos, à resultados positivos no controle de microbiota intestinal em animais, ressaltando que estes podem atuar mitigando a colonização de patógenos no trato e preservando a mucosa intestinal (SHURSON, 2018).

Quando há o controle de bactérias enteropatogênicas, ao passo que os microrganismos benéficos e de ação probiótica são beneficiados, pode-se afirmar que há uma modulação da microbiota entérica do indivíduo. O modo de ação pode se definir pela capacidade de fixação da molécula de MOS às fímbrias tipo I específicas para manose de bactérias patogênicas, como *Escherichia coli* e *Salmonella ssp*, desta forma, oferecendo um local alternativo de adesão que não seja a parede do epitélio intestinal (GANNER e SCHATZMAYR, 2012).

Para que ocorra o processo de colonização da mucosa intestinal através de uma bactéria como a *Salmonella ssp.*, é necessário que esta promova a adesão às células epiteliais intestinais por meio das lectinas, que no caso dessa espécie bacteriana, são as fímbrias do tipo I. As fímbrias são aderentes e desta forma, quando não há impedimentos na adesão, ocorre a subsequente infecção do trato gastrointestinal (SHOAF-SWEENEY e HUTKINS, 2008). Assim, com a capacidade

ligante dos receptores de mananos com os MOS, há uma interferência no processo de infecção, cessando assim a possibilidade de o microrganismo iniciar o processo de colonização das células e carreando-os para fora do organismo (GANNER e SCHATZMAYR, 2012).

Em estudos realizados buscando evidenciar a ação de MOS sobre o controle da microbiota de leitões desmamados, White et al. (2002) relataram um aumento de colonização de lactobacilos, que consistem em microrganismos favoráveis à saúde intestinal do animal, para animais que receberam suplementação de levedura. Ainda foi verificado por estes mesmos autores que a levedura reduziu a colonização de coliformes totais no duodeno, jejuno e ceco.

Ainda é amplamente discutido no âmbito da pesquisa alguns aspectos inerentes à este processo, baseados em quais seriam os fatores que predispõem uma maior afinidade de ligação. São questionados aspectos quantitativos, ou seja, se a quantidade de mananos presentes na levedura autolisada é suficiente para promover a modulação da microbiota, e aspectos qualitativos, referentes, por exemplo, à estrutura tridimensional da molécula arranjada na parede celular de levedura (GANNER et al., 2008). De acordo com Ofek et al. (2003), não basta apenas a interação adesão-receptor, mas o processo de ligação depende também de interações hidrofóbicas e outras atividades inespecíficas que podem estar envolvidas no meio. Nesse sentido, os efeitos sinérgicos dos mananoligossacarídeos com os demais componentes presentes na levedura autolisada podem estar associadas com sua ação sobre a saúde intestinal do leitão.

## **2.7 Efeitos dos componentes sobre o sistema imune**

Os efeitos positivos associados à modulação do sistema imunitário no organismo animal, estão diretamente vinculados aos modos de ação de compostos presente na levedura autolisada, como o MOS,  $\beta$ -glucanos e até nucleotídeos. Tais efeitos possuem tanto relação direta quanto indireta com os compostos, proporcionando melhora de viabilidade da saúde e desempenho animal frente à períodos estressantes e de desafio sanitário (BROADWAY et a., 2015).

Os  $\beta$ -glucanos podem interagir com o sistema imune de diversas formas. Especificamente  $\beta$ -glucanos pertencentes à estrutura de prede celular de

*Saccharomyces cerevisiae*, possuem capacidade superior se comparada a outros fungos, como *Aspergillus niger*, de estimular os macrófagos a ativar a síntese da liberação de citocininas, como a TNF- $\alpha$ , estando ainda envolvidos com a liberação de outras citocininas, como IL-1, IL-2 e IL-6. Tal evento pode ser justificado pela ligação das moléculas de  $\beta$ -glucanos com receptores de células imunitárias, como os macrófagos, monócitos e granulócitos, desencadeando uma cascata imunológica (GANTNER et al., 2003; BROWN, 2005; MAJTÁN et al., 2005).

Xiao et al. (2004) avaliaram a suplementação com  $\beta$ -glucanos solúveis derivados de produtos de levedura em leitões desafiados com vírus causador da Síndrome Respiratória e Reprodutiva em Suínos (PRRS), onde estes apresentaram aumento da produção de IFN- $\gamma$  por linfócitos T, o que demonstra um estímulo na resposta imunitária e conseqüentemente, melhora a resposta antiviral inata. É importante ressaltar a relevância de respostas dessa natureza em animais submetidos a eventos estressantes, como a mudança de dieta, realocação e separação da mãe, tendo a vista o impacto que o estresse causa no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), com possíveis conseqüências no sistema imunológico e que muito provavelmente, no fim, pode afetar negativamente o desempenho (BURDICK et al., 2011).

Os nucleotídeos também podem estar intimamente envolvidos com o funcionamento do sistema imune, devido a um papel relacionado com a manutenção da resposta imune celular. Embora o mecanismo de ação não seja claro, acredita-se que nucleotídeos dietéticos desempenhem uma importante função na proliferação dos linfócitos. Quando há a síntese de leucócitos, há um aumento na exigência de nucleotídeos, sendo estes necessários inicialmente para o aumento do metabolismo energético e em seguida usados como precursores para a síntese de ácidos nucleicos. Tais efeitos podem ainda serem melhor observados em situações de estresse e exposição à desafios sanitários (CARVER e WALKER, 1995), como a etapa do desmame.

Além dos  $\beta$ -glucanos e nucleotídeos, alguns trabalhos ressaltam que os MOS também tem a potencialidade de aturem com a modulação imunitária. White et al. (2002) testaram a adição de uma fonte de MOS em leitões desmamados e concluíram que a suplementação aumentou a concentração sérica de IgG. Ao estudar os efeitos de MOS sobre os níveis de IgA secretora de leitões desmamados e desafiados com

vírus da gastroenterite transmissível, Notcha et al. (2009) constatou que a suplementação demonstrou uma vantajosa resposta imunológica local.

Embora haja resposta através de estudos, não se é elucidado completamente o modo de ação pelo qual os MOS consigam efetivamente modular o sistema imune. Porém, entende-se seu potencial em controlar a microbiota intestinal, beneficiando o indivíduo, desta forma promovendo o impedimento do estabelecimento de uma infecção, o que pode estar diretamente relacionado com uma mucosa intestinal mais íntegra e, conseqüentemente, funções absorptivas não comprometidas, o que pode resultar, por fim, em um melhor funcionamento do sistema imunológico (BAUER et al., 2006; CZARNECKI-MAULDEN, 2008).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Os protocolos experimentais do presente trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará. O experimento foi realizado em uma unidade produtora de leitões pertencente à uma granja comercial de ciclo completo, no município de Maranguape – CE, durante os meses de julho e agosto de 2017.

#### **3.1 Animais e delineamento experimental**

Aos 21 dias de idade, 480 leitões foram pesados e separados entre 24 baias com capacidade de 20 animais, de acordo com 2 categorias de peso, resultando em baias de animais leves com peso médio de  $5,71 \pm 0,21$  kg, e baias de animais pesados com peso médio de  $6,99 \pm 0,25$  kg. As baias eram suspensas e o piso totalmente ripado com área de  $0,45 \text{ m}^2 \text{ animal}^{-1}$ , contendo 4 bebedouros do tipo chupeta e 1 comedouro semiautomático por baia.

