

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE DOUTORADO EM ZOOTECNIA**

**ADITIVOS ALIMENTARES NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES
DESMAMADOS: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E INDICADORES DE
SAÚDE INTESTINAL**

KEILA ABADIA BARBOSA

**SALVADOR – BAHIA
DEZEMBRO – 2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE DOUTORADO EM ZOOTECNIA

**ADITIVOS ALIMENTARES NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES
DESMAMADOS: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E INDICADORES DE
SAÚDE INTESTINAL**

KEILA ABADIA BARBOSA

Mestre em Zootecnia

SALVADOR – BAHIA

DEZEMBRO – 2022

KEILA ABADIA BARBOSA

**ADITIVOS ALIMENTARES NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES
DESMAMADOS: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E
INDICADORES DE SAÚDE INTESTINAL**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado em Zootecnia,
da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial
para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho

Coorientadora: Prof.^a. Dr.^a. Talita Pinheiro Bonaparte

SALVADOR – BAHIA

DEZEMBRO – 2022

Barbosa, Keila Abadia

Aditivos alimentares na alimentação de leitões desmamados: desempenho zootécnico e indicadores de saúde intestinal / Keila Abadia Barbosa. - 2022.

109 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho.

Coorientadora: Profa. Dra. Talita Pinheiro Bonaparte.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2022.

1. Zootecnia. 2. Nutrição animal. 3. Alimentos - Aditivos. 4. Suínos - Alimentação e rações.
I. Carvalho, Paulo Levi de Oliveira. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.4085

CDU - 636.4

**ADITIVOS ALIMENTARES NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES
DESMAMADOS: DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E INDICADORES DE
SAÚDE INTESTINAL**

Keila Abadia Barbosa

Tese defendida e aprovada para obtenção do grau de Doutor em
Zootecnia

Salvador, 26 de agosto de 2022 Comissão

Examinadora:



Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho
UNIOESTE
Orientador / Presidente



Dr. Luiz Vítor Oliveira Vidal - UFBA



Dr. Thadeu Mariniello Silva – UFBA



Dra. Silvana Teixeira Carvalho – UNIOESTE



Dr. Jansller Luiz Genova - UFV

“Fico triste quando alguém me ofende, mas, com certeza, eu ficaria mais triste se fosse eu o ofensor.... Magoar alguém é terrível! ”

Chico Xavier

“A sabedoria superior tolera, a inferior julga; a superior perdoa, a inferior condena. Tem coisas que o coração só fala para quem sabe escutar! ”

Chico Xavier

“As pessoas esquecerão o que você disse, as pessoas esquecerão o que você fez..., mas elas nunca esquecerão...Como você as fez sentir”

Chico Xavier

“Os ideais que iluminaram o meu caminho são a bondade, a beleza e a verdade”.

Albert Einstein

Dedico:

Aos meus pais (in memoriam), aos meus irmãos, sobrinhos, família aos amigos presentes, vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho e a concretização de mais um sonho. Minha caminhada talvez fosse diferente se não houvesse o apoio de todos vocês.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela minha saúde e a oportunidade de continuar trilhando meus caminhos;

Aos meus pais (*in memoriam*), José Batista Barbosa e Benedita Bento Barbosa, por todo amor, apoio e esforços que desde jovens tiveram para educar a mim e aos meus irmãos. Eu sei que estão aqui do meu lado em todos os momentos, alegres ou tristes, segurando minha mão e me dando forças para prosseguir minha jornada;

À amiga e professora da graduação Dr^a Eliana Aparecida Rodrigues, por todo cuidado e apoio, foi excepcional trabalharmos juntas, a sua força e determinação me inspirou a concretizar esse sonho, serei eternamente grata;

Aos professores e amigos do IFTM – Campus Uberaba, pelos ensinamentos e companheirismo ao longo da graduação;

Aos professores e amigos da UFVJM – Campus Diamantina, pelos ensinamentos e amizade ao longo do Mestrado;

Ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, pela oportunidade de realizar o doutorado em uma instituição renomada.

Ao professor Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho pela orientação, oportunidade, ensinamentos, disponibilidade, presteza e confiança concedida durante o doutorado;

À Professora Dr^a Silvana Teixeira pela disponibilidade, críticas, sugestões, ensinamentos, presteza e organização em relação às atividades experimentais e intelectuais, que contribuíram para a consolidação deste trabalho;

Ao Dr. Jansler Genova, pela transferência de conhecimentos, sempre disposto a ajudar nas atividades intelectuais, braçais e musicais, obrigada por contribuir na minha formação profissional;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, pelos conhecimentos transmitidos e em especial a Prof.^a Dr^a. Vanessa Michalsky por contribuir na minha formação profissional e pessoal;

Aos amigos e colegas de doutorado, Fernanda Gazar, Milene, José Missasse, pelo apoio e ajuda, troca de conhecimentos e momentos de descontração e alegria;

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, campus Marechal Cândido Rondon, pela disponibilidade das suas instalações e colaboradores, os

quais foram extremamente necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa; aos funcionários da Fazenda Experimental da Unioeste, por sempre estarem dispostos a colaborar com a execução do experimento;

Ao GEPS, grupo de estudos e pesquisa em suínos da Unioeste, pela colaboração na execução das atividades experimentais, sou grata por toda ajuda e empenho dos alunos da graduação e pós-graduação;

Às minhas amigas Dinete Botelho e Márcia Lima, que me receberam em suas casas (Salvador), me dando conselhos, atenção e muito amor;

À minha amiga Camila Ferreira, pelo incentivo em iniciar esse projeto profissional (doutorado), tu és a culpada de toda realização que sinto hoje. Obrigada por tudo, serei eternamente grata;

Ao amigo Rafael Lucas que sempre esteve ao meu lado, meu confidente e amigo de todas as horas. Não tenho como agradecer tudo que fez e faz na minha vida. Amo você eternamente;

Aos amigos Mayara Larissa, Yasser, Flavia, por toda ajuda, incentivo, companheirismo e amizade que me proporcionaram durante o meu doutorado, vocês foram essenciais;

À FAPESB pela bolsa concedida durante a realização do doutorado;

À ALLTECH pelo financiamento do experimento I;

À SAUVET pelo financiamento do experimento II;

À Cooperativa Agroindustrial de Marechal Cândido Rondon - COPAGRIL pela concessão dos animais, medicamentos e ingredientes para as rações experimentais;

Muito obrigada!

BIOGRAFIA DO AUTOR

KEILA ABADIA BARBOSA – Filha de Jose Batista Barbosa e Benedita Bento Barbosa, nasceu em Piracanjuba, estado de Goiás, no dia 15 de agosto de 1973. Em 2007, ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Campus Uberaba, na cidade de Uberaba – MG, concluindo o mesmo no ano de 2012. No ano de 2014, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri na cidade de Diamantina - MG, nível mestrado, sob a orientação do Prof. Dr^a. Sandra Regina de Freitas Pinheiro, concluindo o mesmo no ano de 2016. Em 2017 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, nível doutorado, sob a orientação do Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho, submetendo-se ao exame de qualificação no dia 18 de setembro de 2020 e à defesa de tese em 26 de agosto de 2022.

LISTA DE TRABELAS

Tabela 1- Composição percentual e valores nutricionais calculadas e analisados das dietas fornecidas durante o período experimental para leitões em fase de creche (como base alimentada).....	52
Tabela 2- Desempenho zootécnico de leitões alimentados com dietas contendo blends de aditivos alimentares.....	59
Tabela 3- Coeficientes de digestibilidade aparente, valores de nutrientes e energia digestíveis das dietas contendo blends alimentares	60
Tabela 4- Ocorrência de diarreia (%) de leitões durante a fase de creche, alimentados com dietas contendo blends de aditivos alimentares.....	61
Tabela 5 - Valores médios de pH do trato gastrintestinal de leitões alimentados com dietas à base de blends de aditivos alimentares.	61
Tabela 6- Valores médios de pH do trato gastrintestinal de leitões alimentados com dietas à base de blends de aditivos alimentares.	62
Tabela 7- Valores de médias da concentração de glicose e ureia (mg/dL) de leitões, alimentados com dietas contendo blends de aditivos alimentares.	62
Tabela 8- Valores médios do perfil hematológico e bioquímico no soro de leitões aos 25 dias de experimento, alimentados com dietas contendo blends de aditivos alimentares.	63
Tabela 9- Valores médios do perfil hematológico e bioquímico no soro de leitões aos 44 dias de experimento, alimentados com dietas contendo blends de aditivos alimentares.	64
Tabela 10- Valores médios de peso de órgão relativo (como porcentagem de peso corporal) do TGI de leitões alimentados com dietas à base de blends de aditivos alimentares.	65
Tabela 11 - Médias de alturas de vilosidades (AV), profundidas de criptas (PC) e relação AV:PC dos seguimentos jejuno e íleo em leitões, alimentados com dietas contendo blends alimentares.	66
Tabela 12- Valores de escores médios histopatológicos do jejuno e íleo de leitões aos 44 dias de experimento, alimentados com dietas contendo blends alimentares.	66
Tabela 13- Composição percentual das dietas fornecidas durante o período experimental de leitões na fase de creche (como base alimentada).....	86

Tabela 14- Desempenho zootécnico de leitões durante a fase de creche alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina.	91
Tabela 15 - Ocorrência de diarreia (%) de leitões durante a fase de creche, alimentados com rações contendo monoglicerídeo e tributirina.	92
Tabela 16 – Variáveis bioquímicas sanguíneas de leitões durante a fase de creche alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina.	93
Tabela 17- Peso de órgãos relativo digestórios e não digestórios (como porcentagem de peso corporal) e pH do conteúdo trato digestório de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina (aos 35 dias de experimentação).	94
Tabela 18- Avaliação de altura de vilosidades (AV) e profundidade de criptas (PC) e relação AV:PC dos segmentos jejuno e íleo de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeo e tributirina (aos 35 dias de experimentação).....	95
Tabela 19- Morfologia intestinal da porção jejunal e ileal de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina (aos 35 dias de experimentação)....	95
Tabela 20- Contagem de populações bacterianas (log ₁₀ UFC/g) de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina (aos 35 dias de experimentação).	96

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABPA – Associação Brasileira de Proteína animal
- ABIEC – associação Brasileira das Indústrias Exportadoras
- AIC - Critério de Informação de Akaike
- Alb – Albumina
- Alb/Glob – Relação albumina globulina
- ALT – Alanina aminotransferase
- ANT - Antibiótico
- AST – aspartato aminotransferase
- AV – Altura de vilosidades
- AV/PC – Relação altura de vilosidades e profundidade de criptas
- BAL – Bactérias ácido lácticas
- °C – Graus célsius
- CA – Conversão alimentar
- CRDM – Consumo diário de ração médio
- Cél – célula
- CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais
- CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média
- Delg. - Delgado
- DC – Dieta controle
- dL – Decilitro
- EA – Eficiência alimentar
- EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
- EFSA - European Food Safety Authority
- EM – Energia metabolizável
- EMA - European Medicines Agency
- EMB – Eosina azul de metileno
- EPM – Erro Padrão da Média
- FA – Fosfatase Alcalina
- FAPESB – Fundo de amparo à pesquisa do Estado da Bahia
- FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

FDA – Food and Drug Administration
g – Grama
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média
GLM – General linear models
GPCD – Ganho de peso corporal diário
GEPS – Grupo de estudos e pesquisas em suínos
Int - Intestino
kg – Quilograma
L – Litro
log – Logaritmo
MAPA – Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg – Miligrama
min – Minuto
mL – Mililitros
mm – Milímetro
MOA – Maintenance Organisations
MRS – De Man, Rogosa e Sharpe
NRC - National Research Council
OD – Ocorrência de diarreia
OIE – Organização Mundial da Saúde Animal
OMC – Organização Mundial do Comércio
OMS – Organização Mundial de Saúde
PC – Profundidade de criptas
PCA – Agar padrão para contagem
pH – Potencial hidrogeniônico
ppm – Partes por milhão
PPT – Proteína total
RDW - Red Cell Distribution Widt
rpm – Rotações por minuto
SAS – Statical Analysis System
SCFA - ácidos graxos de cadeia curta
TCA – Taxa de conversão alimentar

TGI – Trato gastrintestinal

Trib - Tributirina

ton – tonelada

UFBA – Universidade Federal da Bahia

UFC – Unidade formadora de colônias

UFVJM – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

VCM – Volume Corpuscular Médio

vs – Versus

µm – Micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
	2.1 A importância do Brasil na produção mundial de suínos.....	19
	2.2 Desmame e incidência de diarreia em leitões.....	19
	2.3 Período de transição nos pós-desmame de leitões.....	20
	2.4 Características da microbiologia intestinal de leitões	22
	2.5 Restrições à utilização dos antibióticos.....	23
	2.6 Utilização de aditivos alimentares em animais de produção.....	25
	2.7 Ácidos orgânicos	28
	2.8 Levedura hidrolisada desidratada	29
	2.9 Proteinato de zinco	30
	2.10 Monoglicérides	31
	REFERÊNCIAS	33
3	AVALIAÇÃO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMBINADOS EM DIETAS DE LEITÕES DURANTE A FASE DE CRECHE PARA APOIAR O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL.....	44
	INTRODUÇÃO.....	49
	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
	RESULTADOS	59
	DISCUSSÃO.....	67
	CONCLUSÃO.....	72
	REFERÊNCIAS	73
4	O PAPEL DA TRIBUTIRINA E MONOGLICÉRIDES EM DIETAS PARA SUPORTAR O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE LEITÕES DE CRECHE	
	81	
	INTRODUÇÃO.....	84
	MATERIAL E MÉTODOS.....	85
	RESULTADOS	91
	DISCUSSÃO.....	97
	CONCLUSÃO.....	102
	REFERÊNCIAS	103

1 INTRODUÇÃO GERAL

A busca por aditivos alimentares tem por objetivo eliminar a utilização de antibióticos melhoradores de desempenho na dieta de animais de produção. Visando melhorias na produtividade suinícola, reduziu-se a idade ao desmame, o que representa uma prática de manejo sensível devido ao estresse provocado. Os estressores ambientais, psicológicos, de saúde e nutricionais podem levar a uma variedade de distúrbios fisiológicos e metabólicos na fase pós-desmame (GIANNENAS et al., 2014; CAMPBELL et al., 2013).

Esses eventos podem comprometer a saúde e limitar o desenvolvimento geral dos animais, resultando na presença de patógenos oportunistas no trato gastrointestinal. O conhecimento dos fatores que influenciam o desempenho animal, a saúde intestinal e sua interação com o ambiente depende de mais pesquisas e do desenvolvimento de diretrizes que visem melhorar esses parâmetros, minimizando assim os efeitos deletérios de patógenos, principalmente a ocorrência de diarreias durante esse período.

Devido às restrições ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho na alimentação animal, ao surgimento de cepas resistentes e por questões de saúde pública (CARON, 2021), tornou-se urgente a necessidade de reduzir ou eliminar seu uso em animais de produção (OMONIJO et al., 2018). Além de desenvolver novas alternativas aos antibióticos melhoradores de desempenho de forma segura, espera-se aumento na capacidade de digestão e absorção dos nutrientes, propiciando melhoras na saúde geral dos animais e conseqüentemente, aumento na atividade dos microrganismos que agem benéficamente no sistema digestivo (CHO et al., 2011; DE LANGE et al., 2010; TOLEDO et al., 2017; LI et al., 2019). Tal necessidade surgiu devido sua banição na União Européia, sendo permitido apenas com a finalidade curativa.

Nesse contexto, devem-se avaliar outras opções alternativas aos antibióticos melhoradores de desempenho, por exemplo, atuando na redução de patógenos no trato gastrointestinal e na melhoria das estruturas intestinais (LI et al., 2019). Assim dentro do contexto de produto deve-se considerar que os produtos substitutivos precisam ser eficazes, seguros, facilidade de uso e baratos (RICKE, 2003). Os *blends* se destacam por serem misturas de compostos que possuem uma capacidade mais potente de mitigar os efeitos do desmame do que aditivos usados isoladamente (NOVAK et al., 2019; LIU et

al., 2018). Melhora da função imunológica, modulação de microrganismos existentes, aumentos na digestibilidade de nutrientes, além de elevação de índices no desempenho zootécnico dos animais de produção (MACHINSKY et al., 2010; FANG et al., 2014; NGUYEN et al., 2020).

Portanto, na área da saúde intestinal, alguns aditivos alimentares amenizam os efeitos negativos da descontinuação dos antibióticos promotores de desempenho em suínos (LIU et al., 2018), devido às suas substâncias químicas que favorecem o crescimento de bactérias benéficas devido a redução do pH, melhorando digestibilidade e a absorção dos nutrientes, favorecendo o desempenho e redução de OD (GRILLI et al., 2010; DIAO et al., 2015; LUISE et al., 2017; LIU et al., 2018). Os resultados do uso de aditivos dependerão da complexidade do tipo e forma de inclusão (LIU et al., 2018), promovendo o aumento da imunidade da mucosa, afetando positivamente o desempenho, melhorando a saúde, além de modular os microrganismos intestinais (SAUER et al., 2011; JIANG et al., 2015; SARTORE, 2019; BERTO, 2020).

Os efeitos benéficos de aditivos na alimentação de suínos têm sido demonstrados em diversos estudos (MACHINSKY et al., 2010; FANG et al., 2014; LUISE et al., 2017; LIU et al., 2018; NGUYEN et al., 2020) mas possuem diferentes efeitos, quanto ao mecanismo de ação, processamento, composição química e características do animal (idade, sexo, ascendência, estado de saúde). Devido a essas diversidades de efeitos, há necessidade constante de aprimoração das técnicas de nutrição utilizadas, que requer conhecimento de possíveis efeitos nocivos, além de adequações visando o atendimento das exigências nutricionais dos leitões.

Portanto este estudo foi conduzido sob condições que aditivos alimentares preventivos, combinados ou não, são potenciais substitutos aos antibióticos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche, por meio do desempenho dos animais, digestibilidade, ocorrência de diarreia, pH intestinal, morfometria e morfologia do epitélio intestinal, peso de órgãos e microbiologia intestinal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A importância do Brasil na produção mundial de suínos

O Brasil ocupa o quarto lugar no mundo em produção e exportação de carne suína, somando mais de 4.231.000 toneladas até 2021, segundo a ABPA. A produção de suínos está distribuída da seguinte forma: em 2021 a região Sul do País representou 71,48% de abate de suínos, seguida pela região Sudeste 12,92 % e Centro-Oeste 15,46 %, e demais regiões com 0,14 % do total de abate no Brasil. O Brasil sempre se destacou neste campo por demonstrar qualidade de produto reconhecida internacionalmente, atendendo aos mercados mais exigentes como Japão e Coreia do Sul, ABPA (2021).

Por outro lado, os países produtores de carne suína estão fazendo ajustes no uso de antibióticos melhoradores de desempenho, inclusive, no Brasil alguns ingredientes ativos foram banidos conforme IN 65/2006 e a IN 4/2011/DAS/MAPA, proibindo que a ração, o suplemento, o premix, o núcleo ou o concentrado não contenha aditivos melhoradores de desempenho ou anticoccidianos com o mesmo princípio ativo do medicamento a ser incorporado. O Brasil vem seguindo procedimentos adotados na Europa, pois, alguns mercados importadores exigem que os procedimentos de produção acompanhem as normas internacionais de preferências as exigidas pela União Europeia (PENZ Jr.; KOLLER, 2007).

Assim, aditivos naturais como probióticos, prebióticos, óleos essenciais, ácidos orgânicos e outros, vem produzindo respostas consistentes como promotores de crescimento na produção animal. A adição destes aditivos às dietas de leitões pode afetar positivamente a microbiota intestinal, ativar o sistema imunológico e melhorar a manutenção da homeostase animal (BRESTOFF E ARTIS, 2013), podendo representar uma alternativa eficiente e segura ao uso de antibióticos, promovendo melhorias no desempenho, com foco nas fases de pós-desmame, considerada como a mais sensível da produção suinícola (RUTZ e LIMA, 2001).

2.2 desmame e incidência de diarreia em leitões

A tecnificação do setor suinícola tornou-se um desafio para pesquisadores, indústrias e produtores. A busca por leitegadas maiores e melhores pesos ao nascimento e desmama, além de melhores resultados na eficiência de partos/porcas/ano e o número de animais terminados, só é possível se houver melhorias nas técnicas de manejo diário e o uso de melhoradores de distúrbios gastrintestinais nas fases iniciais da vida dos leitões.

Esse período de separação dos leitões tem sérias consequências para a saúde e comportamento devido ao estresse do pós-desmame (ambiental, nutricional, psicológico e social), pois esses animais ainda não estão maduros fisiologicamente para digerir alimentos de origem vegetal, uma vez que se alimentam apenas do leite materno, que possui alta digestibilidade. A separação materna, o contato com outros lotes de leitões e a mudança de ambientes também geram estresse que contribui para o baixo desenvolvimentos dos leitões nessa fase (MORÉS et al.,1990; BERTOL, 2000; PLUSKE et al., 2013).

Durante o período considerado crítico, os efeitos devem ser reduzidos fornecendo alimentos de alta digestibilidade, além da necessidade de combinar ingredientes e/ou combinar com aditivos alimentares que possam diminuir os efeitos de problemas digestivos como a liberação de doenças patogênicas (HILL et al., 2014), alterações na população microbiana (LIAO e NYACHOTI, 2017), reduzindo o pH, favorecendo a microbiota que promove a saúde intestinal (SUIRYANRAYNA e RAMANA, 2015) que ocorre nessa fase, para melhorar e promover o consumo, para que o desenvolvimento dos leitões seja satisfatório neste período (PLUSKE et al., 2013).

De acordo com Pluske. (2016), a transição do desmame, ou seja, a transição da alimentação líquida para uma alimentação sólida, está diretamente ligado às disfunções impostas ao seu trato gastrointestinal, como inflamações intestinais, diminuição de altura de vilosidades e maior profundidade das criptas, alterando os processos de absorção de nutrientes, resultando em ocorrências de diarreias e conseqüentemente afetando o desempenho zootécnico e a saúde dos animais.

2.3 Período de transição nos pós-desmame de leitões

O período de desmame tem sérias consequências para a saúde e comportamento dos leitões devido ao estresse pós-desmame, pois esses animais ainda apresentam certa

imaturidade no trato gastrointestinal que não permite a utilização de nutrientes durante a digestão dos alimentos de origem vegetal. Isso os torna vulneráveis ao desequilíbrio da microbiota, que afeta e compromete diversos processos fisiológicos, crescimento, nutrição e o sistema imunológico dos suínos (CANIBE et al., 2019). Um microbioma bem colonizado é capaz de proteger os leitões do desenvolvimento de bactérias patogênicas e outras espécies indesejáveis (PÉREZ et al., 2015).

Durante o processo de desmame, os animais podem apresentar distúrbios intestinais, como diarreia, onde a *E. coli* é o principal patógeno envolvido (SOLER et al., 2018) e o declínio do desempenho (HEO et al., 2013), além de causar estresse oxidativo, que causa inflamações no tecido epitelial e diminuição da integridade do tecido epitelial (VAN DER AAR et al., 2017). Devido à alta taxa de perda celular e à diminuição da taxa de renovação celular, ocorre a atrofia de vilosidades e conseqüentemente o aprofundamento das criptas, o que também pode ser considerada devido ao jejum prolongado e ao estresse em que os animais enfrentam ao serem manuseados (PRUSKE et al., 1997).

