Patrícia Nardin Berto

**Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no
desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões
desmamados**

Pirassununga

2017

PATRÍCIA NARDIN BERTO

Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões desmamados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto

De acordo:_____

Messias Alves da Trindade Neto

Pirassununga

2017

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3555
FMVZ

Berto, Patrícia Nardin

Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões desmamados. / Patrícia Nardin Berto. -- 2017.
53 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto.

1. Leucograma. 2. Nutrição. 3. Suínos. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões desmamados.", protocolada sob o CEUA nº 3184160317, sob a responsabilidade de **Messias Alves da Trindade Neto e equipe; Patrícia Nardin Berto** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 06/06/2017.

We certify that the proposal "Dietary supplementation of hydrolyzed yeast and its effect on performance, intestinal microbiota and immune response of weaned piglets.", utilizing 96 Swines (males and females), protocol number CEUA 3184160317, under the responsibility of **Messias Alves da Trindade Neto and team; Patrícia Nardin Berto** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 06/06/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **05/2017** a **07/2017**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Suíños**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **21 a 21 dias**

N: **96**

Linhagem: **híbridos comerciais**

Peso: **5800 a 6200 g**

Resumo: O objetivo da pesquisa será avaliar os efeitos do uso de levedura hidrolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) nas dietas sobre o desempenho (consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar), microbiota intestinal e leucograma de leitões desmamados. Serão utilizados 96 leitões, machos castrados e fêmeas de linhagem comercial, desmamados com 21 dias de idade e com peso médio de 6,00 kg, visando avaliar os efeitos da suplementação dietética da levedura hidrolisada (LH) sobre o desempenho, microbiota do ceco e resposta imune. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso e os leitões serão alojados em grupos de três animais por baia. Os níveis estudados de inclusão de LH nas dietas serão de 0,0%; 0,3%; 0,6% e 0,9%. Serão realizadas pesagens dos animais no início, no 14o, 28o e no 42o dia do período experimental. Ao término da avaliação do desempenho será eutanasiado, após concussão elétrica, o leitão com peso mais próximo da média de peso dos animais da baia para retirada do ceco e realização da contagem de coliformes totais, *Escherichia coli* e de bactérias lácticas. Dos dois leitões restantes em cada baia, será sorteado um animal que receberá aplicação intramuscular de 80µg/kg de peso vivo de LPS (lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* sorotipo 055:B5) e no intervalo de duas a três horas após desafio imunológico será realizada coleta de sangue para avaliação da resposta imune pela contagem diferencial de leucócitos.

Local do experimento: Unidade experimental de suínos UNESP/Botucatu

São Paulo, 07 de junho de 2017

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BERTO, Patrícia Nardin

Título: Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões desmamados.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me iluminado nos momentos difíceis e me dado força para sempre continuar.

Agradeço aos meus pais, Dirlei e Lurdinha, pelo apoio, ensinamentos, por estarem sempre ao meu lado e principalmente pelo exemplo de vida, caráter, amor e honestidade.

Agradeço à minha irmã, Denise, pela cumplicidade, pelas palavras, pelo carinho, pela mão sempre estendida.

Agradeço às minhas avós, Zuleica e Therezinha e meus avôs Celino (*in memoriam*) e Neno (*in memoriam*) pelas orações, incentivo, pela vibração a cada vitória.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto pela oportunidade, ensinamentos e paciência.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcos Livio Panhoza Tse pelo apoio, amizade e assistência durante o período de experimento, bem como durante as análises estatísticas.

Agradeço ao Prof. Ricardo Seiti Yamatogi pela realização das análises microbiológicas.

Agradeço aos colegas Gabi, Livea, Filipe, Mayra e Denis pelo auxílio na condução do experimento.

Agradeço aos funcionários da fábrica de ração e do setor de suinocultura da UNESP Botucatu (Sérgio, Alexandre, Adriano, Franco) pelo profissionalismo e prontidão.

Agradeço aos amigos que fiz em Pirassununga, Gisele, Shara Jonh e Mau, pela amizade, companheirismo e confiança.

Agradeço aos amigos de Botucatu: Janaína, Luísa, Alana, Nara, Cinthia, Alice, Ketherine, Gaby, Vitória e Bruno (*in memoriam*) por toda a paciência, torcida, sorrisos, abraços, e, por mesmo distantes, se fazerem sempre presentes.

Agradeço aos meus pequenos Lorenzo e Pietro por, através da inocência que só as crianças têm, me fazerem enxergar o mundo de forma pura e despreocupada.

Agradeço à minha amiga Giselle por estar sempre ao meu lado, pela paciência, incentivo, ombro amigo e abraços apertados.

Agradeço, por fim, porém não menos importante a todos que direta ou indiretamente me auxiliaram para que eu chegasse ao fim de mais esta etapa.

*“Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos,
bati na porta da vida e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-
la!”*

(Augusto Cury)

RESUMO

BERTO, P. N. **Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões desmamados.** [Dietary supplementation of hydrolyzed yeast and its effect on performance, intestinal microbiota and immune response of weaned piglets]. 2017. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Objetivou-se no presente estudo avaliar os efeitos da suplementação dietética de levedura hidrolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) no desempenho, microbiota do ceco e leucograma de leitões desmamados. Foram utilizados 96 leitões, machos castrados e fêmeas de linhagem comercial, desmamados aos 21 dias de idade. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro tratamentos (dietas contendo 0,0%; 0,3%; 0,6% e 0,9% de levedura hidrolisada - LH) oito repetições e três animais por baia. As variáveis avaliadas foram ganho de peso, consumo diário de ração e conversão alimentar nos períodos de 0 a 15, 0 a 26 e 0 a 36 dias. Ao término da avaliação do desempenho foi eutanasiado o leitão com peso mais próximo da média de peso dos animais da baia para retirada do ceco e realização da contagem de coliformes totais, *Escherichia coli* e de bactérias ácido-lácticas. Dos dois leitões restantes em cada baia, sorteou-se um para receber aplicação intramuscular de 80µg de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* sorotipo 055:B5/kg de peso vivo. Antes da aplicação do LPS e no intervalo de duas a três horas após, amostras de sangue foram colhidas para contagem diferencial de leucócitos. Efeitos quadráticos da inclusão de levedura hidrolisada foram observados na conversão alimentar de 0 ao 15 dias ($P=0,0086$) e no ganho diário de peso de 0 a 15 ($P=0,0237$), 0 a 26 ($P=0,0020$) e de 0 a 36 dias ($P=0,0052$), indicando nível de inclusão de LH entre 0,4 e 0,5%. Não houve efeito ($P> 0,05$) da adição de LH no consumo diário de ração, microbiota do ceco e leucograma dos leitões, entretanto, a aplicação de LPS reduziu os valores de leucócitos e de suas frações ($P<0,0010$). A LH nos níveis entre 0,4 e 0,5 % melhora o desempenho de leitões desmamados.

Palavras-chave: Leucograma. Nutrição. Suínos.

ABSTRACT

BERTO, P. N. **Dietary supplementation of hydrolyzed yeast and its effect on performance, intestinal microbiota, and immune response of weaned piglets.** [Suplementação dietética de levedura hidrolisada e seu efeito no desempenho, na microbiota intestinal e resposta imune dos leitões desmamados]. 2017. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The objective of this research was to evaluate the effects of dietary addition of hydrolyzed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, cecum microbiota and white blood cell count of weaned pigs. Ninety-six 21 day's old piglets, barrows and females of commercial lineage were used. The piglets (6.00 ± 0.3 kg of BW) were assigned to four diets in a randomized complete block design, with eight replicates and three animals per pen. Experimental diets contained 0.0, 0.3, 0.6, and 0.9% hydrolyzed yeast (HY). Were evaluated the daily weight gain, daily feed intake and feed conversion in periods of 0 to 15, 0 to 26 and 0 to 36 days. The piglet with weight closest to the weight average of the animals of the pen was euthanized at the end of the performance trial, and cecum was removed to counts total coliforms, *Escherichia coli* and acid lactic bacteria. Of the two remaining piglets in each pen, one was randomized to receive intramuscular injection with lipopolysaccharide (LPS) from *E. coli* serotype 055: B5 (80µg/kg BW). Before and after two to three hours of LPS injection, blood samples were collected to evaluate the leukogram. Quadratic effects of inclusion of HY were observed in feed conversion from 0 to 15 days ($P = 0.0086$) and in the daily weight gain from 0 to 15 ($P = 0.0237$), 0 to 26 ($P = 0.0020$) and 0 to 36 days ($P = 0.0052$), indicating a level of inclusion of LH between 0.4 and 0.5%. There was no effect ($P > 0.05$) of the addition of HY on daily feed intake, cecum microbiota and leukogram of the piglets, however, the LPS application reduced the values of leukocytes and their fractions ($P < 0.0010$). Hydrolyzed yeast at levels between 0.4 and 0.5% improves the performance of weaned piglets.

Keywords: Leukogram. Nutrition. Swine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação da parede celular de levedura	15
Figura 2- Estrutura básica dos β -glucanos da parede celular de leveduras.....	20
Figura 3- Estrutura básica de um nucleotídeo	24
Figura 4- Fórmula Estrutural das bases nitrogenadas	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Composições percentuais e níveis nutricionais das rações pré-iniciais 1 (21 aos 35 dias).....	28
Tabela 2-	Composições percentuais e níveis nutricionais das rações pré-iniciais 2 (36 aos 49 dias).....	29
Tabela 3-	Composições percentuais e níveis nutricionais das rações iniciais (50 aos 61 dias).....	30
Tabela 4-	Valores médios de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão de Levedura Hidrolisada.....	32
Tabela 5-	Contagem (Log_{10} UFC/g) de coliformes totais (CT), <i>Escherichia coli</i> (EC) e de bactérias ácido-lácticas (BAL) no conteúdo do ceco de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão de Levedura Hidrolisada no 40º dia do experimento.....	34
Tabela 6-	Valores médios do número ($10^6/\text{l}$) de leucócitos (Leu.), neutrófilos (Neu.), eosinófilos (Eos.), linfócitos (Linf.), monócitos (Mon.) e bastonetes (Bast.) de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão de Levedura Hidrolisada ao 41º dia do experimento.....	36

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS.....	13
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1.	PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE LEVEDURAS	14
3.2.	MICROBIOTA INTESTINAL.....	17
3.3.	IMUNIDADE OS LEITÕES.....	18
3.4.	β -GLUCANOS	19
3.5.	MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS)	22
3.6.	NUCLEOTÍDEOS	24
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
	APÊNDICE.....	53

1 INTRODUÇÃO

A carne suína é a fonte proteica, de origem animal, mais consumida o mundo, participando com 42,9% do total consumido no mundo, o Brasil, 4º maior produtor mundial de carne suína, aumentou sua produção em 29,83%, entre o ano de 2000 e 2015. Essa variação representou o acréscimo de 1087 mil toneladas (2.556 - 3.643 mil ton.) (Associação Brasileira de Proteína Animal, 2015).

Alguns fatores contribuíram para esse aumento da produção, como a tecnificação do sistema de produção de suínos. Melhorias genéticas e das tecnologias têm proporcionado maior eficiência reprodutiva das matrizes, devido, entre outros fatores, ao aumento do tamanho médio das leitegadas e redução do tempo de amamentação para três semanas.

O desmame por volta dos 21 dias, entretanto, impõe aos leitões uma condição adversa e um conjunto de situações de estresse, inicialmente, com a súbita separação da mãe e uma subsequente formação grupos, normalmente, misturando-se animais de diferentes leitegadas. Estabelece, a partir de então, uma nova hierarquia social, determinada por meio de lutas, além de outras situações como: mudança das condições de alojamento; e mudança da dieta líquida (altamente digestível) para a dieta sólida. A modificação alimentar, no período pós desmama, cria-se para os leitões um novo desafio fisiológico, em função da sua ineficiente capacidade de digerir adequadamente os novos carboidratos e proteínas, contidos na dieta pós-desmame, a base de ingredientes vegetais, na qual predomina milho e farelo de soja.

