

AÇÃO DE DOIS ADITIVOS À BASE DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE AUTOLISADA NA FUNÇÃO DE LEUCÓCITOS LÁCTEOS E NOS CONSTITUINTES DO LEITE DE BOVINOS HOLANDESES

ANDRESSA DELIBERALLI¹, HELOÍSA G. BERTAGNON², ANA CAROLINA A. ABREU², KATLIN G. PRIMEL², MELINA A. BONATO³, LILIANA L. BORGES³

Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO/PR¹,
Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO/PR², ICC Brazil³
Contato: andressa.dlb@hotmail.com / Apresentador: ANDRESSA DELIBERALLI

Resumo: A mastite é uma das principais causas de prejuízos na pecuária leiteira, sendo pelo custo com tratamento e pela menor produção, enquanto o uso de leveduras tem potencial para melhorar a produção e qualidade de leite por estimular a imunidade e eficiência ruminal. O objetivo foi avaliar dois aditivos à base da *S. cerevisiae* autolisada na função dos fagócitos lácteos e na produção de leite de vacas holandesas. O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira, onde 25 vacas foram separadas em três grupos: LPC – levedura com alta concentração de parede celular, 15g/animal/dia; LC – levedura autolisada com alta concentração de citoplasma, 5g/animal/dia e Controle (C) sem levedura, durante 56 dias. Semanalmente, foram aferidas a produção de leite, o metabolismo oxidativo (MO) e a citologia dos leucócitos lácteos. Observou-se aumento do MO a partir de D32 em LPC com aumento de macrófagos, diminuição de neutrófilos e de CCS em D48 e D56. Em LC, ocorreu aumento do MO em D24 e D40, sem alteração do perfil celular e aumento da produção de leite a partir de D32 no em LPC. Conclui-se que o LPC demonstrou maior ativação do sistema imune celular da mama que o LC e o controle, enquanto o LC promoveu aumento da produção de leite e estimulação intermediária do sistema imune da mama.

PalavrasChaves: levedura, leite, imunidade, *Saccharomyces cerevisiae*, neutrófilos

ACTION OF TWO ADDITIVES BASED ON SACCHAROMYCES CEREVISIAE AUTOLYZED IN THE FUNCTION OF DUTCH LEUKOCYTES AND IN THE CONSTITUENTS OF DUTCH BOVINE MILK

Abstract: Mastitis is one of the main causes of losses in dairy farming, due to the costs of treatments or the reduction of milk production, meanwhile yeasts have the potential to improve the production and quality of milk by stimulating immunity and ruminal efficiency. The goal of this study was to evaluate two additives of autolyzed *S. cerevisiae* on the function of milk phagocytes and milk production in Holstein cows. The experiment was carried out in a dairy farm, 25 cows were separated into three groups: LPC – yeast with high cell wall concentration, 15g/animal/day; LC – autolyzed yeast with high concentration of cytoplasm, 5g/animal/day and the third group was Control (C) without yeast, during 56 days (D). Milk production, oxidative metabolism (OM) and cytology of milky leukocytes were measured weekly. There was an increase in OM from D32 in LPC with an increase in macrophages, a decrease in neutrophils and CCS in D48 and D56. In LC, there was an increase in OM in D24 and D40, without changes in the cellular profile while it increased milk production from D32 in LPC. We concluded that LPC demonstrated greater activation of the breast cellular immune system than LC and control, meanwhile LC promoted an increase in milk production and stimulated the breast immune system.

Keywords: yeast, milk, immunity, *Saccharomyces cerevisiae*, neutrophils

Introdução: A mastite bovina é um desafio constante na pecuária leiteira, motivando a busca de alternativas para a sua redução (LANGONI et al., 2017). Neste sentido, as leveduras *S. cerevisiae* parecem ser promissoras pois melhoram a digestibilidade da ingesta, estimulam a imunidade animal e elevam a produção leiteira (BROADWAY et al., 2015). Embora existam pesquisas sobre seu uso em bovinos de leite, a descrição incompleta de sua formulação gera dúvidas sobre sua real ação, tendo em vista que as diferentes tecnologias para sua produção as tornam produtos únicos (BROADWAY et al., 2015). O objetivo desse estudo foi verificar dois aditivos à base de *S. cerevisiae* autolisada em relação a quantidade de parede celular e citoplasma na função de fagócitos lácteos e constituintes do leite de vacas holandesas no meio do estágio de lactação.