O delineamento foi inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 3 x 2, sendo 3 níveis de adição de levedura autolisada (0; 0,4% e 0,8%) e 2 categorias de peso (leves e pesados), com 4 repetições por tratamento e considerando a baia com 20 animais como unidade experimental. Durante o período experimental, água e ração foram disponibilizadas à vontade para os leitões. As rações (Tabela 1) foram formuladas considerando-se os valores da composição química dos alimentos e as exigências nutricionais dos leitões na fase pré-inicial I (21 a 28 dias), pré-inicial II (29

a 35 dias), inicial I (36 a 42 dias) e inicial II (43 a 63 dias), de acordo com recomendações de Rostagno et al. (2017). Consta na tabela 2 os valores referentes à composição dos núcleos das respectivas fases utilizados para a formulação das dietas. A inclusão da levedura autolisada nas dietas foi feita em substituição ao milho.

**Tabela 1** - Composição centesimal e nutricional das dietas oferecidas aos animais nas fases pré-inicial I (21 a 28 dias), pré-inicial II (29 a 42 dias), inicial I (43 a 50 dias) e inicial II (51 a 63 dias).

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>Pré-inicial I</b>	<b>Pré-inicial II</b>	<b>Inicial I</b>	<b>Inicial II</b>
Milho	29,81	39,81	54,79	60,53
Farelo de soja	9,99	19,99	20,00	25,48
Soja extrusada	-	-	5,00	9,99
Calcário calcítico	-	-	-	0,65
Sal	-	-	-	0,50
Fosfato	-	-	-	0,48
Núcleo pré-inicial I	59,97	-	-	-
Núcleo pré-inicial II	-	39,98	-	-
Núcleo inicial I	-	-	20,00	-
Núcleo inicial II	-	-	-	1,00
Lisina HCL 78%	-	-	-	0,36
DL-Metionina 99%	-	-	-	0,12
L-Treonina	-	-	-	0,10
Palatabilizante	0,02	0,02	0,02	0,02
Aromatizante	0,05	0,05	0,05	0,05
Adsorvente <sup>1</sup>	0,10	0,10	0,10	0,07
Óxido de zinco	0,03	0,03	-	-
Colistina	0,03	0,03	-	-
Sulfato de cobre pentahidratado	-	-	-	0,05
Norfloxacino	-	-	0,04	-
Tilmicosina	-	-	-	0,60
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Custo (R\$)	4,67	3,15	2,19	1,90
Custo + 0,4% de LA <sup>2</sup> (R\$)	4,73	3,21	2,25	1,96
Custo + 0,8% de LA <sup>2</sup> (R\$)	4,79	3,27	2,31	2,02
<b>Composição nutricional calculada</b>				
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.400,00	3.400,00	3.240,00	3.230,00
Proteína bruta (%)	22,20	23,64	21,08	21,26
Gordura (%)	5,55	4,43	4,34	4,60
Fibra bruta (%)	2,10	2,32	2,52	2,94
Fósforo total (%)	0,53	0,55	0,56	0,43
Cálcio (%)	0,69	0,69	0,68	0,60

<sup>1</sup>Adsorvente e enzima biotransformadora específica - FUMzyme®. <sup>2</sup>Levedura Autolisada.

**Tabela 2** - Valores mínimos dos ingredientes encontrados na composição dos núcleos utilizados na formulação das dietas oferecidas aos animais nas fases pré-inicial I (21 a 28 dias), pré-inicial II (29 a 42 dias), inicial I (43 a 50 dias) e inicial II (51 a 63 dias).

Ingredientes	Núcleo pré-inicial I	Núcleo pré-inicial II	Núcleo Inicial I	Núcleo Inicial II
Cálcio (mg.kg <sup>-1</sup> )	6.975,00	13.250,00	16.050,00	66.740,00
Fósforo (mg.kg <sup>-1</sup> )	6.000,00	7.300,00	11.000,00	-
Sódio (mg.kg <sup>-1</sup> )	4.300,00	5.500,00	7.050,00	-
Cobalto (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,26	0,38	0,77	20,53
Cobre (mg.kg <sup>-1</sup> )	185,92	278,75	557,50	-
Cromo (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,25	0,38	0,75	20,00
Ferro (mg.kg <sup>-1</sup> )	130,35	195,53	391,05	10.430,00
Iodo (mg.kg <sup>-1</sup> )	1,67	2,50	5,00	135,35
Manganês (mg.kg <sup>-1</sup> )	57,50	86,25	172,50	4.600,00
Selênio (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,46	0,69	1,38	36,50
Zinco (mg.kg <sup>-1</sup> )	3.744,70	5.617,05	11.230,00	11.580,00
Vitamina A (UI.kg <sup>-1</sup> )	25.000,00	37.500,00	75.000,00	1.500.000,00
Vitamina D3 (UI.kg <sup>-1</sup> )	6.500,00	9.750,00	19.500,00	390.000
Vitamina E (UI.kg <sup>-1</sup> )	166,67	250,00	500,00	10.000
Vitamina K3 (mg.kg <sup>-1</sup> )	8,33	12,50	25,00	500,00
Vitamina B1 (mg.kg <sup>-1</sup> )	6,67	10,00	20,00	400,00
Vitamina B2 (mg.kg <sup>-1</sup> )	16,67	25,00	50,00	1.000,00
Vitamina B6 (mg.kg <sup>-1</sup> )	10,00	15,00	30,00	600,00
Vitamina B12 (µg.kg <sup>-1</sup> )	83,34	125,00	250,00	5.000,00
Ácido Fólico (mg.kg <sup>-1</sup> )	7,50	11,25	22,50	450,00
Ácido nicotínico (mg.kg <sup>-1</sup> )	100,00	150,00	300,00	6.000,00
Ácido Pantotênico (mg.kg <sup>-1</sup> )	50,00	75,00	150,00	3.000,00
Biotina (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,83	1,25	2,50	50,00
Lisina (mg.kg <sup>-1</sup> )	5.367,00	7.990,00	13.760,00	-
Metionina (mg.kg <sup>-1</sup> )	1.822,00	2.691,00	4.219,00	-
Treonina (mg.kg <sup>-1</sup> )	1.922,00	3.059,00	4.877,00	-
Triptofano (mg.kg <sup>-1</sup> )	427,00	613,00	761,00	-
Valina (mg.kg <sup>-1</sup> )	1.483,00	2.226,00	2.689,00	-
Fitase (FYT.kg <sup>-1</sup> )	3.333,30	5.000,00	10.000,00	20.000,00
α-amilase (KNU.kg <sup>-1</sup> )	166,67	250,00	500,00	6.000,00
Endo 1,3 (4) β-glucanase (FBG.kg <sup>-1</sup> )	308,34	462,50	925,00	14.000,00
Endo 1,4 β-xilanase (FXU.kg <sup>-1</sup> )	333,34	500,00	1.000,00	20.000,00
Protease (PROT.kg <sup>-1</sup> )	31.250,00	46.875,00	93.750,00	1.150.000,00
<i>Enterococcus faecium</i> (UFC.kg <sup>-1</sup> )	1,17 x 10 <sup>9</sup>	1,75 x 10 <sup>9</sup>	3,50 x 10 <sup>9</sup>	-
Betaglucanos (g.kg <sup>-1</sup> )	433,34	650,00	1.300,00	-
Mananoligossacarídeos (g.kg <sup>-1</sup> )	233,34	350,00	700,00	-
Flúor (mg.kg <sup>-1</sup> )	60,00	73,00	110,00	-

### **3.2 Parâmetros de desempenho**

No início do experimento e ao final das fases pré-inicial II, inicial I e inicial II (35, 42 e 63 dias de idade), os animais foram pesados, bem como a quantidade de ração fornecida e as sobras coletadas diariamente. A partir dos dados obtidos, foram analisadas as variáveis de desempenho quanto ao consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar.