Esse conjunto de adversidades resulta em baixa ingestão de alimento (LEIBBRANDT, et al., 1975; LE DIVIDICH J.; SEVE B., 2000), comprometimento na integridade da mucosa intestinal (HAMPSON et al., 1986; PLUSKE et al., 1997; SPREEUWENBERG et al., 2001) e predisposição dos leitões a ocorrência de doenças (MORÉS; AMARAL, 2001) no período pós desmame. Assim, é comum nas dietas pré-iniciais e iniciais o uso de aditivos como os antimicrobianos melhoradores de desempenho. Contudo, como há restrições ao uso desses produtos, cresce o interesse nos estudos com aditivos, a exemplo dos β -glucanos que favorecem os mecanismos de resposta imunológica (GOODRIDGE, et al., 2009), dos mananoligossacarídeos que possuem ação prebiótica (SPRING et al., 2000) e dos nucleotídeos que são importantes para a reparação e desenvolvimento de tecidos de

rápido crescimento, como a mucosa intestinal (YAMAMOTO et al., 1997). Além dos aditivos citados, destacam-se as leveduras e a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que é de grande valor industrial e comercial. E, dentre as formas de sua utilização, encontra-se o produto remanescente da fermentação alcoólica, obtido nas destilarias de álcool de cana-de-açúcar (levedura de cana desidratada) ou o produto seco, obtido no processo de produção de cerveja (levedura de cerveja desidratada).

No Brasil, a produção de levedura desidratada de cana vem aumentando, pois, segundo dados da União dos Produtores de Bioenergia (UDOP), a produção de etanol passou de 10.517.535 m³ em 2000/2001 para 28.916.281m³ em 2014/2015 (UDOP, 2015).

Os primeiros trabalhos, realizados no Brasil, utilizando levedura seca na dieta de suínos datam, principalmente, dos anos 80 e tinham como principal objetivo a substituição parcial ou total do farelo de soja, principal fonte proteica utilizada nas dietas (BERTO et al., 1985). Com o passar dos anos, os conhecimentos gerados pelas pesquisas, o desenvolvimento de tecnologias de processamento de levedura e a crescente necessidade de melhorar a eficiência na produção animal, levaram as empresas a desenvolver novos produtos. Um desses, a levedura hidrolisada, cujos constituintes celulares (β -glucanos, mananoligossacarídeos e nucleotídeos) podem ser mais biodisponíveis e melhor aproveitados pelos animais. Entretanto, as pesquisas sobre a avaliação nutricional da levedura hidrolisada para suínos ainda são escassas e os resultados controversos, justificando novos estudos.

2 OBJETIVOS

O objetivo da pesquisa foi avaliar os efeitos da inclusão dietética de levedura hidrolisada (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre o desempenho (consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar), microbiota intestinal e leucograma de leitões desmamados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE LEVEDURAS

As primeiras pesquisas realizadas no Brasil que comprovaram a viabilidade de utilização da levedura desidratada na alimentação de suínos foram realizadas com levedura produzida em destilarias de álcool de cana-de-açúcar (MIYADA et al., 1979, LIMA et al., 1983).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana de açúcar e etanol. Tem, portanto, grande potencial de produção de levedura desidratada. A produção de álcool via processos fermentativos, em sua maioria, baseia-se no Sistema de Melle-Boinot (HORII 1980) ou na fermentação contínua. No segundo caso, a levedura é reciclada por fermentações consecutivas e o excedente é gerado em cada rodada de fermentação (AMORIM et al., 1985).

As leveduras do gênero *Saccharomyces* são utilizadas no processo de fermentação alcoólica na indústria alcooleira e de bebidas. A levedura de recuperação (LR) provém da fermentação anaeróbica do caldo de cana ou do melaço e ao final do processo fermentativo o vinho é centrifugado, originando o leite de levedura. Tal produto, consiste numa suspensão concentrada de leveduras e vinho delevedurado, que é destilado para a produção do álcool (MIYADA, 1987). Uma parte do leite de levedura é submetida ao processo de secagem que pode ser realizada de duas formas: pelo método de rolos rotativos ou pelo processo spray-dry (ZANUTTO et al., 1999).

O leite de levedura é seco pelo contato direto com a superfície dos rolos rotativos que atingem temperatura de até 200°C (LANDELL FILHO et al., 1994). Na secagem pelo processo spray-dry, o leite de levedura passa por um cabeçote atomizador de alta rotação e é liberado numa câmara cilíndrica de secagem por fluxo de ar quente, ocorrendo a rápida perda de umidade e a deposição do produto seco no fundo da câmara (FURCO, 1996). O produto do spray-dry caracteriza-se pela uniformidade de umidade, granulometria, cor e, principalmente, pela preservação de seus aminoácidos (ZANUTTO et al., 1999), em consequência de menor temperatura e tempo de processamento (MOREIRA et al., 2002).

Quando as primeiras pesquisas com levedura desidratada foram realizadas, esta fonte proteica era considerada de baixo valor comercial, contudo, a partir da

comprovação das possibilidades de sua utilização nas dietas de animais, elevou-se o custo da unidade proteica da levedura tornando-se superior ao do farelo de soja. Esta realidade, associada ao aperfeiçoamento das técnicas de recuperação e processamento das leveduras pela indústria, levou os nutricionistas a mudarem o foco das pesquisas, voltando-se a atenção para os seus componentes específicos, como os nucleotídeos, β -glucanos e mananoligossacarídeos.

A parede celular da levedura é formada por três grupos principais de polissacáridos: polímeros de manose (mananoproteínas), polímeros de glicose (β -glucano) e polímeros de N-acetilglucosamina (quitina) (AGUILAR; USCANGA; FRANÇOIS, 2003). A figura 1 representa a parede celular de levedura indicando as camadas de polissacárideos individuais.

Figura 1- Representação da parede celular de levedura

Fonte: (Adaptado de Kogan, 2007).

Os polissacarídeos são uma classe de biopolímeros produzidos por todos os organismos vivos e apresentam diferentes tipos de estruturas químicas, funções fisiológicas e aplicações (ZOHURIAAN; SHOKROLAHI, 2004). Contudo, animais monogástricos não possuem capacidade enzimática para digerir polissacarídeos não amiláceos (BRITO et al., 2008), como os presentes na parede celular das leveduras, impossibilitando assim, o acesso aos seus constituintes intracelulares (HUNTER; ASENJO, 1988).

Visando a nutrição animal, têm-se utilizado formas de tratamento para realizar o rompimento da parede celular das leveduras e melhorar a biodisponibilidade de seus componentes. De acordo com Liu et al. (2016) os métodos para o rompimento da parede celular das leveduras, com objetivo de isolar os compostos bioativos,

podem ser mecânicos (moagem em moinho de esferas, homogeneizador de alta pressão e ultrassom) ou não mecânicos (elétrico, enzimático, físico e químico).

O produto comercial denominado levedura hidrolisada é obtido pelo rompimento celular por enzimas endógenas e exógenas, de modo que a levedura ainda viva, proveniente do processo de fermentação, é enviada a dornas específicas. Devido a temperaturas e pH desfavoráveis nas dornas, são produzidas enzimas endógenas que promovem a autólise e, posteriormente, é adicionado ao meio enzimas exógenas que realizam a quebra dos ácidos nucleicos em nucleotídeos livres e nucleosídeos (ICC, 2016).

Avaliando diferentes níveis de inclusão da levedura hidrolisada (LH) e levedura seca (LS) na dieta de leitões desmamados, Oliveira (2012) não observou diferenças no desempenho e na contagem de colônias de bactérias gram-negativas nas fezes. A suplementação na dieta de matrizes (três dias antes do parto até o desmame dos leitões aos 21 dias) com levedura (0 a 1,20%) também não alterou o consumo de ração e peso corporal das mesmas (VITAGLIANO, 2013). Mas, segundo o autor, no leite houve aumento das concentrações de RNA (aos 11 e 20 dias), de nucleotídeos e nucleosídeos (aos 20 dias), bem como o número e peso de leitões ao desmame; além da menor mortalidade dos lactentes.

Os mananoligossacarídeos, β -glucanos e nucleotídeos, derivados de levedura de cerveja hidrolisada (YD) proporcionaram melhora na resposta imunológica e na conversão alimentar dos leitões, no período de 0 a 28 dias pós desmame (MOLIST et al., 2014). Anteriormente, Jensen et al. (2013), utilizando produto similar nas dietas de leitões, a partir da segunda semana de vida até o desmame ocorrido aos 28 dias e do desmame até 63 dias de idade, observaram melhora na eficiência alimentar dos animais. Constatando ainda que a inclusão de YD na dieta reduziu o risco de ocorrência de diarreia nos leitões desmamados nos períodos pré e pós desmame.

Utilizando inclusões de 0 a 0,04% de produto contendo levedura enzimaticamente hidrolisada e outros carboidratos complexos na dieta de leitões no período pós-desmame, Levesque et al. (2016), não verificaram melhora no desempenho dos animais, tão pouco na reação inflamatória entre as 6 e 24 horas, após injeção intramuscular de ovoalbumina nos dias 27 e 41 após a desmama, testada na orelha dos animais que receberam 0,04% do produto, indicando resposta imunológica positiva.

3.2 MICROBIOTA INTESTINAL

O trato digestório do suíno possui um ecossistema microbiano complexo e dinâmico, o qual varia entre indivíduos, segmentos intestinais e no tempo (KONSTANTINOV et al., 2004).

Logo após o nascimento, as superfícies e mucosas do trato digestório dos leitões que, em condições fetais, são estéreis, rapidamente sofrem colonização por vários microrganismos, que podem ser benéficos ou nocivos (SILVA; NÖRNBERG, 2003), que são adquiridos da flora vaginal da mãe (FULLER, 1989) e do ambiente, constituindo mais tarde, uma relação simbiótica que permanece pelo resto da vida do animal (KAMIMURA, 2006).

Durante a fase de amamentação, não há necessidade de grande quantidade de ácido clorídrico, pois o leitão consome pequena quantidade de leite, altamente digestível, várias vezes ao dia o qual apresenta alto teor de lactose e favorece o crescimento de bactérias chamadas lactobacilos, que diminuem naturalmente o pH, pela produção de ácido láctico. Após o desmame, o animal tem dificuldade em manter baixo o pH do estômago para a satisfatória produção de pepsina, isso ocorre pela diminuição do substrato lactose e por conseguinte diminuição da flora de lactobacilos, e pela demora no desenvolvimento de produção suficiente de ácido clorídrico (ROPPA, 1998) o que eleva o pH estomacal e favorece a proliferação de microrganismos patogênicos como a *Escherichia coli* e a *Salmonella* spp o que pode agravar a incidência de diarreias (BRAZ, 2007).

As variedades, as quantidades e a distribuição das bactérias no trato gastrintestinal são sensíveis a variações mínimas do estado fisiológico do animal (mudanças no pH, secreções enzimáticas e secreções biliares), a interações microbianas (sinergismo e antagonismo) e à composição da dieta (HOLZAPFEL et al., 1998).

Essa microbiota é composta por várias espécies bacterianas, responsáveis por influenciar decisivamente fatores microbiológicos, imunológicos, fisiológicos e bioquímicos no hospedeiro. (BAUER et al., 2006a)

O conhecimento da composição e da função das comunidades microbianas e da atividade de determinadas espécies dentro deste ecossistema é necessário para o desenvolvimento de alternativas racionais aos antibióticos nas dietas (KONSTANTINOV et al., 2004).