Material e Métodos: O experimento foi realizado em propriedade criatória contendo 70 vacas em lactação. Selecionou-se 25 vacas holandesas, múltiparas, no terço médio de lactação, com produção média de 25L/dia e com CCS abaixo de 200 mil cél/mL. Os animais foram distribuídos nos grupos conforme a suplementação com leveduras, fornecida uma vez ao dia, diretamente sobre a ração durante 56 dias. O grupo LPC recebeu levedura autolisada com alta concentração de parede celular (n=10), 15g/animal/dia (RumenYeast®, ICC Brazil); já o grupo suplementado com LC tinha alta concentração de citoplasma (n=7), 5g/animal/dia (MaxiDigest®, ICC Brazil), e o grupo Controle (n=8) sem levedura. Os animais foram alimentados três vezes ao dia em sistema de canzil, com 46 kg/animal/dia de ração total misturada, composta por 60% de silagem de milho; 18,5% de concentrado comercial (Leite Max Avant 20T GP®); 18,5% de farelo de soja; 3% de pré-secado de aveia e 1% de núcleo mineral (Bovigold®). Semanalmente aferiu-se a produção de leite e coletou-se amostras para mensuração de CCS em laboratório terceirizado e para isolamentos de leucócitos lácteos. Nos leucócitos isolados após lavagens e centrifugações, confeccionou-se lâminas de microscopia para contagem diferencial, e realizou-se a prova de metabolismo oxidativo pela técnica de NBT conforme Cho et al (2006). Os dados de CCS foram não normais e foram transformados em log 10. Todos os dados foram submetidos à análise de variância com comparação de médias pelos testes ANOVA One-way e pós teste de Tukey, pelo software InStatGraphpad, com nível de significância a 5%.

Resultado e Discussão: Houve diminuição de macrófagos (M) e aumento de neutrófilos (N) em todos os grupos em D40, e aumento de CCS do LPC e C. O LPC apresentou aumento de MO entre D32 a D48 e aumento de M e diminuição de N e de CCS em D48 e D56 (Tabela 1). Tais resultados indicam que LPC melhorou a imunidade da glândula mamária, pois contém β glucanas e MOS que agem ativando os fagócitos e aderindo-se a patógenos, melhorando a eficiência do sistema imune (BROADWAY et al., 2015). Em D40 houve alteração do perfil celular lácteo em todos os grupos com aumento de CCS indicando que os animais foram expostos a patógenos causadores de mastite em decorrência de alterações do manejo ou ambiental, e o LPC não foi capaz de evitar a inflamação. O LPC promoveu a partir de D32 aumento do MO dos fagócitos lácteos, que é a capacidade destas células produzirem espécies reativas de oxigênio. Isto torna os animais mais eficientes na inativação de patógenos que adentrarem na glândula mamária evitando ou resolvendo rapidamente a mastite, permitindo manter o perfil celular da mama com altas concentrações de macrófagos e menores de neutrófilos (BURGOS et al., 2011; SORDILLO et al., 2005). No LC houve aumento da produção de leite a partir de D32, e aumento do MO entre D24 a D40, e diminuição de M em D40. Tal fato indica que LC contém metabólitos que melhoram a digestibilidade, aumentando principalmente o propionato que leva ao incremento na produção de leite (POPPY et al., 2012). Por possuir β glucanas e MOS em menor quantidade que o LPC a estimulação na imunidade foi menor que este grupo, porém maior que o C.

Tabela 1. Celularidade e Metabolismo oxidativo (MO) de leucócitos lácteos de vacas tratadas ou não leveduras autolisadas