O aumento da profundidade da cripta e a diminuição do comprimento das vilosidades podem estar diretamente relacionadas à redução das atividades enzimáticas das lactase e sacarase na borda escova encontrada na membrana. Nesse período, a produção dessas enzimas é bastante reduzida e quase ausente, devido à mudança na dieta animal, de leite materno, para alimentos com ingredientes de origem vegetal (PLUSKE et al., 1997).

Diante desses eventos, o possível contato com bactérias ou parasitas intestinais leva ao risco da saúde intestinal, causando disfunção do trato gastrointestinal, afetando negativamente o microbioma intestinal. A proposta de utilização de aditivos alimentares que promovam a saúde intestinal durante essa fase, e que haja prevenção de distúrbios digestivos no período de desmame (SOLER et al., 2018).

Esses desafios estão ligados ao baixo poder digestivo; baixa atividade enzimática, na produção de muco, responsável pelo fornecimento de nutrientes ao microbioma atual, o que ocasiona diversos processos ligados ao funcionamento imaturo do intestino do animal (VAN DER AAR et al., 2017).

2.4 Características da microbiologia intestinal de leitões

A microbiota intestinal de suínos é estimada em cerca de 500 a 1000 espécies que habitam em ampla gama de equilíbrio animal/hospedeiro (KIM, et al., 2015). Ainda, segundo Cristani (2008), esses pequenos microrganismos são responsáveis por manter o bem-estar e a saúde desses animais.

Cerca de 90 por cento desta população é constituída por bactérias aeróbicas, anaeróbicas e facultativas, responsáveis pela produção de ácido láctico (*Lacobacillus spp*, *Bifidobacterium lactis*), incluindo bactérias aeróbicas (*Bacteriides spp*, *Fusobacterium spp* e *Eubacterium spp*), parte da microbiota intestinal (CRISTANI, 2008). As bactérias consideradas nocivas ao trato gastrointestinal, compõem os 10% restantes, com destaque para as famílias de *Escherichia coli* e *Clostridium spp*, entre outras. De certa forma, a presença dessa microbiota intestinal é considerada normal e benéfica para a saúde e desempenho animal (GUEVARA et al., 2018).

Outros fatores, como o tamanho do intestino, altos níveis de turnover proteico, além de rápidas mudanças na composição dos microrganismos (PLUSKE, et al., 1997), podem causar um desequilíbrio que favorece bactérias patogênicas. Esse desequilíbrio em relação aos microrganismos pode causar competição, reduzindo bastante a população de bactéria benéficas no intestino (MATHEW et al.,1993).

Se ocorrem alterações devido a nova alimentação sólida, há mudanças na composição do trato gastrointestinal devido à imaturidade intestinal (ADEWOLE et al., 2016), nos leitões após o desmame ocorre o desenvolvimento de bactérias patogênicas. Isso porque a estação é considerada importante para os animais e é ideal para bactérias oportunistas, que causam lesões intestinais. Durante esse período de transição, considerado importante para o desenvolvimento do trato gastrointestinal do animal, ocorrem síndromes diarreicas, distúrbios fisiológicos e metabólicos (DOMENEGHINI et al., 2006); mesmo que haja uma pequena produção de lactobacilos, fazendo com que o leitão esteja mais susceptível à diarreia.

Segundo estudos (PLUSKE et al., 1995; DENCK et al., 2017; GRECCO et al., 2018) a produção de ácido clorídrico não tem sua maior produção no estômago de leitões no pós-desmame, e o pH do estomacal se encontra favorável à colonização de bactérias patogênicas. Portanto, esses episódios podem ser reduzidos com o consumo de alimentos

que contenham lactose, pois reduz gradativamente o pH, permitindo o desenvolvimento de bactérias anaeróbicas benéficas (*Lactobacillus*, *Streptococcus lactis*, *S. faecalis* e *S. termophilus*).

A microbiota se estabelece no trato intestinal, imediatamente após o nascimento dos leitões. Pluske et al. (1997), especificando que o TGI do leitão é composto por bactérias de origem materna e do ambiente. Essa combinação influencia a estrutura, capacidade digestiva e absorptiva, que responderá à adaptação e desenvolvimento até a vida adulta. Além disso, é comum que os leitões desenvolvam diarreias após o desmame, condição fortemente associada ao aumento de *E. Coli*. A situação antiga é de cerca de 4% de mortes de leitões no sistema de produção suinícola, o que causa grandes perdas econômicas em todo o mundo (ABRAHÃO et al., 2004).

2.5 Restrições à utilização dos antibióticos

O uso excessivo e acrítico de antibióticos promotores de desempenho, tem levado ao surgimento de bactérias resistentes aos agentes antimicrobianos e ao processo mutagênico em humanos e animais, causando preocupação à Organização Mundial da Saúde. Em novembro de 2016, foi publicada a Estratégia da OIE sobre resistência antimicrobiana e o uso prudente de antibióticos mantendo a padronização de alguns princípios ativos desde 2006. Desde então, há interesse na produção de animais sem ajuda de antibióticos promotores de desempenho em todo mundo, devido ao conhecimento dos perigos da resistência bacteriana aos antibióticos que também são utilizados na medicina humana (BAGER et al., 2000).

Desde então a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Organização das Nações Unidas para a Agricultura (FAO) e o Codex Alimentarius; além da opinião pública, promovem o uso responsável e prudente de agentes antimicrobianos em animais de produção, a fim de manter sua eficácia terapêutica e aumentar seu uso em animais e humanos. A OIE, estabeleceu padrões intergovernamentais para resistência a antibióticos e monitoramento da quantidade de agentes antimicrobianos usados, trabalhando em estreita colaboração com seus Países membros, OMS, FAO e a Comissão Codex Alimentarius, pois reconhece a importância do acesso aos antibióticos eficazes (SANTIAGO e BUSS, 2018). O mapeamento dos rebanhos brasileiro, permitiu maior

controle da biossegurança, para garantir produto de alta qualidade. O país apresenta um risco muito baixo para Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE, 2016), que garante produtos saudáveis; que receberam alimentação suficiente e um certificado de garantia para o mundo e pela população do Brasil.

Há pressão por uma produção sustentável de alimentos, desde novos padrões regulatórios até países com alta demanda. O desafio continua sendo aumentar a produção de ração animal, carnes, ovos, leite e seus derivados. Pois esse alimento, além de ser fonte de proteína, é considerado um produto rico em aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais, entre outros, sendo considerados de alta concentração e disponibilidade (WU et al., 2016).

Com a necessidades de se adequar aos sistemas globais de produção, principalmente às regulamentações sanitárias internacionais, os países em desenvolvimento são obrigados a cumprir diversas diretrizes da Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE) e seus parceiros, a fim de continuar exportando seus produtos de origem animal para segurança alimentar. Em um esforço para evitar consequências negativas na produção suína no mundo, a OIE (2014) apresenta uma alimentação diferenciada para os promotores do crescimento tradicional. Entre eles estão os probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos entre outros (PÉREZ et al., 2015; TESTER et al., 2017), que se mostram uma alternativa segura para a manutenção da saúde dos animais de produção.

No entanto, esses aditivos alimentares devem apresentar características importantes na produção suína, tais como: promover melhor desempenho zootécnico e não alterar as características organolépticas do produto final (carne, leite e ovos). Atualmente existe uma ampla gama de aditivos alimentares utilizados nas dietas de suínos, como os probióticos, que podem eliminar bactérias patogênicas (HILL et al., 2014), além de contribuir para manutenção da integridade do epitélio e dos tecidos linfoides (LIAO e NYACHOTI, 2017), prebióticos, que ajudam a aumentar a população de bactérias benéficas no intestino delgado, levando a redução de problemas entéricos, melhorando a saúde animal (VAN DER AAR et al., 2017).

Os ácidos orgânicos são responsáveis por reduzir o pH do estômago e de outras câmaras (butirato de sódio) para promover a saúde e o aumento de substâncias que promovem a saúde e o uso de nutrientes na alimentação (SUIRYANRAYNA e

RAMANA et al., 2015); e leveduras que geralmente auxiliam a microbiota intestinal, pois influenciam positivamente o desempenho e saúde animal (SUPERCHI et al., 2012; WAITITU et al., 2016). É considerado fonte direta de energia para os colonócitos (ROEDIGER, 1980), além de ser considerado um antiinflamatório, antioxidante natural e protetor do tecido da barreira intestinal (SAUER et al., 2011; WAITITU et al., 2016).

Fang et al. (2014), avaliando os efeitos do butirato de sódio sobre o desempenho zootécnico, parâmetros sanguíneos e imunológicos em leitões pós-desmame, observaram efeitos positivos na ocorrência de diarreia, além de aumentar o uso do nitrogênio, o que sugere redução dos efeitos sobre o estresse e manutenção da integridade da mucosa intestinal. Portanto, o uso de aditivos pode melhorar o desempenho e a digestão dos nutrientes, sendo muito importante na modulação da permeabilidade dos tecidos do intestino (HUANG et al., 2015), pois à medida que a permeabilidade intestinal aumenta, há uma deterioração das doenças autoimunes sob o ataque de bactérias, especialmente no íleo e cólon, como visto pela má regulação de fluídos e eletrólitos, embora a membrana seja seletiva.

2.6 Utilização de aditivos alimentares em animais de produção

Os aditivos são considerados substâncias adicionadas intencionalmente à alimentação de animais de produção, com o objetivo de melhorar a saúde de várias maneiras. Seja químico, físico, sensorial ou microbiológico, que trabalha para melhorar o desempenho final (BRITO et al., 2006).

Normativa IN 13/2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), alterada pelos despachos gerais n. 44 de 15/12/2015. Estabelece procedimentos básicos a serem adotados para avaliar o uso, registro e comercialização de aditivos utilizados na alimentação animal, para assegurar níveis adequados que proporcionem proteção à saúde humana, animal e ao meio ambiente.

Os aditivos zootécnicos são todas as substâncias utilizadas para ter um efeito positivo na melhoria do desempenho dos animais produtivos. Eles podem ser considerados como potencializadores de desempenho, devido à presença de substâncias quimicamente definidas, que atuam para melhorar os níveis de produção, além de aumentar o número de bactérias benéficas (HILL et al., 2014), que atendem às

necessidades nutricionais e não possuem ação antimicrobiana. Devido à exclusão de promotores de crescimento (antibióticos), alguns países europeus vêm fabricando aditivos alimentares considerados seguros (NOWAK et al., 2019), como probióticos, prebióticos, simbióticos, fitobióticos, ácidos orgânicos e inorgânicos, ácidos de cadeia curta e média, etc.

As técnicas apresentadas nestes tempos de mudança serão os suplementos zootécnicos, com propriedades digestivas funcionais e capacidade de manter o equilíbrio da microflora intestinal dos animais, promover a saúde intestinal e melhorar o desempenho, além de serem considerados seguros em relação à saúde dos animais (NOWAK et al., 2019). Portanto, a inclusão de aditivos alimentares pode ser considerada benéfica, devido à sua ação por aumentar a diversidade de microrganismos no trato intestinal e promover a exclusão da microbiota considerada patogênica (HILL et al., 2014).

A redução de *E. coli* foi relatada por Long et al. (2017) e Chen et al. (2016) onde foram utilizados aditivos ácidos na dieta de leitões recém-desmamados, mostrando a capacidade dos ácidos orgânicos em baixar o pH no trato intestinal, eliminando bactérias. No entanto, Koopmans et al. (2016) afirmaram que a eliminação de bactérias patogênicas ocorre através da despolarização da membrana, alterando o sistema de nutrientes e síntese. Um aumento na diversidade da microbiota benéfica foi relatado por Guilloteau et al. (2010), mostrando um aumento significativo na colonização de lactobacilos, além de uma diminuição de *E. Coli*, mostrando o efeito da adição de acidificantes à dieta de leitões desmamados e, portanto, reduzindo a incidência de diarreia.

Muitos aditivos alimentares são substâncias consideradas de uso, devido à sua origem vegetal (WANG et al., 2016), pertencentes ao grupo dos eubióticos. Um termo usado para se referir ao microbioma equilibrado no trato gastrintestinal de leitões desmamados (SOLER et al., 2018). Hung et al. (2019), suplementaram leitões desmamados com o probiótico *Bacillus licheniformis*, para avaliar os efeitos na ocorrência de diarreia e microbiota fecal. Os resultados mostraram que as substâncias possuem potencial para reduzir a ocorrência de diarreia e melhorar a comunidade da microbiota intestinal dos animais, com capacidade de substituir aditivos antibióticos na suinocultura.

Os acidificantes também são considerados de alto potencial para criar um ambiente intestinal favorável ao desenvolvimento de bactérias intestinais, permitindo que os animais utilizem melhor os nutrientes, reduzam a ocorrência de diarreia e, conseqüentemente, melhorem o desempenho zootécnico (LIU et al., 2018). A acidificação do estômago pode aumentar a atividade da pepsina devido à diminuição do pH, além de reduzir a atividade de bactérias patogênicas (KIL et al., 2011; ZENTEK et al., 2013).

Dentre as diversas representações químicas dos aditivos, o ácido butírico possui as características de um produto volátil e degradável. No entanto, quando combinado com outros produtos, tem efeitos positivos na digestão de proteínas e reduz a ocorrência de diarreia (MACHINSKY et al., 2010; FANG et al., 2014). Ao contrário do ácido butírico, a tributirina é liberada lentamente pela lipase gástrica. Mesmo sendo um precursor, as formas liberadas do trato intestinal são classificadas por estrutura química e modo de ação.

As frequências de renovação das células epiteliais são constantes e sua velocidade varia, sendo a do epitélio intestinal rapidamente, em períodos de 2 a 5 dias para serem substituídas. A inclusão da tributirina na alimentação atua como promotora da mitose, que promove a regeneração das células epiteliais no intestino dos leitões, aumentando assim a digestão dos nutrientes e, portanto, um melhor indicador de desempenho dos leitões (SAKDEE et al., 2016).

Carboidratos extraídos da parede celular de leveduras hidrolisadas, conhecidos como mananoligossacarídeos (MOS), fornecem uma combinação de açúcares simples, "nucleotídeos" benéficos durante os períodos mais críticos do desmame. Há relatos de aumento da altura da vilosidade, e da relação entre a altura de vilosidade e profundidade de cripta, além do aumento da proliferação das células intestinais e produção de mucina aumentada, o que aumenta a resistência às cepas patogênicas (SHEN et al., 2009; JIANG et al., 2009; JIANG et al., 2009; JIANG et al., 2015; LIU et al., 2018).

Os efeitos dos monoglicerídeos foram testados em diversos estudos, que afirmam que esses glicerídeos são capazes de proporcionar um efeito protetor no intestino delgado e promover a saúde intestinal (DE KEYSER et al., 2019), eliminando bactérias como *Salmonella* e *E. Coli*, além de aumentar a altura de vilosidades e o desempenho zootécnico (BOYEN et al., 2008; DE KEYSER et al., 2019).

2.7 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos caracterizam-se por serem ácidos fracos de cadeia curta e são encontrados principalmente em plantas e tecidos de origem animal. Dentre os ácidos orgânicos, o butirato de sódio e a tributirina são comumente utilizados, sendo adicionados à ração animal em pesquisas científicas. Por apresentar odor baixo, sólido e estabilidade no trato gastrintestinal (KOTUNIA et al., 2004). A tributirina é correlacionada com promoção de mitose do tecido epitelial (GUILLOTEAU et al., 2010) proporcionando efeitos no turnover proteico e elevando o comprimento das vilosidade e espessura da mucosa nos segmentos do jejuno e íleo (KOTUNIA et al., 2004).

Esses ácidos graxos, principalmente os de cadeia curta, atuam inibindo o crescimento de bactérias gram negativas: *E. coli* e *Salmonella spp* (LI et al., 2008). Os ácidos graxos de cadeia média possuem excelente atividade antimicrobiana em ambientes com pH elevados, ou seja, dentro da faixa neutra, contra bactérias gram-negativas e gram-positivas (ZENTEK et al., 2011). A ação desses ácidos graxos de cadeia média pode levar a diminuição do pH no estômago, duodeno, jejuno e íleo (ZENTEK et al., 2013).

Wang et al. (2016), observaram que leitões desmamados alimentados com ácidos orgânicos que continham 34% de formiato de cálcio, 16% de lactato de cálcio, 7% de ácido cítrico e 13% de ácidos graxos de cadeia média; apresentando melhora da digestibilidade dos nutrientes e na ocorrência de diarreias através da modificação da microbiota intestinal, o que também mostra efeito positivo no aumento do sistema imunológico e na saúde dos animais.

Da mesma forma, Hou et al. (2014), verificaram que tributirina, que é um precursor do ácido butírico, quando adicionado à dieta, reage com as ações da lipase intestinal, liberando três moléculas de butirato de sódio no lúmen intestinal, o que afeta benéficamente a mucosa epitelial do intestino dos leitões, aliviando lesões, prevenindo apoptose e promovendo redução do estresse oxidativo nas células. Portanto, há efeitos no desempenho, além de estimular a proliferação de vilosidades no intestino (LI et al., 2015; SAKDEE et al., 2016).

2.8 Levedura hidrolisada desidratada

A levedura hidrolisada, pode ser obtida por centrifugação dos subprodutos da fermentação alcoólica. Segundo, Silva (2009), além de possuir propriedades nutricionais, pode ser utilizada na alimentação de leitões, com o objetivo de prevenir a colonização de bactérias gastrintestinais de bactérias alta patogenicidade. Após a ingestão da levedura, enzimas endógenas e exógenas atuam na parede celular (*Sacharomyces cereviseae*) provocam sua hidrólise, disponibilizando o conteúdo celular.

Os prebióticos em sua composição uma parede celular repleta de carboidratos, chegando até 50% na matéria seca. Os mananoligossacarídeos fosforilados (MOS) são consideradas moléculas que não podem ser digeridas no intestino dos animais, e sua ação promove diretamente o desenvolvimento de bactérias benéficas da espécie *Bifidobacterium*, como afirma Barbalho (2009).

Outras propriedades benéficas estão relacionadas à sua composição química, que contém nutrientes que são benéficos para saúde intestinal dos animais. São eles: nucleotídeos, inositol, glutamato, proteínas, vitaminas e minerais, relacionados aos benefícios de melhorar as funções do intestino, fígado ou imunológico de animais, principalmente leitões (SAUER et al., 2011).

Considerado um promotor de crescimento, o inositol pode ser adicionado aos alimentos utilizando levedura hidrolisada. Sua função é participar como mensageiro dos processos fisiológicos, por isso é utilizado como um promotor de crescimento. Alguns compostos de levedura hidrolisada também participam da divisão celular, fazem parte do crescimento celular e da formação do sistema imunológico, contribuindo assim para a integridade intestinal (KWAK et al., 2014).

O uso de levedura hidrolisada na alimentação de aves e suínos, vem se consolidando a cada dia. Segundo Silva (2009), isso se deve às características expressas na composição química, pois apresenta bom equilíbrio de aminoácidos, fonte de vitaminas do complexo B, fonte de ácido nucléico, entre outros. Esses compostos proporcionam um aumento de vilosidades intestinais e na relação vilosidades/cripta, além de reduzir a profundidade de cripta, promovendo assim uma melhor absorção,

aumentando a imunidade, além de atuar como adsorvente de toxinas no sistema intestinal (ZHANG et al., 2019).

2.9 Proteinato de zinco

Considerado um aditivo tecnológico, o proteinato de zinco ou zinco orgânico ajuda a melhorar o desempenho, reduz a proliferação de microrganismos patogênicos no TGI, além de melhorar a integridade do sistema imunológico (MCDOWELL, 2003). O mineral zinco é essencial para o funcionamento saudável de muitos sistemas do organismo. É distribuído nos ossos, músculos, fígado, rins e pele dos seres vivos. É muito importante para a saúde da pele e essencial para um sistema imunológico saudável, regulação da atividade de moléculas como fatores de transcrição, enzimas e regulação hormonal (HARA et al., 2017). As fontes de zinco quelatado com aminoácidos são absorvidas através do sistema de transporte dos aminoácidos, resultando em melhor absorção e digestão. Devido a essas características do modo de absorção, a excreção de zinco na urina é reduzida em comparando com outras formas inorgânicas de zinco (RUPIC et al., 2004; ZANG et al., 2018).

A adição de zinco às dietas de suínos foi estabelecida em todo mundo e seus benefícios são conhecidos por melhorar a utilização da dieta e as funções ligadas ao sistema imune (HOJYO et al., 2016), reduzindo assim o estresse intestinal devido ao desmame, aumentando efetivamente o desempenho zootécnico dos leitões desmamados (BERGERON et al., 2017).

O zinco orgânico apresenta (quelatos) ligantes capazes de doar pares isolados de elétrons ao zinco (ACDA et al., 2002). Os proteinatos de zinco incluem aminoácidos em sua fórmula química, sendo sua principal via de absorção através do sistema de transporte de peptídeos ou aminoácidos, o que leva a uma melhor digestão e disponibilidade de zinco. Portanto, outros fatores, como potencial de quelação, interação entre minerais e composição da dieta, podem afetar a absorção e utilização do zinco orgânico (RUPIC et al., 2004).

Segundo Spears (1989), o zinco orgânico, aumenta a retenção do zinco, reduzindo assim a excreção do mineral, em comparação com o zinco inorgânico, portanto, reduz a poluição do meio ambiente (FENG et al., 2009). De acordo com o National Research

Council (NRC) de 2012, as recomendações de adição de zinco na dieta são de 100 mg / kg para leitões desmamados, com pesos entre 7 e 11 kg; e 80 mg / kg para aqueles com peso de 11 a 25 kg.

A Autoridade Europeia de Segurança dos Alimentos (EFSA 2014), sugeriu doses mais altas em comparação ao NRC, cerca de 150 mg de Zn / kg em alimentos completos para suínos em crescimento. Países europeus (EMA) e China (MOA), recomendam em seus protocolos doses menores em relação ao NRC, justificando os riscos ambientais. A alegação de risco é maior, em relação aos benefícios para a prevenção de problemas entéricos dos leitões.

Os resultados obtidos por Zang et al. (2018), comparando os efeitos dos níveis dos níveis inclusão de fontes de zinco, e dos níveis de quelatos de aminoácidos de zinco sobre o desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e bioquímicos em leitões, demonstraram que o proteinato de zinco melhora o desempenho de crescimento animal, enfatizando os efeitos na saúde intestinal, mas não foi observada diferença nos parâmetros sanguíneos.

2.10 Monoglicerídeos

A utilização de ácidos orgânicos na alimentação animal já é uma prática comum em vários países, estudos conduzidos afirmaram sua atuação no controle de diarreias durante o desmame de leitões, além de apresentar atividade antibacteriana e viral (FREITAG, 2007), esses sais podem influenciar no desempenho zootécnico dos animais (DE KEYSER et al., 2019).

Os sais de monoglicerídeos são produzidos sinteticamente e possuem propriedades intrínsecas de liberação lenta, sem odor ou sabor (ZENTEK et al., 2011), devida à sua fórmula química contendo uma cadeia de ácido graxo ligado ao glicerol. Apresenta-se em vários formatos, seja na forma de cápsula, pó ou líquido, que atua na mitigação de microrganismos patogênicos através da redução do pH do estômago e selecionando bactérias benéficas ao trato gastrintestinal (JOSHUA et al., 2020).