3.3 IMUNIDADE DOS LEITÕES

O sistema imune é o encarregado pela elaboração da resposta imunológica, composta por mecanismos de defesa específicos e inespecíficos, que objetivam atacar o agente agressor, seja ele vírus, bactéria, fungo, protozoário, toxinas ou qualquer outra substância imunogênica. É um sistema apto a identificar e distinguir o estímulo ao qual é sujeito, diferenciando estruturas próprias das de agentes estranhos. Após reconhecer os invasores, o sistema imune tenta neutralizar os efeitos prejudiciais das moléculas isoladas e destruir os microrganismos (TIZARD, 2008).

Os fetos suínos estão muito bem protegidos da estimulação antigênica externa, em função da característica epitélio-corial da placenta materna, na qual seis camadas de tecidos separam a circulação materna da fetal. Essa barreira física de proteção, contudo, impede a passagem de imunoglobulinas da mãe para os fetos via placenta; assim, o leitão nasce imunologicamente despreparado e é dependente da obtenção de imunidade passiva transferida pela mãe, via colostro.

O desenvolvimento e as transformações que ocorrem no intestino de recém-nascidos influenciam a capacidade de absorção de imunoglobulinas, alcançando o máximo entre 24 e 36 horas após o parto, mas declina rapidamente após esse período devido ao “fechamento do intestino” (GASKINS, 1998), por esta razão, o leitão apresenta, em torno da terceira ou quarta semana de vida, um período de imunidade passiva baixa, associado a capacidade relativamente pequena de produção endógena de anticorpos (ESTEVES; MACHADO NETO; MIYADA, 1996), pois o sistema imune ativo somente irá conferir grau satisfatório de proteção por volta de 35 dias de idade (BROWN et al., 1961).

A ativação dos mecanismos de resposta imune determina a demanda por nutrientes que, ao invés de serem direcionados para o crescimento dos leitões, são redirecionados para auxiliar a resposta do sistema imune do hospedeiro contra agentes patogênicos (JOHNSON et al., 2001). O desafio sanitário ativa a resposta inflamatória que, por sua vez, aumenta a necessidade de energia e de nutrientes específicos para a síntese dos constituintes de defesa (BARACOS et al., 1987) e, simultaneamente, reduz a ingestão de alimento comprometendo o desempenho animal (JOHNSON, 1997).

Em condições experimentais, em algumas situações, é de interesse promover estímulo do sistema imunológico dos suínos, e com esse propósito, têm sido utilizado meios de desafiar o sistema imunológico de leitões, tais como: inoculação oral com *Escherichia coli* enterotoxigênica e *Salmonella typhimurium*, exposição dos animais a ambiente com elevado nível de desafio sanitário e aplicação de solução de lipopolissacarídeo de parede celular de bactérias (LPS) (ADEWOLE, et al., 2016).

O LPS é uma molécula presente na superfície externa de todas as bactérias gram-negativas e pode ser utilizada como imunomodulador (CHAPMAN et al., 2005). O desafio com lipopolissacarídeo é indicado para induzir sintomas de infecção bacteriana aguda e estresse imunológico em animais de laboratório (ADEWOLE, et al., 2016). O desafio imunológico pode resultar em uma série de mudanças fisiológicas, tais como aumento da temperatura corporal, redução do consumo de alimento, alteração na concentração plasmática de proteína de fase aguda, ativação do sistema imunológico e do eixo hipotálamo-adrenal e inibição de o eixo somatotrófico (JOHNSON, 1997). Os efeitos de LPS são devido à sua capacidade de estimular macrófagos para sintetizar e secretar citocinas pró-inflamatórias (JOHNSON; VON BORREL, 1994).

3.4 β -GLUCANOS

β -glucanos são polissacáridos constituídos por monômeros de glicose que podem ser produzidos por muitos organismos procarióticos e eucarióticos. Este grupo de compostos possui várias propriedades benéficas e por isso apresenta grande variedade de uso em humanos e em medicina veterinária. Fazem parte de produtos farmacêuticos, cosméticos e utilizados nas indústrias químicas e de alimentos (ZEKOVIĆ et al., 2005). São comumente encontrados em: leveduras de destilação de álcool e panificação, em certos cogumelos, fungos, algas e na parede celular do endosperma de alguns cereais, como a cevada e a aveia. β -glucanos obtidos a partir de várias fontes têm estrutura similar, mas pequenas diferenças na estrutura podem influenciar a sua atividade biológica (PETRAVIĆ-TOMINAC, 2010).

Em *Saccharomyces cerevisiae*, os β -glucanos são constituídos por um esqueleto linear central de unidades de glicose ligadas na posição $\beta(1-3)$ e por cadeias laterais de glicose unidas em $\beta(1-6)$ (Figura 2), que ocorrem em diferentes intervalos e têm tamanhos variados (MAGNANI et al., 2008; VOLMAN et al., 2008).

Quase 75% do peso seco da parede da célula de levedura é constituída por β -glucanos e quitina, enquanto o componente amorfo da matriz, bem como a camada fibrilar localizada na superfície da parede celular da levedura, consiste de mananoproteínas (KOGAN, 2007).

Vários fatores físico-químicos, tais como sua estrutura primária, conformação, carga de polímeros, solubilidade e a dimensão das partículas são importantes para a atividade biológica dos β -glucanos (TZIANABOS, 2000; HUNTER et al., 2002). Acredita-se que a atividade biológica mais importante dos β -glucanos seja sua capacidade para estimular o sistema imune, uma vez que muitos dos seus outros efeitos estão relacionados com esta atividade (BOHN; BEMILLER, 1995).

Figura 2- Estrutura básica dos β -glucanos da parede celular de leveduras

Os β -glucanos são considerados como modificadores da resposta biológica, pois, ao serem reconhecidos pelo organismo desencadeiam diferentes respostas imunes. Em vertebrados o reconhecimento dos β -glucanos ocorre graças a receptores específicos da superfície celular, em seguida, o sistema imune é estimulado (MAGNANI et al., 2008). Tais receptores foram identificadas em ambas as células imunitárias e não imunitárias, incluindo monócitos, macrófagos, neutrófilos e células de Langerhans, eosinófilos, células natural killer (NK), células endoteliais, células epiteliais alveolares e fibroblastos (BROWN; GORDON, 2003).

Os β -glucanos, portanto, ao invés de atacar o agente nocivo, favorecem os mecanismos de defesa do animal aos invasores causadores de doenças, o que é vantajoso, comparando-se com a abordagem tradicional de usar terapias sintéticas ou semissintéticas. Além disso, não são tóxicos para as células do organismo animal e sua ação protetora pode envolver mecanismos diferentes, como estimulação de células T, aumento no número de macrófagos e na liberação de citocinas,

estimulação do retículo endotelial (RES), ativação de células natural killers, ativação das vias clássica e alternativa do complemento e aumento da produção de anticorpos (KOGAN, 2000).

A ativação do sistema de complemento e estimulação do retículo endotelial, após a administração de β -glucanos, aumenta a resistência e proteção do animal contra várias infecções de origem bacteriana, viral, fungica, e parasitária. Em alguns casos, a administração de β -glucanos antes da infecção coincidiu com a menor mortalidade dos animais experimentais, enquanto a aplicação pós-infecção teve efeito terapêutico (KOGAN, 2000). A administração oral de β -glucano em leitões ativa as células brancas do sangue (macrófagos, granulócitos e monócitos) responsáveis pela defesa contra infecções, e auxilia na reparação de tecidos danificados no corpo (RICE et al., 2002).

Todas as células envolvidas em reações imunes originam-se a partir de precursores comuns que são provenientes de células da medula óssea (KOUGIAS et al., 2001; RICE et al., 2002). Assim, os β -glucanos estimulam a produção de células precursoras na medula óssea, resultando num fluxo de novos imunócitos na corrente sanguínea para os vários órgãos linfóides por todo o corpo. O aumento da quantidade de imunócitos em circulação confere maior proteção contra possíveis invasores.

Três experimentos foram conduzidos por Li et al. (2006) envolvendo 204 leitões, para investigar os efeitos da suplementação de níveis de β -glucano (0, 25, 50, 100, ou 200 ppm) no desempenho, (0 ou 50 ppm) na proliferação de linfócitos em resposta à fitohemaglutinina e concanavalina, (0 ou 50 ppm) nos níveis de interleucina e fator de necrose tumoral de leitões desafiados com lipopolissacarídeos de parede celular de bactérias (LPS). Concluíram que os β -glucanos podem melhorar o desempenho e a função imunológica em leitões desmamados.

Ao avaliarem os efeitos de β -1,3 e de β -1,6 glucano (0 a 200 mg/kg de dieta) no desempenho, resposta imune e endócrina de leitões recém-desmamados, Wang et al. (2008) verificam que os animais alimentados com 50 mg/kg do produto tiveram melhor desempenho, comparados àqueles dos demais tratamentos. Também constataram que os níveis crescentes de β -glucanos na dieta propiciaram, nos primeiros 14 dias do experimento, aumento linear na proliferação de linfócitos e na concentração sérica de IgG e diminuição linear no nível de prostaglandina plasmática. A seguir, Mendes et al. (2010), utilizaram níveis crescentes de β -

glucano (60 a 240 ppm) em dietas ofertadas a 1500 leitões desmamados aos 21 dias e observaram aumento do ganho de peso até os 60 dias de idade. Contudo, não observaram efeitos dos tratamentos na conversão alimentar, atividade da enzima superóxido dismutase e na resposta imune. Ao incluírem 250 ppm de β -glucano na dieta de leitões, Dritz et al. (2011) observaram maior ganho de peso e consumo de ração, comparado àqueles alimentados com a dieta sem a inclusão, sem o correspondente efeito na eficiência alimentar. Na avaliação das respostas imunológicas dos animais (neutrófilos, macrófagos), na produção da haptoglobina, e na resistência ao desafio de *Streptococcus suis*, não houve diferenças significativas. Quando se eleva, ainda mais (até 280 ppm) a concentração de β -glucanos da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de leitões desmamados, Ledur et al. (2012) não observaram efeito no desempenho. Porém, no maior nível de inclusão, após 14 dias, constatou-se efeito anti-inflamatório em situação de desafio agudo com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* sorotipo 055: B5.

Focando as condições da microbiota, Sweeney et al. (2012) incluíram 250 ppm de β -glucano, derivado de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, na dieta de leitões desmamados e verificaram a redução da população das enterobactérias. Todavia, sem influencia sobre as populações de Lactobacilos e bifidobactérias no íleo e cólon, bem como de marcadores pró-inflamatórios no cólon.

Estudos realizados por Saleh et al. (2014) utilizando β -glucano (0 ou 300 ppm), originários da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, não verificou efeitos significativos da inclusão sobre o desempenho, características morfologia intestinal e parâmetros sanguíneos de leitões imunologicamente desafiados desmamados aos 21 dias.

3.5 MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS)

Os oligossacarídeos são carboidratos, compostos por três a dez moléculas de açúcares simples ligadas entre si (SILVA, 2000a; ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005; JUNQUEIRA; DUARTE, 2005). São exemplos de oligossacarídeos os MOS, que são carboidratos complexos contendo α -D-manose (BALLOU, 1977; LIPKE; OVALLE, 1998). Podem ser obtidos de fontes naturais, derivados de plantas como chicória, alcachofra, alho, dália, confrei e cereais ou, podem ser extraídos da parede celular de leveduras, que é constituída de proteína e dos carboidratos glucose e manose,

em proporções semelhantes (SPRING et al., 2000). Pertencem à classe de aditivos zootécnicos conhecidos como prebióticos, pois são ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente o crescimento e atividade de bactérias do cólon, melhorando a saúde dos animais (GIBSON; ROBERFROID, 1995; COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2013). Sua ação prebiótica é atribuída ao bloqueio competitivo das lectinas bacterianas, inibindo a adesão dos agentes patogênicos na superfície do epitélio do intestino, uma vez que as fímbrias da superfície bacteriana reconhecem e se ligam aos MOS (SPRING et al., 2000; MORAN, 2004, YANG et al., 2009), sendo eliminadas do organismo pelas fezes.