### **3.3 Parâmetros hematológicos**

Para a avaliação dos parâmetros hematológicos (hemograma, leucograma e plaquetograma), aos 21, 35 e 63 dias de idade, foram coletadas amostras de sangue de 3 leitões por repetição, sendo estes selecionados em função do peso próximo a média da parcela. O sangue, coletado através de venopunção jugular, em um volume de 2 ml, foi depositado em tubos com o anticoagulante Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA), devidamente identificado. Em seguida o sangue coletado foi homogeneizado por 20 minutos em homogeneizador automatizado. Para as análises hematológicas foi utilizado um analisador automatizado (Mindray 2800 Vet), sendo realizados esfregaços sanguíneos para contagem diferencial de leucócitos e análise morfológica das células sanguíneas (1000x).

### **3.4 Parâmetros histológicos**

Aos 35 dias de idade, um leitão por repetição com peso próximo ao peso médio da unidade experimental foi selecionado e eutanasiado para a coleta de amostras dos segmentos do jejuno e duodeno e conteúdo do íleo e ceco, para a posterior avaliação da morfometria intestinal, imuno-histoquímica dos tecidos e análise microbiológica. Após a evisceração, foi retirado um fragmento fechado com aproximadamente 3 cm de comprimento do duodeno e do jejuno. O fragmento do duodeno foi coletado a 15 cm da inserção do estômago e o fragmento do jejuno foi coletado a 95 cm da junção ileocecal, sendo em seguida fixados em solução de Metacarn, solução composta de 60% de metanol, 30% de clorofórmio e 10% de ácido acético, durante um período de 12 horas, mantidas em refrigeração. Após esse período as amostras foram fixadas em solução de álcool a 70%.

Para a realização das análises morfométricas do intestino delgado, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, para confecção das 48 lâminas histológicas, sendo uma para cada segmento (duodeno e jejuno) de cada animal. Após a confecção, as lâminas histológicas foram coradas utilizando a solução de PAS (ácido-periódico Schiff), sendo direcionadas para a mensuração de vilosidade, profundidade de cripta, espessura de vilosidade, espessura de mucosa e área absortiva.

Para avaliar a altura de vilosidade, profundidade de cripta, espessura de vilosidade, relação altura de vilosidade:profundidade de cripta e contagem de células caliciformes, foi realizada a metodologia modificada descrita por Moreira Filho et al. (2015). A espessura de mucosa foi determinada a partir da soma entre altura de vilosidade e profundidade de cripta. A área absortiva foi determinada a partir do produto entre altura e espessura de vilosidade, segundo metodologia de Silva (2016). Para as leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension.

Para análise de imuno-histoquímica, os fragmentos do duodeno e jejuno foram colhidos e processados seguindo os mesmos procedimentos utilizados para análise morfométricas. Para a determinação da taxa de mitose nas criptas da mucosa da porção inicial do duodeno e média do jejuno foi utilizado o anticorpo primário Anti-PCNA (Abcam®). As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension. As taxas de mitose foram quantificadas quanto ao número de células anti-PCNA<sup>+</sup> nas células da porção inicial do duodeno e média do jejuno, sendo analisadas nas criptas perfazendo 10.000  $\mu\text{m}$  por tratamento (Luna et al., 2014). Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador. Foram realizadas 30 leituras por lâmina, sendo considerada a média das 30 leituras.

### **3.5 Parâmetros microbiológicos**

Após o abate, foi coletado conteúdo do íleo e ceco, sendo acondicionados em swabs estéreis com meio Stuart, para posterior contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* pelo método "spread plate".

### 3.6 Viabilidade econômica

A viabilidade econômica da suplementação da levedura autolisada nas rações foi determinada a partir do desempenho dos animais e custo da ração.

O custo da alimentação foi determinado a partir do consumo total de ração pelos leitões e do custo da dieta no respectivo período, constando os valores na Tabela 1, para os níveis de 0, 0,4 e 0,8% de adição de levedura autolisada, de acordo com a fase. O custo médio da ração por quilograma de peso vivo foi calculado em função do consumo e ganho de peso dos animais e do custo da ração. A partir do custo médio da ração por peso vivo, foi calculado o índice de eficiência econômica (IEE) e índice de custo médio da ração consumida (IC), de acordo com as equações de Fialho et al. (1992), onde:

$$IEE = \frac{M_{Ce}}{C_{Tei}} * 100 \qquad IC = \frac{C_{Tei}}{M_{Ce}} * 100$$

Em que: Mcei = menor custo da ração por quilograma ganho observado entre tratamentos; Ctei = custo do tratamento i considerado.

### 3.7 Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo procedimento GLM do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System – University Edition) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Para os dados de hemograma, leucograma e plaquetograma, os valores obtidos no sangue colhido aos 21 dias de idade foram utilizados como covariável, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Para a contagem de coliformes totais e *Escherichia coli*, os resultados foram transformados em números logarítmicos da base 10 e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parâmetros de desempenho

Observou-se interação ( $P < 0,05$ ) no período II, entre níveis de levedura autolisada e categoria de peso para a variável ganho diário de peso. A partir do desdobramento da interação, os leitões da categoria de peso pesado que receberam

suplementação de levedura autolisada apresentaram maior ganho de peso em relação aos que não receberam o aditivo. Quando levou-se em consideração os níveis de suplementação de 0,4% e 0,8%, constatou-se que em ambos os animais pesados obtiveram maior ganho de peso diário em comparação à categoria leve (Tabela 4).

No período I não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos níveis de adição de levedura autolisada e categoria de peso sobre o ganho diário de peso e conversão alimentar. No entanto, observou-se que os leitões da categoria de peso pesados apresentaram maior consumo de ração em relação aos leves. No período II também foi constatado maior consumo de ração ( $P<0,05$ ) pelos animais da categoria de peso pesado (Tabela 3).

**Tabela 3** - Desempenho de leitões leves e pesados alimentados com dietas contendo diferentes níveis levedura autolisada em três períodos.

	Nível de levedura autolisada (N)			Categoria de peso (C)		CV (%)	Valor de P		
	0%	0,4%	0,8%	Leve	Pesado		N	C	NxC
Período I (21 a 35 dias)									
CDR (g)	278,04	282,30	285,10	271,18b	291,78a	7,66	0,8073	0,0366	0,7969
GDP (g)	224,30	240,78	227,97	229,53	232,50	8,84	0,2640	0,7260	0,3364
CA	1,24	1,17	1,25	1,18	1,26	7,89	0,2255	0,0720	0,1165
Período II (21 a 42 dias)									
CDR (g)	525,10	521,27	517,88	500,23b	542,59a	4,63	0,8381	0,0004	0,8791
GDP (g)	352,11	367,35	368,23	351,56	373,57	2,19	0,0010	<,0001	0,0015
CA	1,49	1,42	1,40	1,42	1,45	5,47	0,0973	0,3309	0,1236
Período total (21 a 63 dias)									
CDR (g)	676,70	690,13	692,45	654,38b	718,85a	4,59	0,5692	<,0001	0,6268
GPD (g)	450,96	453,84	446,12	442,98	457,63	4,34	0,7310	0,0831	0,6260
CA	1,50	1,52	1,55	1,48b	1,57a	6,56	0,5693	0,0438	0,5285

CDR: consumo diário de ração; GDP: ganho diário de peso; CA: conversão alimentar. CV: coeficiente de variação. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 4** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para ganho diário de peso de leitões no período II (21 aos 42 dias).