Estudos in vitro mostram diferentes atividades antimicrobiana entre os ácidos graxos de cadeia curta e média, que são ativos contra bactérias gram-negativas e gram positivas (MESSENS et al., 2010; JOSHUA et al., 2020), causando lise e a morte celular

bacteriana. O que ocorre devido suas propriedades anfipáticas e desestabilização da membrana que causa a permeabilidade da célula e também a formação de poros (YOON et al., 2018).

De acordo com Zhang et al. (2019) os ácidos graxos de cadeia curta e média são eficientemente absorvidos e facilmente digeridos quando utilizados na dieta de leitões, apresentando atividade semelhante aos antibióticos quando utilizados para promoção do crescimento, além de causar aumentos nas concentrações de linfócitos melhorando a imunidade animal. Os ácidos graxos são elementos essenciais e importantes em vários processos biológicos como proliferação de novas células, sistema de reprodução, sistema imunológico e a atividade antimicrobiana (ALBINO et al., 2006; TESTER et al., 2017; GRECCO et al., 2018), então, a composição de ácidos graxos do organismo animal deve-se a dieta consumida, o que se reflete diretamente no desempenho e saúde do leitão.

Em um estudo de Gebhardt et al. (2020), leitões alimentados com dietas contendo 1% de Ácidos caprónico, caprílico e cáprico (mistura 1:1:1) ou uma das duas misturas (proporção 12:48:40 ou 4:54:38), apresentaram diminuição na população de *E. coli* e encontraram níveis semelhantes de atividade em dietas com antimicrobianos. Resultados semelhantes foram obtidos por Hanczakowska et al. (2011), observaram uma diminuição na mortalidade e um aumento nos coeficientes de digestibilidade de proteína e fibra. O número de *clostridium perfringens* foi reduzido e a estrutura da mucosa ileal foi melhorada.

Os aditivos são muitas vezes o foco de pesquisas em andamento envolvendo leitões desmamados, estratégias que visam melhorar esse período e substituir os antibióticos que vêm sendo retirados gradativamente da alimentação animal. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes aditivos nas dietas, sobre o desempenho zootécnico e saúde intestinal de leitões desmamados.

REFERÊNCIAS

- ABPA, Relatório anual 2021. Associação Brasileira de Proteína Animal (abpa-br.org). Acessado em 20/04/2022.
- ABRAHÃO, A. A. F.; VIANNA, W. L.; CARVALHO, L. F. O.; MORETTI, A. S. Causas de mortalidade de leitões neonatos em sistema intensivo de produção de suínos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 2, p. 86-91, 2004.
- ACDA, S. P.; CHAE, B. J. A review on the application of organic trace minerals in pig nutrition. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 1, p. 25-30, 2002.
- ADEWOLE, D.; KIM, I.; NYACHOTI, C. Gut Health of Pigs: Challenge Models and Response Criteria with a Critical Analysis of the Effectiveness of Selected Feed Additives — A Review: **Asian-Australas Journal Animal Science**, v. 29, n. 7, p. 909-924, 2016.
- ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONIZIO, M. A.; ROSTAGNO, H. S.; VARGAS JÚNIOR, J. G. D.; CARVALHO, D. C. D. O.; GOMES, P. C.; COSTA, C. H. R. Use of mannaoligosaccharid based prebiotic in the broiler diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 742-749, 2006.
- ANDRADE, C.; ALMEIDA, V. V.; COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Levedura Hidrolisada Como Fonte de Nucleotídeos Para Leitões Recém-Desmamados. **Revista Brasileira De Zootecnia**, v. 40, n. 4, p. 788–796, 2011.
- BAGER, F.; AARESTRUP, F. M.; WEGENER, H. C. Dealing with antimicrobial resistance – the Danish experience. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 80, p. 223–228, 2000.
- BARBALHO, R. L. C. **Suplementação de levedura hidrolisada (Hilyses®) nas dietas de frangos de corte**. 59f. Pirassununga, SP. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2009.
- BERGERON, N.; ROBERT, C.; GUAY, F. Feed supplementation with arginine and zinc on antioxidant status and inflammatory response in challenged weanling piglets. **Animal Nutrition**, v. 3, p. 236-46, 2017.
- BERTO, P. N.; TSE, M. L.; RAMOS, D. R.; SALEH, M. A.; MIASSI, G. M.; YAMATOOGI, R. S.; BERTO, D. A.; MESSIAS, A. T. N. Dietary supplementation

- with hydrolyzed yeast and its effect on the performance, intestinal microbiota, and immune response of weaned piglets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.
- BERTOL, T. M. **Nutrição e alimentação dos leitões desmamados em programas convencionais e no desmame precoce**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves. p. 44, 2000.
- BOYEN, F.; HAESEBROUCK, F.; VANPARYS, A.; VOLF, J.; MAHU, M.; VAN IMMERSSEEL, F.; RYCHLIK, J.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F. Coated fatty acids alter virulence properties of Salmonella Typhimurium and decrease intestinal colonization of pigs. **Veterinary microbiology**, v. 132, n. 3-4, p. 319-327, 2008.
- BRESTOFF, J. R.; ARTIS, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. **Nature Immunology**, v. 14, p. 676–684, 2013.
- BRITO, J. Á. G. D.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, É. J.; RODRIGUES, P. B.; & FREITAS, R. T. F. D. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1342-1348, 2006.
- CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, Joe D.; POLO, Javier. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2013.
- CANIBE, N.; O'DEA, M.; ABRAHAM, S. Potential relevance of pig gut content transplantation for production and research. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 1-19, 2019.
- CARON, Evelyn Fernanda Flores. **Comparação temporal do perfil de resistência in vitro aos antimicrobianos em isolados de Salmonella spp. de carne de frango entre 2004–2020**, 2021.
- COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; ALMEIDA, V. V.; TSE, M. L. P.; BRAZ, D. B.; ANDRADE, C.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 231, p. 687-698, 2011.
- CHEN, J. L.; ZHENG, P.; ZHANG, C.; YU, B.; HE, J.; YU, J.; LUO, J. Q.; MAO, X. B.; HUANG, Z. Q.; CHEN, D. W. Benzoic acid beneficially affects growth performance of weaned pigs which was associated with changes in gut bacterial populations,

- morphology indices and growth factor gene expression. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 2016.
- CHO, J. H.; ZHAO, P. Y.; KIM, I. H. Probiotics as a dietary additive for pigs: a review. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, n. 16, p. 2127-2134, 2011.
- CRISTANI, J. **Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém desmamados**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. v. 57 f. 28. 2008.
- DENCK, F. M.; HILGEMBERG, J. O.; LEHNEN, C. R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 629-638, 2017.
- DE KEYSER, K.; DIERICK, N.; KANTO, U.; HONGSAPAK, T.; BUYENS, G.; KUTERNA, L.; VANDERBEKE, E. Medium-chain glycerides affect gut morphology, immune-and goblet cells in post-weaning piglets: In vitro fatty acid screening with *Escherichia coli* and in vivo consolidation with LPS challenge. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 103, n. 1, p. 221-230, 2019.
- DE LANGE, C. F. M.; PLUSKE, J.; GONG, J.; NYACHOTI, C. M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, v. 134, n. 1-3, p. 124–134, 2010.
- DOMENEGHINI, C. A.; DI GIANCAMILLO, S.; ARRIGHI, G.; BOSI, G. Gut-trophic feed additives and their effects upon the gut structure and intestinal metabolism. State of the art in the pig, and perspectives towards humans. **Histology Histopathology**, v. 21, p. 273- 283, 2006.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. EFSA Guidance Document for evaluating laboratory and field dissipation studies to obtain DegT50 values of active substances of plant protection products and transformation products of these active substances in soil. **EFSA Journal**, v. 12, n. 5, p. 3662, 2014.
- FANG, C. L.; SUN, H.; WU, J.; NIU, H. H.; FENG, J. Effects of sodium butyrate on growth performance, haematological and immunological characteristics of weanling piglets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 4, p. 680-685, 2014.

- FREITAG, C. M. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. **Molecular psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 2-22, 2007.
- FENG, M.; WANG, Z. S.; ZHOU, A. G.; AI, D. W. The effects of different sizes of nanometer zinc oxide on the proliferation and cell integrity of mice duodenum-epithelial cells in primary culture. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, p.1164-6, 2009.
- GEBHARDT, J. T.; THOMSON, K. A.; WOODWORTH, J. C.; DRITZ, S. S.; TOKACH, M. D.; DeROUCHEY, J. M.; GOODBAND, R. D.; JONES, C. K.; COCHRANE, R. A.; NIEDERWERDER, M. C.; FERNANDO, S.; ABBAS, W.; BURKEY, T. E. Effect of dietary medium-chain fatty acids on nursery pig growth performance, fecal microbial composition, and mitigation properties against porcine epidemic diarrhea virus following storage. **Journal of Animal Science**, v. 98: skz358, 2020.
- GIANNENAS, I.; PAPANEOPHYTOU, C. P.; TSALIE, E.; PAPPAS, I.; TRIANTAFILLOU, E.; TONTIS, D.; KONTOPIDIS, G. A. Dietary supplementation of benzoic acid and essential oil compounds affects buffering capacity of the feeds, performance of turkey poults and their antioxidant status, pH in the digestive tract, intestinal microbiota and morphology. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 2, p. 225, 2014.
- GRECCO, H. A.; AMORIM, A. B.; SALEH, M. A.; Tse, M. L.; TELLES, F. G.; MIASSI, G. M.; PIMENTA, G. M.; BERTO, A. D. Evaluation of growth performance and gastro-intestinal parameters on the response of weaned piglets to dietary organic acids. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 401-414, 2018.
- GRESSE, R.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; FLEURY, M. A.; WIELE, T. V.; FORANO, E.; BLANQUET-DIOT, S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. **Trends in microbiology**, v. 25, n. 10, p. 851-873, 2017.
- GRILLI, E.; TUGNOLI, B.; FOERSTER, C. J.; & PIVA, A. Butyrate modulates inflammatory cytokines and tight junctions components along the gut of weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. suppl_3, p. 433-436, 2016.
- GUEVARRA, R. B.; HONG, S. H.; CHO, J. H.; KIM, BO-RA.; SHIN, J.; LEE, J. H.; KANG, B. N.; KIM, Y. H. WATTANAPHANSAK, S.; ISAACSON, R. E.; SONG,

- M.; KIM, H. B. The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2018.
- GUILLOTEAU, P.; MARTIN, L.; EECKHAUT, V.; DUCATELLE, R.; ZABIELSKI, R.; VAN IMMERSEEL, F. From the gut to the peripheral tissues: The multiple effects of butyrate. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 366-384, 2010.
- HANCZAKOWSKA, E.; SZEWCZYK, A.; OKOŃ, K. Effects of dietary caprylic and capric acids on piglet performance and mucosal epithelium structure of the ileum. **Journal of Animal Feed Sciences**, v. 20, n. 4, p. 556–565, 2011.
- HARA, T.; TAKEDA, T. A.; TAKAGISHI, T.; FUKUE, K.; KAMBE, T.; FUKADA, T. Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. **Jornal Physiology Science**, v. 67, p. 283-301, 2017.
- HEO, J. M.; OPAPEJU, F. O.; PLUSKE, J.R.; KIM, J. C.; HAMPSON, D. J.; NYACHOTI C. M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control postweaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, p. 207–237, 2013.
- HILL, C.; GUARNERF, R.; GIBSON, R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELL, I. L.; CANANIR, B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E.; The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology Hepatology**, v. 11, p. 506–514, 2014.
- HOJOYO, S.; FUKADA, T. Of zinc signaling in the immune system. **Journal of Immunology research**, Article ID 6762343, 2016.
- HOU, Y.; WANG, L.; YI, D.; DING, B.; CHEN, X.; WANG, Q.; ZHU, H.; LIU, Y.; YIN, Y.; GONG, J.; WU, G. Dietary supplementation with tributyrin alleviates intestinal injury in piglets challenged with intrarectal administration of acetic acid. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 10, p. 1748–1758, 2014.
- HUANG, C.; SONG, P.; FAN, P.; HOU, C.; THACKER, P.; & MA, X. Dietary sodium butyrate decreases postweaning diarrhea by modulating intestinal permeability and changing the bacterial communities in weaned piglets. **The Journal of nutrition**, v. 145, n. 12, p. 2774-2780, 2015.

- HUNG, D.Y.; CHENG, Y.H.; CHEN, W.J.; HUA, K.F.; PIETRUSZKA, A.; DYBUS, A.; LIN, C.S.; YU, Y.H. Bacillus licheniformis-Fermented Products Reduce Diarrhea Incidence and Alter the Fecal Microbiota Community in Weaning Piglets. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1145, 2019.
- JACKMAN, J. A.; BOYD, R. D.; ELROD, C. C. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2020.
- JIANG, Z.; WEI, S.; WANG, Z.; ZHU, C.; HU, S.; ZHENG, C.; CHEN, Z.; HU, Y.; WANG, L.; MA, X.; YANG, X. Effects of different forms of yeast Saccharomyces cerevisiae on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. **Journal Animal Science Biotechnology**, v. 6, p. 47-54, 2015.
- KIL, D. Y.; KWON, W.B.; & KIM, B. G. Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. **Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 231–247, 2016.
- KIM, H. B.; ISAACSON, R. E. The pig gut microbial diversity: understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. **Veterinary Microbiology**, v. 177, p. 242–51, 2015.
- KOOPMANS, S. J.; BIKKER, P.; VAN WIKSELAAR, P. G.; VAN KRIMPEN, M. M. 23 Inoculated fermented corn as dietary performance and health enhancer in pigs: literature and in vitro study. **Livestock Research**, v. 955, p. 3-19, 2016.
- KOTUNIA, A.; WOLIŃSKI, J.; LAUBITZ, D.; JURKOWSKA, M.; ROMÉ, V.; GUILLOTEAU, P.; ZABIELSKI, R. Effect of sodium butyrate on the small 28 intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 55, p. 59-68, 2004.
- KWAK, W.; KIM, J. N.; KIM, D.; JIN SU, J. H.; JEONG, J. H.; KIM, H.; CHO, S.; YOO YONG KIM, Y. Y. Genome-wide DNA methylation profiles of small intestine and liver in fast-growing and slow-growing weaning piglets. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v. 27, n. 11, p. 1532-1539, 2014.
- LALLÈS, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C. R. Weaning-a challenge to gut physiologists. **Livestock Science**, v.108, n. 1/3, p.82-93, 2007.
- LI, Z.; YI, G.; YIN, J.; SUN, P.; LI, D.; KNIGHT, C. Effects of organic acids on growth performance, gastrointestinal pH, intestinal microbial populations and immune

- responses of weaned pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 2, p. 252-261, 2008.
- LI, J.; HOU, Y.; YI, D.; ZHANG, J.; WANG, L. Effects of tributyrin on intestinal energy status, antioxidative capacity and immune response to lipopolysaccharide challenge in broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, n. 28, p. 1784-1793, 2015.
- LI, M.; LONG, S.; WANG, Q.; ZHANG, L.; HU, J.; YANG, J.; PIAO, X. Mixed organic acids improve nutrients digestibility, volatile fatty acids composition and intestinal microbiota in growing-finishing pigs fed high-fiber diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 6, p. 856, 2019.
- LIAO, S. F.; NYACHOTI, M. Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization. **Animal Nutrition**, n. 3, p. 331–343, 2017.
- LIU, Y.; ESPINOSA, C. D.; ABELILLA, J. J.; CASAS, G. A.; LAGOS, L. V.; LEE, S. A.; KWON, W. B.; MATHAI, J. K.; NAVARRO, D. M. D. L.; JAWORSKI, N. W.; STEIN, H. H. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. **Animal Nutrition**, 2018.
- LONG, S. F.; XU, Y. T.; PAN, L.; WANG, Q. Q.; WANG, C. L.; WU, J. Y.; WU, Y. Y.; HAN, Y. M.; YUN, C. H.; PIAO, X. S. Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, S0377840116311671–2017.
- LUISE, D.; MOTTA, V.; SALVARANI, C.; CHIAPPELLI M, FUSCO, L.; BERTOCCHI, M.; MAZZONI, M.; MAIORANO, G.; COSTA, L. N.; MILGEN, J. V.; BOSI, P.; TREVISI, P. Long-term administration of formic acid to weaners: influence on intestinal microbiota, immunity parameters and growth performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p. 160-168, 2017.
- MACHINSKY, T. G.; KESSLER, A. D. M.; RIBEIRO, A. M. L.; MORAES, M. D. L.; SILVA, I. C. M. D.; CORTÉS, M. E. M. Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2350-2355, 2010.
- MATHEW, A. G.; SUTTON, A. L.; SCHEIDT, A. B. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weanling pig. **Journal Animal Science**, v. 71, n. 6, p. 1503-1509, 1993.

- MCDOWELL, LEE RUSSELL. **Minerals in animal and human nutrition**. Elsevier Science BV, 2003.
- MESSENS, W.; GORIS, J.; DIERICK, N.; HERMAN, L.; HEYNDRICKX, M. Inhibition of *Salmonella typhimurium* by medium-chain fatty acids in an in vitro simulation of the porcine cecum. **Veterinary Microbiology**, n. 141, p. 73–80, 2010.
- MORÉS, N.; MARQUES, L. L. J.; SOBESTIANSKY, J.; OLIVEIRA, A.; COELHO, S. S. L. Influência do nível proteico e/ou da acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame em leitões causada por *Escherichia coli*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 10, n. 3/4, p. 85-88, 1990.
- NOWAK, P.; KASPROWICZ-POTOCKA, M.; ZAWORSKA, A.; NOWAK, W.; STEFAŃSKA, B.; SIP, A.; GRAJEK, W.; GRAJEK, K.; FRANKIEWICZ, A. The effect of combined feed additives on growing pigs' performance and digestive tract parameters. **Annals of Animal Science**, v. 19, n. 3, p. 807-819, 2019.
- NRC. Nutrient Requirements of Swine. 11th ed., Washington, DC, USA: **National Academy Press**, 2012.
- OIE - Organização Mundial de Sanidade Animal (2016). **Estatus de los países miembros respecto de la encefalopatía espongiiforme bovina**. Resolución N° 20 (84ª Sesión General de la Asamblea Mundial, mayo de 2016). Disponível em: <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/estatus-sanitariooficial/eeb/estatus-sanitariooficial/>. Acesso em 01 de julho, 2021.
- OMONJO, F. A.; NI, L.; GONG, J.; WANG, Q.; LAHAYE, L.; YANG, C. Faith A. et al. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 126-136, 2018.
- PENZ Jr., A. M.; KOLLER, F. L. A resposta brasileira as exigências no uso de antibióticos. In: CONGRESSO DA ABRAVES, 13., 2007, Florianópolis. Florianópolis: Embrapa Suínos e Aves, 2007. Palestra.
- PÉREZ, M. Q.; MILIÁN, F. G.; RONDÓ, A. J.; BOCOURT, R. S.; TORRES, V. Efecto de endosporas de *Bacillus subtilis* E-44 con actividad probiótica sobre indicadores fermentativos en órganos digestivos e inmunológicos de pollos de engorde. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**, v. 35, n. 2, p. 89-94, 2015.

- PLUSKE, J. R.; WILLIAMS, I. H.; AHEME, F. X. Nutrition of the neonatal pig. In: Varley, M.A. (Ed.), *The Neonatal Pig: Development and Survival*. CAB International, Wallingford, **Oxon**, UK, p. 1X7-235, 1995.
- 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. 1-3, p. 215-236, 1997.
- PLUSKE, J. R. Feed- and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, 2013.
- PLUSKE, J. R. Invited review: Aspects of gastrointestinal tract growth and 799 maturation in the pre-and postweaning period of pigs. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. suppl_3, p. 399-411, 2016.
- RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobial. *Poultry Science*, Champaign, v. 82, p. 632 – 639, 2003.
- ROEDIGER, W. E. Anaerobic bacteria, the colon and colitis. **Australian and New Zealand Journal**, v. 50, n. 1, p. 73–5, 1980.
- RUPIĆ, V.; SVJETLANA, L.; IVANA, E.; BRANKICA, R.; GRBESA, D.; KNEZEVIC, M. Calcium, phosphorus, zinc and their ratios in serum of fattening swine fed different diets in respect to zinc. **Acta Veterinária**, v. 54, p. 175-89, 2004.
- RUTZ, F.; LIMA, G. J. M. M. **O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, Anais... Porto Alegre: ABRAVES 2001, CD-ROM, 2001.
- SAKDEE, J.; POEIKHAMPHA, T.; RAKANGTHONG, C.; POUNGPONG, K.; BUNCHASAK, C. Effect of tributyrin supplementation in diet on production performance and gastrointestinal tract of healthy nursery pigs. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 15, p. 954-962, 2016.
- SANTIAGO, G.; BUSS, L. **Introdução às recomendações para o controle da resistência antimicrobiana**. Coordenação de Boas Práticas e Bem-estar Animal. Capítulo 6.7 INTRODUOAOUSOATB.pdf (www.gov.br), acessado em 04/12/2021.
- SARTORE, Y. G. A. **Efeito da inclusão de levedura *Saccharomyces cerevisiae* hidrolisada na dieta de leitões**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2019

- SAUER, N.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. **Nutrition Research Reviews**, v. 24, n. 1, p. 46-59, 2011.
- SILVA, C. C. **Avaliação do uso de levedura (*Sacharomyces cerevisiae*) inativa e hidrolisada nas dietas iniciais de leitões**. Dissertação (Mestrado-qualidade e produtividade animal). 124f. Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga/SP, 2009.
- SOLER, C.; GOOSSENS, T.; BERMEJO, A.; MIGURA-GARCÍA, L.; CUSCO, A.; FRANCINO, O.; FRAILE, L.; ZOETENDAL, E. G. Digestive microbiota is different in pigs receiving antimicrobials or a feed additive during the nursery period. **PLoS One**, v. 13, n. 5, p. e0197353, 2018.
- SORNPLANG, P.; PIYADEATSOONTORN, S. Probiotic isolates from unconventional sources: a review. *Journal of animal science and technology*, v. 58, n. 1, p. 1-11, 2016.
- SHEN, Y. B.; PIAO, X. S.; KIM, S. W.; WANG, L.; LIU, P.; YOON, I.; ZHEN, Y. G. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 8, p. 2614–2624, 2009.
- SPEARS, J. W. Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. **Journal Animal Science**, v. 67, n. 3, p. 835-43, 1989.
- SUIRYANRAYNAM, V. A. N.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal Animal Science Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2015.
- SUPERCHI, P.; SALERI, R.; BORGHETTI, P.; DE ANGELIS, E.; FERRARI, L.; CAVALLI, V.; AMICUCCI, M. C.; OSSIPRANDI, A.; SABBIONI, A. Effects of dietary nucleotide supplementation on growth performance and hormonal and immune responses of piglets. **Animal**, v. 6, n. 6, p. 902-908, 2012.
- TESTER, R.; AL-GHAZZEWI, F. Glucomannans and nutrition. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 246-254, 2017.
- TOLEDO, L. T.; DOS ANJOS B. L., FARIA, B. D. & de Amorim Rodrigues, G et al. Revisão: Alternativas ao uso de antibióticos na dieta de monogástricos. **Anais XI Simpac. Revista Científica Univiçosa**. Viçosa. v. 9 (1), p. 504-510, 2017

- ZHANG, Y.; WARD, T. L.; JI, F.; PENG, C.; ZHU, L.; GONG, L.; DONG, B. Effects of zinc sources and levels of zinc amino acid complex on growth performance, hematological and biochemical parameters in weanling pigs. **Asian-Australas Journal of Animal Science**, Vol. 31, No. 8:1267-1274 August 2018.
- ZHANG, J.; PARK, J.; KIM, I. Effect of supplementation with brewer's yeast hydrolysate on growth performance, nutrients digestibility, blood profiles and meat quality in growing to finishing pigs, **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 10, p. 1565-1572, 2019.
- ZENTEK, J.; BUCHHEIT-RENKO, S.; FERRARA, F.; VAHJEN, W.; VAN KESSEL, A. G.; PIEPER, R. Nutritional and physiological role of medium-chain triglycerides and medium-chain fatty acids in piglets. **Animal Health Research Reviews**, v. 12, p. 83- 93, 2011.
- ZENTEK, J.; FERRARA, F.; PIEPER, R.; TEDIN, L.; MEYER, W.; VAHJEN, W. Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3200–3210, 2013.
- WAITITU, S. M.; HEO, J. M.; PATTERSON, R.; NYACHOTI, C. M. Dietary yeast-based nucleotides as an alternative to in-feed antibiotics in promoting growth performance and nutrient utilization in weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 96, n. 3, p. 289-293, 2016.
- WANG, Y.; KUANG, Y.; ZHANG, Y.; SONG, Y.; ZHANG, X.; LIN, Y.; CHE, L.; XU, S.; WU, D.; XUE, B.; FANG, Z. Rearing conditions affected responses of weaned pigs to organic acids showing a positive effect on digestibility, microflora and immunity. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 10, p. 1267-1280, 2016.
- WU, G.; CROSS, H. R.; GEHRING, K. B.; SAVELL, J. W.; ARNOLD, A. N.; MCNEILL, S. H. Composition of free and peptide-bound amino acids in beef chuck, loin, and round cuts. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 6, p. 2603-2613, 2016.
- YOON, B. K.; JACKMAN, J. A.; VALLE-GONZÁLEZ, E. R.; CHO, N. J. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, p. 1114, 2018.