Os resultados de estudos sugerem que a suplementação dietética de MOS pode reduzir o número de bactérias nocivas no intestino (CASTILLO et al., 2008), melhorar o desempenho de leitões (PETTIGREW, 2000), digestibilidade dos nutrientes e incidência de diarreia (ZHAO et al., 2012). Na ausência de antibióticos e nível farmacológico de zinco na dieta, LeMieux et al. (2003) concluíram que a adição de MOS melhorou o desempenho dos leitões do 8º ao 20º dia do período de creche.

A inconsistência dos resultados das pesquisas com a adição de MOS nas dietas de leitões podem ser atribuídas às diferentes concentrações dos produtos, como consequência do seu processo de obtenção, às condições de alojamento e de saúde dos animais (maior ou menor desafio sanitário) e ao nível de inclusão testado. Avaliando efeitos de probióticos, MOS e extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores do crescimento, na microbiota intestinal, ocorrência de diarreia e o desempenho de leitões desmamados, Utiyama et al. (2006) constataram que apenas o prebiótico proporcionou maior consumo de ração e ganho de peso nos primeiros 14 dias do período experimental. Contudo, essa resposta favorável se equivaliu ao tratamento com antimicrobianos (bacitracina de zinco e olanquinox). Silva et al. (2012) também não observaram efeitos da inclusão de MOS no desempenho e na resposta imunológica dos leitões em fase de creche.

3.6 NUCLEOTÍDEOS

Os nucleotídeos são compostos por uma base nitrogenada (purina ou pirimidina), um açúcar (em geral uma pentose: ribose para o RNA ou 2'-desoxiribose para o DNA) e um ou mais grupos fosfatos (Figura 3). As principais bases púricas são a adenina (6-aminopurina) e a guanina (2-amino-6-oxipurina), e as principais bases pirimídicas são a citosina (2-oxi-4-aminopirimidina), a uracila (2,4-dioxipirimidina) e a timina (2,4-dioxi-5-metilpirimidina) (Figura 4) (LEHNINGER et al., 1995; NELSON e COX, 2011). Quando o grupo fosfato está ausente, o composto é conhecido como nucleosídeo, sendo formado pela combinação da pentose e uma base nitrogenada, por meio de ligações glicosídicas (RIEGEL, 2002).

Figura 3- Estrutura básica de um nucleotídeo

Fonte: (Adaptado de LEHNINGER et al., 1995).

Figura 4- Fórmula Estrutural das bases nitrogenadas

Fonte: (Adaptado de LEHNINGER et al., 1995).

Nucleotídeos são encontrados principalmente em alimentos ricos em proteínas (CARVER; WALKER, 1995) como órgãos de animais, aves e frutos do mar (BARNESS, 1994). Fontes de levedura, como extrato de levedura de cerveja ou de panificação, são ingredientes que também apresentam concentrações relativamente elevadas de nucleotídeos (TIBBETTS, 2002). Geralmente, alimentos ou ingredientes alimentares que contenham elementos celulares são potenciais fontes alimentares de nucleotídeos na forma de nucleoproteínas, contudo, os ingredientes comumente utilizados nas dietas dos animais não são rotineiramente analisados quanto ao teor de nucleotídeos (SAUER, 2012).

Para que os nucleotídeos se tornem disponíveis, é necessário que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* seja submetida a tratamento para que haja rompimento da parede celular, por ação de enzimas endógenas (proteases e nucleases) e exógenas, disponibilizando ao máximo, o conteúdo citoplasmático (SILVA, 2003).

Organismos vivos, incluindo os seres humanos, podem sintetizar quantidades adequadas de nucleotídeos, necessários para o crescimento e desenvolvimento normais. No entanto, alguns tecidos como: mucosa intestinal; medula óssea; células hematopoiéticas; e cérebro têm capacidade limitada para a síntese “de novo” e dependem da via de salvamento (YAMAMOTO et al., 1997). As vias de salvamento são processos bioquímicos de reciclagem das bases nitrogenadas, utilizadas na composição dos nucleotídeos e dos ácidos nucleicos. Essa via é extremamente importante para tecidos e órgãos cuja síntese de nucleotídeos é deficiente, sendo assim, necessária à suplementação dos nucleotídeos nas dietas (ROSSI et al., 2007).

Os nucleotídeos podem ser considerados condicionalmente essenciais, pois tecidos de rápido crescimento, como as células do epitélio intestinal e linfóides, não têm capacidade significativa para a síntese “de novo” de nucleotídeos e necessitam de fontes exógenas de purina, pirimidina e nucleosídeos que podem ser utilizados, imediatamente, por meio da via de salvamento (UAUY et al., 1994).

Em experimento realizado por Abreu et al. (2010), foi avaliado o efeito da inclusão nas dietas de glutamina (1,0%), nucleotídeos (produto comercial de nucleotídeos, 1,0%) e plasma sanguíneo (2,0 ou 4,0%) sobre o desempenho, morfologia intestinal e resposta imune de leitões desmamados aos 21 dias de idade. Os animais que receberam glutamina, plasma sanguíneo, ou plasma sanguíneo combinado a nucleotídeos, apresentaram a melhor conversão alimentar durante todo

o período experimental, contudo, o ganho de peso, a altura média de vilosidades, a profundidade média de criptas e a população de leucócitos e linfócitos, não foram influenciados pelas dietas.

Andrade et al. (2011) avaliaram os efeitos da adição de levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos em dietas para leitões recém desmamados, sobre o desempenho, morfometria de órgãos e histologia do epitélio intestinal. As dietas foram: Am (antimicrobiano) –dieta basal com inclusão de 40 ppm de sulfato de colistina e dieta basal contendo 0, 150, 300, 450 e 600 ppm de nucleotídeos. No período de 1 a 14 dias de experimentação, houve piora linear das características de desempenho e, no período total de 34 dias, redução linear do peso final dos animais com o aumento dos níveis de nucleotídeos na dieta. Foram observados, também, aumento linear no peso relativo do baço e na relação altura de vilosidade: profundidade de cripta (AV:PC) e redução linear da profundidade de cripta no duodeno dos animais com a adição de nucleotídeos na dieta. Assim, embora não tenha promovido melhora no desempenho, a adição de até 600 ppm de nucleotídeos em dietas complexas melhora a morfometria de órgãos e a histologia do epitélio intestinal de leitões recém-desmamados.

Santos (2015) estudou os efeitos da utilização de 0,1% de nucleotídeos (guanilato e inosinato dissódico com 98% de pureza) na dieta de leitões desmamados com idade média de 21 dias, e não constatarem efeitos no desempenho, no perfil lipídico plasmático e no *turnover* do ^{13}C na mucosa do duodeno e jejuno dos animais, contudo, Miassi (2016), trabalhando com a mesma fonte de nucleotídeos nos níveis de 0,0; 0,2; 0,4 ou 0,6% nas dietas pré-iniciais e iniciais de leitões, verificou efeito quadrático no ganho de peso diário durante todo período experimental (21 aos 55 dias de idade dos leitões), sendo o ponto de máximo da equação obtido com 0,30%, além disso também observou que a adição de nucleotídeos também acelerou o *turnover* do carbono da parede e da mucosa intestinal, sugerindo sua recuperação mais rápida no período pós-desmame.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 96 leitões recém-desmamados, híbridos comerciais com idade média de 21 dias e peso inicial médio de 6,00 kg ($\pm 0,3$ kg), distribuídos em um delineamento de blocos ao acaso (oito repetições) para receberem quatro dietas

experimentais, durante 40 dias. Os critérios para a formação dos blocos foi o peso inicial e sexo.

Os leitões foram alojados em baias metálicas de creche suspensas com 1,70m², equipadas com comedouro, bebedouro do tipo chupeta e campânula com resistência elétrica para aquecimento. Durante o período experimental, os animais receberam ração e água à vontade e a temperatura do ar do galpão foi controlada e registrada, sendo as médias das temperaturas mínimas e máximas no período de 18°C e 25°C ($\pm 2,17^{\circ}\text{C}$, $\pm 1,54^{\circ}\text{C}$) (Apêndice A).

A unidade experimental foi constituída por três animais e as dietas (D) pré-iniciais e inicial avaliadas foram: D1- sem adição de levedura hidrolisada (LH), D2- com adição de 0,3% de LH, D3- com adição de 0,6% de LH e D4- com adição de 0,9% de LH.

Na formulação das dietas foi considerada a seguinte composição média da LH: matéria seca 95%, proteína bruta 41%, extrato etéreo 2,5%, matéria mineral 7,00%, fibra bruta 1,40%, cálcio 0,17%, fosforo total 0,56%, fosforo disponível 0,19%, isoleucina digestível 2,14%, lisina digestível 3,135, metionina digestível 0,76%, treonina digestível 2,10%, triptofano digestível 0,40%, valina digestível 2,22%, aminoácidos sulfurados digestíveis 1,03%, energia metabolizável 3240 kcal/kg.

O programa de alimentação adotado foi o seguinte: Dietas pré-inicial 1, pré-inicial 2 e inicial dos 21 aos 35 dias, dos 36 aos 49 dias e dos 50 aos 61 dias de idade dos leitões, respectivamente. Na formulação das dietas experimentais (Tabelas 1, 2 e 3) procurou-se atender as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011).

Tabela 1- Composições percentuais e níveis nutricionais das rações pré-iniciais 1 (21 aos 35 dias)

	Nível de levedura hidrolisada - %			
	0,0	0,3	0,6	0,9
Milho	51,745	51,745	51,745	51,745
Farelo soja 45%	20,000	19,700	19,400	19,100
CPS 60% ¹	3,000	3,000	3,000	3,000
Soro de leite	3,300	3,300	3,300	3,300
Concentrado lácteo ²	3,000	3,000	3,000	3,000
Açúcar	4,000	4,000	4,000	4,000
Maltodextrina	4,000	4,000	4,000	4,000
Óleo de soja	2,500	2,500	2,500	2,500
Farelo glúten 60%	2,500	2,500	2,500	2,500
Calcário	0,820	0,820	0,820	0,820
Fosfato bicálcico	1,680	1,680	1,680	1,680
Cloreto de sódio	0,500	0,500	0,500	0,500
L-Lisina HCl 78%	0,870	0,870	0,870	0,870
DL-Metionina 99%	0,300	0,300	0,300	0,300
L-Treonina 98%	0,340	0,340	0,340	0,340
L-Triptofano 98%	0,080	0,080	0,080	0,080
L-Isoleucina 99%	0,140	0,140	0,140	0,140
L-Valina 99%	0,270	0,270	0,270	0,270
Óxido de Zinco 76%	0,340	0,340	0,340	0,340
Tiamulina 10%	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto colina 60%	0,090	0,090	0,090	0,090
Adsorvente ³	0,250	0,250	0,250	0,250
BHT	0,015	0,015	0,015	0,015
Premix mineral ⁴	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix vitamínico ⁵	0,150	0,150	0,150	0,150
Levedura Hidrolisada	0,000	0,300	0,600	0,900
TOTAL	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis nutricionais calculados				
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3385	3385	3385	3385
Proteína Bruta (%)	18,54	18,54	18,54	18,54
Cálcio (%)	0,82	0,82	0,82	0,82
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45
Lisina digestível (%)	1,45	1,45	1,45	1,45
Metionina digestível (%)	0,55	0,55	0,55	0,55
Treonina digestível (%)	0,91	0,91	0,91	0,91
Triptofano digestível (%)	0,25	0,25	0,25	0,25
AAS digestível (%) ⁶	0,81	0,81	0,81	0,81
Isoleucina digestível (%)	0,80	0,80	0,80	0,80
Valina digestível (%)	1,00	1,00	1,00	1,00