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	350,83Aa	349,29Ba	354,55Ba
Pesado	353,39Ab	385,41Aa	381,91Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Levando em conta o período total (21 a 63 dias), não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) dos níveis de adição de levedura sobre as variáveis de desempenho, sendo notado que os animais pesados apresentaram maior consumo diário de ração ( $P < 0,05$ ) e pior conversão alimentar ( $P < 0,05$ ) em relação aos leves (Tabela 3).

Considera-se que os componentes da levedura autolisada, de maneira geral, favoreçam a saúde do animal, em virtude da funcionalidade de seus componentes. Os  $\beta$ -glucanos são considerados imunomoduladores, chegando a aumentar a funcionalidade de células do sistema imune, como macrófagos e neutrófilos (WILLIAMS et al., 1996). Os mananoligossacarídeos, por sua vez, podem interagir com patógenos, se ligando às fímbrias do tipo I de enterobactérias patogênicas, ocupando assim a área de contato destas de onde provém a colonização da mucosa intestinal (BROADWAY et al., 2015; KOGAN e KOCHER, 2007; MERZHITON e JANEWAY, 2000).

Desta forma, considerando que eventos estressantes, como o desmame, podem proporcionar queda de desempenho (BURDICK et al., 2011), espera-se que os componentes da levedura autolisada propiciem melhor estado de saúde e conseqüentemente, melhora no desempenho (BROADWAY et al., 2015). A melhora em parâmetros de desempenho, nas semanas iniciais após o desmame, derivada da adição de levedura autolisada, pode ser justificada pelo desenvolvimento de uma flora intestinal equilibrada, que por sua vez, pode aumentar a capacidade absorptiva dos nutrientes e ainda pelo fato de melhora de função imunológica (BAUER et al., 2006; CZARNECK-MAULDEN, 2008).

Embora seja levando em conta que os leitões leves sofram maior prejuízo no desempenho, bem como geralmente apresentem ingestão de colostro deficiente (KUMMER et al., 2009), foi constatado pelos resultados que os leitões pertencentes a categoria de peso pesado foi quem responderam à suplementação de 0,4 e 0,8% de levedura autolisada, onde houve melhora o ganho de peso dos leitões até os 42 dias de idade, de forma que tal efeito não tenha sido observado para os leitões leves até o nível de 0,8%.

## 4.2 Parâmetros histológicos

Foi observada interação entre nível de levedura autolisada e categoria e peso para a altura de vilosidade e espessura de mucosa do duodeno (Tabela 6 e 7). A partir do desdobramento da interação, verificou-se que na categoria de peso pesado, os animais que receberam suplementação de 0,8% apresentaram maior altura de vilosidades, igualando-se aos animais que receberam dieta adicionada de 0,4% e diferindo dos animais que receberam a dieta controle. Desta forma, também foi verificado que dentro dos níveis de suplementação da levedura autolisada de 0,4 e 0,8% os animais pesados apresentaram maior altura de vilosidades (Tabela 6).

**Tabela 5** - Parâmetros morfométricos e número de células caliciformes do duodeno e jejuno de leitões leves e pesados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.

	Nível de levedura autolisada (N)			Categoria de peso (C)		CV (%)	Valor de P		
	0%	0,4%	0,8%	Leve	Pesado		N	C	NxC
<b>Duodeno</b>									
AV <sup>1</sup>	282,86	302,08	312,08	280,19	317,82	28,77	0,0590	0,0002	0,0133
EV <sup>1</sup>	128,27	127,76	132,26	131,54	127,32	25,87	0,5954	0,2855	0,1806
PC <sup>1</sup>	150,01	146,78	151,88	136,73b	162,39a	35,75	0,7997	<0,0001	0,0942
AA <sup>2</sup>	36830	39575	40705	37535	40538	40,33	0,2168	0,1068	0,2754
EM <sup>1</sup>	436,20	469,40	487,54	428,92	499,84	26,02	0,0124	<0,0001	0,0004
V/C	2,07	2,21	2,19	2,21	2,10	37,88	0,4127	0,2420	0,8864
CC	131,88	155,63	143,13	140,42	146,67	16,19	0,1760	0,5362	0,2985
<b>Jejuno</b>									
AV <sup>1</sup>	245,40	250,90	264,63	254,53	252,68	28,45	0,1692	0,8279	0,7675
EV <sup>1</sup>	111,47	113,94	107,93	114,51a	107,72b	25,40	0,3350	0,0421	0,0857
PC <sup>1</sup>	187,58	186,44	170,18	179,60	183,19	41,76	0,2071	0,6884	0,4689
AA <sup>2</sup>	27468	27978	27703	28497	26936	37,11	0,9427	0,1988	0,3563
EM <sup>1</sup>	383,07	453,59	430,78	440,65	404,30	29,44	0,0004	0,0137	0,0029
V/C	1,47b	1,49b	1,70 <sup>a</sup>	1,57	1,54	35,43	0,0050	0,6826	0,4088
CC	90,63	114,38	103,75	93,75	112,08	26,77	0,2515	0,1205	0,5289

<sup>1</sup>Dados mensurados em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ). <sup>2</sup>Dados em micrômetros ao quadrado ( $\mu\text{m}^2$ ). CV: coeficiente de variação; AV: altura de vilosidade; EV: espessura de vilosidade; PC: profundidade de cripta; AA: área absorptiva; EM: espessura de mucosa; V/C: altura de vilosidade:profundidade de cripta; CC: células caliciformes. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 6** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para altura de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno de leitões.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0,0%	0,4%	0,8%
Leve	284,88Aa	276,41Ba	279,28Ba
Pesado	280,83Ab	327,73Aab	344,87Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Observou-se a partir do desdobramento da interação que leitões da categoria pesado que receberam suplementação de 0,4% e 0,8% apresentaram maior espessura de mucosa do duodeno em relação aos animais que não receberam o aditivo (Tabela 7). Ainda para esta variável, observou-se que para os animais suplementados com 0,4 e 0,8%, os leitões da categoria pesado apresentaram maior espessura de mucosa de duodeno que os da categoria leve.

**Tabela 7** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para espessura de mucosa ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno de leitões.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	440,96Aa	417,07Ba	428,71Ba
Pesado	431,42Ab	521,72Aa	546,36Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para a variável espessura de mucosa do jejuno dos leitões, foi identificada interação ( $P < 0,05$ ) entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso (Tabela 8), notando-se que entre os animais pesados, os animais que receberam dieta adicionada de 0,4% e 0,8% apresentaram espessura de mucosa de jejuno superior aos que não foram suplementados. Quando levou-se em consideração o tratamento sem adição de levedura autolisada, os animais leves obtiveram maior espessura de mucosa no jejuno que os animais pesados.