CAPÍTULO 1

3 AVALIAÇÃO DE ADITIVOS ALIMENTARES COMBINADOS EM DIETAS DE LEITÕES DURANTE A FASE DE CRECHE PARA APOIAR O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL

Avaliação de aditivos alimentares combinados em dietas de leitões durante a fase de creche para apoiar o desempenho e saúde intestinal

RESUMO

O uso de aditivos alimentares em dietas para leitões como potenciais alternativas aos antibióticos tem sido amplamente investigado devido ao banimento de compostos quimioterápicos e dos inúmeros fatores estressores no período pós-desmame. Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar a eficiência da adição de *blends* de aditivos combinados nas dietas para leitões de creche sobre o desempenho zootécnico, digestibilidade aparente de nutrientes e indicadores de saúde intestinal. Um total de 144 leitões machos inteiros ($6,93 \pm 0,049$ kg de BW) foram alocados em um delineamento de blocos casualizados dentro de 4 tratamentos compostos por 1) controle negativo (CN, livre de aditivo alimentar e antibiótico), 2) antibiótico (amoxicilina + norfloxacina) como controle positivo (CP), 3) dieta contendo um *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco (VL), ou 4) dieta baseada em VL + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura (VL + AT), com doze repetições de três animais por baía. Os leitões alimentados com VL + AT apresentaram piora ($P = 0,037$) na conversão alimentar em comparação ao CN na fase pré-inicial. Os leitões que receberam as dietas de CP e VL apresentaram maiores ($P < 0,05$) coeficientes de digestibilidade de nutrientes em comparação aos animais alimentados com dieta VL + AT. Entretanto, os animais que receberam VL tiveram aumento ($P < 0,000$), na proteína digestível em comparação aos demais tratamentos, e menor ($P = 0,020$), matéria orgânica digestível foi obtida em leitões do tratamento VL + AT do que os demais tratamentos. Para fase pré-inicial, houve redução ($P = 0,044$) na ocorrência de diarreia em leitões que receberam VL ou VL + AT em comparação ao CP. Na fase inicial, uma melhoria na ocorrência de diarreia foi observada ($P = 0,000$) em animais recebendo VL + AT ou CP quando comparados aos demais tratamentos. Os leitões que consumiram a dieta VL + AT apresentaram ($P = 0,030$) maior pH do conteúdo estomacal em comparação aos demais tratamentos. Além disso, os animais que consumiram VL + AT tiveram ($P = 0,009$) redução em enterobactérias jejunal em comparação aos que receberam o tratamento com CP. Na fase pré-inicial, os leitões alimentados com CN apresentaram ($P = 0,001$) maior

concentração de ureia plasmática quando comparados aos que receberam CP. Na fase inicial, os leitões que receberam VL + AT apresentaram ($P = 0,011$) menor concentração de eosinófilos em comparação ao tratamento CN. Houve diferença ($P=0,048$) de tratamento no peso relativo do intestino delgado, em que animais que consumiram dietas CN demonstraram maior peso do que os do tratamento CP, mas menor ($P = 0,002$) peso de baço em comparação aos que consumiram VL. Os leitões que consumiram dietas com VL + AT apresentaram ($P = 0,034$) vilosidades mais altas no jejuno que os animais que receberam CP ou VL. Também, foram observadas uma maior ($P = 0,046$) profundidade de cripta no íleo para o tratamento VL em comparação ao VL + AT e um aumento ($P = 0,015$) na relação AV:PC do tratamento VL + AT em comparação ao VL. Houve efeito ($P = 0,046$) de aumento de células caliciformes no jejuno para o tratamento VL + AT do que em animais alimentados com CN e uma diminuição ($P = 0,045$) de necrose tecidual em leitões dos tratamentos VL ou VL + AT em comparação ao CN ou CP. Em conclusão, o *blend* complexo de aditivos na dieta para leitões não melhorou o desempenho e digestibilidade de nutrientes, embora pareça ser a combinação mais promissora no desenvolvimento da estrutura e atenuação de danos do epitélio intestinal e distúrbios diarreicos, além de uma redução de enterobactérias, como na concentração de eosinófilos. Em adição, o *blend* simples em dietas para leitões afetou a digestibilidade de nutrientes e necrose tecidual, e o peso de baço como uma tentativa de auxiliar o sistema imune.

Palavras-chave: Butirato de sódio; Diarreia pós-desmame; Leitão desmamado; Levedura hidrolisada; Proteinato de zinco; Saúde intestinal

Evaluation of combined feed additives in piglet diets during the nursery phase to support performance and intestinal health

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the efficiency of adding blends of combined feed additives to diets for nursery piglets on zootechnical performance, apparent nutrient digestibility, and gut health indicators. A total of 144 whole male piglets (6.93 ± 0.049 kg BW) were allocated in a randomized block design within 4 treatments composed of 1) negative control (NC, free of feed additive and an antibiotic), 2) antibiotic (amoxicillin + norfloxacin) as a positive control (PC), 3) diet containing a blend of sodium butyrate + hydrolyzed dehydrated yeast + zinc proteinate (VL), or 4) diet based on VL + blend of hydrolyzed brewer's yeast + yeast cell wall (VL + AT), with twelve repetitions of three animals per stall. . Piglets fed VL + AT had worse ($P = 0.037$) feed conversion compared to CN in the pre-starter phase. Piglets fed the CP and VL diets had higher ($P < 0.05$) nutrient digestibility coefficients compared to animals fed the VL + AT diet. However, the animals that received VL had an increase ($P < 0.000$), in digestible protein compared to the other treatments, and lower ($P = 0.020$), digestible organic matter was obtained in piglets from the VL + AT treatment than the other treatments. For the pre-starter phase, there was a reduction ($P = 0.044$) in the occurrence of diarrhea in piglets receiving VL or VL + AT compared to CP. In the early phase, an improvement in the occurrence of diarrhea was observed ($P = 0.000$) in animals receiving VL + AT or CP when compared to the other treatments. Piglets consuming the VL + AT diet had ($P = 0.030$) higher pH of stomach contents compared to the other treatments. In addition, animals consuming VL + AT had ($P = 0.009$) a reduction in jejunal enterobacteriaceae compared to those receiving the CP treatment. In the pre-starter phase, piglets fed CN had ($P = 0.001$) higher plasma urea concentration when compared to those fed CP. In the early phase, piglets fed VL + AT had ($P = 0.011$) lower concentration of eosinophils compared to the CN treatment. There was a treatment difference ($P = 0.048$) in the relative weight of the small intestine, in which animals consuming CN diets showed higher weight than those on CP treatment, but lower ($P = 0.002$) spleen weight compared to those consuming VL. Piglets

fed VL + AT diets had ($P = 0.034$) higher villi in the jejunum than those fed either CP or VL. Also, a greater ($P = 0.046$) crypt depth in the ileum was observed for the VL treatment compared to VL + AT and an increase ($P = 0.015$) in the AV:CP ratio of the VL + AT treatment compared to VL. There was an effect ($P = 0.046$) of increased calyceal cells in the jejunum for the VL + AT treatment than in animals fed CN and a decrease ($P = 0.045$) of tissue necrosis in piglets from the VL or VL + AT treatments compared to CN or CP. In conclusion, the complex blend of additives in piglet diets did not improve performance and nutrient digestibility, although it seems to be the most promising combination in developing the structure and mitigating the damage of the intestinal epithelium and diarrheal disorders, as well as a reduction of enterobacteria, as in the concentration of eosinophils. In addition, a simple blend in piglet diets affected nutrient digestibility and tissue necrosis, and spleen weight as an attempt to aid the immune system.

Keywords: Sodium butyrate; Postweaning diarrhea; Weanling piglet; Hydrolyzed yeast; Zinc proteinate; Gut health

INTRODUÇÃO

O desmame é considerado evento crítico na vida dos leitões porque está associado a mudanças ambientais, nutricionais e sociais. Essas mudanças resultam em piora no desempenho, ocorrência de diarreias e danos na arquitetura intestinal (WEARY et al., 2008; SANTOS et al., 2016). Nesse período de transição os leitões tornam sujeitos às doenças entéricas devido ao longo período de adaptação à nova alimentação, causando atrasos no desenvolvimento do trato gastrointestinal (TGI), como na biometria de órgãos digestórios (PLUSKE, 2016; SANTOS et al., 2016). Portanto, são necessárias intervenções de manejo e estudos por soluções nutricionais seguras para amenizar os impactos na produção de leitões em fase de creche (PLUSKE, 2016).

Considerando as restrições impostas ao uso de antibióticos na produção suinícola, os aditivos alimentares surgem com função de melhorar a população de microrganismos benéficos no trato gastrointestinal, promovendo a atividade do sistema imunológico e homeostase metabólica de leitões desmamados (NOWAK et al., 2019). No entanto, estudos anteriores (STARKE et al., 2013; FOUHSE et al., 2016) relataram que a eficiência dos aditivos causa respostas individuais e contraditórias em cada animal sobre a saúde e crescimento de leitões (MATHEW et al., 1998; LI et al., 2006; UTIYAMA et al., 2006; NOWAK et al., 2017), com divergências de tais resultados (KORNEGAY et al., 1995; DOS ANJOS et al., 2019). Esta declaração estimula mais estudos na área de aditivos alimentares em dietas para leitões desmamados.

Em conjunto, o uso de *blends* de aditivos alimentares preventivos demonstrou eficácia no desenvolvimento do TGI em relação a diferentes perfis de microrganismos (PIYADEATSOONTORN et al., 2019). Também, a suplementação de misturas acidificantes na dieta melhorou os índices de desempenho, promoveu a modulação da microbiota e aumentou a digestibilidade proteica (NGUYEN et al., 2020), regulou e melhorou a função imunológica dos leitões (MACHINSKY et al., 2010; FANG et al., 2014), bem como na redução de distúrbios gastrointestinais causadores da diarreia em leitões alimentados com dietas adicionadas de butirato de sódio (OLIVEIRA et al., 2018).

Em adição, o fracionamento das leveduras fornece derivados como levedura autolisada, parede celular, beta-glucanas, mananoligossacarídeos e nucleotídeos. A suplementação destes derivados em dietas promoveu benefícios aos leitões, atuando no crescimento e desenvolvimento do TGI (WU et al., 2018), na redução da carga patogênica intestinal e melhorou a resposta imunológica (JIANG et al., 2015), além de efeitos positivos na saúde geral de leitões desmamados (MOLIST et al., 2014; PARK et al., 2018). Também, foi evidenciado que o zinco orgânico como aditivo alimentar preventivo pode ser importante para as funções de barreira e regeneração do tecido epitelial no intestino (PEARCE et al., 2015; LIU et al., 2018), bem como potencial ativador de enzimas, participando da manutenção do equilíbrio ácido-base, e atuando nas funções básicas das células, como nutrição, imunologia e produção de energia (TAKKAR, 2011; PEARCE et al., 2015).

Por isso, o uso de aditivos alimentares e seus mecanismos de ação, com intenções em melhorar a saúde e o desempenho de leitões precisam ainda ser compreendidos, devido a forma em que são utilizados, tempo de ação, a dose, a fase e o ambiente de criação, bem como as condições de desafios que podem gerar resultados conflitantes (MENDES et al., 2010; DOS ANJOS et al., 2019). Aqui, um estudo foi conduzido sob a hipótese de que aditivos alimentares preventivos combinados em duas misturas comerciais quando adicionados em dietas para leitões seriam promissores em substituir os antibióticos como melhoradores de desempenho. Portanto, o objetivo neste estudo foi avaliar a eficiência da adição de *blends* de aditivos alimentares em dietas para leitões na fase de creche sobre o desempenho zootécnico, digestibilidade aparente de nutrientes e indicadores de saúde intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), localizada na cidade de Marechal Cândido Rondon/PR, Brasil. Todos os procedimentos de manejo que envolveram o uso dos animais foram devidamente aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais- CEUA (nº 02/2022).

Delineamento experimental, animais, alojamento e dietas

Um total de 144 leitões machos inteiros híbridos de linhagem comercial (Landrace × Large White, Agroceres♂ and DanBred♀), desmamados aos 28 dias de idade e peso corporal inicial médio de $6,93 \pm 0,049$ kg, foram alocados em um delineamento em blocos casualizados dentro de quatro tratamentos, com doze repetições de três animais por baia como unidade experimental. O peso corporal inicial dos animais foi usado como fator de blocagem.

No início do período experimental, os animais foram pesados e identificados com brincos numerados e alojados em sala de creche, constituída de baias suspensas (1,54 m²) e piso de plástico de polietileno, equipadas com comedouros tipo calha frontais e bebedouro tipo chupeta na parte posterior, dispostas em duas fileiras, divididas por um corredor central, onde permaneceram 44 dias. Os animais receberam ração e água à vontade durante todo período experimental.

A temperatura do ambiente e umidade relativa do ar foram registradas com o auxílio de um datalogger com mostrador digital (marca Vketech, modelo UT330B digital USB; UNI-T, Beijing), controlados por meio da abertura ou fechamento de janelas basculantes e com o uso de lâmpadas incandescentes individuais por baia e aquecedores laterais. A temperatura ambiente média registrada no centro do galpão experimental foi de 27,33°C e umidade relativa do ar de 73,39%.

Os tratamentos foram compostos por 1) dieta controle negativo (CN, livre de aditivo alimentar e antibiótico), 2) dieta com antibiótico (amoxicilina + norfloxacina) como controle positivo (CP), 3) dieta contendo um blend de aditivos alimentares baseado em butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco (VL, como um *blend* simples) ou 4) dieta composta por VL + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura (VL + AT, como um *blend* complexo). Os aditivos alimentares adicionados nas dietas eram compostos de 10 g de zinco/kg de ração e 140 g de mananoligossacarídeos/kg de ração. Todas as dietas formuladas foram fornecidas na forma farelada à base de milho moído, farelo de soja e aminoácidos sintéticos, de acordo com as exigências nutricionais para leitões na fase de creche (Rostagno et al., 2017).

Tabela 1- Composição percentual e valores nutricionais calculadas e analisados das dietas fornecidas durante o período experimental para leitões em fase de creche (como base alimentada).

Ingredientes	Fase pré-inicial				Fase inicial			
	CN	CP	VL	VL+AT	CN	CP	VL	VL+AT
Milho moído 7,86% PB	50,58	50,43	50,38	50,29	61,42	61,28	61,21	61,13
Farelo de soja 45,4% PB	19,77	19,80	19,81	19,82	24,08	24,11	24,12	24,14
Soro de leite pó 12,3% PB	9,33	9,33	9,33	9,33
Soja semiextrusada 43,1% PB	8,00	8,00	8,00	8,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Açúcar de cozinha	4,00	4,00	4,00	4,00
Farinha de peixe 53% PB	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	1,85	1,90	1,92	1,95	2,13	2,18	2,20	2,23
Fosfato bicálcico	1,33	1,33	1,33	1,33	1,43	1,43	1,43	1,43
Calcário calcítico	0,79	0,79	0,79	0,79	0,71	0,71	0,71	0,71
L-lisina HCL 78%	0,41	0,41	0,41	0,41	0,35	0,35	0,35	0,35
L-treonina 96,8%	0,26	0,26	0,26	0,26	0,17	0,17	0,17	0,17
DL-metionina 99,5%	0,21	0,21	0,21	0,21	0,16	0,16	0,16	0,16
L-triptofano 99%	0,04	0,04	0,05	0,04	0,03	0,33	0,03	0,03
Sal comum	0,28	0,28	0,28	0,28	0,39	0,39	0,39	0,39
Premix mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix vitamínico ²	0,02	0,02	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Curamoxil ³	.	0,04	.	.	.	0,04	.	.
Nor 50 ⁴	.	0,03	.	.	.	0,02	.	.
Viligen	.	.	0,10	0,10	.	.	0,10	0,10
Actigen	.	.	.	0,04	.	.	.	0,04
Composição calculada								
Energia metabolizável (MJ/kg)	14,13	14,13	14,13	14,13	14,02	14,02	14,02	14,02
Proteína bruta (%)	19,87	19,87	19,87	19,87	20,55	20,55	20,55	20,55
Lactose (%)	7,00	7,00	7,00	7,00
Lisina digestível (%)	1,346	1,346	1,346	1,346	1,281	1,281	1,281	1,281
Metionina + cisteína dig. (%)	0,754	0,754	0,754	0,754	0,730	0,730	0,730	0,730
Treonina digestível (%)	0,902	0,902	0,902	0,902	0,833	0,833	0,833	0,833
Triptofano digestível (%)	0,256	0,256	0,256	0,256	0,243	0,243	0,243	0,243
Cálcio total (%)	0,973	0,973	0,973	0,973	0,910	0,910	0,910	0,910
Fosforo disponível (%)	0,481	0,481	0,481	0,481	0,450	0,450	0,450	0,450
Sódio total (%)	0,219	0,219	0,219	0,219	0,205	0,205	0,205	0,205
Composição analisada								
Energia bruta (MJ/kg)	17,62	17,30	18,00	17,00	16,81	16,40	17,05	16,98
Proteína bruta (%)	19,85	19,75	19,39	19,07	19,84	19,99	19,91	20,09
Matéria seca (%)	94,35	93,91	93,72	93,31	93,84	91,11	92,84	93,82
Matéria orgânica (%)	89,14	88,35	88,85	88,50	88,63	87,27	88,67	88,16

Tratamentos experimentais – CN: dieta ausente de aditivo; CP: dieta com adição de antibiótico; VL: dieta com adição de 1 kg/ton. de ração de Viligen; VL+AT: dieta com adição de 1 kg/ton. de ração de Viligen e 0,4 kg/ton. de ração de Actigen. Níveis nutricionais por kg do produto; Mineral (mg/kg): Sulfato de Mn (120), óxido de Zn (160), Sulfato Fe (120), sulfato de cobre (20), Iodo (2), selenito de sódio (1,2); Vitaminas (mg/kg): Vitamina K₃ (12,800), Vitamina B₁ (6,400), Vitamina B₂ (16,000), Vitamina B₆ (6,400), Niacina (98.260), Ácido pantotênico (32.340), Ácido fólico (1.920); Vitamina B₁₂ (64.000), Biotina (640.000); Vitamina A (32.000 KIU/kg), Vitamina D₃ (6,400 KIU/kg); Vitamina E (80.000 UI/kg). ¹Curamoxil - amoxicilina: 0,05 mg/kg de dieta. ²Nor 50 – norfloxacina: 0,03 mg/kg.

Medidas de resultados

Desempenho zootécnico (Exp. I)

Os animais foram pesados no início, durante e ao final do período experimental com auxílio de uma balança digital (balança digital de inox, modelo UL50i digital scale, model BPW-5000; Primax, São Paulo, Brazil), bem como a quantidade de ração fornecida, o desperdício e as sobras. As fases de crescimento do experimento foram definidas em pré-inicial (25 dias de experimentação), e inicial (19 dias de experimentação). Com base nesses dados, foi calculado o consumo de ração diário médio (CRDM, kg), o ganho de peso corporal diário (GPCD, kg) e a taxa de conversão alimentar (CA, kg:kg).

Digestibilidade aparente de nutrientes (Exp. II)

O ensaio envolveu 24 leitões mestiços (Landrace × Large White, Agrocercos ♂ and DanBred ♀), machos inteiros, com peso corporal inicial médio de $20,30 \pm 0,05$ kg, designados em um delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos como descritos no Exp. I, e seis repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Os blocos foram formados de acordo com o peso corporal inicial dos animais. Os leitões foram alojados individualmente em gaiolas de metabolismo semelhantes às descritas por Pekas (1968), instaladas em sala de alvenaria, com piso de concreto e cortinas laterais, em que permaneceram por um período de 12 dias, sendo sete dias de aclimação às gaiolas, ração e regularização do consumo metabólico e cinco dias para coleta de fezes e urina.

Na fase de aclimação, as rações experimentais foram distribuídas em duas refeições (08h00 e 14h00), com a quantidade de ração fornecida à vontade durante os sete dias iniciais, sendo o consumo diário de todos os animais devidamente registrado para calcular o consumo pelo peso metabólico, já que a partir do oitavo dia a quantidade de ração fornecida foi determinada em função do peso metabólico ($PC^{0,75}$) de cada animal. A metodologia de fornecimento das dietas, coleta de fezes e urina foi de acordo ao descrito por Sakomura e Rostagno (2016). Todas as dietas formuladas foram fornecidas na forma farelada à base de milho moído, farelo de soja e aminoácidos sintéticos, e a exigência nutricional foi de acordo com Rostagno et al. (2017).

As amostras de cada tratamento, com aproximadamente 300 g, foram acondicionadas em recipientes plásticos transparentes previamente identificados e posteriormente realizadas as análises no Laboratório de Nutrição Animal da Unioeste, de acordo com metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). As fezes excretadas em um período de 24 horas referente a cada unidade experimental foram coletadas, pesadas e acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em freezer a uma temperatura de -18°C até o final do período de coleta. Após o período de coleta, as amostras foram descongeladas, pesadas, homogeneizadas e uma amostragem de 110 g foi seca em estufa ventilada a 55°C, por um período de 72 horas. Posteriormente, as amostras foram moídas e armazenadas em recipientes de vidro identificados, para análises laboratoriais.