¹ Concentrado proteico de soja;² Informação nutricional (%): Proteína Bruta 4,0, Estrato etéreo 1,5, Lactose 73,0, Fibra Bruta 0,01, Cálcio 0,88, Fósforo 1,05, Aminoácidos digestíveis: Lisina 0,22, Treonina 0,12, Triptofano 0,04, Cistina 0,21, Metionina 0,07, Arginina 0,06, Histidina 0,05, Glicina 0,07, Fenilalanina 0,07, Tirosina 0,08, Leucina 0,21, Isoleucina 0,12, Valina 0,11, Glutamina 0,40, Serina 0,08, Alanina 0,10 e Energia Metabolizável 3202 kcal/kg;³ Produto comercial: Notox®⁴ Premix mineral fornecendo por kg de ração: 100 mg de Ferro, 10 mg de Cobre, 30 mg de Selênio, 40 mg de Manganês, 100 mg de Zinco, 1 mg de Cobalto, 1,5 mg de Iodo;⁵ Premix vitamínico fornecendo por kg de ração: 9000 UI de vitamina A, 2250 UI de vitamina D₃, 22,5 mg de vitamina E, 22,5 mg de vitamina K₃, 2,03 mg de vitamina B₁, 6 mg de vitamina B₂, 3 mg de vitamina B₆, 30 µg de vitamina B₁₂, 0,9 mg de ácido fólico, 14,03 mg de ácido pantotênico, 30 mg de niacina, 0,12 mg de biotina, 400 mg de colina;⁶ Aminoácidos sulfurados

Tabela 2- Composições percentuais e níveis nutricionais das rações pré-iniciais 2 (36 aos 49 dias)

	Níveis de levedura hidrolisada			
	0,0%	0,3%	0,6%	0,9%
Milho	55,675	55,675	55,675	55,675
Farelo soja 45%	24,000	23,700	23,400	23,100
CPS 60% ¹	2,500	2,500	2,500	2,500
Soro de leite	2,000	2,000	2,000	2,000
Concentrado lácteo ²	1,000	1,000	1,000	1,000
Açúcar	3,000	3,000	3,000	3,000
Maltodextrina	2,000	2,000	2,000	2,000
Óleo de soja	2,800	2,800	2,800	2,800
Farelo glúten 60%	2,000	2,000	2,000	2,000
Calcário	0,880	0,880	0,880	0,880
Fosfato bicalcico	1,560	1,560	1,560	1,560
Cloreto de sódio	0,500	0,500	0,500	0,500
L-Lisina HCl 78%	0,630	0,630	0,630	0,630
DL-Metionina 99%	0,210	0,210	0,210	0,210
L-Treonina 98%	0,220	0,220	0,220	0,220
L-Triptofano 98%	0,050	0,050	0,050	0,050
L-Isoleucina 99%	0,020	0,020	0,020	0,020
L-Valina 99%	0,140	0,140	0,140	0,140
Óxido de Zinco 76%	0,200	0,200	0,200	0,200
Tiamulina 10%	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto colina 60%	0,090	0,090	0,090	0,090
Adsorvente ³	0,250	0,250	0,250	0,250
BHT	0,015	0,015	0,015	0,015
Premix mineral ⁴	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix vitamínico ⁵	0,150	0,150	0,150	0,150
Levedura Hidrolisada	0,000	0,300	0,600	0,900
TOTAL	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis nutricionais calculados				
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3365	3365	3365	3365
Proteína Bruta (%)	19,24	19,24	19,24	19,24
Cálcio (%)	0,80	0,80	0,80	0,80
Fósforo disponível (%)	0,41	0,41	0,41	0,41
Lisina digestível (%)	1,33	1,33	1,33	1,33
Metionina digestível (%)	0,47	0,47	0,47	0,47
Treonina digestível (%)	0,84	0,84	0,84	0,84
Triptofano digestível (%)	0,24	0,24	0,24	0,24
AAS digestível (%) ⁶	0,75	0,75	0,75	0,75
Isoleucina digestível (%)	0,73	0,73	0,73	0,73
Valina digestível (%)	0,92	0,92	0,92	0,92

¹ Concentrado proteico de soja;² Informações nutricionais (%): Proteína Bruta 4,0, Estrato etéreo 1,5, Lactose 73,0, Fibra Bruta 0,01, Cálcio 0,88, Fósforo 1,05, Aminoácidos digestíveis: Lisina 0,22, Treonina 0,12, Triptofano 0,04, Cistina 0,21, Metionina 0,07, Arginina 0,06, Histidina 0,05, Glicina 0,07, Fenilalanina 0,07, Tirosina 0,08, Leucina 0,21, Isoleucina 0,12, Valina 0,11, Glutamina 0,40, Serina 0,08, Alanina 0,10 e Energia Metabolizável 3202 kcal/kg;³ Produto comercial: Notox®⁴ Premix mineral fornecendo por kg de ração: 100 mg de Ferro, 10 mg de Cobre, 30 mg de Selênio, 40 mg de Manganês, 100 mg de Zinco, 1 mg de Cobalto, 1,5 mg de Iodo;⁵ Premix vitamínico fornecendo por kg de ração: 9000 UI de vitamina A, 2250 UI de vitamina D₃, 22,5 mg de vitamina E, 22,5 mg de vitamina K₃, 2,03 mg de vitamina B₁, 6 mg de vitamina B₂, 3 mg de vitamina B₆, 30 µg de vitamina B₁₂, 0,9 mg de ácido fólico, 14,03 mg de ácido pantotênico, 30 mg de niacina, 0,12 mg de biotina, 400 mg de colina;⁶ Aminoácidos sulfurados

Tabela 3- Composições percentuais e níveis nutricionais das rações iniciais (50 aos 61 dias)

	Níveis de levedura hidrolisada - %			
	0,0	0,3	0,6	0,9
Milho	63,565	63,565	63,565	63,565
Farelo soja 45%	29,000	28,700	28,400	28,100
Óleo de soja	2,310	2,310	2,310	2,310
Farelo glúten 60%	1,000	1,000	1,000	1,000
Calcário	0,860	0,860	0,860	0,860
Fosfato bicálcico	1,520	1,520	1,520	1,520
Cloreto de sódio	0,500	0,500	0,500	0,500
L-Lisina HCl 78%	0,400	0,400	0,400	0,400
DL-Metionina 99%	0,110	0,110	0,110	0,110
L-Treonina 98%	0,110	0,110	0,110	0,110
L-Triptofano 98%	0,010	0,010	0,010	0,010
Tiamulina 10%	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto colina 60%	0,090	0,090	0,090	0,090
Adsorvente ¹	0,250	0,250	0,250	0,250
BHT	0,015	0,015	0,015	0,015
Premix mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix vitamínico ³	0,150	0,150	0,150	0,150
Levedura Hidrolisada	0,000	0,300	0,600	0,900
TOTAL	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis nutricionais calculados				
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3290	3290	3290	3290
Proteína Bruta (%)	19,20	19,20	19,20	19,20
Cálcio (%)	0,77	0,77	0,77	0,77
Fósforo disponível (%)	0,38	0,38	0,38	0,38
Lisina digestível (%)	1,17	1,17	1,17	1,17
Metionina digestível (%)	0,37	0,37	0,37	0,37
Treonina digestível (%)	0,74	0,74	0,74	0,74
Triptofano digestível (%)	0,21	0,21	0,21	0,21
AAS digestível (%) ⁴	0,65	0,65	0,65	0,65
Isoleucina digestível (%)	0,72	0,72	0,72	0,72
Valina digestível (%)	0,80	0,80	0,80	0,80

¹ Produto comercial: Notox®

² Premix mineral fornecendo por kg de ração: 100 mg de Ferro, 10 mg de Cobre, 30 mg de Selênio, 40 mg de Manganês, 100 mg de Zinco, 1 mg de Cobalto, 1,5 mg de Iodo;

³ Premix vitamínico fornecendo por kg de ração: 9000 UI de vitamina A, 2250 UI de vitamina D₃, 22,5 mg de vitamina E, 22,5 mg de vitamina K₃, 2,03 mg de vitamina B₁, 6 mg de vitamina B₂, 3 mg de vitamina B₆, 30 µg de vitamina B₁₂, 0,9 mg de ácido fólico, 14,03 mg de ácido pantotênico, 30 mg de niacina, 0,12 mg de biotina, 400 mg de colina;

⁴ Aminoácidos sulfurados

O desempenho (consumo médio diário de ração, ganho médio diário de peso e conversão alimentar) foi avaliado a partir da pesagem dos animais no início e no final de cada uma das fases, da ração fornecida e das sobras de ração. Também foi realizada colheita de sangue e abate de leitões.

O abate, para isolamento e retirada do ceco, foi realizado no 40º dia do experimento, quatro dias após a última pesagem da avaliação do desempenho. Em seis dos oito blocos foi abatido um leitão com peso médio mais próximo do peso médio da baia, totalizando 24 leitões, para determinação das contagens de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Lactobacillus* spp no conteúdo do ceco.

No dia seguinte ao abate, dos leitões restantes em cada uma das baias, foi realizado sorteio de um animal que recebeu injeção intramuscular de 80 µg/kg de peso vivo de lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular de *Escherichia coli*, sorotipo 055: B5 (SIGMA ALDRICH L2880, St. Louis, MO) dissolvidos em 1 ml de solução salina (PBS) a 0,01 M e pH 7,4. Antes da aplicação da solução de LPS e no intervalo de duas a três horas após a aplicação foram efetuadas colheitas de sangue por meio do sistema a vácuo (tubos de 5 ml) usando agulhas de 40x9 mm, para determinar a contagem total e diferencial de leucócitos num total de 32 leitões.

Para todas as variáveis estudadas foram efetuadas análises de regressão considerando quatro tratamentos (inclusão de 0,0%; 0,30%; 0,60% e de 0,90% de levedura hidrolisada nas dietas). Para estudo de desempenho utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso com oito repetições e três animais por unidade experimental. No estudo de contagens de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Lactobacillus* spp no conteúdo do ceco foi considerado o delineamento experimental de blocos ao acaso com seis repetições e um animal por unidade experimental, sendo que os valores de contagem microbiológica UFC/g foram transformados para Log₁₀, ambos usando o PROCGLM do SAS (2001). No estudo da contagem total e diferencial de leucócitos foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso com medidas repetidas no tempo (dois momentos de colheita de sangue: antes e duas a três horas após aplicação de solução de LPS), oito repetições e um animal por unidade experimental, utilizando-se o PROC MIXED do SAS (2001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observados efeitos da inclusão de LH ($P>0,05$) no consumo diário de ração em nenhum dos períodos estudados, bem como na conversão alimentar nos períodos de 0 a 26 e de 0 a 36 dias (Tabela 4).

Tabela 4- Valores médios de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão de Levedura Hidrolisada

Período	Variável	% de Levedura Hidrolisada				Efeito	CV (%)
		0,0	0,3	0,6	0,9		
0 a 15 dias	CDR (g)	359	353	375	373	NS	8,87
	GDP (g)	268	279	296	273	Q ¹	7,05
	CA	1,35	1,27	1,27	1,37	Q ²	6,62
0 a 26 dias	CDR (g)	590	616	615	582	NS	7,98
	GDP (g)	384	412	412	379	Q ³	6,15
	CA	1,54	1,49	1,49	1,53	NS	5,46
0 a 36 dias	CDR (g)	736	766	764	716	NS	8,30
	GDP (g)	449	476	476	440	Q ⁴	6,12
	CA	1,64	1,61	1,60	1,62	NS	4,21

¹- Efeito Quadrático (P=0,0237); ²- Efeito Quadrático (P=0,0086); ³- Efeito Quadrático (P=0,0020); ⁴- Efeito Quadrático (P=0,0052); ⁵- NS= Não significativo (P>0,05).