**Tabela 8** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para espessura de mucosa ( $\mu\text{m}$ ) do jejuno de leitões.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	433,43Aa	469,15Aa	419,35Aa
Pesado	332,69Bb	438,01Aa	442,19Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Através dos resultados expostos na tabela 5 verificou-se que no duodeno, observou-se ( $P < 0,05$ ) efeito da categoria de peso para profundidade de cripta, onde os animais pesados apresentaram criptas mais profundas em relação aos leves. No jejuno, a espessura de vilosidades não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os níveis de adição de levedura autolisada, diferindo ( $P < 0,05$ ) apenas entre as categorias de peso. Notou-se que os leitões da categoria leve apresentaram uma maior espessura de vilos quando comparados aos animais da categoria pesado. Observou-se ainda que os leitões que receberam 0,8% de levedura autolisada apresentaram melhor relação altura de vilosidades:profundidade de criptas em relação aos demais.

As vilosidades são estruturas responsáveis pelo aumento da superfície de absorção do trato gastrointestinal, além de serem sítio de localização de células absorptivas, os enterócitos. O tamanho destas é proporcional com a capacidade de absorção dos nutrientes, o que favorece a saúde e desempenho animal (BOLELI et al., 2002). A profundidade das criptas, por sua vez, está atrelada a um aumento da taxa de renovação celular, indicando descamação do ápice de vilos e podendo estar relacionada à agressões à mucosa intestinal (TUCCI et al., 2011).

A melhor relação altura de vilosidades:profundidade de criptas no jejuno dos leitões suplementados com 0,8% de levedura autolisada pode indicar uma maior integridade de mucosa e presença de enterócitos maduros e funcionais, aumentando assim a capacidade de digestão e absorção (TUCCI et al., 2011; ANDRADE et al., 2011).

Desta forma, o efeito benéfico dos componentes da levedura autolisada,  $\beta$ -glucanos e mananoligossacarídeos, sobre os parâmetros morfométricos no intestino de leitões da categoria pesado, está relacionado com o melhor desempenho destes animais até os 42 dias de idade,

Houve diferença significativa entre os níveis de adição de levedura autolisada sobre o número de células em mitose no duodeno e jejuno ( $P < 0,05$ ) dos leitões (Tabela 9). O duodeno de leitões que receberam 0,4% e 0,8% de levedura autolisada na dieta apresentou maior número de células em divisão, ambos diferindo dos animais que não receberam suplementação com o aditivo. O jejuno de animais que receberam a dieta adicionada de 0,8% de levedura autolisada apresentou o maior número de células em

mitose, diferindo da suplementação de 0,4%, que por sua vez, foi superior aos animais que não foram suplementados.

**Tabela 9** - Número de células em mitose no duodeno e jejuno de leitões leves e pesados alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.

	Nível de levedura autolisada			Categoria de peso		CV (%)	Valor de P		
	(N)			(C)			N	C	NxP
	0%	0,4%	0,8%	Leve	Pesado				
Duodeno	389,17b	548,33a	631,67a	511,67	534,44	18,09	0,0003	0,5629	0,3981
Jejuno	365,00c	489,17b	621,67a	480,56	503,33	10,15	<,0001	0,2784	0,9348

CV: Coeficiente de Variação. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A expressão da antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) é observada no estágio final da fase G1 e inicial da fase S, sendo a fase G1 denominada de interfase, onde a célula aumenta de tamanho e prepara-se para copiar seu DNA, e a fase S, por sua vez, consistindo na síntese, que permite que a célula duplique de maneira precisa os seus cromossomos (RIVOIRE et al., 2001). Desta forma, considera-se que a expressão do antígeno PCNA contribui para a continuidade do ciclo celular, sua função principal consiste na replicação e reparo do DNA, visto que a ausência ou o baixo nível de PCNA funcional pode levar a apoptose celular (REKIEL et al., 2010).

Nesse sentido, levando em nota a melhor relação altura de vilosidade/profundidade de cripta e o maior número de células em mitose no jejuno dos animais alimentados com dieta contendo 0,8% de levedura autolisada, são indicativos da manutenção das células da mucosa epitelial dos enterócitos destes animais, sem a morte celular precoce programada, o que possibilita a condição de maturação necessária para promover melhor digestão e absorção dos nutrientes.

Por sua vez, os animais não suplementados apresentaram menor número de células em mitose no duodeno e no jejuno, o que resulta na maior taxa apoptótica e pela piora na relação altura de vilo/profundidade de cripta, resultando na chegada de células imaturas ao ápice do vilo, não favorecendo a saúde intestinal do animal.

### 4.3 Parâmetros hematológicos

Para os parâmetros hematológicos foi observada interação entre nível de levedura autolisada e categoria de peso para eosinófilos para leitões com 35 dias de idade, com maior concentração deste componente para os animais da categoria de peso pesados não suplementados com o aditivo em relação aos leitões que receberam 0,8%, não diferindo daqueles que receberam dieta contendo 0,4% de levedura autolisada (Tabela 11).

**Tabela 10** - Hemograma, leucograma e plaquetograma de leitões leves e pesados aos 35 e 63 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.

	Nível de levedura autolisada (N)			Categoria de peso (C)		CV (%)	Valor de P		
	0%	0,0%	0,8%	Leve	Pesad		N	C	NXC
Idade I (35 dias)									
<b>Hemograma</b>									
Hemácias	5,91	6,05	6,14	6,08	5,99	7,32	0,243	0,421	0,969
Hemoglobina	10,43	10,68	10,91	10,75	10,60	8,15	0,212	0,514	0,946
Hematócrito	34,65	35,39	35,72	35,37	35,13	6,94	0,366	0,694	0,898
VCM ( $\mu\text{m}^3$ )	58,61	58,40	58,71	58,52	58,63	3,29	0,869	0,833	0,999
CHCM (%)	30,13	30,21	30,27	30,21	30,20	1,89	0,737	0,929	0,115
<b>Leucograma</b>									
Leucócitos	17870	1703	1900	17093	18843	19,5	0,199	0,052	0,223
Neut.	53,33	52,57	55,50	54,20	53,40	18,8	0,632	0,753	0,158
Linfócitos	40,92	39,88	36,25	39,24	38,80	25,8	0,306	0,863	0,329
Eosinófilos	2,15	1,95	1,50	1,93	1,83	58,6	0,159	0,818	0,044
Monócitos	4,18	5,55	5,95	4,72	5,73	55,9	0,129	0,172	0,260
<b>Plaquetograma</b>									
Plaquetas	687,07	696,4	645,9	678,33	674,63	20,9	0,483	0,918	0,678
Proteína	5,25	5,42	5,35	5,37	5,30	7,07	0,325	0,422	0,534
Idade II (63 dias)									
<b>Hemograma</b>									
Hemácias	6,88	7,06	7,23	6,97	7,15	7,16	0,109	0,184	0,104
Hemoglobina	11,87	12,11	12,43	12,03	12,25	8,22	0,240	0,388	0,680
Hematócrito	38,35	40,12	41,17	39,61	40,48	8,23	0,107	0,320	0,572
VCM ( $\mu\text{m}^3$ )	56,42	56,82	57,72	56,85	57,13	4,26	0,265	0,658	0,134
CHCM (%)	30,28	30,13	30,11	30,26	30,09	2,57	0,738	0,401	0,921
<b>Leucograma</b>									
Leucócitos	17245	1839	1870	18103	18124	22,2	0,496	0,984	0,244
Neut.	40,75	40,95	41,95	39,73	42,70	27,8	0,944	0,323	0,017
Linfócitos	51,04	52,77	52,21	53,28	50,74	21,2	0,875	0,387	0,016
Eosinófilos	1,75	1,60	1,05	1,64	1,30	76,7	0,171	0,267	0,787
Monócitos	6,44 <sup>a</sup>	4,66 <sup>b</sup>	4,77 <sup>b</sup>	5,37	5,22	42,5	0,026	0,795	0,004
<b>Plaquetograma</b>									