Os nutrientes digestíveis como matéria seca digestível (MSD), matéria orgânica digestível (MOD), proteína digestível (PD), e energia digestível (ED) e os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), matéria orgânica (CDAMO), proteína bruta (CDAPB) e da energia bruta (CDAEB) foram calculados conforme Sakomura e Rostagno (2016).

Ocorrência de diarreia

A ocorrência de diarreia (OD) foi avaliada diariamente (09h00) por um único observador em todo o período experimental. Foram atribuídos os seguintes critérios de escore de consistência fecal: 0: fezes com consistência normal; 1: fezes moles; 2 - fezes líquidas/pastosas, 3 – fezes aquosas. O escore de consistência fecal de 0 e 1 foram considerados não diarreicos e 2 e 3 indicavam a ocorrência de diarreia (VASSALO et al.,1997). A presença de diarreia (fezes líquidas no piso ou região posterior suja no leitão) foi calculada como a proporção de dias com OD (%).

pH do conteúdo do trato gastrintestinal

Aos 44 dias de experimentação, nove animais de cada tratamento após jejum de 12 horas, foram atordoados por eletronarcose (240 volts por três segundos) e eutanaziados por exsanguinação, seguindo os métodos de abate humanitário. A escolha dos animais a

serem abatidos foi feita de acordo com o peso corporal mais próximo da média de cada tratamento. As vísceras foram expostas por uma incisão mediana e as seções do trato gastrointestinal foram assepticamente isoladas com dupla ligadura. O conteúdo do trato digestório foi homogeneizado em cada porção para aferição do pH na região medial do estômago, jejuno, íleo, ceco e cólon, usando um peagâmetro digital (Hanna Instruments Inc., Rhodes Island, EUA, modelo HI 99163), adotando a metodologia descrita por Manzanilla et al. (2004).

Microbiota do conteúdo intestinal

Foram coletadas amostras do conteúdo do intestino delgado (jejuno e íleo) e grosso (ceco e colón) dos leitões, para isolamento, contagem e caracterização das populações microbianas pelo método de plaqueamento tradicional. Após a evisceração, com o auxílio de uma lâmina cirúrgica estéril, a mucosa do segmento intestinal (jejuno, íleo, ceco e colón) foi exposta e a digesta envasada em potes plásticos estéreis identificados e armazenados em caixa térmica em temperatura de 4°C. As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de microbiologia da Unioeste.

Um grama de amostra do conteúdo digestório foi usado para diluição seriada em solução salina contendo 9 mL de cloreto de sódio (soro fisiológico). O tubo com diluição 10^{-1} foi agitado por 30 segundos em vortex (modelo AP 56; marca Phoenix, Araraquara, SP, Brasil). As demais diluições até 10^{-6} foram homogeneizadas por 10 segundos em vortex (modelo AP 56; marca Phoenix, Araraquara, SP, Brasil). Então, foi realizada a semeadura (100 µL) de cada diluição dentro das placas de Petri de plástico estéril polietileno, com o auxílio de uma alça de Drigalsky por espalhamento em superfície em meio de cultura adequado ao crescimento bacteriano. Para cada amostra foram semeadas 9 placas e nestas foram identificadas e quantificadas as colônias de enterobactérias, mesófilos totais e bactérias ácido lácticas.

Para avaliação de enterobactérias e mesófilos totais, os extratos diluídos foram semeados em placas de ágar contendo eosina azul de metileno (EMB) e ágar padrão *plate count agar* (PCA) respectivamente. Em seguida, as placas foram invertidas e incubadas em estufa a 37°C, por um período de 24 horas. Para a análise de bactérias ácido lácticas, os extratos diluídos foram semeados em placas de ágar *Man, Rogosa e Sharpe* (MRS), e

estas foram mantidas invertidas em estufa com sistema de gás (CO₂) a 35°C, por 48 horas. Após o período de incubação, as colônias foram contadas, com o auxílio de um contador digital de colônias (Contador de Colônias Eletrônico J-3, Global Trade Technology, São Paulo, Brasil), e os resultados obtidos expressos em UFC/g, conforme metodologia de Silva et al., (2017).

Indicadores sanguíneos

Os leitões ($n = 96$) foram mantidos em jejum de dieta por 8 horas ao final de cada fase experimental. A coleta de sangue ($\cong 10$ mL) foi realizada (08h00) por punção da veia cava cranial anterior um total de 96 animais, usando agulhas de calibre $0,7 \times 30$ mm. O sangue coletado foi transferido para tubos de vidro identificados com heparina, EDTA ou fluoreto de sódio, armazenados em uma caixa de isopor contendo gelo e transportado para o laboratório. As amostras foram centrifugadas para obtenção do plasma (centrífuga analógica Centrilab, modelo 80-2B) a 3000 g por 10 minutos. Aproximadamente 3 mL foram transferidos para tubos tipo eppendorfs, previamente identificados em duplicata e congelados a -20°C para análise de ureia (método enzimática-colorimétrica) e glicose (método enzimático-colorimétrico).

As análises de ureia e glicose foram determinadas por espectrofotometria (Bel SPECTRO S05) usando kits específicos (Gold Analisa Diagnóstica, Belo Horizonte, Brasil). O tubo de sangue contendo heparina foi enviado ao laboratório clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná (Palotina, PR, Brasil) para realização do perfil hematológico, onde foram submetidas a um analisador hematológico automático (Modelo bs 120, Marca Mindray, Shenzhen, China) para a quantificação das células sanguíneas circulantes: hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média, amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos, proteínas plasmáticas totais. Células brancas: leucócitos segmentados, eosinófilos, linfócitos e monócitos) e as plaquetas.

Peso relativo de órgãos

Após a exposição das vísceras foram retirados os órgãos e pesados (balança

eletrônica digital, modelo 9094, marca Toledo). Órgãos digestórios (estômago vazio, fígado + vesícula biliar, intestino delgado vazio, ceco e cólon vazios) e órgãos não digestórios (coração, baço e rins) foram pesados e o comprimento do intestino delgado dos animais foi mensurado com o auxílio de uma fita métrica. Com os dados, o peso de órgão relativo (PRO, %) foi obtido de acordo com a equação:

$$\text{PRO (\%)} = \left(\frac{\text{Peso de órgão}}{\text{Peso corporal de abate do animal}} \right) \times 100.$$

Morfometria e morfologia intestinal

Para avaliar as estruturas do epitélio intestinal, imediatamente após a remoção do órgão, segmentos de $\cong 3$ cm de comprimento do jejuno (extraído a 150 cm da junção ileocecal) e íleo (extraído a 15 cm da junção ileocecal) (GUO et al., 2001). As amostras intestinais foram lavadas com água destilada e soro fisiológico (cloreto de sódio 0,9%), acondicionadas em potes plásticos estéreis de 50 mL contendo solução de formaldeído tamponada a 10% (37,5% formaldeído comercial, água destilada, fosfato de sódio mono e dibásico) por 48 h, depois transferidas e mantidas em uma solução de álcool 70%. Posteriormente, as amostras foram enviadas para o Laboratório Mercolab de Histopatologia (Cascavel, PR, Brasil), onde foram parafinados e microtomizados para a montagem de lâminas.

Os blocos de parafina contendo as amostras receberam cortes semiseriados de 4 μm de espessura e posteriormente corados com hematoxilina e eosina (Luna, 1968). As análises foram avaliadas com o auxílio de um microscópio óptico e pelo programa computacional ZEN 2.0 Image software. Dez medidas de vilosidades e as respectivas criptas foram analisadas por amostra. As vilosidades foram medidas a partir da extremidade mais próxima do lúmen intestinal até o início da cripta. A cripta foi medida a partir do final das vilosidades até o final da camada de células da cripta.

As imagens foram obtidas em uma resolução de 1024×768 pixels, por meio de uma câmera digital Olympus C7070 e um microscópio trinocular Olympus CX40. A morfometria foi realizada com uma régua micrométrica acoplada à ocular do microscópio. Para cada animal foram digitalizadas 10 fotomicrografias com objetiva de $5\times$. Em cada uma das fotomicrografias foram realizadas mensurações (90 mensurações

por tratamento). Para avaliação das variáveis de morfologia intestinal (histopatologia intestinal) foram separados dois fragmentos de cada animal, observados com o auxílio de um microscópio óptico com aumento de 4×, por meio de análises visuais para verificar a presença ou ausência de infiltrado, hiperemia, descamação, coccidiose, grumos bacterianos, bastonetes, muco, células caliciformes e necrose, de acordo com Kraieski et al. (2017).

Procedimentos estatísticos

Antes de avaliar o resultado da análise de variância (ANOVA) ou covariância (ANCOVA), foi procedido o diagnóstico de *outliers* que pudessem interferir na normalidade dos resíduos. Valores maiores ou iguais a três desvios-padrão foram considerados como influentes. Para as características de desempenho zootécnico, digestibilidade e indicadores sanguíneos, o modelo estatístico utilizado incluiu tratamento experimental como um efeito fixo e bloco como um efeito aleatório. O peso corporal inicial dos animais e os indicadores sanguíneos pré-tratamento (*baseline*) foram usados como covariáveis no modelo. Para as demais variáveis, o modelo estatístico utilizado foi o mencionado anteriormente, sem incluir a covariável como fonte de variação. Os dados de contagens microbiológicas obtidos foram transformados para uma escala logarítmica (base dez), para avaliação do logaritmo da contagem total de bactérias.

Os efeitos das classes de tratamento sobre as variáveis dependentes foram verificados inicialmente por meio da ANOVA ou ANCOVA. Quando detectado efeito ($P < 0,05$), as comparações entre médias de tratamento foram efetuadas pelo teste Student-Newman-Keuls. O nível de 5% de significância foi adotado em todas as análises estatísticas. Para a análise estatística de OD (distribuição binomial) e histopatologia intestinal, o *generalized linear model* foi ajustado aos dados representados pela porção sistemática de tratamento experimental como um efeito fixo e bloco como um efeito aleatório. A significância dos efeitos associados às dietas experimentais foi verificada com a análise do tipo III. O critério para avaliar a qualidade de ajuste do modelo foi verificado pelo critério de informação de Akaike. Comparações entre médias de tratamentos foram realizadas utilizando-se um teste da diferença entre as *lsmeans*, através da estatística χ^2 . Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os

procedimentos do *software* estatístico “SAS University Edition” (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Todos os dados de distribuição normal foram apresentados como médias com erro padrão da média agrupado.

RESULTADOS

Desempenho zootécnico, digestibilidade aparente de nutrientes, ocorrência de diarreia, pH do conteúdo do trato gastrintestinal e microbiota do conteúdo intestinal

Os leitões alimentados com o tratamento VL + AT apresentaram piora ($P = 0,037$) na conversão alimentar em comparação ao CN na fase pré-inicial (Tabela 2).

Tabela 2- Desempenho zootécnico de leitões alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis ¹	Tratamentos experimentais ²				EPM ³	Valor-P ⁴
	CN	CP	VL	VL+AT		
Fase pré-inicial I + II (6,93 a 14,71 kg)						
PCI, kg	6,938	6,931	6,926	6,930	± 0,048	-
PCF, kg	14,243	15,908	14,548	14,17	± 0,295	0,110
GPCD, kg	0,257	0,316	0,268	0,255	± 0,009	0,110
CRDM, kg	0,350	0,432	0,382	0,378	± 0,011	0,084
CA, kg:kg	1,321 ^b	1,381 ^{ab}	1,410 ^{ab}	1,464 ^a	± 0,019	0,037
Fase inicial (14,72 a 23,01 kg)						
PCF, kg	22,15	24,942	22,573	22,404	± 0,469	0,076
GPCD, kg	0,616	0,697	0,619	0,634	± 0,016	0,138
CRDM, kg	0,869	0,941	0,847	0,852	± 0,019	0,296
CA, kg:kg	1,441	1,361	1,387	1,356	± 0,025	0,300
Período total (6,93 a 23,01 kg)						
PCF, kg	22,15	24,942	22,573	22,404	± 0,469	0,076
GPCD, kg	0,359	0,421	0,366	0,361	± 0,010	0,080
CRDM, kg	0,516	0,593	0,513	0,528	± 0,012	0,070
CA, kg:kg	1,423	1,414	1,494	1,463	± 0,015	0,128

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste de SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹PCI: peso corporal inicial; PCF: peso corporal final; GPCDM: ganho de peso corporal diário; CRDM: consumo de ração diário médio; CA: conversão alimentar. ²Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar, CP: 26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacin), VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ³EPM: erro padrão da media. Valor-P⁴: nível de significância.

Os leitões alimentados com as dietas CN, CP e VL apresentaram maiores ($P < 0,05$) coeficiente digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, matéria orgânica e energia bruta em comparação aos animais alimentados com dieta VL + AT (tabela 3).

Entretanto, os animais que receberam VL tiveram aumento ($P < 0,05$) nos valores de proteína digestível em comparação aos demais tratamentos, e menor ($P < 0,05$) valor de matéria orgânica digestível foi obtida em leitões do tratamento VL+AT do que os demais tratamentos.

Tabela 3- Coeficientes de digestibilidade aparente, valores de nutrientes e energia digestíveis das dietas contendo *blends* alimentares

Tratamentos ¹	CN	CP	VL	VL + AT	EPM ³	valor-P ⁴
Variáveis ²	Coeficientes de digestibilidade					
CDAMS (%)	89,35 ^a	90,54 ^a	90,66 ^a	86,99 ^b	± 0,439	0,015
CDAPB (%)	90,30 ^{ab}	90,24 ^a	92,09 ^a	88,79 ^b	± 0,422	0,008
CDAMO (%)	90,91 ^a	91,90 ^a	92,00 ^a	88,45 ^b	± 0,416	0,017
CDAEB (%)	89,72 ^a	90,44 ^a	91,08 ^a	87,23 ^b	± 0,446	0,023
	Nutrientes digestíveis e energia digestível					
MSD (%)	77,34	76,51	78,72	75,67	± 0,427	0,064
PD (%)	20,20 ^c	20,98 ^b	21,68 ^a	20,63 ^{cb}	± 0,146	<.0001
MOD (%)	80,57 ^a	80,55 ^a	81,58 ^a	77,98 ^b	± 0,394	0,02
ED (kcal/kg)	3602,34 ^{ab}	3444,08 ^a	3710,75 ^a	2832,19 ^b	± 158,83	0,222

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste de SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais: CN: sem aditivo alimentar, CP: 26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina), VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ²Variáveis: valores do coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), digestibilidade da matéria seca (MSD), coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica (CDAMO), digestibilidade da matéria orgânica (MOD), coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CDAPB), digestibilidade aparente da proteína bruta (PBD), coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta (CDAEB), digestibilidade da energia bruta (EBD). ³EPM: erro padrão da média. Valor-P⁴: nível de significância.

Para fase pré-inicial, houve redução ($P = 0,044$) na OD em leitões que receberam CN, VL ou VL + AT em comparação ao CP (Tabela 4). Na fase inicial, uma melhoria na OD foi observada ($P < 0,000$) em animais recebendo VL + AT ou CP quando comparados aos demais tratamentos.

Tabela 4- Ocorrência de diarreia (%) de leitões durante a fase de creche, alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				valor-P ²
	CN	CP	VL	VL+AT	
Pré-inicial I	25,54 ^b	23,37 ^b	35,87 ^a	39,13 ^a	0,001
Pré-inicial II	6,71 ^{ab}	12,80 ^a	5,52 ^b	5,63 ^b	0,044
Inicial	5,00 ^a	0,00 ^b	2,50 ^a	0,00 ^b	0,000

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste da diferença entre as *lsmeans*, através da estatística χ^2 ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. valor-P²: nível de significância.

Os leitões que consumiram a dieta VL + AT apresentaram ($P = 0,030$) maior pH do conteúdo estomacal em comparação ao tratamento CP (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios de pH do trato gastrintestinal de leitões alimentados com dietas à base de *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	valor-P ³
	CN	CP	VL	VL+AT		
	Valores de pH					
Estômago	2,76 ^{ab}	2,42 ^b	2,65 ^{ab}	3,48 ^a	± 0,197	0,030
Jejuno	5,94	5,62	5,96	5,78	± 0,121	0,748
Íleo	5,14	5,71	5,51	5,78	± 0,141	0,377
Ceco	5,22	5,23	5,19	5,21	± 0,055	0,994
Cólon	5,69	5,74	5,72	5,72	± 0,065	0,995

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ²EPM: erro padrão da media. valor-P³: nível de significância.

Os leitões que consumiram dietas com VL + AT tiveram ($P = 0,009$) redução na contagem de enterobactérias jejunal em comparação aos que receberam o tratamento com CP (tabela 6).

Tabela 6- Valores médios de pH do trato gastrointestinal de leitões alimentados com dietas à base de *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	valor-P ³
	CN	CP	VL	VL+AT		
Jejuno						
Enterobactérias	7,21 ^{ab}	7,44 ^a	6,48 ^{ab}	6,17 ^b	± 0,240	0,009
Mesófilos totais	7,43	7,42	6,89	7,23	± 0,215	0,690
Bactérias ácido lácticas	8,04	8,43	8,19	7,89	± 0,153	0,884
Íleo						
Enterobactérias	6,87	5,99	6,45	6,64	± 0,202	0,898
Mesófilos totais	7,28	7,53	6,83	7,00	± 0,201	0,170
Bactérias ácido lácticas	8,29	8,43	8,35	8,16	± 0,092	0,716
Ceco						
Enterobactérias	6,47	7,11	6,63	6,45	± 0,197	0,784
Mesófilos totais	7,21	7,66	6,98	6,60	± 0,221	0,143
Bactérias ácido lácticas	8,70	8,69	8,73	8,77	± 0,038	0,933
Cólon						
Enterobactérias	6,96	7,07	6,48	7,59	± 0,228	0,642
Mesófilos totais	7,50	7,81	7,18	7,73	± 0,186	0,785
Bactérias ácido lácticas	8,71	8,85	8,97	8,81	± 0,036	0,092

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste de SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: aditivo alimentar baseado em *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ²EPM: erro padrão da média. valor-P³: nível de significância.

Indicadores sanguíneos

Na fase pré-inicial, os leitões alimentados com CN apresentaram ($P = 0,001$) maior concentração de ureia plasmática quando comparados aos que receberam CP (Tabela 7).

Tabela 7- Valores de médias da concentração de glicose e ureia (mg/dL) de leitões, alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	Valor-P ³
	CN	CP	VL	VL+AT		

Tabela 7- Valores de médias da concentração de glicose e ureia (mg/dL) de leitões, alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	Valor-P ³
	CN	CP	VL	VL+AT		
Fase pré-inicial I (6,938 a 9,274 kg)						
Ureia, mg/dL	27,91	30,85	30,84	30,44	± 1,10	0,694
Glicose, mg/dL	92,29	88,78	91,70	89,33	± 2,50	0,896
Fase pré-inicial II (9,274 a 14,717 kg)						
Ureia, mg/dL	24,51 ^a	17,86 ^b	21,32 ^{ab}	20,84 ^{ab}	± 0,78	0,001
Glicose, mg/dL	108,11	104,45	104,30	104,36	± 2,23	0,850
Fase inicial (14,717 a 23,017 kg)						
Ureia, mg/dL	29,94	29,68	27,26	29,62	± 1,80	0,840
Glicose, mg/dL	93,40	85,93	87,44	89,91	± 2,51	0,425

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina), VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ²EPM: erro padrão da media. Valor-P³: nível de significância

Não foram obtidas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis do eritograma e leucograma até a fase pré-inicial (Tabela 8).

Tabela 8- Valores médios do perfil hematológico e bioquímico no soro de leitões aos 25 dias de experimento, alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis ²	Tratamentos experimentais ¹				EPM ³	Valor-P ⁴
	CN	CP	VL	VL+AT		
Fase pré-inicial II (Coleta aos 25 dias)						
Hemácias(mi./mm ³)	6,23	5,96	5,73	6,13	±6,02	0,143
Hemoglobina(g/dL)	10,70	10,83	10,23	10,72	±10,62	0,879
Hematócrito (%)	31,93	32,76	30,58	32,46	±31,96	0,248
VCM ⁴ (fL)	51,72	53,43	54,35	54,06	±53,40	0,149
CHCM ⁵ (fL)	26,86	26,62	26,58	26,72	±26,70	0,936
RDW ⁶ (%)	21,81	22,48	22,35	21,51	±22,02	0,565
PPT ⁷ (g/dL)	5,11	5,03	4,96	4,98	±5,02	0,767
Plaquetas(mil/mm ³)	444,50	453,95	421,77	462,83	±445,96	0,607
Fase pré-inicial II (Coleta aos 25 dias)						
Leucócitos(mil/mm ³)	17,57	17,85	16,59	17,75	±17,44	0,935
Segmentados (%)	46,50	46,20	38,09	48,16	±44,78	0,304
Eosinófilos (%)	0,81	1,15	1,13	1,25	±0,13	0,864
Monócitos (%)	4,13	3,95	4,90	4,54	±4,39	0,373

Tabela 9- Valores médios do perfil hematológico e bioquímico no soro de leitões aos 25 dias de experimento, alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis ²	Tratamentos experimentais ¹					Valor-p ⁴
	CN	CP	VL	VL+AT	EPM ³	
Linfócitos (%)	48,55	48,40	55,68	45,41	±49,44	0,258

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste de SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: aditivo alimentar baseado em blend de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: aditivo alimentar baseado em blend de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + blend de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ⁴VCM: Volume corpuscular médio; ⁵CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; ⁶RDW: Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos; ⁷PPT: proteínas plasmáticas totais. ²EPM: erro padrão da média valor-P³: nível de significância.

Na fase inicial, os leitões que receberam VL + AT apresentaram ($P = 0,011$) menor concentração de eosinófilos em comparação ao tratamento CN (tabela 9).

Tabela 10- Valores médios do perfil hematológico e bioquímico no soro de leitões aos 44 dias de experimento, alimentados com dietas contendo *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis ²	Tratamentos experimentais ¹				EPM ³	Valor-P ⁴
	CN	CP	VL	VL+AT		
Fase inicial (Coleta aos 44 dias)						
Hemác.(mi./mm ³)	6,55	6,49	6,3	6,32	±6,42	0,638
Hemog.(g/dL)	11,65	11,29	10,85	10,5	±11,08	0,566
Hematóc. (%)	33,5	34,08	32,18	32,33	±33,04	0,346
VCM (fL)	50,81	52,42	51,04	50,75	±51,26	0,423
CHCM (fL)	29,37	29,10	29,60	26,85	±28,71	0,062
RDW (%)	21,66	22,18	22,19	22,62	±22,16	0,249
PPT (g/dL)	5,42	5,30	5,30	5,31	±5,33	0,636
Plaq.(mil/mm ³)	380,95	381,57	385,59	413,5	±390,49	0,739
Fase inicial (Coleta aos 44 dias)						
Leuc.(mil/mm ³)	16,72	16,025	15,71	16,88	±16,35	0,621
Segmentado (%)	52,87	52,04	49,90	53,29	±52,07	0,953
Eosinófilos (%)	2,08 ^a	1,25 ^{ab}	1,27 ^{ab}	0,81 ^b	±1,35	0,011
Monócitos (%)	5,41	7,16	6,90	7,19	±6,66	0,442
Linfócitos (%)	39,62	39,70	42,45	36,54	±39,52	0,756

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; ANT: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: aditivo alimentar baseado em blend de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidrata + proteinato de zinco; VL+AT: aditivo alimentar baseado em blend de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + blend de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ²Hemácias: hemác.; Hemoglobina: hemog.; Hematócrito: hematóc.; VCM: Volume corpuscular médio; CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: Amplitude de Distribuição dos Glóbulos

Vermelhos; PPT: Proteínas plasmáticas totais; Leucócitos: Leuc, ³EPM: erro padrão da média. Valor-P⁴: nível de significância.