A análise de regressão mostrou efeito quadrático dos níveis de LH no GDP ($y = 0,2652 + 0,0958x - 0,0941x^2$) e na CA ($y = 1,3480 - 0,4247x + 0,4948x^2$) no período de 0 a 15 dias e no GDP nos períodos de 0 a 26 dias ($y = 0,3841 + 0,1465x - 0,1688x^2$) e de 0 a 36 dias ($y = 0,4489 + 0,1460x - 0,1726x^2$) (Tabela 4), indicando que o nível de inclusão de LH nas rações deve ser entre 0,40 e 0,50%.

Os níveis recomendados para inclusão de LH, calculados com base nas equações de regressão no presente estudo, são superiores aos sugeridos por Bael e Roxas (2013) e Molist et al. (2014), que foram de, respectivamente, 0,30 e 0,20% LH de cervejaria nas dietas de leitões desmamados. Ainda que os autores tenham estudado outra fonte de levedura, a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é a mais utilizada nos processos fermentativos nas destilarias de álcool de cana-de-açúcar e nas cervejarias.

As leveduras são reconhecidas como fontes ricas em nucleotídeos (NU), β -glucanos (β -GL) e mananoligossacarídeos (MOS) (LIPKE e OVALLE, 1998; AGUILAR-USCANGA e FRANCOIS, 2003; KOGAN e KOCHER, 2007;) e a LH estudada, de acordo com o fabricante, apresentava 3,5% de NU, 22% de β -GL e 12% de MOS, de modo que, sua inclusão em níveis de 0,3 a 0,9% nas dietas dos leitões supria 105 a 315 ppm de NU, 660 a 1980 ppm de β -GL e 360 a 1080 ppm de MOS.

Os NU exercem importantes funções no organismo, por serem precursores dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), reguladores biológicos e fonte de energia (ATP) (LERNER e SHAMIR, 2000; SAUER et al., 2011) e podem ser sintetizados pela “via de novo”, utilizando aminoácidos como precursores e com alto custo energético, ou pela “via de salvamento”, a partir de produtos da digestão de ácidos nucléicos da dieta.

Considerando certos estados patológicos e períodos de limitada ingestão de nutrientes ou mesmo para tecidos de rápido crescimento, como o epitélio intestinal, os NU podem ser considerados, nutricionalmente, essenciais, pois, a síntese pela “via de novo” pode ser insuficiente (SAUER et al., 2011; HESS et al., 2012). Assim, sua presença nas dietas pode beneficiar a morfologia e função gastrointestinal, o sistema imunológico e a microbiota intestinal de animais monogástricos (SAUER et al., 2011).

As condições impostas pelo desmame, que nas granjas comerciais geralmente ocorre em torno de 21 dias de idade do leitão, resulta em baixa ingestão de ração, principalmente na primeira semana pós desmame (CAMPBELL et al., 2013) e, conseqüentemente, na redução da altura das vilosidades e alteração na profundidade das criptas intestinais, diminuindo a capacidade digestiva e de absorção de nutrientes (PLUSKE et al., 1997; LALLÈS, 2007). Portanto, no presente estudo, o provável rápido restabelecimento da integridade e das funções intestinais após o desmame, devido à alta concentração de NU da LH, foi importante para melhorar o desempenho dos leitões desmamados, tendo em vista que a inclusão de NU nas dietas melhora o desempenho e acelera o turnover do carbono da parede e mucosa intestinal, nos níveis de 0,2 e 0,4% nas paredes do duodeno e jejuno, respectivamente, sugerindo sua recuperação mais rápida no período pós-desmame (MIASSI, 2016) e, no nível de 500 ppm têm melhorado o desempenho e diminuído a incidência de diarreia (MARTINEZ-PUIG et al., 2007) e no nível de 200 ppm tem aumentado o peso final e o ganho de peso diário de leitões desmamados (ANDRADE et al., 2016).

Apesar da alta concentração de β -GL e de MOS nas células de levedura e do fato da adição desses compostos nas dietas terem resultado em melhora no desempenho de leitões desmamados (LE-MIEUX et al., 2003; ROZEBOOM et al., 2005; LI et al., 2006; WANG et al., 2008; MENDES et al., 2010; VALPOTIC et al., 2016; TUOU et al., 2016) esse efeito pode ser considerado indireto, pois, a principal

ação atribuída aos β -GL é de melhorar a resposta imune, (LI et al., 2005; ZHOU et al., 2013) e aos MOS de exercerem ação seletiva sobre a microbiota intestinal (WHITE et al., 2002; HALAS e NOCHTA, 2012).

A contagem de coliformes totais, *Escherichia coli* e de bactérias ácido-láticas no conteúdo do ceco dos leitões não foi influenciada ($P>0,05$) pelos níveis de levedura hidrolisada das dietas (Tabela 5). Essa resposta concorda, parcialmente, com dos resultados obtidos por White et al. (2002), com adição de 3% de levedura seca de cervejaria, como fonte de MOS, em dietas de leitões desmamados, pois não verificaram efeitos no número de coliformes totais e de *Escherichia coli*, apesar da elevação de Lactobacilos nas fezes de animais que receberam dietas contendo levedura. Van Der Peet-Schwering et al. (2007), também não observaram alterações na microbiota intestinal de leitões após o desmame com a inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* nas dietas.

Tabela 5- Contagem (Log_{10} UFC/g) de coliformes totais (CT), *Escherichia coli* (EC) e de bactérias ácido-láticas (BAL) no conteúdo do ceco de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão de Levedura Hidrolisada no 40º dia do experimento

% de Levedura Hidrolisada							
Período	Variável	0,0	0,3	0,6	0,9	Efeito	CV (%)
61º dia	CT	8,76	8,91	8,54	7,26	NS	15,47
	EC	8,75	8,91	8,54	7,22	NS	15,40
	BAL	10,34	11,25	10,00	10,48	NS	4,78

¹⁻ NS= Não significativo ($P>0,05$).

No intestino estão presentes microrganismos benéficos que podem auxiliar na digestão e, por ação competitiva, reduzir a proliferação de espécies patogênicas que podem causar inflamação na mucosa do intestino, produzir metabólitos tóxicos e doenças. Dentre as bactérias benéficas, podem ser citadas aquelas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e dentre as nocivas a *Escherichia coli* e as dos gêneros *Clostridium* e *Salmonella* (FOUHSE et al. 2016).

A ação prebiótica de MOS purificado comprovada em leitões (DAVIS et al., 2002; MIGUEL et al., 2004) tem sido atribuída, principalmente, a não digestão pelo suíno. Nessa condição, se torna substrato para crescimento de microrganismos benéficos ou podem se ligar às fímbrias de bactérias patogênicas, inibindo sua

aderência as células da mucosa intestinal, sendo eliminadas nas fezes (HALAS e NOCHTA, 2012).

Embora a levedura hidrolisada estudada apresentasse elevada concentração de MOS, esse é um constituinte ligado a proteínas da parede celular, que também é composta por β -glucanos e, em menor quantidade, por quitinas (ORLEAN, 2012). Assim, para que o MOS exerça ação prebiótica a célula de levedura deve ser submetida a processos mecânicos e/ou químicos de rompimento da parede celular e a seguir tratada com proteases, quebrando-se as mananoproteínas da parede celular externa e liberando-se manano solúvel que, posteriormente, é separado dos glucanos insolúveis e purificado (YAMABHAI et al., 2014). Desse modo, se o processamento da parede celular das leveduras não for suficiente para garantir adequada liberação de MOS, sua ação prebiótica será comprometida, o que talvez possa ter ocorrido com a levedura hidrolisada avaliada no presente estudo, justificando a ausência de efeitos na microbiota do ceco. Outra provável justificativa da ausência de efeitos dos tratamentos nas populações de bactérias no ceco estaria relacionada ao baixo desafio microbiológico, imposto aos animais, durante a pesquisa. Visto que, as instalações experimentais encontram-se isoladas, foram limpas, desinfetadas e passaram por vazio sanitário, antes do alojamento dos leitões. Além disso, as dietas pré-iniciais continham tiamulina como melhorador de desempenho e doses farmacológicas de zinco (óxido de zinco) como agentes antimicrobianos.

A ausência de efeito da adição de LH nas dietas, sobre microbiota do ceco e no leucograma dos leitões desafiados com LPS, reforça a hipótese de que seu benefício no ganho de peso e conversão alimentar dos leitões tenha relação com sua alta concentração de nucleotídeos.

O lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) utilizado teve ação no sistema imune alterando o leucograma dos leitões ($P < 0,001$), pois, reduziram-se os valores de leucócitos, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos duas a três horas da aplicação (Tabela 6). Observações essas concordantes aos resultados encontrados por Collier et al. (2011), quando verificaram que a população de leucócitos reduziu uma hora após o desafio de leitões com LPS, retornando ao nível fisiológico normal depois de 24 horas. Provavelmente, essa resposta decorreu de processo inflamatório devido a aplicação de solução de LPS, quando há uma rápida migração

de leucócitos do sangue para o local de aplicação, induzindo a alterações no leucograma (DHABHAR, 1998).

Tabela 6- Valores médios do número ($10^6/l$) de leucócitos (Leu.), neutrófilos (Neu.), eosinófilos (Eos.), linfócitos (Linf.), monócitos (Mon.) e bastonetes (Bast.) de leitões alimentados com dietas com diferentes níveis de inclusão de Levedura Hidrolisada ao 41º dia do experimento

	Leuc	Neu	Eos	Linf	Mon	Bast
Coleta após aplicação do LPS (h)						
0	19893 ^a	6207 ^a	375 ^a	11565 ^a	915 ^a	0
3	5784 ^b	845 ^b	37 ^b	4788 ^b	98 ^b	0
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	-----
Dieta (% de inclusão de LH)						
0,0	12056	3695	242	7628	442	0
0,3	12737	3615	162	8495	403	0
0,6	12793	2926	252	8014	589	0
0,9	13768	3056	167	8570	592	0
Valor de P	0,4737	0,6698	0,3711	0,6489	0,2123	-----
Coleta X Dieta						
Valor de P	0,8760	0,4777	0,5665	0,6792	0,2841	-----

^{a,b} Médias com letras distintas na coluna diferem ($P < 0,0001$)

Como indutor da resposta imune, o LPS tem sido utilizado em pesquisas com diversas espécies animais, dentre elas suínos (JOHNSON, 1997; LIU et al., 2008). Após inoculação, ele induz sintomas de infecção bacteriana aguda nos leitões, com consequente depressão, anorexia e febre (KLASING e LESHCHINSKY, 2000; LIU et al., 2008). Também pode exacerbar a produção de citocinas pró-inflamatórias e produzir danos aos tecidos, com diminuição do tônus muscular e débito cardíaco que resulta em hipotensão e má perfusão tecidual e, portanto, em morte celular (MACHADO et al., 2004). A morte de quatro animais no presente estudo, após aplicação intramuscular de 80 µg de LPS/kg de peso vivo, indicou que a dose de

LPS utilizada foi elevada e sugere ajustes em futuros protocolos de pesquisas, quanto à dosagem e via de aplicação.

Não foi identificada interação ($P>0,05$) de tempo de coleta e dieta e de dieta sobre o leucograma dos leitões (Tabela 6).

Dentre os componentes da levedura, os β -GL são considerados eficientes agentes imunomoduladores (VOLMAN et al., 2008; PETRAVIĆ-TOMINAC et al., 2010; STIER et al. 2014). Contudo, no presente estudo, os níveis crescentes de inclusão de LH não alteraram o leucograma dos animais, desafiados ou não, com 80 μ g de LPS/kg de peso vivo. Possivelmente, a dose de LPS foi elevada, desencadeando respostas fisiológicas que dificultaram a identificação da ação da LH no sistema imune. Por outro lado, o leucograma, apesar de ser usado para avaliar a resposta imunológica de leitões (PARDO et al., 2014; SUGIHARTO et al., 2014), parece não ser a variável mais indicada para identificar a possível ação imunomoduladora da levedura. Em outras pesquisas a ação da levedura foi verificada nas concentrações de proteínas de fase aguda, IgM e IgG (MOLIST et al., 2014).