Plaquetas	736,15	673,1	663,7	646,27	735,75	24,5	0,348	0,048	0,468
Proteína	6,03	5,96	5,89	5,94	5,99	6,42	0,525	0,627	0,249

<sup>1</sup> neutrófilos segmentados. CV: Coeficiente de Variação. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 11** - Desdobramento da interação entre nível levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de eosinófilos (%) de leitões aos 35 dias de idade.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	2,10a	2,40a	1,90a
Pesado	2,40a	2,20ab	1,10b

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados dos parâmetros hematológicos aos 63 dias de idade demonstraram que para a concentração de neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos, observou-se interação ( $P < 0,05$ ) entre nível de levedura autolisada e categoria de peso. A partir do desdobramento da interação para neutrófilos segmentados e linfócitos, foi observado que leitões da categoria de peso pesado, tiveram maior concentração destas células quando não receberam levedura autolisada, em comparação aos leitões que receberam 0,8% de levedura adicionada à dieta, não diferindo daqueles que receberam 0,4% (Tabela 12 e 13).

**Tabela 12** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de neutrófilos segmentados (%) de leitões aos 63 dias de idade.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	41,00a	44,00a	39,70a
Pesado	40,50a	37,90ab	34,20b

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 13** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de linfócitos (%) de leitões aos 63 dias de idade.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	52,09a	56,80a	59,00a
Pesado	50,00a	48,75ab	45,43b

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para concentração de monócitos, aos 63 dias, verificou-se que os leitões da categoria de peso pesados apresentaram uma maior concentração destas células quando não suplementados com levedura autolisada, em relação aos leitões suplementados com o aditivo (Tabela 14).

**Tabela 14** - Desdobramento da interação entre nível de levedura autolisada na dieta e categoria de peso para concentração de monócitos (%) de leitões aos 63 dias de idade.

Categoria de peso	Nível de levedura autolisada		
	0%	0,4%	0,8%
Leve	5,09a	5,33a	5,70a
Pesado	7,80a	4,00b	3,85b

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Na tabela 10 pode-se observar que aos 35 dias de idade, não houve efeito ( $P > 0,05$ ) dos níveis de adição de levedura autolisada e da categoria de peso sobre os parâmetros sanguíneos para nenhuma das variáveis. Ainda é possível inferir que nas avaliações realizadas aos 63 dias de idade, notou-se um maior volume de plaquetas ( $P < 0,05$ ) para os animais pertencentes a categoria de peso pesado.

Os eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e monócitos são células do sistema imune responsáveis pelo combate a parasitas e infecções (GANNER e SCHATZMAYR, 2012), que podem ter diminuída sua proliferação decorrente de um ambiente com desafios mais brandos para os animais suplementados com levedura autolisada.

É considerável que as infecções ocorrem após a adesão do microorganismo à superfície da célula hospedeira, ou seja, se for inibida a adesão, a infecção subsequente também será impedida. Essa elucidação pode dar-se ao fato da presença dos mananoligossacarídeos (MOS) terem sido responsáveis pela aderência às fímbrias do tipo 1 apresentadas por uma grande parte das bactérias enteropatogênicas, carregando-as para o meio externo e impossibilitando-as de colonizar a mucosa e infectá-la (GANNER e SCHATZMAYR, 2012).

Nesse sentido, a ausência de infecção não impulsiona a resposta imunológica com o aumento da proliferação de células de ataque do sistema imune, resultando assim numa menor concentração destas para animais suplementados com a levedura autolisada.

#### 4.4 Parâmetros microbiológicos

Não houve efeito da adição de levedura autolisada e categoria de peso sobre os parâmetros microbiológicos avaliados (Tabela 15).

**Tabela 15** -Contagem (UFC em log 10) de coliformes totais e *Escherichia coli* do íleo e ceco de leitões leves e pesados, aos 35 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de levedura autolisada.

	Nível de levedura autolisada (N)			Categoria de peso (C)		CV (%)	Valor de P		
	0%	0,0%	0,8%	Leve	Pesado		N	C	NXC
Íleo									
Coliformes totais	1,97	1,50	1,83	1,79	1,75	37,29	0,3616	0,9067	0,2995
<i>Escherichia coli</i>	0,44	0,66	0,95	0,70	0,64	13,85	0,5620	0,8519	0,7549
Ceco									
Coliformes totais	1,95	1,67	1,71	1,68	1,87	29,00	0,5280	0,3505	0,6729
<i>Escherichia coli</i>	0,16	0,19	0,11	0,52	0,25	12,85	0,1174	0,2173	0,3112

CV: Coeficiente de Variação.

Resultados diferentes destes foram encontrados por White et al. (2002), que observaram efeito da adição de levedura sobre a presença de coliformes, notando menor colonização destes ao longo do trato gastrointestinal de suínos. Porém, apesar de ser comprovada a afinidade entre mananoligossacarídeos e fímbrias tipo 1 de bactérias como *Escherichia coli*, ainda há questionamento sobre quais fatores poderia intervir, para aumentar ou diminuir, essa afinidade de ligação. O processo de ligação pode depender de fatores, interações hidrofóbicas e até atividades inespecíficas e desconhecidas (OFEK et al., 2003). Desta forma, entende-se que os resultados *in vivo* possuem uma dinâmica e não há como especificar possíveis alterações no modo de ação.

#### 4.5 Viabilidade econômica

Os dados de viabilidade econômica estão dispostos na Tabela 16, onde foi possível verificar que não houve significância entre os níveis de inclusão da levedura autolisada ou entre as categorias de peso para os parâmetros avaliados.

**Tabela 16.** Efeitos da suplementação de levedura autolisada e categoria animal sobre a avaliação econômica.

	Nível de levedura autolisada (N)			Categoria de peso (C)		CV (%)	Valor de P		
	0%	0,4%	0,8%	Leve	Pesado		N	C	N x C
Período I (21 a 35 dias)									
CM (R\$/Kg)	4,47	4,29	4,66	4,33	4,62	8,67	0,1919	0,0928	0,1361
IEE (%)	96,34	99,12	92,69	99,38	98,56	8,36	0,1738	0,1097	0,1569
IC (%)	108,91	100,26	107,98	100,81	103,23	8,67	0,2025	0,1135	0,1734
Período II (21 a 42 dias)									
CM (R\$/Kg)	3,78	3,84	3,89	3,96	3,98	3,56	0,5835	0,6959	0,3526
IEE (%)	97,51	99,07	99,45	99,73	99,25	3,40	0,3622	0,5242	0,3869
IC (%)	100,64	101,05	103,16	101,52	101,90	3,56	0,2536	0,6959	0,7135
Período total (21 a 63 dias)									
CM (R\$/Kg)	3,92	3,93	4,03	3,80	3,85	4,42	0,5369	0,3625	0,1952
IEE (%)	99,37	98,39	97,80	99,33	97,93	4,39	0,1436	0,2636	0,4561
IC (%)	100,57	103,37	104,06	102,72	104,23	4,42	0,3622	0,3463	0,2719

Cs. Al.: Custo com alimentação; CM: Custo Médio; IEE: Índice de Eficiência Econômica; IC: Índice de Custo; CV: Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tal resultado demonstra a viabilidade econômica para os diferentes níveis de suplementação do aditivo, tendo em vista que os parâmetros índice de eficiência econômica (IEE) e índice de custo (IC) foram iguais estatisticamente entre os tratamentos. Desta forma, é demonstrado que os ganhos alcançados pelos parâmetros de desempenho justificam economicamente a suplementação de levedura autolisada nos níveis de 0,4 e 0,8%.