Peso relativo de órgãos, morfometria e morfologia intestinal

Houve diferença ($P = 0,048$) de tratamentos no peso relativo do intestino delgado, em que animais que consumiram dietas CN demonstraram maior peso do que os do tratamento CP (tabela10). Além disso, os leitões do tratamento CN apresentaram ($P = 0,002$) menor peso de baço em comparação aos que consumiram VL.

Tabela 11- Valores médios de peso de órgão relativo (como porcentagem de peso corporal) do TGI de leitões alimentados com dietas à base de *blends* de aditivos alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	Valor-P ³
	CN	CP	VL	VL+AT		
	Valores de peso de órgãos relativo					
Intestino delgado vazio	4,69 ^a	4,11 ^b	4,36 ^{ab}	4,32 ^{ab}	±0,073	0,048
Ceco vazio	0,29	0,28	0,27	0,27	±0,010	0,824
Colón vazio	1,88	2,17	2,02	2,07	±0,047	0,227
Fígado + vesícula biliar	3,14	3,05	3,01	3,06	±0,041	0,769
Estômago vazio	0,85	0,79	0,8	0,86	±0,016	0,181
Rins	0,55	0,6	0,57	0,58	±0,012	0,548
Baço	0,19 ^b	0,23 ^{ab}	0,27 ^a	0,24 ^{ab}	±0,008	0,002
Coração	0,54	0,56	0,55	0,56	±0,007	0,665
Intestino delgado, metros	13,7	13,2	13,04	13,23	±0,24	0,781

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade.¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura.²EPM: erro padrão da media. Valor-P³: nível de significância.

Os leitões que consumiram dietas com VL + AT apresentaram ($P = 0,034$) vilosidades mais altas no jejuno que os animais que receberam dietas do CP ou VL (tabela 11). Também foi observado uma maior ($P = 0,046$) profundidade de cripta no íleo para o tratamento VL em comparação ao VL+AT e um aumento ($P = 0,015$) na relação AV: PC do tratamento VL + AT em Comparação ao VL.

Tabela 12 - Médias de alturas de vilosidades (AV), profundidades de criptas (PC) e relação AV:PC dos segmentos jejuno e íleo em leitões, alimentados com dietas contendo *blends* alimentares.

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹					Valor-P ³
	CN	CP	VL	VL+AT	EPM ²	
Jejuno						
AV (µm)	395,62 ^{ab}	364,37 ^b	372,22 ^b	455,62 ^a	±14,09	0,034
PC(µm)	249,37	226,87	216,11	206,87	±12,74	0,342
AV:PC	1,89	1,79	1,81	2,35	±0,125	0,36
Íleo						
AV(µm)	438,33	379,41	412	418,57	±15,47	0,265
PC (µm)	200,55 ^{ab}	195,29 ^{ab}	236,25 ^a	177,14 ^b	±9,46	0,046
AV:PC	2,37 ^{ab}	1,94 ^{ab}	1,74 ^b	2,76 ^a	±0,144	0,015

^{a,b,c} Médias seguidas por letras minúsculas diferente na mesma linha diferem entre si pelo teste SNK (Student-Newman-Keuls ao nível de 5% de probabilidade.¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: aditivo alimentar baseado em *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: aditivo alimentar baseado em *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. ²EPM: erro padrão da media. Valor-P³: nível de significância.

Houve efeitos ($P = 0,046$) de aumento de células caliciformes no jejuno para o tratamento VL + AT do que em animais alimentados com CN e uma diminuição ($P = 0,045$) de necrose tecidual em leitões consumindo os tratamentos VL e VL + AT em comparação ao CN e CP (tabela 12).

Tabela 13- Valores de escores médios histopatológicos do jejuno e íleo de leitões aos 44 dias de experimento, alimentados com dietas contendo *blends* alimentares.

Jejuno	Tratamentos experimentais ¹				Valor-P ²
	CN	CP	VL	VL+AT	
Infiltrado celular	1,50	0,78	1,00	0,83	0,067
Hiperemia epitelial	1,72	1,44	1,33	1,44	0,078
Descamação epitelial	1,83	1,05	1,50	1,50	0,085
Grumos bacterianos	0,39	0,11	0,00	0,28	0,299
Células caliciformes	1,89 ^b	2,28 ^{ab}	2,28 ^{ab}	2,61 ^a	0,046
Necrose tecidual	1,17 ^a	0,94 ^b	0,55 ^c	0,50 ^c	0,045
Íleo					
Infiltrado celular	0,94	0,67	0,94	0,78	0,059
Hiperemia epitelial	1,55	1,55	1,55	1,72	0,651
Descamação epitelial	1,05	1,22	1,11	1,17	0,495

Tabela 14- Valores de escores médios histopatológicos do jejuno e íleo de leitões aos 44 dias de experimento, alimentados com dietas contendo *blends* alimentares.

Íleo	Tratamentos experimentais ¹				Valor-P ²
	CN	CP	VL	VL+AT	
Grumos bacterianos	0,11	0,00	0,17	0,11	0,372
Células caliciformes	2,55	2,89	2,55	2,44	0,157
Necrose tecidual	0,44	0,11	0,72	0,72	0,192

^{a,b,c}Escores médios seguidos por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si, pelo teste da diferença entre as *lsmeans*, através da estatística χ^2 ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais – CN: sem aditivo alimentar; CP: antibiótico (26,5 mg/kg de dieta de amoxicilina + 18,5 mg/kg de norfloxacina); VL: aditivo alimentar baseado em *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco; VL+AT: aditivo alimentar baseado em *blend* de butirato de sódio + levedura hidrolisada desidratada + proteinato de zinco + *blend* de levedura hidrolisada de cerveja + parede celular de levedura. Valor-P²: nível de significância pela análise de variância. Descrição histopatológica – 0 = ausente; 1 = discreto; 2 = moderado; 3 = intenso.

DISCUSSÃO

Desempenho zootécnico, digestibilidade aparente de nutrientes, ocorrência de diarreia, pH do conteúdo do trato gastrintestinal e microbiota do conteúdo intestinal

No presente estudo, os animais que receberam o tratamento com a combinação VL + AT comprometeu a conversão alimentar e a digestibilidade, mas os valores encontrados corroboram achados anteriores (NÉVOA et al., 2013; ADEOWLE et al., 2016; NOWAK et al., 2019). De acordo com Wang et al. (2016) e Nowak et al. (2017), um aditivo alimentar derivado de misturas de produtos pode ser mais efetivo quando comparado a apenas uma substância, mas a eficiência de cada aditivo está diretamente atribuída aos componentes utilizados, dose estipulada e a via de administração. Por essa razão, os leitões que receberam o blend complexo de aditivos alimentares preventivos não apresentaram responsividade quanto a variável conversão alimentar, o que pode ser atribuído a complexidade da formulação da dieta causando ação antagônica entre os componentes dietéticos (NOWAK et al., 2019).

O estudo atual seguiu as exigências nutricionais para leitões em fase de creche de acordo com Rostagno et al. (2017), e as dietas comumente fornecidas para leitões são compostas por zinco na forma inorgânica como óxido de zinco e sulfato de cobre, considerados como melhoradores de desempenho e eficientes no controle de diarreia (MUNIZ et al., 2010; ADEWOLE et al., 2016), explicando os resultados evidenciados em animais do CN devido as respostas similares em comparação aos demais tratamentos

no desempenho. Esses resultados corroboram com os apresentados por Nowak et al. (2019), que avaliaram os efeitos de diferentes misturas de aditivos (ácidos orgânicos e leveduras) e não obtiveram respostas positivas relacionadas às variáveis de desempenho zootécnico.

No presente estudo, o fato de que os leitões alimentados com os tratamentos CP e VL mostraram melhorias nos coeficientes de digestibilidade aparente do que àqueles com VL + AT é suportado pela utilização de ingredientes altamente digestíveis na formulação das dietas, corroborando aos relatos de Shi & Kim (2019), e Zeng et al. (2015). Entretanto, a mistura de vários aditivos como no tratamento VL + AT pode promover efeitos antagônicos entre os aditivos ou outros componentes, afetando negativamente na resposta animal (NOWAK et al., 2019), e prejudicando a digestibilidade de nutrientes, concomitantemente redução da digestão e absorção de moléculas.

Os animais que receberam VL + AT tiveram redução sobre os nutrientes digestíveis como observado nos coeficientes de digestibilidade. Os resultados de digestibilidade aparente das dietas foram superiores com base em relatos anteriores na literatura (OETTING et al., 2006; COSTA et al., 2011; ALMEIDA et al., 2017), devido a digestibilidade do conteúdo nutricional, refletindo em similar desempenho zootécnico. Entretanto, o modo de ação dos aditivos testados em experimentos envolvendo leitões depende da composição, preparo, quantidade e forma adicionada nas dietas (NOWAK et al., 2019).

A utilização de aditivos alimentares preventivos foi substancial na prevenção de distúrbios gastrintestinais. Esse achado foi observado na redução da ocorrência de diarreia na fase pré-inicial para os tratamentos contendo *blends*, um fato observado também até o final do estudo em leitões alimentados com VL + AT, coincidindo com diminuição na população de enterobactérias na porção jejunal. Guilloteau et al. (2010) observaram redução de enterobactérias e um aumento numérico na colonização de bactérias ácido lácticas intestinais, o que promoveu uma redução na ocorrência de diarreia de acordo com os autores mencionados acima, o que em partes coincide com o presente estudo. Este fato é relacionado ao butirato de sódio, proteinato de zinco e leveduras, bem como os componentes na mistura final com capacidade de despolarizar as membranas das bactérias, impedindo a síntese de nutrientes (KOOPMANS et al., 2016).

No presente estudo, a manutenção de um pH reduzido no estômago em leitões que receberam VL é associada ao uso de aditivos na dieta como o butirato de sódio, atuando na regulação da acidez estomacal e proporcionando um ambiente indesejável à colonização de bactérias patogênicas quando combinado com outros aditivos (LIU et al., 2018), como observado em animais alimentados com VL e VL + AT, respectivamente. Também, a utilização de antimicrobianos possui a capacidade de alterar a população microbiana (UTIYAMA et al., 2006), o que suportou a maior população de enterobactérias no jejuno de leitões alimentados com CP. Embora um valor de pH estomacal reduzido foi observado em animais do tratamento CP, este resultado sugeriu que as alterações nos níveis de pH são influenciadas pelo estado de saúde dos animais, estado ambiental/alojamento, bem como pela composição das dietas, concentração dos aditivos e outros compostos (NOWAK et al., 2019).

Pesquisas realizadas por Santos et al. (2016) e Nowak et al. (2019) evidenciaram que em condições de unidades de produção de leitões, os aditivos testados respondem positivamente devido aos agentes estressores em que os animais são submetidos, os manejos inapropriados, as altas densidades ou casos de doenças. Neste contexto, as condições ambientais durante a realização deste estudo, de alguma forma, possam ter inibido os resultados de desempenho e a eficiência dos aditivos testados (HOUSHMAND et al., 2011), em razão de que a pesquisa científica exige a manutenção de animais de acordo com o bem-estar.

Indicadores sanguíneos

Os valores de ureia (21,4 mg/dL a 64,2 mg/dL) e glicose (85 mg/dL a 150 mg/dL) estão dentro dos valores de referências (KANEKO et al., 2008; JACKSON e COCKCROFT, 2002; LOPES et al., 2007; COOPER et al., 2014), exceto em leitões que consumiram dietas CP na fase pré-inicial, que apresentaram uma redução na concentração de ureia plasmática, explicada pela relação entre o nitrogênio da ureia e uma melhoria na eficiência da utilização da proteína dietética (FANG et al., 2014) ou uma diminuição na degradação da proteína da dieta (SHEN et al., 2012).

Durante o metabolismo da ureia no fígado, há gasto energético de acordo com o nível de concentração dos metabólitos no sangue, níveis elevados de ureia plasmática

reduzem a concentração de glicose no sangue; entretanto, os resultados obtidos neste estudo atual não revelaram diminuição na concentração de glicose, e conseqüentemente não houve gasto energético adicional pelo fígado, mantendo os animais em estado de homeostase devido ao maior aproveitamento da glicose pelos tecidos durante o período de adaptação às novas condições ambientais e estruturais ou redirecionada com maior intensidade para outra vias metabólicas nos animais (MOTA-ROJAS et al., 2011).

Os leitões avaliados durante o estudo apresentaram crescimento normal para fase de cria no período de creche (PLUSKE, 2016). Entretanto, alterações rápidas no sistema imunológico podem ser observadas em quadros de ocorrência de diarreia como medida de resultado do estudo atual; portanto, influenciando pontualmente em variações nas concentrações sanguíneas dos animais (PERRI et al., 2017), Embora para ambas as fases avaliadas deste estudo os resultados de eritograma, leucograma e plaquetas dos leitões permaneceram dentro dos valores de referência para a espécie (KANEKO et al., 2008; LOPES et al., 2007), foi relatada uma alta variabilidade no leucograma de animais jovens porque estão em pleno desenvolvimento e o sistema imunológico está em processo de maturação (COOPER et al., 2014).

No perfil sanguíneo dos leitões em fase inicial alimentados com VL + AT foi encontrado um percentual menor de eosinófilos em comparação ao CN, indicando uma manutenção no sistema imunológico porque essas células são afetadas diretamente por desordens clínicas, nutrição e estresse (ROBLES-HUAYNATE et al., 2013). Nesse estudo, os animais apresentavam boa saúde ao início do experimento, bem como o ambiente de criação proporcionou as mesmas condições para todos os leitões dentro de cada tratamento, objetivando desconsiderar esses fatores na interpretação dos resultados hematológicos. Portanto, os valores descritos neste estudo estão condizentes com valores de referências publicados anteriormente (KANEKO et al., 2008; LOPES et al., 2007).

Peso relativo de órgãos, morfometria e morfologia intestinal

Os resultados de peso relativo de órgãos sugeriram um estado de desenvolvimento normal, sem comprometimento do crescimento dos leitões. O possível aumento do peso do intestino delgado em leitões do tratamento CN pode estar relacionado a algum dano no tecido epitelial, bem como a ocorrência de inflamações, juntamente com a presença de

patógenos aderidos ao epitélio intestinal, causando um aumento na espessura da parede do intestino e consequentemente maior peso do órgão (DOS ANJOS et al., 2019).

O maior peso relativo do baço evidenciado em animais alimentados com VL em comparação ao tratamento CN é justificado ao efeito dos nucleotídeos presentes na levedura hidrolisada e seus componentes, como nucleotídeos, β -glucanos e mananoglucosacarídeos (BERTO et al., 2020) e butirato de sódio que provoca um estímulo do sistema imunológico dos leitões (D'INCA et al., 2010; ANDRADE et al., 2011; DONG et al., 2016). O baço tem como principal função filtrar o sangue e remover glóbulos vermelhos danificados, enquanto produz e armazena glóbulos brancos que funcionam no sistema imunológico, além de ser responsável por produzir células de defesa para o organismo. O fato de estudos terem demonstrado maior estimulação da produção de macrófagos e interleucinas 2 nas células do baço, bem como um aumento deste órgão (CARVER, 1994; ANDRADE et al., 2011), refletiu em um mecanismo de ação favorável sobre a imunidade dos animais no presente estudo.

Maiores AV e relação AV:PC foram encontradas no presente estudo, indicando efeitos positivos associados ao tratamento VL + AT. Houve um aumento da AV no jejuno e uma redução da PC no íleo em leitões do tratamento com VL+AT, sugerindo a presença de mais células nos enterócitos, com um aumento na capacidade absorptiva e menores perdas energéticas com renovação de tecido celular no intestino delgado (BOUDRY et al., 2004; JIANG et al., 2015). Esses efeitos podem estar relacionados aos aditivos alimentares combinados presentes nas dietas, que contribuíram para a inibição de cepas bacterianas patogênicas, e auxiliaram na arquitetura da parede intestinal de leitões (FANG et al., 2014; BERTO et al., 2020).

Em conjunto, os resultados exibiram uma importância na arquitetura intestinal em leitões alimentados com VL+AT, em razão de que é esperado menor *turnover* celular do tecido epitelial, com maior produção enzimática, melhorando a digestão e absorção de nutrientes da dieta, além de maturidade, integridade e a funcionalidade de vilos e enterócitos (CERA et al., 1988; ANDRADE et al., 2011; FERRARA et al., 2016), embora estes achados não refletiram em melhorias na digestibilidade aparente de nutrientes.

A lesão de necrose tecidual observada no tratamento CN é atribuída aos desequilíbrios de renovação epitelial da mucosa, ou seja, a morte celular patológica resultando em danos histopatológicos (HOU et al., 2014), associadas com doenças e

diarreias relacionadas ao período pós-desmame (PLUSKE et al., 2018). Durante a fase de transição do desmame dos leitões, o uso de aditivos alimentares tem como papel auxiliar na melhoria da saúde intestinal (MODINA et al., 2019), que consiste na regulação dos microrganismos intestinais benéficos, atuação na modulação do sistema imunológico do animal e dessa forma aumentar sua resistência às doenças intestinais.

Quando analisados em conjunto, o aumento de células caliciformes no jejuno refletiu na presença de muco, indicando que o tratamento VL + AT como *blend* complexo, permitiu um aumento do tecido epitelial e de células secretoras no lúmen intestinal. Em adição, o muco secretado por células caliciformes no ambiente do intestino de leitões pode promover uma espécie de barreira contra patógenos ou mesmo uma barreira química (LAMONT et al., 1992; DIAO et al., 2019), o que foi confirmado com uma menor presença de necrose tecidual em leitões alimentados com os aditivos alimentares preventivos, sugerindo uma mitigação em danos histopatológicos do epitélio jejunal.

CONCLUSÃO

O presente estudo sugeriu que o tratamento VL + AT composto de um *blend* complexo de aditivos quando adicionado na dieta de leitões em fase de creche, não influenciou positivamente sobre a conversão alimentar e digestibilidade aparente de nutrientes, embora parece ser a combinação mais promissora no desenvolvimento da estrutura do epitélio intestinal verificado pelo efeito favorável na arquitetura intestinal e distúrbios diarreicos, além de atenuação de danos histopatológicos e uma redução de enterobactérias nessa porção do trato gastrointestinal, como na concentração de eosinófilos. Em adição, os animais alimentados com o *blend* simples tiveram melhorias na digestibilidade aparente de nutrientes e necrose tecidual, e um aumento no peso de baço como uma tentativa de auxiliar o sistema imune, sem afetar negativamente as demais variáveis estudadas.

REFERÊNCIAS

- 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.
- ANDRADE, C. D.; ALMEIDA, V. V.; COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 788-796, 2011.
- BERTO, P. N.; TSE, M. L.; RAMOS, D. R.; SALEH, M. A.; MIASSI, G. M.; YAMATOGLI, R. S.; BERTO, D. A.; MESSIAS, A. T. N. Dietary supplementation with hydrolyzed yeast and its effect on the performance, intestinal microbiota, and immune response of weaned piglets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.
- BOUDRY, G.; PÉRON, V.; LURON, I.; LALLES, J. P.; SÈVE, B. Weaning induces transient and long-lasting modifications of absorptive and secretory properties and epithelial barrier function of piglet intestine. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2256-2262, 2004.
- CARVER, J. D. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. suppl_1, p. 144S-148S, 1994.
- CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F.; REINHART, G. A.; WHITMOYER, R. E. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of animal science**, v. 66, n. 2, p. 574-584, 1988.
- COOPER, C. A.; MORAES, L. E.; MURRAY, J. D.; OWENS, S. D. Hematologic and biochemical reference intervals for specific pathogen free 6-week-old Hampshire-Yorkshire crossbred pigs. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2014.
- COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; ALMEIDA, V. V.; TSE, M. L. P.; BRAZ, D. B.; ANDRADE, C.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de zootecnia**, v. 60, n. 231, p. 687-698, 2011.

- DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; DE ARRUDA SILVEIRA, N. F.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017.
- DE ALMEIDA, L. M.; PANISSON, J. C.; BONARDI, A. J. K.; MASSUQUETTO, A.; MAIORKA, A.; SCANDOLERA, A. J. Dietary inclusion of symbiotic in post weaning piglets with nutritional challenge. **Archives of Veterinary Science**, v. 22, n. 3, p. 57-65, 2017.
- DE OLIVEIRA, N. T. E.; DE OLIVEIRA CARVALHO, P. L.; GENOVA, J. L.; DE CAXIAS, O. A.; CRISTOFORI, E. C.; SILVEIRA, F. H. R.; SANTANA, A. L. A. Additional effect of coated sodium butyrate 30% in the piglets feeding during the nursery phase. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 6, p. 2771-2782, 2018.
- DIAO, H.; JIAO, A. R.; YU, B.; MAO, X. B.; CHEN, D. W. Gastric infusion of short-chain fatty acids can improve intestinal barrier function in weaned piglets. **Genes & nutrition**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2019.
- DONG, L.; ZHONG, X.; HE, J.; ZHANG, L.; BAI, K.; XU, W.; WANG, T.; HUANG, X. Supplementation of tributyrin improves the growth and intestinal digestive and barrier functions in intrauterine growth-restricted piglets. **Clinical nutrition**, v. 35, n. 2, p. 399-407, 2016.
- DOS ANJOS, C. M.; GOIS, F. D.; DOS ANJOS, C. M.; DE SOUZA ROCHA, V.; E CASTRO, D. E. D. S.; ALLAMAN, I. B.; SILVA, L. F.; CARVALHO, P. L. O.; MENEGHETTI, C.; COSTA, L. B. Effects of dietary beta-glucans, glucomannans and mannan oligosaccharides or chlorohydroxyquinoline on the performance, diarrhea, hematological parameters, organ weight and intestinal health of weanling pigs. **Livestock Science**, v. 223, p. 39-46, 2019.
- D'INCA, R.; GRAS-LE GUEN, C.; CHE, L.; SANGILD, P. T.; LE HUËROU-LURON, I. Intrauterine growth restriction delays feeding-induced gut adaptation in term newborn pigs. **Neonatology**, v. 99, n. 3, p. 208-216, 2011.
- FANG, C. L.; SUN, H.; WU, J.; NIU, H. H.; FENG, J. Effects of sodium butyrate on growth performance, haematological and immunological characteristics of weanling piglets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 4, p. 680-685, 2014.