Parâmetro		D0	D8	D16	D24	D32	D40	D48	D56	PX
Mac lacteos %	LPC M	85,00ab	86,62ab	87,00ab	87,87ab	83,87b	83,532 a D0b	91,62aA	92,25aA	0,009
	LC M	86,33a	85,44ab	83,83ab	87,67a	84,17ab	80,83b	84,67abB	86,00abB	0,05
	C M	86,50a	86,50a	88,71a	85,00ab	83,62ab	81,13b	84,00abB	83,50abB	0,01
	P ^v	0,58	0,82	0,2	0,62	0,97	0,83	0,001	0,001	
Neut lácteos%	LPC M	6,87ab	5,96ab	3,00ab	3,25ab	5,94ab	7,50a	1,75bA	1,5bA	0,009
	LC M	6,05	5,67	2,86a	4,57	3,81B	8,71B	4,48B	4,62B	0,26
	C M	4,53ab	4,53ab	3,60a	2,80a	7,00ab	9,67b	5,87abB	6,13abB	0,01
	P ^v	0,96	0,88	0,49	0,4	0,4	0,92	0,004	0,001	
MO D.O	LPC M	0,082aA	0,074aA	0,072aA	0,080aAB	0,075aA	0,068aA	0,079aA	0,073aA	0,9
	LC M	0,071aA	0,071aA	0,080aA	0,082aA	0,070aA	0,073aA	0,055aAB	0,076aA	0,51
	C M	0,070aA	0,072aA	0,083aA	0,078abB	0,059abB	0,038bB	0,047bB	0,060abA	0,01
	P ^v	0,3	0,6	0,3	0,05	0,05	0,04	0,03	0,11	
CCS Log10	LPC M	4,72abA	4,82abA	4,47acA	4,62abbA	4,87abA	4,94bA	4,43cA	4,10cA	0,001
	LC M	4,37aA	4,51aA	4,49aA	4,73aA	4,59aA	4,98aA	4,65aAB	4,54aAB	0,14
	C M	4,59aA	4,72abA	4,72abA	4,67abA	4,60aA	5,18bA	4,93bB	4,73abB	0,03
	P ^v	0,17	0,08	0,16	0,93	0,28	0,56	0,05	0,04	
Vol leite (L)	LPC M	16,96aA	17,00aA	17,33aA	16,49aA	16,49aA	16,60aA	16,64aA	16,22aA	0,16
	LC M	17,74aA	17,93abA	17,00abA	16,79aA	18,60aA	18,16abA	19,50bbB	20,15bB	0,01
	C M	17,29bA	17,34bA	17,74bA	15,73aA	17,93bA	17,16bA	17,06bA	17,26bA	0,01
	P ^v	0,9	0,93	0,93	0,1	0,67	0,54	0,05	0,03	

Mac- macrófagos Neut- neutrófilos, MO metabolismo oxidativo de leucocitário- D.O.- densidade ótica, CCS= Contagem de Células Somáticas, Vol. Leite – Volume de leite, M- média, P^x interação tempo, P^v interação tratamento. LPC= parede celular de levedura; LC=Levedura rica em citoplasma. C= controle. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística na interação tempo (P^x) e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística na interação tratamento T1- tratamento (P^v), (p \leq 0,05), teste de Tukey.

Conclusão: A levedura autolisada rica em parede celular (LPC) promoveu maior estimulação da imunidade da glândula mamária, enquanto que a levedura autolisada rica em citoplasma (LC) promoveu aumento da produção de leite e incremento intermediário da resposta imune da glândula mamaria em vacas leiteiras no meio do estágio da lactação.

Agradecimentos: Agradeço a minha orientadora e os coautores que auxiliaram na confecção deste trabalho, e também ao Colégio Brasileiro de Nutrição Animal pela oportunidade de divulgação dos resultados.

Referências Bibliográficas: BROADWAY, P. R.; CARROLL, J. A.; SANCHEZ, N. C. B. Live yeast and yeast cell wall supplements enhance immune function and performance in food producing livestock: a review. *Microorganisms*, 3, 417-427. 2015. BURGOS R. A, CONEJEROS I, HIDALGO M.A, WERLING D, HERMOSILL A. Calcium influx, a new potential

therapeutic target in the control of neutrophil-dependent inflammatory diseases in bovines. *Vet Immunol Immunopathol.*;143(1-2):1-10, 2011.DESNOYERS, M.; GIGER-REVERDIN, S.; BERTIN, G. DEVAUX-PONTER, C; SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* v. 92, n. 4, p 1620-1632, 2009.LANGONI, H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 5, p. 620-626, maio 2013.POPPY, G. D., A. R. RABIEE, I. J. LEAN, W. K. SANCHEZ, K. L. DORTON, and P. S. MORLEY. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:6027–6041, 2012.SORDILLO, L. M. Factor affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science*, v.98, p.89-99, 2005.