## 5 CONCLUSÕES

A inclusão dietética de levedura autolisada aumenta o ganho diário de peso de leitões leves até os 42 dias de idade, além de proporcionar maior altura de vilosidades e maior espessura de mucosa no duodeno de animais pesados, melhor relação altura de vilo:profundidade de cripta no jejuno e promover maior taxa de renovação celular em ambos segmentos do intestino delgado.

Leitões de categoria de peso pesado suplementados com levedura autolisada apresentam menor concentração de células do sistema imune, eosinófilos aos 35 dias e neutrófilos, linfócitos e monócitos aos 63 dias. A levedura autolisada dietética não influencia a concentração de coliformes totais em conteúdos do ceco e do íleo de leitões em fase de creche. A inclusão de levedura autolisada na dieta nos níveis de 0,4 e 0,8% mostrou-se economicamente viável.

## REFERÊNCIAS

- AMORM, H. V.; LOPES, M. L. Tecnologia sobre processamento de leveduras vivas, inativas e seus derivados: conceitos básicos. In: I Congresso Internacional sobre Uso da Levedura na Alimentação Animal, 2009, Campinas. **Anais. CBNA**, 2009. p. 5-20.
- ANDRADE, C.; ALMEIDA V. V.; COSTA L. B.; BERENCHTEIN, B.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 4, v. 40, p. 788-796, 2011.
- BABAYAN, T. L.; BEZRUJOU, M. G.; LATOU, U. K., BELIKOU, V. M.; BELAUTSEVA, E. M.; TITOVA, E. Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: morphological effects, rheological, effects, and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. **Current Microbiology**, v.5, n.3, p.163 - 168, 1991.
- BARBOSA, F. F.; FERREIRA, A. S.; GATTÁS, G. SILVA, F. C. de O.; DONZELE, J. L.; BRUSTOLINI, P. C.; LOPES, D. C. Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4 sup.1, p.1052-1060. 2007.
- BAUER, E.; WILLIAMS, B.A.; SMIDT, H.; VERSTEGEN, M.W.; MOSENTHIN, R. Influence of the gastrointestinal microbiota on development of the immune system in young animals. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, n. 7, p. 35–52, 2006.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.75-95, 2002.
- BROADWAY, P. R.; CARROLL, J. A.; SANCHEZ, N. C. B. Live Yeast and Yeast Cell Wall Supplements Enhance Immune Function and Performance in Food-Producing Livestock: A Review. **Microorganisms**, v. 3, n.3, p. 417-427, 2015.
- BUDIÑO, F. E. L.; CASTRO JÚNIOR, F. G.; OTSUK, I. P. Adição de frutoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados: desempenho, incidência de diarreia e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.10, p. 2187-2193, 2010.
- BUDINÕ, FÁBIO E. L.; MONFERDINI, RENATO P.; SITANAKA, NATÁLIA Y.; FERRACIOLI, LETÍCIA B.; MORAES, JOSÉ E.; CASTRO, ALESSANDRA M. M. G.; CASTRO JÚNIOR, FERNANDO G. Desempenho de leitões desmamados alimentados com dietas contendo plasma spray dried. **Boletim de Indústria Animal** (Online), v. 73, p. 127-133, 2016.
- BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. Brewing: Science and Practice. **Woodhead Publishing Limited**, Cambridge, England, 2004.
- BROWN, G. D. Dectin-1: a signaling non-TLR pattern-recognition receptor. **Nature Publishing Group**, v. 6, p. 33 – 43, janeiro de 2006.

BURDICK, N.C.; RANDEL, R.D.; CARROLL, J.A.; WELSH, T.H., Jr. Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. **International Journal of Zoology**, V. 2011, p. 1- 9, 2011.

CALDARA, F.R.; DUCATTI, C. BERTO, D. A.; DENADAI, J. C.; GARCIA, R. G.; FERREIRA, V. M. O. dos S. Glutamina e turnover do carbono da mucosa intestinal de leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.39, n.12, p.2664-2669, 2010.

CARVER, J. D.; WALKER, W. A. The role of nucleotides in human nutrition. **Nutrition Biochemistry**, 658-72, 1995.

COMBS, G. F. **The vitamins, fundamental aspects in nutrition and health**. 2. Ed. San Diego: Academic Press Inc., 1998, 618 p.

CORASSA, A. **Mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos, probióticos e níveis de ácido fólico em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade**. 65 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2004.

COSTA, L. F. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, p.01-06, 2004.

DZIEZAK, J.D. Yeast and yeast derivatives: definitions, characteristics and processing. **Food Technol.** 1987; 42(2):104-21.

CZARNECKI-MAULDEN, G. Effect of dietary modulation of intestinal microbiota on reproduction and early growth. **Theriogenology**, n. 70, p. 286–290, 2008.

EICHER, S. D.; MC KEE, C. A.; CARROLL, J. A.; PAJOR, E. A. Supplemental vitamin C and yeast cell wall  $\beta$ -glucan as growth enhancers in newborn pigs and as immunomodulators after an endotoxin challenge after weaning. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 9, p. 2352–2360, 2006.

FOX, A. D.; KRIPKE S. A.; BERMAN, J. M. Dexamethasone administration induces increased glutamine specific activity in the jejunum and colon. **Journal of Surgical Research**, San Francisco, v. 44, n. 4, p. 391 – 396, 1988.

FURTADO, A. T.; SCANDIFFIO, M. I. G. The Ethanol Promise in Brazil. **Scientific American, Special Edition Brazil**, ano 5, n. 53, outubro, 2006.

GANNER, A.; FINK, L.; SCHATZMAYR, G. Quantitative in vitro assay to evaluate yeast products concerning their binding activity of enteropathogenic bacteria. **Journal Animal Science**, v. 86, (E. suppl 2):54, 2008.

GANNER, A.; SCHATZMAYR, G. Capability of yeast derivatives to adhere enteropathogenic bacteria and to modulate cells of the innate immune system. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, p. 289–297, 2012.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p.1401-1412, 1995.

GNANSOUNOU, E.; DAURIAT, A. Ethanol fuel from biomass: A review. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 64, p. 809 – 821, novembro, 2005.

HISANO, H.; SAMPAIO, F.G.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L. E. Composição nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e da parede celular pela tilápia-do-Nilo. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.43-49, 2008.

KIM, J.; HYUN, Y.; SOHN, K.; KIM, T.; WOO, H.; HAN, I. Effects of manooligosaccharide and protein levels on growth performance and immune status in pigs weaned at 21 days of age. **Korean Journal of Animal Science**, v. 42, p. 489 – 498, 2000.

HURLEY, W.L. Mammary gland growth in the lactating sow. **Livestock Production Science**, v.70, n.1-2, p.149-157, 2001.

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

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, v.24, n.68, p.223-253, 2010.

KUMMER, R. G.; M. A. D.; LIPPKE, R.T.; MARQUES, B.M.F.P.P.; MORES, T.J. Fatores que influenciam o desempenho dos leitões na fase de creche. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, n. 37, p.195-209, 2009.