Outra consideração são as divergentes respostas dos animais à suplementação dietética de β -GL, devido às suas formas de apresentação (purificados ou complexados à parede celular), tipo de processamento e níveis de inclusão (RAHAR et al., 2011; STIER et al., 2014). Embora o produto utilizado apresentasse 22% de β -GL, grande parte poderia estar ligado aos demais constituintes da parede celular da levedura; nesse caso, a expressão do seu potencial imunomodulador seria comprometida, pois, sua adição na forma purificada em dieta de leitões desmamados tem se mostrado eficaz em estimular a resposta imune (LEDUR et al., 2012).

6 CONCLUSÃO

A LH nos níveis entre 0,4 e 0,5 % melhora o desempenho de leitões desmamados. A inclusão da LH nas dietas não afeta a microbiota e os valores de leucócitos totais e frações em nenhum dos níveis estudados. A aplicação de solução de LPS reduz as contagens de leucócitos totais e frações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M.L.T. et al. Glutamina, nucleotídeos e plasma suíno em rações para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, p.520-525, 2010.

ADEWOLE, D. I.; KIM, I. H.; NYACHOTI, C. M. Gut health of pigs: challenge models and response criteria with a critical analysis of the effectiveness of selected feed additives—a review. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 29, n. 7, p. 909, 2016.

AGUILAR-USCANGA, B.; FRANCOIS, J. M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 268–274, 2003.

AMORIM, H.V.; OLIVEIRA, A.J.; ZAGO, E.A. Fermentação descontínua: otimização do processo Melle-Boinot. In: SEMANA DE FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA “JAIME ROCHA DE ALMEIDA”, 4. 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ/STAB, p. 114-121, 1985.

ANDRADE, C. et al. Levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.4, p.788-796, 2011.

ANDRADE, C. et al. Performance and intestinal health of weanling pigs fed with dietary nucleotides. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 2181-2192, 2016.

ASSIS, S. D. et al. Desempenho e características morfo-intestinais de leitoas desmamadas alimentadas com dietas contendo associações de mananoligossacarídeo. **Archives of Veterinary Science**, v.19, n.4, p.33-41, 2014.

BAEL, B. A.; ROXAS, B. D. Effects of yeast-based non-nutritional enhancers on the performance of weanling pigs. **Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 39, n. 1, 2013.

BALLOU, C. E. A study of the immunochemistry of three yeast mannans. **J. Biol. Chem.** Illinois, n. 245, p. 1197-1203, 1977.

BARACOS, V.E.; WHITMORE, W.T.; GALE, R. The metabolic cost of fever. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.65, n.2, p.1248-1254, 1987.

BARNESS, L. Dietary source of nucleotides - from breast milk to weaning. **Journal of Nutrition**, v.124, p.128-130, 1994.

BAUER, E. et al. Influence of dietary components on development of the microbiota in single-stomached species. **Nutrition research reviews**, v. 19, n. 1, p. 63-78, 2006.

BAUER, E. et al. Influence of the gastrointestinal microbiota on development of the immune system in young animals. **Current issues in intestinal microbiology**, v. 7, n. 2, p. 35-52, 2006.

BERTO, D.A. **Levedura seca de destilaria de álcool de cana-de-açúcar (*Saccharomyces* sp.) na alimentação de leitões em recria**. Piracicaba, ESALQ/USP, 1985. 133p. Dissertação (Mestrado em "Ciência Animal e Pastagens") - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, 1985.

BOHN J. A., BEMILLER J. N., (1→3)- β -Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. **Carbohydrate Polymers**, v. 28, p. 3-14, 1995.

BRAZ, D. B. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche**. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

BROWN, G.D.; GORDON, S. Fungal β -glucans and mammalian immunity. **Immunity**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 311-315, 2003.

BROWN, H.; et al. Studies on colostrum-acquired immunity and active antibody production in baby pigs. **Journal of Animal Science**, v.20, p.323-328, 1961.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 19, 2013.

CARVER, J. D. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal, and hepatic system effects. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, p. 144S-148S, 1994.

CARVER, J.D.; WALKER, W.A. The role of nucleotides in human nutrition. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v.6, p.58-72, 1995.

CASTILLO, M. et al. Use of mannan-oligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: effects on microbiota and gut function. **Journal of Animal Science**, v.86, p.94-101, 2008.

CHAPMAN, M. E. et al. Pulmonary hypertensive responses of broilers to bacterial lipopolysaccharide (LPS): Evaluation of LPS source and dose, and impact of pre-existing pulmonary hypertension and cellulose micro-particle selection. **Poultry science**, v. 84, n. 3, p. 432-441, 2005.

CHIQUEIRI, J. et al. Bioquímica sanguínea e altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com adição de probiótico, prebiótico e antibiótico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.2, p. 97-104, 2007.

COLLIER, C. et al. Oral administration of *saccharomyces cerevisiae boulardii* reduces *escherichia coli* endotoxin associated mortality in weaned pigs. In: **Proceedings of the American Society of Animal Science Southern Section Meeting**, Orlando, FL, USA. p. 6-9, 2010.

DANCEY, C. P.; ATTREE, E. A.; BROWN, K. F. Nucleotide supplementation: a randomised double-blind placebo controlled trial of IntestAidIB in people with Irritable Bowel Syndrome. **Nutrition Journal**, Glandale, v. 5, p. 16–24, 2006.

DHABHAR, F.S: Stress-induced enhancement of cell-mediated immunity. **Annals of the New York Academy of Science**, v.840, p. 359–372, 1998.

DILUZIO N. R., Immunopharmacology of glucan: a broad spectrum enhancer of host defense mechanisms, **Trends Pharmacol Sci.**, v. 4, p. 344-347, 1983.

DRITZ, S. S. et al. Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 11, p. 3341-3350, 1995.

ESTEVEES, M.C.A.; MACHADO NETO, R.; MYIADA, V.S. **Aspectos do desenvolvimento imunológico de leitões recém-nascidos submetidos a diferentes dietas de leite em pó.** Ciência Agrícola, Piracicaba, v. 53, n. 2/3, maio. 1996.

FALEIRO, F.G.; ANDRADE, S.R.M. Biotecnologia: uma visão geral. In: FALEIRO, F.G.; ANDRADE, S.R.M.; REIS JUNIOR, F.B (Org.). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 23 p., 2011.

FOUHSE, J. M.; ZIJLSTRA, R. T.; WILLING, B. P. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. **Animal Frontiers**, v. 6, n. 3, p. 30-36, 2016.

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

FURCO, A. M. Produção de biomassa de levedura em destilaria de álcool. In: WORKSHOP PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA: UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, Campinas, 1996. **Resumos.** Campinas: ITAL, 1996. p.52-58.

GASKINS, H.R. **Immunological development and mucosal defense the pig intestine.** In: WISEMAN, J.; VARLEY, M.A.; CHADWICK, J.P. Progress in pig science. Nottingham University Press, 1998. p.81-102.

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, v. 17, n. 2, p. 259-275, 2004.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GOODRIDGE H.S.; WOLF A. J.; UNDERHILL D.M. Beta-glucan recognition by the innate immune system. **Immunological Reviews**, v.230, n.1, p.38-50, 2009.

HALAS, V.; NOCHTA, I. Mannan oligosaccharides in nursery pig nutrition and their potential mode of action. **Animals**, v. 2, n. 2, p. 261-274, 2012.

HAMPSON, D.J. Alterations of piglet small intestine structure at weaning. **Research in Veterinary Science**, v.40, p.32-40, 1986

HESS, J. R.; GREENBERG, N. A. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 27, n. 2, p. 281-294, 2012.

HOLEN, E.; JONSSON, R. Dietary nucleotides and intestinal cell lines: 1. Modulation of growth. **Nutrition Research**. v.24, p.197-207, 2004.

HOLZAPFEL, W.H.; HABERER, P.; SNEL, J.; SCHILLINGER, U.; VELD. J.H.J.H. Overview of gut flora and probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 85-101, 1998.

HORII, J. 1980. Condução de processos fermentativos. In: I SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA E ECONOMIA DO ÁLCOOL. Piracicaba, Coordenadoria da Indústria e Comércio, p. 37-41, 1980.

HUNTER, J.B.; ASENJO, J.A. A structured mechanistic model of the kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cell. **Biotechnology and Bioengineering**, v.31, p.929-943, 1988.

HUNTER, K. W.; GAULT, R. A.; BERNER, M. D. Preparation of microparticulate β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for use in immune potentiation. **Letters in applied microbiology**, v. 35, n. 4, p. 267-271, 2002.

INDUSTRIAL COMÉRCIO EXPORTAÇÃO E IMPORTAÇÃO. ICC. Hilyses. **Material Promocional**. São Paulo: ICC 2016.

JENSEN, K. H. et al. Prevention of post weaning diarrhea by a *Saccharomyces cerevisiae*-derived product based on whole yeast. **Animal Feed Science and Technology**, v. 183, n. 1, p. 29-39, 2013.

JOHNSON, R. W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal of animal science**, v. 75, n. 5, p. 1244-1255, 1997.

JOHNSON, R.; W.; VON BORELL, E. Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin. **Journal of animal science**, v. 72, n. 2, p. 309-314, 1994.

JOHNSON, R.W.; ESCOBAR J.; WEBEL, D.M. **Nutrition and Immunology of Swine**. In: Lewis A.J. & Southern L.L. Swine Nutrition. 2nd ed. Nebraska: CRC Press, p.545-562, 2001.

KAMIMURA, R. **Efeito de prebiótico e promotor de crescimento convencional na dieta de leitões desmamados sobre: desempenho, histomorfometria intestinal, níveis de IGA sérica total e análise econômica**. 2006. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2006.

KLASING, C.K.; LESHCHINSKY, V.T. Interactions between nutrition and immunity. In: **Nutrition and Immunology**. Humana Press, p. 363-373, 2000.

KOGAN, G. (1→ 3, 1→ 6)-β-d-Glucans of yeasts and fungi and their biological activity. **Studies in natural products chemistry**, v. 23, p. 107-152, 2000.

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

KONSTANTINOV, S.R.; et al. Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition. **Animal Research**, v. 53, p. 317-324, 2004.

KOUGIAS, P., et al., Normal human fibroblasts express pattern recognition receptors for fungal (1→3)- β -D-glucans. **Infection and Immunity**, v. 69, p. 3933-3938, 2001.

LALLÈS, J.P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C.R. Weaning - a challenge to gut physiologists. **Livestock Production Sciences**, v. 108, p. 82-93, 2007.

LANDELL FILHO, L.C.; KRONKA, R.N.; THOMAS, M.C. Utilização da levedura de centrifugação da vinhaça (*Saccharomyces cerevisiae*) como fonte de proteína para leitões na fase inicial (10 a 30 kg PV). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.23, p.283-291. 1994.

LE DIVIDICH J.; SEVE B. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the pigs. **Domestical Animal Endocrinology**, v.19, p. 63-74. 2000.

LEDUR, V. S. et al. Respostas fisiológicas e de desempenho de leitões suplementados com B-glucanos e desafiados imunologicamente. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**. Belo Horizonte, v. 64, n. 2, p. 434-442, 2012.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Nucleotídeos e ácidos nucléicos. In: **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. Cap. 12, p.242-268.

LEIBBRANDT, V. D. et al. Effect of weaning and age at weaning on baby pig performance. **Journal of Animal Science**, v.40, p. 1077-1080, 1975.

LEMIEUX, F. M.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D. Effect of mannan oligosaccharides on growth performance of weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 81, n. 10, p. 2482-2487, 2003.