- FERRARA, F.; SUN, H.; WU, J.; NIU, H. H.; FENG, J. Influence of medium-chain fatty acids and short-chain organic acids on jejunal morphology and intra-epithelial immune cells in weaned piglets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 101, n. 3, p. 531-540, 2017.
- 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.
- GUILLOTEAU, P.; MARTIN, L.; EECKHAUT, V.; DUCATELLE, R.; ZABIELSKI, R.; VAN IMMERSSEEL, F. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. **Nutrition research reviews**, v. 23, n. 2, p. 366-384, 2010.
- GUO, M.; HAYES, J.; CHO, K. O.; PARWANI, A. V.; LUCAS, L. M.; SAIF, L. J. Comparative pathogenesis of tissue culture-adapted and wild-type Cowden porcine enteric calicivirus (PEC) in gnotobiotic pigs and induction of diarrhea by intravenous inoculation of wild-type PEC. **Journal of Virology**, v. 75, n. 19, p. 9239-9251, 2001.
- HOUSHMAND, M.; AZHAR, K.; ZULKIFLI, I.; BEJO, M. H.; KAMYAB, A. Effects of nonantibiotic feed additives on performance, nutrient retention, gut pH, and intestinal morphology of broilers fed different levels of energy. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 20, n. 2, p. 121-128, 2011.
- HOU, Y.; WANG, L.; YI, D.; DING, B.; CHEN, X.; WANG, Q.; ZHU, H.; LIU, Y.; YIN, Y.; WU, G. Dietary supplementation with tributyrin alleviates intestinal injury in piglets challenged with intrarectal administration of acetic acid. **British Journal of Nutrition**, v. 111.
- JACKSON, P. G. G.; COCKCROFT, P. D. Clinical examination of the nervous system (Chapter 14). **Clinical examination of farm animals. Oxford/Malden, MA: Blackwell Science Ltd**, p. 198-216, 2002.
- JIANG, Z.; WEI, S.; WANG, Z.; ZHU, C.; HU, S.; ZHENG, C.; CHEN, Z.; HU, Y.; WANG, L.; MA, X.; YANG, X. Effects of different forms of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2015.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press, 2008.

- KOOPMANS, L.; BERNAARDS, C. M.; HILDEBRANDT, V. H.; LERNER, D.; DE VET, H. C.; VAN DER BEEK, A. J. Cross-cultural adaptation of the individual work performance questionnaire. **Work**, v. 53, n. 3, p. 609-619, 2016.
- KORNEGAY, E. T.; RHEIN-WELKER, D.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M. Performance and nutrient digestibility in weanling pigs as influenced by yeast culture additions to starter diets containing dried whey or one of two fiber sources. **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1381-1389, 1995.
- KRAIESKI, A. L.; HAYASHI, R. M.; SANCHES, A.; ALMEIDA, G. C.; SANTIN, E. Effect of aflatoxin experimental ingestion and Eimeira vaccine challenges on intestinal histopathology and immune cellular dynamic of broilers: applying an Intestinal Health Index. **Poultry science**, v. 96, n. 5, p. 1078-1087, 2017.
- LAMONT, J. T. Mucus: the front line of intestinal mucosal defense. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 664, n. 1, p. 190-201, 1992.
- LI, J.; GONG, L.; MA, Y.; HE, Y.; ZHAI, H. Effects of live yeast on the performance, nutrient digestibility, gastrointestinal microbiota and concentration of volatile fatty acids in weanling pigs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 277-288, 2006.
- LIU, Y.; ESPINOSA, C. D.; ABELILLA, J. J.; CASAS, G. A.; LAGOS, L. V. LEE, S. A.; KWON, W. B.; MATHAI, J. K.; NAVARRO, D. M. D. L.; JAWORSKI, N. W.; STEIN, H. H. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. **Animal nutrition**, v. 4, n. 2, p. 113-125, 2018.
- LOPES, S. T DOS A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. D.; EMANUELLI, M. P. Manual de patologia clínica veterinária. **Santa Maria: UFSM-Universidade Federal de Santa Maria**, 2007.
- LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 1968.
- MACHINSKY, T. G.; KESSLER, A. D. M.; RIBEIRO, A. M. L.; MORAES, M. D. L.; SILVA, I. C. M. D.; CORTÉS, M. E. M. Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2350-2355, 2010.
- MATHEW, A. G.; CHATTIN, S. E.; ROBBINS, C. M.; GOLDEN, D. A. Effects of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, and

- performance of weanling pigs. **Journal of animal science**, v. 76, n. 8, p. 2138-2145, 1998.
- MENDES, C. B. S.; FONTES, D. O.; GUEDES, R. M. C.; SILVA, F. C. O.; SILVA, M. A.; OLIVEIRA, J. S. V.; FERNANDES, I. S.; FONTES, F. A. P. V. Beta-glucon suplementacion in diets for piglets from 21 to 60 days of age. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 696-705, 2010.
- MODINA, S. C.; POLITO, U.; ROSSI, R.; CORINO, C.; DI GIANCAMILLO, A. Nutritional regulation of gut barrier integrity in weaning piglets. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1045, 2019.
- MOLIST, F.; VAN EERDEN, E.; PARMENTIER, H. K.; VUORENMAA, J. 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.
- MOTA-ROJAS, D.; OROZCO-GREGORIO, H.; VILLANUEVA-GARCIA, D.; BONILLA-JAIME, H.; SUAREZ-BONILLA, X.; HERNANDEZ-GONZALEZ, R.; ROLDAN-SANTIAGO, P.; TRUJILLO-ORTEGA, M. E. Foetal and neonatal energy metabolism in pigs and humans: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 56, n. 5, p. 215-225, 2011.
- MUNIZ, M. H. B.; BERTO, D. A.; HAUPTLI, L.; FRACAROLLI, C.; TRINDADE NETO, M. A. D.; TAMASSIA, L. F. M.; WECHSLER, F. S. Fontes orgânicas e inorgânicas de zinco e cobre como melhoradores de desempenho em leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1999-2005, 2010.
- NÉVOA, M. L.; CARAMORI JUNIOR, J. G.; CORREA, G. S. S.; ARANTES, V. M.; KAMIMURA, R.; GONÇALVES, F. C.; OLIVEIRA, M. S. F.; SANTOS, A. L.; NALON, R. P. Desempenho e características bioquímicas de leitões submetidos a dietas com aditivos probióticos, prebióticos, simbióticos e antibióticos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 447-454, 2013.
- NGUYEN, D. H.; SEOK, W. J.; KIM, I. H. Organic acids mixture as a dietary additive for pigs - A review. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 952, 2020.
- NOWAK, P.; KASPROWICZ-POTOCKA, M.; ZAWORSKA, A.; NOWAK, W.; STEFAŃSKA, B.; SIP, A.; GRAJEK, W.; JUZWA, W.; TACIAK, M.; BARSZCZ, M.; TÚSNIO, A.; GRAJEK, K.; FOKSOWICZ-FLACZYK, J.; FRANKIEWICZ, A. The effect of eubiotic feed additives on the performance of growing pigs and the

- activity of intestinal microflora. **Archives of animal nutrition**, v. 71, n. 6, p. 455-469, 2017.
- NOWAK, P.; KASPROWICZ-POTOCKA, M.; ZAWORSKA, A.; NOWAK, W.; STEFAŃSKA, B.; SIP, A.; GRAJEK, W.; GRAJEK, K.; FRANKIEWICZ, A. The effect of combined feed additives on growing pigs' performance and digestive tract parameters. **Annals of Animal Science**, v. 19, n. 3, p. 807-819, 2019.
- OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. D. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1389-1397, 2006.
- PARK, J-H.; LEE, S-I.; KIM, I-H. Effect of dietary β -glucan supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and characteristics of feces in weaned pigs. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 1193-1197, 2018.
- PEARCE, S. C.; SANZ FERNANDEZ, M. V.; TORRISON, J.; WILSON, M. E.; BAUMGARD, L. H.; GABLER, N. K. Dietary organic zinc attenuates heat stress-induced changes in pig intestinal integrity and metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 10, p. 4702-4713, 2015.
- PEKAS, J. C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of animal Science**, v. 27, n. 5, p. 1303-1306, 1968.
- PERRI, A. M.; O'SULLIVAN, T. L.; HARDING, J. C.; WOOD, R. D.; FRIENDSHIP, R. M. Hematology and biochemistry reference intervals for Ontario commercial nursing pigs close to the time of weaning. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 58, n. 4, p. 371, 2017.
- PIYADEATSOONTORN, S.; TAHARNKLAEW, R.; UPATHANPREECHA, T.; SORNPLANG, P. Encapsulating viability of multi-strain Lactobacilli as potential probiotic in pigs. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 11, n. 2, p. 438-446, 2019.
- PLUSKE, J. R. Invited review: aspects of gastrointestinal tract growth and maturation in the pre-and postweaning period of pigs. **Journal of animal science**, v. 94, n. suppl_3, p. 399-411, 2016.
- PLUSKE, J. R.; TURPIN, D. L.; KIM, J-C. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 187-196, 2018.

- ROBLES-HUAYNATE, R. A.; THOMAZ, M. C.; SANTANA, Á. E.; MASSON, G. C. I. H.; AMORIM, A. B.; SILVA, S. Z.; WATANABE, P. H.; BUDIÑO, F. E. L. Efeito da adição de probiótico em dietas de leitões desmamados sobre as características do sistema digestório e de desempenho. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, p. 248-258, 2013.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F., LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Imprensa Universitária/UFV, Viçosa, 2017.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. **Jaboticabal, BR: Funep**, 2016.
- SANTOS, A. V.; FIALHO, E. T.; ZANGERÔNIMO, M. G.; CANTARELLI, V. D. S.; TEOFILO, T. D. S.; MOLINO, J. P. Aditivos antibiótico, probiótico e prebiótico em rações para leitões desmamados precocemente. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, p. 1-10, 2016.
- SHEN, Y. B.; VOILQUE, G.; ODLE, J.; KIM, S. W. Effects of elevating Trp intake on growth and hypothalamic serotonin secretion and stress hormone secretion in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 2264-2275, 2012.
- SHI, H.; KIM, I-H. Dietary yeast extract complex supplementation increases growth performance and nutrient digestibility of weaning pigs. **Livestock Science**, v. 230, p. 103850, 2019.
- SILVA, D. J. and QUEIROZ, A.C. Análise de Voilque, G., Odle, J., & Kim, S. W. **Alimentos** (Métodos Químicos e Biológicos). 3rd Edition, Imprensa. Universitária da UFV, Viçosa, p. 235, 2002.
- STARKE, I. C.; PIEPER, R.; NEUMANN, K.; ZENTEK, J.; VAHJEN, W. Individual responses of mother sows to a probiotic *Enterococcus faecium* strain lead to different microbiota composition in their offspring. **Beneficial microbes**, v. 4, n. 4, p. 345-356, 2013.
- TAKKAR, P. N. Zinc in human and animal health. **Indian Journal of Fertilisers**, v. 7, p. 46-66, 2011.
- UTIYAMA, C. E.; OETTING, L. L.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. D. S.; MIYADA, V. S. Effects of antimicrobials, prebiotics, probiotics and herbal extracts on intestinal

- microbiology, diarrhea incidence and performance of weanling pigs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 2359-2367, 2006.
- VASSALO, M.; FIALHO, E. T.; OLIVEIRA, A. I. G.; TEIXEIRA, A. S.; BERTECHINI, A. G. Probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 1, p. 131-138, 1997.
- WANG, Y.; WU, Y.; WANG, B.; CAO, X.; FU, A.; LI, Y.; LI, W. Effects of probiotic *Bacillus* as a substitute for antibiotics on antioxidant capacity and intestinal autophagy of piglets. **Amb Express**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.
- WEARY, D. M.; JASPER, J.; HÖTZEL, M. J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, n. 1-2, p. 24-41, 2008.
- WU, Y.; WANG, Y.; ZOU, H.; WANG, B.; SUN, Q.; FU, A.; WANG, Y.; WANG, Y.; XU, X.; LI, W. Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 induces autophagy to protect against pathogens in macrophages. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 469, 2017.
- ZENG, Z.; XU, X.; ZHANG, Q.; LI, P.; ZHAO, P.; LI, Q.; LIU, J.; PIAO, X. Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 3, p. 279-285, 2015.

CAPÍTULO 2

4 O PAPEL DA TRIBUTIRINA E MONOGLICERÍDEOS EM DIETAS PARA SUPORTAR O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE LEITÕES DE CRECHE

O papel da tributirina e monoglicérideos em dietas para suportar o desempenho e saúde intestinal de leitões de creche

RESUMO

Objetivou avaliar a adição de monoglicérideos e tributirina em dietas para leitões de creche como alternativas potenciais aos antibióticos e seus efeitos sobre o desempenho, variáveis bioquímicas sanguíneas e saúde intestinal. Um total de 96 leitões machos inteiros mestiços ($7,70 \pm 0,497$ kg de BW) foram designados em um delineamento experimental de blocos casualizados, constituído por 4 tratamentos: (1) controle negativo (CN, livre de qualquer aditivo), (2) antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) adição de 2 g de um blend de monoglicérideos (MGD)/kg de dieta ou (4) adição de 2 g de tributirina (TBT)/kg de dieta. Não houve efeito de tratamento no desempenho dos animais. Na fase pré-inicial, houve maior ocorrência de diarreia (OD) em leitões do CN em comparação aos animais com CP e TBT. Entretanto, houve uma redução na OD em leitões na fase inicial dos tratamentos com CP, MGD e TBT do que àqueles do CN. Na fase pré-inicial, os animais do tratamento com TBT apresentaram um decréscimo na concentração de fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase do que os do CP, e CP ou MGD, respectivamente. Em adição, as concentrações de ureia plasmática foram superiores na fase inicial em leitões que receberam MGD em comparação aos do CN e TBT. Os animais alimentados com TBT apresentaram maior AV:PC no jejuno em comparação aos demais tratamentos. Os suínos que consumiram MGD tiveram maior infiltrado celular no íleo quando comparados aos com CP, embora foi observado uma redução na contagem de enterobactérias no conteúdo digestório nos animais deste tratamento. A adição de monoglicérideos e tributirina em dietas para leitões de creche sugeriu potenciais promissores em substituição aos antibióticos como melhoradores de desempenho.

Palavras-chave: aditivos alimentares, desempenho zootécnico, epitélio intestinal, parâmetros sanguíneos, saúde do intestino, suíno jovem

The role of dietary monoglycerides and tributyrin in supporting the growth performance and intestinal health of weaning piglets

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of dietary monoglycerides and tributyrin on weaning piglets' growth performance, blood biochemical profile, and intestinal health, as potential alternatives for antibiotics. A total of 96 male piglets (average initial body weight of 7.70 ± 0.497 kg) were assigned to a randomized complete block design consisting of four treatments: (1) negative control (NC, without any additive), (2) antibiotic as a positive control (PC, 120 mg of halquinol/kg diet), (3) monoglycerides blend (MGD, 2 g/kg of diet) or (4) tributyrin (TBT, 2 g/kg of diet). Growth performance was not influenced by the treatments. Pre-starter pigs fed NC had a higher occurrence of diarrhea (OD) when compared to PC and TBT. Starter pigs fed PC, MGD and TBT had lower OD than those fed NC. Blood concentration of alkaline phosphatase was decreased for starter pigs that received TBT, differing from those that received PC, as well as aspartate aminotransferase concentration for TBT differed from PC and MGD. In addition, increased plasma urea was observed for starter pigs that received MGD, in comparison to CN and TBT. Greater villus height and crypt depth ratio was seen in the jejunum of pigs treated with TBT. Pigs that consumed MGD had higher levels of cell infiltrate in the ileum when compared to the ones that consumed CP, even though a reduced enterobacteria count was observed in the digestive content. Overall, the addition of monoglycerides and tributyrin to the diets of weaning piglets showed promising potential as alternatives to growth promoting antibiotics.

Keywords: blood parameters, feed additives, intestinal health, intestinal epithelium, young pig, growth performance

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento do trato gastrointestinal (TGI) passa por um processo acelerado durante o pós-desmame, com mudanças acentuadas de crescimento, altas taxas de *turnover* proteico e alterações intestinais, que afetam o sistema digestório e imunológico dos leitões (PLUSKE et al., 1996). Além de ser considerado um período crucial ao desenvolvimento e desempenho dos animais, devido as alterações na biometria de órgãos do TGI e atrofia das vilosidades e profundidade das criptas (PLUSKE et al., 1996; WIESE et al., 2003), é evidenciado desequilíbrios na população de microrganismos residentes, comprometendo a maturação intestinal e provocando ocorrências de diarreia e piora no desempenho pela invasão de bactérias patogênicas.

Neste sentido, as estratégias nutricionais e/ou alimentação devem promover um ótimo desempenho na fase de creche (CAMPBELL et al., 2013), atenuando os efeitos prejudiciais do período pós-desmame. Em consequência das restrições sobre o uso dos antibióticos como melhoradores de desempenho na alimentação animal pela União Europeia, vários países como aderiram às novas tendências de produção restringido o uso de tais substâncias. Isso despertou interesse pelas empresas e pesquisadores na busca de alternativas ou soluções, como os aditivos complementares que possam substituir o uso dos antibióticos na produção animal (NGUYEN et al., 2020; BERTO et al., 2020).

Então, houve uma crescente demanda por ingredientes funcionais que não causem prejuízos no desempenho de produção e estejam em conformidade com as normativas de qualidade e segurança alimentar. Estudos científicos anteriores reportaram informações sobre a eficiência de vários aditivos utilizados na produção animal, com melhorias no desempenho e na saúde intestinal (LIU et al., 2018; MODINA et al., 2019). Por isso, pesquisas usando monoglicerídeos e tributirina (ANACARSO et al., 2017; XU et al., 2018; ZHANG et al., 2020) evidenciaram um aumento na atividade de renovação celular da mucosa intestinal, principalmente na região do cólon intestinal de leitões no pós-desmame (ZHANG et al., 2020), e demonstraram alto potencial no tratamento de cepas bacterianas (ANACARSO et al., 2017). Mediante as considerações apresentadas, existem pontos importantes a serem investigados quanto aos benefícios da utilização da tributirina ou monoglicerídeos em dietas para leitões desmamados sobre desempenho zootécnico, descrição histopatológica, peso de órgãos, e *Clostridium sulfito-redutores*.

Aqui, um estudo foi conduzido sob a hipótese de que a adição de monoglicerídeos e tributirina nas dietas de leitões desmamados melhoraria a saúde intestinal, e na promoção do ótimo desempenho de crescimento dos leitões baseado nos mecanismos de ação mencionados acima, como aditivos complementares promissores em substituir os antibióticos. Portanto, objetivou-se avaliar a adição de monoglicerídeos e tributirina em dietas para leitões desmamados como alternativas potenciais na indústria suinícola e seus efeitos sobre o desempenho de crescimento, variáveis bioquímicas sanguíneas e saúde intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, localizada na cidade de Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil. Todos os procedimentos de manejo que envolveram o uso dos animais foram devidamente aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais- CEUA (aprovação nº 02/2022).

Delineamento experimental, animais, alojamento e dietas

O experimento envolveu 96 leitões machos inteiros híbridos de linhagem comercial (Landrace × Large White, Agrocercos[♂] and DanBred[♀]), desmamados aos 25 dias de idade, com peso corporal inicial de $7,70 \pm 0,497$ kg alocados em um delineamento experimental de blocos casualizados, dentro de 4 tratamentos, com 8 repetições de três animais por baia (unidade experimental). O peso corporal dos animais foi usado como fator de blocagem.

No início do período experimental, os animais foram pesados e identificados com brincos numerados e alojados em sala de creche, constituída de baias suspensas (1,54 m²), com piso plástico de polietileno, comedouros tipo calha frontais e bebedouro tipo chupeta na parte posterior, dispostas em duas fileiras, divididas por um corredor central. O período de experimentação durou 35 dias. Os animais receberam ração e água à vontade durante o período experimental.

Tabela 15- Composição percentual das dietas fornecidas durante o período experimental de leitões na fase de creche (como base alimentada).

Ingredientes	Pré-inicial				Inicial			
	CN	CP	MGD	TBT	CN	CP	MGD	TBT
Milho moído 7,86%	47,77	47,74	47,58	47,51	59,93	60,01	59,85	59,99
Farelo de soja 45,4%	20,84	20,85	20,87	20,89	24,72	24,77	24,80	24,90
Soro de leite em pó	9,99	9,99	9,99	9,99
Soja semi-extrusada	7,99	7,99	7,99	7,99	5,99	6,00	6,00	5,58
Açúcar	3,99	3,99	3,99	3,99
Farinha de peixe 53%	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	3,00	3,00	3,01
Óleo de soja	2,21	2,22	2,17	2,23	2,29	2,30	2,25	2,32
Fosfato bicálcico	1,31	1,31	1,31	1,31	1,43	1,43	1,43	1,44
Calcário calcítico	0,78	0,78	0,78	0,78	0,72	0,72	0,72	0,73
Sulfato de lisina 54,6%	0,65	0,65	0,65	0,65	0,53	0,53	0,53	0,53
DL-metionina 99,5%	0,21	0,21	0,21	0,21	0,16	0,16	0,16	0,17
L-valina	0,32	0,32	0,32	0,32	0,15	0,15	0,15	0,16
L-treonina 96,8%	0,25	0,25	0,25	0,25	0,18	0,18	0,18	0,18
L-triptofano 99%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02
Premix	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,30	0,30	0,30
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20	0,42	0,42	0,42	0,42
Halquinol	.	0,01	.	.	.	0,01	.	.
Blend de monoglicerídeos	.	.	0,19	.	.	.	0,20	.
Tributirina	.	.	.	0,19	.	.	.	0,20
Energia met. mcal/kg	3,375	3,375	3,375	3,375	3,350	3,350	3,350	3,350
Proteína bruta (%)	19,87	19,87	19,87	19,87	20,55	20,55	20,55	20,55
Lactose (%)	7,000	7,000	7,000	7,000
Lisina digestível (%)	1,346	1,346	1,346	1,346	1,281	1,281	1,281	1,281
Met + cistina digestível (%)	0,754	0,754	0,754	0,754	0,730	0,730	0,730	0,730
Treonina digestível (%)	0,902	0,902	0,902	0,902	0,833	0,833	0,833	0,833
Triptofano digestível (%)	0,256	0,256	0,256	0,256	0,243	0,243	0,243	0,243
Valina digestível (%)	0,929	0,929	0,929	0,929	0,884	0,884	0,884	0,884
Sódio (%)	0,219	0,219	0,219	0,219	0,205	0,205	0,205	0,205
Cálcio total (%)	0,973	0,973	0,973	0,973	0,910	0,910	0,910	0,910
Fosfóro disponível (%)	0,481	0,481	0,481	0,481	0,450	0,450	0,450	0,450
Energia bruta	4,164	4,177	4,157	4,149	4,181		4,162	4,180
Proteína bruta	19,29	20,04	20,24	19,48	20,04	20,18	21,06	20,48
Matéria seca	89,14	88,35	88,85	88,50	88,63	87,27	88,67	88,16
Matéria mineral	5,03	5,37	5,57	5,91	5,45	7,75	6,34	5,44
Fibra em detergente neutro	11,62	12,60	11,76	11,86	11,90	11,01	11,96	12,83
Fibra em detergente ácido	3,88	3,28	3,20	3,23	3,52	3,43	3,05	3,38
Extrato etéreo	6,89	6,94	7,00	6,34	6,41	6,80	7,59	7,40

¹Tratamentos experimentais - CN: dieta controle negativo ausente de aditivo e antibiótico, CP: Controle positivo com adição de Halquinol: 120 mg de halquinol/kg de dieta, MGD: dieta com adição do *blend* de monoglicerídeos em 2 g/kg de dieta (33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10), TBT: dieta

com adição de tributirina em 2 g/kg de dieta (55,8% de tributirina e sílica como veículo). Níveis Nutricionais por kg do produto, mineral: (mg/kg): Sulfato de Mn (120), Óxido de Zn (160), Sulfato de Fe (120), Sulfato de Cu (20), Iodo (2), Selenito de sódio (1,2); Vitaminas (mg/kg): K₃ (12.800), B₁ (6.400), B₂ (16.000), B₆ (6.400), Niacina (98.260), Ácido pantotênico (32.340), Ácido fólico (1.920), B₁₂ (64.000), Biotina (640.000 KIU/kg): A (32.000 KIU/kg), D₃ (6.400 KIU/kg): E (80.000 UI/kg).