LUNA, A.C.L; PASSOS, C.C. ; FERREIRA, A.O. ; BATEMAN, A.; MIGLINO, M.A.; GUERRA, R.R. Expression of progranulin during the first stages of liver development in rat Fischer 344. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** (Impresso), v. 50, p. 270-278, 2014.

MAJTÁN, J.; KOGAN, G.; KOVÁCOVÁ, E.; BÍLIKOVÁ, K.; SIMÚTH, J. Stimulation of TNF- $\alpha$  Release by Fungal Cell Wall Polysaccharides. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, Tübingen, 2005.

MANZKE, N.E.; GOMES, B.K.; LIMA, G.J.M.M.; XAVIER, E.G. Nutrição de leitões neonatos: a importância da suplementação. **Archivos de Zootecnia**, n. 252, v. 65, p. 585-591. 2016.

MATHIAS, T. R. S.; MELLO, P. P. M.; SERVULO, E. F. C. **Caracterização de resíduos cervejeiros**. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis, 2014.

MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. Innate immunity. **New England Journal of Medicine**, n. 343, p. 338–344, 2000.

MIGUEL, W.C.; TRINDADE NETO, M.A.; BERTO, D.A.; KOBASHIGAWA, E.; GANDRA, E. R. de S. Suplementação de acidificantes em rações de leitões desmamados: desempenho e digestibilidade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**., v.48, p.141-146, 2011.

MOREIRA FILHO, A.L.B.; OLIVEIRA, C.J.B.; OLIVEIRA, H.B. High Incubation Temperature and Threonine Dietary Level Improve Ileum Response Against Post Hatch Salmonella Enteritidis Inoculation in Broiler Chicks. **Plos One**, 2015.

NOTCHA, I.; TUBOLY, T.; HALAS, V.; BABINSZKY, L. Effect of different levels of mannan-oligosaccharide supplementation on some immunological variables in weaned piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, p. 496–504, 2009.

OFEK, I.; HASTY, D. L.; SHARON, N. Anti-adhesion therapy of bacterial diseases: prospects and problems. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 38, p. 181 – 191, 2003.

OLAJIRE, A. A. The brewing industry and environmental challenges. **Journal of Cleaner Production**, p. 1 – 21, 2012.

OLLÉ, M. A.; GROFF, P. M.; RUAS, M. S.; OLLÉ, F. A.; FLUCK, A. C.; SILVEIRA, R. F.; ALFAYA, H. Uso de antibióticos na alimentação de suínos. Revisão de literatura. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 18, n. 10, 2017.

PASCOAL, L.A.F.; THOMAZ, M.C.; WATANABE, P.H.; RUIZ, U. dos s.; EZEQUIEL, B. J. A.; AMORIM, A. B.; MASSON, G. C. I. Fiber sources in diets for newly weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.636-642, 2012.

PAULA, C. A. P.; FARIA, J. B. Avaliação do uso da levedura de descarte da indústria cervejeira na obtenção da aguardente de líquido de laranja. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas. V. 20, 2017.

REGO, J. C. C. R.; FERREIRA, R. A. S.; BRITO, C. F.; MORESSI, G. B.; SCANDOLERA, A. J.; WARPECHOWSKI, M. B. Acidificação da dieta e a digestibilidade de nutrientes em leitões. **Revista Acadêmica de Ciência Agrárias e Ambientais**. v.10; p.105-111. 2012.

REKIEL, A.; BIELECKI, W.; WIECEK, J.; KULISIEWICZ, J. Histological changes in the small intestinal epithelium in fattening pigs fed selected feed additives. **Acta Veterinaria Brno**, v.79, p.67-71, 2010.

ROBLES-HUAYNATE, R. A.; THOMAZ, M. C.; SANTANA, A. E.; MASSON, G. C. I.H.; AMORIM, A. B.; SILVA, S. Z.; RUIZ, U. do S.; WATANABE, P. H.; BUDIÑO, F. E. L. Efeito da adição de probiótico em dietas de leitões desmamados sobre as características do sistema digestório e de desempenho. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v.14, n.1, p.248-258 jan./mar., 2013.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M.V.; RODRIGUES, P.B.; LIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4ª edição. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.

ROZEBOOM, D.; SHAW, D.; TEMPELMAN, R.; MIGUEL, J.; PETTIGREW, J.; CONNOLLY, A. Effects of mannan oligosaccharide and an antimicrobial product in

nursery diets on performance of pigs reared on three different farms. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2637–2644, 2005.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; RECH, J.L. et al. Desempenho e características de carcaças de frangos de corte recebendo extrato de leveduras na dieta. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, p.349-355, 2006.

SANTOS, A. V.; FIALHO, E. T.; ZANGERÔNIMO, M. G.; CANTARELLI, V. de S.; TEOFILO, T. da S.; MOLINO, J. P. Aditivos antibiótico, probiótico e prebiótico em rações para leitões desmamados precocemente. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, p. 1-10, 2016.

SHEN, Y. B.; PIAO, X. S.; KIM, S. W.; WANG, L.; LIU, P.; YOON, I.; ZHEN, Y. G. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, n. 87, p. 2614–2624, 2009.

SHOAF-SWEENEY, K. D.; HUTKINS R. W. Chapter 2 adherence, ant adherence, and oligosaccharides. **Preventing Pathogens from Sticking to the Host**, p. 101–161, 2008.

SHURSON, G. C. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification Methods. **Animal Feed Science and Technology**, v. 253, p. 60 – 76, 2018.

SILVA, S. Z. da; THOMAZ, M. C.; WATANABE, P. H.; ROBLES HUAYNATE, R. A.; RUIZ, U. dos S.; PASCOAL, L. A. F.; SANTOS, V. M. dos; MASSON, G. C. I. H. Manan oligossacarídeos em dietas para leitões desmamados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 49, n. 2, p. 102-110, 2012.

SILVA, D. R. P. da. **Adição de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados**. 2016. 43p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB.

SILVA, M. B.; OLIVEIRA, D. S. Modelagem e simulação da produção de etanol via fermentação alcoólica da glicose. **Unoesc & Ciência – ACET**, Joaçaba, v. 8, n. 2, p. 119-128, jul. /Dez. 2017.

TIBBETTS, G.W. Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. In: ANNUAL SYMPOSIUM OF NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 18., 2002, Lexington. **Anais...** Lexington: Nottingham University Press, 2002. p.435-443.

TUCCI, F.M.; THOMAZ, M.C.; NAKAGHI, L. S. O.; HANNAS, M. I.; SCANDORELA A. J.; BUDIÑO, F. E. L. Efeitos da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a estrutura e ultraestrutura do intestino delgado e sobre o desempenho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 931-940, 2011.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; TEIXEIRA, F. C. **Alimentos funcionais: conceitos básicos**. Embrapa Clima Temperado, 1ª edição. Pelotas, RS. 2010. 20p.

XIAO, Z.; TRINCADO, C. A.; MURTAUGH, M. P.  $\beta$ -Glucan enhancement of T cell IFN $\gamma$  response in swine. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 102, p. 315–320, 2004.

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

WILLIAMS, D. L.; MUELLER, A.; BROWDER, W. Glucan-based macrophage stimulators. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, n. 5, p. 392–399, 1996.

YAMADA, E. A.; ALVIM, I. D.; SANTUCCI, M. C. C.; SGARBIERI, V. C. Composição centesimal e valor proteico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 16, n. 4, p. 423 – 432, 2003.