LERNER, A., SHAMIR, R. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. **Israel Medical Association Journal (IMAJ)**, v. 2, n. 10, p. 772-774, 2000.

LEVESQUE, C. L. et al. Impact of hydrolyzed yeast product in nursery pig diets on growth performance and immune response. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 80, 2016.

LI, J. et al. Effects of [beta]-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide¹. **Journal of animal science**, v. 84, n. 9, p. 2374, 2006.

LI, J. et al. Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on humoral and cellular immunity in weaned piglets. **Archives of animal nutrition**, v. 59, n. 5, p. 303-312, 2005.

LIMA, G.J.M.M. et al. Uso da levedura seca de destilarias de álcool de cana-de-açúcar na alimentação de matrizes suínas em gestação e lactação. II- Efeitos sobre o peso dos leitões e das leitegadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.17, n.5, p.475-485, 1998.

LIPKE, P. N.; OVALLE, R. Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. **Journal of bacteriology**, v. 180, n. 15, p. 3735-3740, 1998.

LIU, D. et al. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds—A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 36, p. 181-192, 2016.

LIU, Y. et al. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, London, v.100, p.552-560, 2008.

MACHADO, P.R.L., et al. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.79, n.6, p. 647-664, 2004.

MAGNANI, M., CASTRO-GÓMEZ, R. J. H. Beta-glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção. **Ciências Agrárias**, v.29, n.3, p. 631-650, 2008.

MARTINEZ-PUIG, et al. Dietary nucleotide supplementation reduces occurrence of diarrhoea in early weaned pigs. **Livestock science**. v. 108, p. 276–279, 2007.

MENDES, C. B. et al. Suplementação de betaglucano a dietas de leitões de 21 a 60 dias de idade. . **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, p. 696-705, 2010.

MEURER, F. et al. Utilização de levedura spray dried na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 22, n. 2. p. 479-484, 2000.

MIASSI, G.M. **Turnover do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em tecidos corporais e desempenho de leitões desmamados alimentados com dietas contendo nucleotídeos**. 2016. 116 p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2016

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

MIYADA, V.S., et al. O uso da levedura seca (*Saccharomyces cerevisiae*) de destilarias de álcool de cana de açúcar na alimentação de suínos em crescimento e acabamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.8, p. 497-515, 1979.

MOLIST, F. et al. Effects of inclusion of hydrolyzed yeast on the immune response and performance of piglets after weaning. **Animal Feed Science and Technology**, v. 195, p. 136-141, 2014.

MORAN, C.A. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: **ALLTECH'S 20th ANNUAL SYMPOSIUM**, 2004, Lexington. Proceedings...London: Nottingham University Press, 2004. p. 283-296.

MOREIRA, I. et al. Uso da levedura seca por “Spray-Dry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 962-969, 2002. Suplemento.

MORÉS, N.; AMARAL, A.L. Patologias associadas ao desmame. Anais. **Congresso da ABRAVES**, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Embrapa aves e suínos, p.215-224, 2001.

NELSON, D.L. e COX, M.M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 5ª edition, W. H. Freeman and Company, New York e Basingstoke. 2011.

NOVAK, M.; VETVICKA, V. β -Glucans, History, and the Present: Immunomodulatory Aspects and Mechanisms of Action. **Journal of immunotoxicology**, v.5, p. 47-57, 2008.

OLIVEIRA, M.T. **Inclusão de levedura hidrolisada e levedura seca na dieta de leitões recém-desmamados**. 2012. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

OLIVEIRA, R. J.; et al., Protective effect of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae*, against DNA damage and cytotoxicity in wild-type (k1) and repair-deficient (xrs5) CHO cells. **Toxicology in Vitro**, v. 21, n. 1, p. 41–52, 2007

ORLEAN, Peter. Architecture and biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Genetics*, v. 192, n. 3, p. 775-818, 2012.

PARDO, L. et al. Effect of L-glutamine levels in piglets diets challenged with *Escherichia coli* lipopolysacharides. **Revista MVZ Córdoba**, v. 19, n. 3, p. 4328-4337, 2014.

PELÍCIA, V.C. **Nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no sistema alternativo**. 2008. 76 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2008.

PETRAVIĆ-TOMINAC, V. et al. Biological effects of yeast β -glucans. **Agricultura e Conspectus Scientificus (ACS)**, v. 75, n. 4, p. 149-158, 2010.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock production science**, v. 51, n. 1, p. 215-236, 1997.

RAHAR, S. et al. Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 2, n. 2, p. 94, 2011.

RICE P. J., et al. Human monocyte scavenger receptors are pattern recognition receptors for (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans. **Journal of leukocyte biology**. v. 72, p. 140-146, 2002.

RIEGEL, R.E. Mecanismo da síntese das proteínas. In:_____ Bioquímica, São Leopoldo: Unisinos, 2002. Cap. 10, p.321-350

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. S2, p. S1-S63, 2010.

ROSSI, P. et al. Nucleotídeos na nutrição animal. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.5-12, 2007.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.

ROZEBOOM, D. W. et al. 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, n. 11, p. 2637-2644, 2005.

SANTOS, L.S. **Nucleotídeos e ácido glutâmico em dietas de leitões desmamados**. 2015. 54 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2015.

SAS, STATISTICAL ANALISYS SYSTEM. **SAS**: software. Version 9.3,Cary: SAS Institute, 2010.

SAUER, N.; BAUER, E.; MOSENTHIN, R. The effects of pure nucleotides on performance, humoral immunity, gut structure and numbers of intestinal bacteria of newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.90, p. 3126–3134, 2012.

SAUER, N.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The role of dietary nucleotides in single stomached animals. **Nutrition Research Reviews**, v. 24, p. 46-59, 2011.

SCAPINELLO, C. et al. Utilização da levedura de recuperação (*Saccharomyces* sp), seca pelo método spray-dry para coelhos em crescimento. **Revista Unimar**, v.18, n.3, p.587-598, 1996.

SILVA, L.P.; NORBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 983-990, 2003.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL (Org.), CAPUTI, B. (Coord.). **Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal**. São Paulo, 2013

SPREEUWENBERG, M.A.M. et al. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. **Journal of Nutrition**, v.103, n.5, p.1520-1527. 2001.

SPRING, P. et al. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v. 79, n. 2, p. 205-211, 2000.

STIER, H.; EBBESKOTTE, V.; GRUENWALD, J. Immune-modulatory effects of dietary Yeast Beta-1, 3/1, 6-D-glucan. **Nutrition journal**, v. 13, n. 1, p. 38, 2014.

SUGIHARTO, S.; HEDEMAN, M. S.; LAURIDSEN, C. Plasma metabolomic profiles and immune responses of piglets after weaning and challenge with *E. coli*. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 17, 2014.

SWEENEY, T. et al. Effect of purified β -glucans derived from *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* and *Saccharomyces cerevisiae* on piglet performance, selected bacterial populations, volatile fatty acids and pro-inflammatory cytokines in

the gastrointestinal tract of pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 07, p. 1226-1234, 2012.

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**. Proceedings, Nottingham, p. 435-443, 2002.

TIZARD, I.R. **Veterinary Immunology: An introduction**. W.B. Elsevier: London, 2008. 476p.

TUOI, P. T. et al. Effects of β -glucan and mannan-oligosaccharide supplementation on growth performance, fecal bacterial population, and immune responses of weaned pigs. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, n. 4, p. 589-599, 2016.

TZIANABOS, A. O. Polysaccharide imunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 523-533, 2000.

UAUY, R. - Dietary nucleotides and requirements in early life. In **Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy**. - LEBENTHAL, E. - pg. 265-380. Raven Press, NY. USA. 1989.

UAUY, R.; QUAN, R.; GIL, A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. **The Journal of Nutrition, Bethesda**, v. 124, p. 1436-1441, 1994.

União dos Produtores de Bioenergia, UDOP. **Produção Brasileira de Cana-de-açúcar, Açúcar e Etanol** Disponível em: <http://www.udop.com.br/download/estatistica/acucar_producao/16dez15_producao_cana_acucar_etanol.pdf>. Acesso em 29 de Dezembro de 2015

UTIYAMA, C. E., et al. Effects of antimicrobials, prebiotics, probiotics and herbal extracts on intestinal microbiology, diarrhea incidence and performance of weanling pigs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p. 2359-2367, 2006.

VALPOTIĆ, H. et al. Effect of mannan oligosaccharide supplementation on blood and intestinal immune cells, bacteria numbers and performance in weaned pigs. **Acta Veterinaria Brno**, v. 85, n. 3, p. 267-276, 2016.

VAN DER PEET-SCHWERING, C. M. C. et al. Effects of yeast culture on performance, gut integrity, and blood cell composition of weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 85, n. 11, p. 3099-3109, 2007.

VITAGLIANO, L.A. **Levedura hidrolisada na dieta de porcas em lactação**. 2013. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

VOLMAN, J. J.; RAMAKERS, J. D.; PLAT, J. Dietary modulation of immune function by β -glucans. **Physiology & behavior**, v. 94, n. 2, p. 276-284, 2008.

WANG, Z. et al. Effect of Dietary beta-1, 3/1, 6-glucan Supplementation on Growth Performance, Immune Response and Plasma Prostaglandin, E~ 2, Growth Hormone and Ghrelin in Weanling Piglets. **Asian Australasian Journal Of Animal Sciences**, v. 21, n. 5, p. 707, 2008.

WHITE, L. A. et al. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2619-2628, 2002.

YAMAMOTO, S. et al. Role of nucleosides and nucleotides in the immune system, gut reparation after injury, and brain function. **Nutrition**, v.13, n.4, p.372-374, 1997.

YANG Y., IJI, P.A. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. **World's Poultry Science Journal**, New York, v. 65, 2009.

ZANUTTO, C. A., et al. Utilização da levedura de recuperação (*Sacchamoryces* sp.), seca por rolo rotativo ou por spray-dry, na alimentação de leitões na fase inicial. **Acta Scientarum**, v. 21, n. 3, p. 705-710, 1999.

ZEKOVIĆ D. B, et al. Natural and modified (1 3)- β -D-glucans in health promotion and disease alleviation. **Critical reviews in biotechnology**. v. 25, p.205-230, 2005.

ZHAO, P. Y.; JUNG, J. H.; KIM, I. H. Effect of mannan oligosaccharides and fructan on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and diarrhea score in weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 90, n. 3, p. 833-839, 2012.

ZHOU, T. X. et al. Effect of dietary β -glucan on growth performance, fecal microbial shedding and immunological responses after lipopolysaccharide challenge in weaned pigs. **Animal feed science and technology**, v. 179, n. 1, p. 85-92, 2013.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polymer Testing**, v. 23, n. 5, p. 575-579, 2004.

APÊNDICE A. Temperaturas (máxima e mínima) no interior do galpão.

Dia de experimento	Termômetro 1		Termômetro 2	
	Temp. Min.	Temp. Max.	Temp. Min.	Temp. Max.
1	17	23	16	23
2	18	22	18	21
3	22	26	21	26
4	19	25	18	25
5	20	25	20	25
6	20	26	21	26
7	22	23	21	23
8	21	24	21	24
9	20	23	20	23
10	18	24	18	24
11	18	23	18	23
12	21	27	21	26
13	22	24	22	25
14	18	25	17	24
15	20	24	20	24
16	21	26	20	27
17	20	26	20	25
18	23	28	22	28
19	21	28	21	28
20	21	28	21	28
21	20	26	20	25
22	21	26	21	25
23	18	23	17	23
24	18	24	18	23
25	17	25	17	26
26	17	26	17	25
27	16	23	16	23
28	16	24	17	24
29	17	26	17	26
30	19	26	19	26
31	16	25	16	23
32	16	24	16	25
33	16	25	16	24
34	15	24	15	25
35	15	25	16	25
36	16	25	16	25
37	16	26	16	26
38	17	27	18	27