A temperatura do ambiente e umidade relativa do ar foram registradas com o auxílio de um datalogger com mostrador digital (marca Vketech, modelo UT330B digital USB; UNI-T, Beijing), controlados por meio da abertura ou fechamento de janelas basculantes e com o uso de lâmpadas incandescentes individuais por baia e aquecedores laterais. A temperatura ambiente média registrada no centro do galpão experimental foi de 26,7°C e umidade relativa do ar de 97,5%.

Os tratamentos foram constituídos por: (1) dieta controle negativo (CN, livre de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g de um blend de monoglicerídeos (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10)/kg de dieta ou (4) dieta com adição de 2 g de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo)/kg de dieta. Todas as dietas formuladas foram fornecidas na forma farelada à base de milho moído, farelo de soja e aminoácidos sintético, de acordo com as exigências nutricionais para leitões na fase de creche descritas por Rostagno et al. (2017) (Tabela 13).

Ensaio de desempenho zootécnico, ocorrência de diarreia

Os animais foram pesados no início, durante e ao final do período experimental com auxílio de uma balança digital (balança digital de inox, modelo UL50i digital scale, model BPW-5000; Primax, São Paulo, Brazil), bem como a quantidade de dieta fornecida, o desperdício e as sobras. Com base nesses dados, foi calculado o consumo diário de ração médio (CRDM, kg), o ganho de peso corporal diário (GPCD, kg) e a taxa de conversão alimentar (TCA, kg:kg). As fases de crescimento do experimento foram definidas em pré-inicial (20 dias de experimentação) e inicial (15 dias de experimentação).

Ocorrência de diarreia

A ocorrência de diarreia (OD) foi registrada diariamente, no período da manhã (09h00) antes da limpeza da unidade experimental, atribuindo notas de 0 a 3 para os diferentes escores de consistência fecal observados na baia, em que: (0) sólidas, (1) pastosa, (2) líquida/pastosa e (3) líquida (PÉREZ-CALVO et al., 2019).

Amostragem e análises de sangue

A coleta de sangue (\cong 10 mL) foi realizada (08h00) por punção da veia cava cranial anterior de 64 animais nos finais das fases pré-inicial e inicial, usando agulhas de calibre $0,7 \times 30$ mm. O sangue coletado foi transferido para três tubos de vidro identificados anteriormente, contendo anticoagulantes heparina, ácido etilenodiamino tetra-acético e fluoreto de sódio, armazenados em uma caixa de isopor contendo gelo (\cong 4°C) e transportado ao Laboratório de Parâmetros Sanguíneos. As amostras foram centrifugadas (centrífuga analógica Centrilab, modelo 80-2B, Maringá, PR, Brasil) para obtenção do plasma a 3000 g por 10 minutos.

O plasma foi transferido (\cong 3 mL) para tubos tipo eppendorf, previamente identificados em duplicatas e congelados a -20°C para análises posteriores de glicose (método enzimático-colorimétrico, Trinder), ureia (método enzimático-colorimétrico), proteínas totais (colorimétrico-biureto), colesterol (enzimático colorimétrico), fosfatase alcalina (cinético colorimétrico), alanina aminotransferase (método cinético-UV), aspartato aminotransferase (método cinético-UV) e albumina (método enzimático-colorimétrico). As análises foram determinadas por espectrofotometria (Bel SPECTRO S05, Ramos, RJ, Brasil), usando kits comerciais específicos (Gold Analisa Diagnóstica, Belo Horizonte, MG, Brasil).

pH do conteúdo do trato digestório

No abate (36° dia de experimentação), seis animais de cada tratamento experimental após jejum de 12 horas, foram atordoados por eletronarcose (240 volts por três segundos) e eutanaziados por exsanguinação, seguindo os métodos de abate humanitário. A escolha dos animais abatidos foi feita de acordo com o peso corporal mais próximo da média do tratamento.

As vísceras foram expostas por uma incisão mediana e as seções do trato gastrointestinal foram assepticamente isoladas com dupla ligadura. O conteúdo do trato digestório foi homogeneizado em cada porção para aferição do pH na região medial do estômago, jejuno (150 cm da junção ileocecal), íleo (15 cm da junção ileocecal), ceco e cólon medial, usando um peagâmetro digital (Hanna Instruments Inc., Rhodes Island, EUA, modelo HI 99163), adotando a metodologia descrita por Manzanilla et al. (2006).

Peso relativo de órgãos (%)

Após mensuração do pH, foram retirados e pesados (balança eletrônica digital, modelo 9094, marca Toledo, Barueri, São Paulo, Brasil) os órgãos digestórios (estômago vazio, fígado + vesícula biliar, intestino delgado vazio, ceco e cólon vazios) e órgãos não digestórios (coração, baço e rins), e o comprimento do intestino delgado dos animais foi mensurado com o auxílio de uma fita métrica. Com os dados, o peso relativo de órgão (PRO) foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{PRO (\%)} = \left(\frac{\text{Peso de órgão}}{\text{Peso corporal de abate do animal}} \right) \times 100$$

Amostras do epitélio e microbiota intestinal

Segmentos de aproximadamente 3 cm de comprimento do jejuno (extraído a 150 cm da junção ileocecal) e íleo (extraído a 15 cm da junção ileocecal) foram extraídos imediatamente após a remoção dos órgãos (GUO et al., 2001). As amostras intestinais foram lavadas com água destilada e solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%), acondicionadas em potes plásticos estéreis de 50 mL contendo solução de formaldeído tamponada a 10% (37,5% formaldeído comercial, água destilada, fosfato de sódio mono e dibásico) por 48 h, que após esse período foram transferidas e mantidas em uma solução de álcool 70%.

Posteriormente, as amostras foram enviadas ao Laboratório Mercolab de Histopatologia (Cascavel, PR, Brasil), lavadas em solução salina, fixadas em solução de Boin e então desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafinizadas em xilol e incluídas em parafina para obtenção dos cortes histológicos longitudinais e

semiseriados. Os cortes histológicos tiveram cinco micrômetros de espessura e foram corados pelo método de hematoxilina-eosina.

As lâminas tiveram suas imagens capturadas por uma câmera digital (Pro Series da Media Cybernetics[®], Silver Spring, MD, USA), acoplada a um microscópio Olympus Bx 40 (Olympus, Tokio, Japan). A leitura das imagens para avaliar o desenvolvimento intestinal por meio de um estudo morfológico e morfométrico, foi realizada com o auxílio de um programa (Image-Pro plus 4.1, Media Cybernetics[®], Silver Spring, Maryland). Para avaliação dos parâmetros de histopatologia intestinal foram separados dois fragmentos de cada animal. Os parâmetros avaliados foram analisados por meio de um microscópio óptico com aumento de 4x (Olympus, Tokio, Japan), observando a presença ou ausência de infiltrado, hiperemia, descamação, coccidiose, grumos bacterianos, bastonetes, muco, células caliciformes, necrose tecidual.

Microbiota intestinal

Foram coletadas amostras do conteúdo jejunal dos leitões por isolamento, contagem e caracterização microbiana intestinal pelo método de plaqueamento tradicional. Após a evisceração, com o auxílio de uma lâmina cirúrgica estéril, a mucosa do segmento jejunal foi exposta e a digesta envasada em potes plásticos estéreis identificados e armazenados em caixa térmica (4°C). As análises microbiológicas foram realizadas em um laboratório comercial (Cascavel, PR, Brasil). O método utilizado foi com base na descrição da ISSO 16649-2:2001 (International Organization for Standardization, 2006). Os dados obtidos foram transformados em \log_{10} UFC/g.

Procedimentos estatísticos

Antes de avaliar o resultado da análise de variância (ANOVA) ou covariância (ANCOVA), foi procedido o diagnóstico de *outliers* que pudessem interferir na normalidade dos resíduos. O modelo estatístico utilizado incluiu tratamento experimental como um efeito fixo e bloco como um efeito aleatório para o desempenho zootécnico e variáveis bioquímicas sanguíneas. O peso corporal inicial dos animais e as variáveis sanguíneas a priori (*baseline*) foram usados como covariáveis no modelo. Para as demais

variáveis, o modelo estatístico utilizado foi o mencionado anteriormente, sem incluir o uso de covariável. Os dados de contagens microbiológicas obtidos foram transformados para uma escala logarítmica (base dez).

Para a análise de ocorrência de diarreia (como distribuição binomial) e histopatologia intestinal, o *generalized linear model* foi ajustado aos dados representado pela porção sistemática de tratamento experimental como um efeito fixo e bloco como um efeito aleatório. A significância dos efeitos associados aos tratamentos foi verificada com a análise do tipo III. A avaliação da qualidade de ajuste do modelo foi verificada pelo critério de informação de Akaike. As comparações de médias foram feitas usando um teste da diferença entre as *lsmeans*.

Os efeitos dos tratamentos experimentais sobre as variáveis dependentes foram verificados na ANOVA ou ANCOVA, e as comparações de médias entre tratamentos foram feitas pelo teste de Student-Newman-Keuls ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos do software estatístico SAS University Edition (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Todos os dados com distribuição normal foram apresentados como médias com erro padrão da média agrupado.

RESULTADOS

Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia

Os resultados demonstraram que os tratamentos experimentais não afetaram ($P < 0,05$) o desempenho dos animais (Tabela 14).

Tabela 16- Desempenho zootécnico de leitões durante a fase de creche alimentados com dietas contendo monoglicérides e tributirina.

Variáveis ⁴	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	valor-P ³
	CN	CP	MGD	TBT		
Fase pré-inicial (20 dias de experimentação)						
PCI, kg	7,85	7,70	7,67	7,68	0,104	-
PCF, kg	14,82	14,65	13,88	13,72	0,313	0,373
CRDM, kg	0,48	0,45	0,42	0,41	0,017	0,511
GPCD, kg	0,33	0,32	0,29	0,28	0,011	0,292

Tabela 14 - Desempenho zootécnico de leitões durante a fase de creche alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina

Variáveis ⁴	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	valor-P ³
	CN	CP	MGD	TBT		
Fase pré-inicial (20 dias de experimentação)						
CA, kg:kg	1,47	1,38	1,41	1,49	± 0,024	0,407
Fase inicial (15 dias de experimentação)						
PCI, kg	14,82	14,65	13,88	13,72	± 0,313	0,373
PCF, kg	24,62	24,23	23,14	22,88	± 0,387	0,213
CRDM, kg	1,06	1,00	0,99	0,98	± 0,019	0,650
GPCD, kg	0,69	0,65	0,65	0,64	± 0,012	0,317
CA, kg:kg	1,51	1,54	1,55	1,52	± 0,017	0,689
Período total (35 dias de experimentação)						
PCI, kg	7,85	7,70	7,67	7,68	± 0,104	-
PCF, kg	24,62	24,23	23,14	22,88	± 0,387	0,213
CRDM, kg	0,69	0,67	0,65	0,64	± 0,012	0,639
GPCD, kg	0,47	0,46	0,44	0,43	± 0,008	0,474
CA, kg:kg	1,48	1,44	1,49	1,48	± 0,023	0,920

^{a,b,c} Proporções observadas seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste da diferença entre as lsmeans ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, sem adição de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g/kg de um blend de monoglicerídeos (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10) e (4) dieta com adição de 2 g/kg de dieta de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo); ²EPM: erro padrão da média agrupado. valor-P³: nível de significância. ⁴PCI = peso corporal inicial, PCF = peso corporal final, CRDM = consumo de ração diário médio, GPCD = ganho de peso corporal diário, TCA = taxa de conversão alimentar.

Na fase pré-inicial, houve maior ($P = 0,022$) OD em leitões do CN em comparação aos animais alimentados com CP e TBT (Tabela 15). Entretanto, houve uma diminuição ($P < 0,000$) na OD em leitões na fase inicial dos tratamentos com CP, MGD e TBT do que àqueles do CN.

Tabela 17 - Ocorrência de diarreia (%) de leitões durante a fase de creche, alimentados com rações contendo monoglicerídeo e tributirina.

Fases de Crescimento	Tratamentos experimentais ¹				Valor-P ²
	CN	CP	MGD	TBT	
Pré-inicial I	7,14 ^a	0,00 ^b	16,07 ^a	7,14 ^a	0,003
Pré-inicial II	12,50 ^a	3,57 ^c	10,71 ^{ab}	4,46 ^{bc}	0,022
Inicial	7,14 ^a	0,00 ^b	0,00 ^b	1,79 ^b	0,000
Total	9,29 ^a	1,43 ^c	7,50 ^{ab}	3,93 ^{bc}	<0,001

¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, sem adição de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g/kg de um blend de monoglicerídeos (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10) e (4) dieta com adição de 2 g/kg de dieta de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como

veículo). CN: Controle Negativo (sem aditivo); CP: Controle Positivo (com adição de Halquinol); MGD: Controle Positivo com adição do *Blend* de Monoglicérides; TBT: Controle Positivo com adição de Tributirina. ^{abc}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste da diferença entre as *lsmeans* ao nível de 5% de probabilidade; valor-P²: nível de significância.

Variáveis bioquímicas sanguíneas

Na fase pré-inicial, os animais do tratamento com TBT apresentaram um decréscimo na concentração de fosfatase alcalina ($P = 0,038$) e aspartato aminotransferase ($P = 0,037$) do que os do CP, e CP ou MGD, respectivamente (Tabela 16). Em adição, as concentrações de ureia plasmática foram superiores ($P = 0,012$) na fase inicial em leitões que receberam MGD em comparação aos do CN e TBT.

Tabela 18 – Variáveis bioquímicas sanguíneas de leitões durante a fase de creche alimentados com dietas contendo monoglicérides e tributirina.

Variáveis ⁴	Tratamentos experimentais ¹					Valor-P ³
	Fase Pré-inicial (20 dias de experimentação)					
	CN	CP	MGD	TBT	EPM ²	
Proteína total (g/dL)	4,57	5,15	5,22	4,80	±0,119	0,178
Albumina (g/dL)	3,32	3,13	3,09	3,03	±0,100	0,343
Colesterol (mg/dL)	78,42	75,38	85,15	77,84	±3,163	0,656
Fosfatase Alcalina (U/L)	386,52 ^{ab}	455,27 ^a	398,13 ^{ab}	307,29 ^b	±19,193	0,038
AST (U/L)	50,31 ^{ab}	62,04 ^a	65,03 ^a	36,97 ^b	±5,876	0,037
ALT (U/L)	46,90	52,22	48,26	45,69	±2,759	0,851
Glicose (mg/dL)	105,18	106,92	99,64	106,28	±1,870	0,172
Ureia (mg/dL)	17,18	16,95	21,14	19,17	±0,769	0,162
Fase Inicial (15 dias de experimentação)						
Proteína total (g/dL)	4,47	4,73	4,75	4,69	±0,098	0,672
Albumina (g/dL)	3,30	3,17	3,15	3,24	±0,127	0,842
Colesterol (mg/dL)	97,15	95,08	94,39	101,74	±2,424	0,685
Fosfatase Alcalina (U/L)	411,40	422,03	404,41	319,27	±21,263	0,197
AST (U/L)	82,18	77,77	90,93	84,37	±3,862	0,630
ALT (U/L)	72,41	68,26	67,81	78,26	±3,798	0,641
Glicose (mg/dL)	108,97	105,8	100,99	100,65	±1,587	0,205
Ureia (mg/dL)	16,53 ^b	18,70 ^{ab}	21,04 ^a	15,81 ^b	±5,335	0,012

^{a,b}Valores de médias seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste Student-Newman-Keuls ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, livre de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g de um blend de monoglicérides (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicérides C8 e C10)/kg de dieta ou (4) dieta com adição de 2 g de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo)/kg de dieta. ²EPM: erro padrão da média agrupado. Valor-P³: nível de significância. ⁴AST: aspartato aminotransferase, ALT: alanina aminotransferase.

Biometria de órgãos digestórios e não digestórios e pH do conteúdo do trato gastrointestinal

Não houve efeito ($P < 0,05$) de tratamento sobre as variáveis de peso de órgãos relativo, comprimento do intestino delgado e pH do conteúdo do trato digestório (Tabela 17).

Tabela 19- Peso de órgãos relativo digestórios e não digestórios (como porcentagem de peso corporal) e pH do conteúdo trato digestório de leitões alimentados com dietas contendo monoglicérides e tributirina (aos 35 dias de experimentação).

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				Média+EPM ²	valor-P ³
	CN	CP	MGD	TBT		
Peso de órgãos relativo digestórios e não digestórios (%)						
Coração	0,55	0,50	0,53	0,53	0,53 ± 0,011	0,480
Estômago vazio	0,79	0,81	0,81	0,75	0,78 ± 0,018	0,752
Intestino delgado vazio	4,17	3,91	3,96	4,26	4,08 ± 0,106	0,616
Ceco vazio	0,24	0,21	0,24	0,20	0,22 ± 0,008	0,191
Cólon vazio	1,83	2,00	1,90	1,83	1,89 ± 0,037	0,390
Fígado + vesícula biliar	2,63	2,58	2,58	2,6	2,60 ± 0,035	0,886
Baço	0,20	0,21	0,20	0,22	0,21 ± 0,007	0,815
Rins	0,49	0,52	0,51	0,50	0,50 ± 0,009	0,809
Intestino delg. vazio (%)	56,08	56,15	55,86	56,13	56,06 ± 0,192	0,992
Intestino delgado (m) ¹	13,33	13,39	13,10	13,30	13,28 ± 0,720	0,874
pH do conteúdo do trato digestório						
Estômago	4,04	4,61	3,38	4,31	4,06 ± 0,232	0,152
Jejuno	6,01	6,17	5,79	5,67	5,91 ± 0,098	0,328
Íleo	6,03	5,76	5,89	5,8	5,86 ± 0,140	0,914
Ceco	5,27	5,35	5,37	5,34	5,33 ± 0,033	0,759
Cólon	5,69	5,78	5,80	5,90	5,79 ± 0,045	0,427

¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, sem adição de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g/kg de um blend de monoglicérides (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicérides C8 e C10) e (4) dieta com adição de 2 g/kg de dieta de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo, ²EPM: erro padrão da média; valor-P³: nível de significância.

Amostras do epitélio e microbiologia intestinal

Os animais alimentados com TBT apresentaram maior ($P = 0,004$) AV:PC no jejuno em comparação aos demais tratamentos (Tabela 18).

Tabela 20- Avaliação de altura de vilosidades (AV) e profundidade de criptas (PC) e relação AV:PC dos segmentos jejuno e íleo de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeo e tributirina (aos 35 dias de experimentação).

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹				EPM ²	valor-P ³
	CN	CP	MGD	TBT		
Jejuno						
Alt. de vilosidades (µm)	0,420	0,480	0,440	0,415	±0,016	0,529
Profund. de cripta (µm)	0,180	0,170	0,160	0,153	±0,007	0,601
AV:PC	2,260 ^b	2,940 ^b	2,993 ^b	3,820 ^a	±0,153	0,004
Íleo						
Alt. de vilosidades (µm)	0,353	0,320	0,390	0,383	±0,011	0,176
Profund. de cripta (µm)	0,216	0,173	0,186	0,213	±0,007	0,099
AV:PC	1,710	1,905	2,200	2,013	±0,077	0,121

¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, sem adição de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g/kg de um blend de monoglicerídeos (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10) e (4) dieta com adição de 2 g/kg de dieta de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo. ^{ab}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade. ²EPM: erro padrão da média; valor-P³: nível de significância.

Os suínos que consumiram MGD tiveram (P = 0,025) maior escore de infiltrado celular no íleo quando comparados aos com CP (Tabela 19).

Tabela 21- Morfologia intestinal da porção jejunal e ileal de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina (aos 35 dias de experimentação).

Jejuno	Tratamentos experimentais ¹				valor-P ²
	CN	CP	MGD	TBT	
Infiltrado celular	1,49	1,78	1,41	1,16	0,351
Congestão	1,15	1,03	1,15	1,40	0,116
Descamação epitelial	1,48	1,99	1,29	1,33	0,461
Coccidiose	0	0	0	0	0
Grumos bacterianos	0	0	0	0	0
Bastonetes	0	0	0	0	0
Criptas císticas	0	0	0	0	0
Muco	0	0	0	0	0
Necrose tecidual	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0
Íleo					
	CN	ANT	MGD	TBT	
Infiltrado celular	1,49 ^{ab}	1,00 ^b	1,80 ^a	1,39 ^{ab}	0,025
Congestão	1,62	1,15	1,50	1,15	0,068
Descamação epitelial	1,68	1,25	1,58	1,34	0,418
Coccidiose	0	0	0	0	0

Tabela 19 – Morfologia intestinal da porção jejunal e ileal de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina (aos 35 dias de experimentação)

Íleo	Tratamentos experimentais ¹				
	CN	ANT	MGD	TBT	
Grumos bacterianos	0	0	0	0	0
Bastonetes	0	0	0	0	0
Criptas císticas	0	0	0	0	0
Muco	0	0	0	0	0
Necrose tecidual	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0

^{a,b}Escores médios seguidos por letras minúsculas diferentes na linha, diferem entre si teste pelo teste da diferença entre as *lsmeans* ao nível de 5% de probabilidade. Descrição histopatológica: 0 = ausente, 1 = discreto, 2 = moderado, 3 = intenso.¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, livre de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g de um blend de monoglicerídeos (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10)/kg de dieta ou (4) dieta com adição de 2 g de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo)/kg de dieta. valor-P²: nível de significância.

Foi observado (P = 0,002) uma redução na contagem da população de enterobactérias no conteúdo digestório nos animais no tratamento com MGD em comparação aos demais tratamentos (Tabela 20).

Tabela 22- Contagem de populações bacterianas (log₁₀ UFC/g) de leitões alimentados com dietas contendo monoglicerídeos e tributirina (aos 35 dias de experimentação).

Variáveis	Tratamentos experimentais ¹					valor-P ³
	Fase Pré-inicial II					
	CN	CP	MGD	TBT	EPM ²	
<i>Clostridium sulfito Redutores</i>	4,37	4,04	2,82	2,98	±0,377	0,431
Enterobactérias	6,78 ^a	7,01 ^a	4,67 ^b	7,36 ^a	±0,292	0,002
Bactérias ácido lácticas	8,60	8,10	8,09	8,21	±0,154	0,641

^{a,b}Valores de médias seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste Student-Newman-Keuls ao nível de 5% de probabilidade. ¹Tratamentos experimentais: (1) dieta controle negativo (CN, livre de aditivo alimentar e antibiótico), (2) dieta com antibiótico como controle positivo (CP, 120 mg de halquinol/kg de dieta), (3) dieta com adição de 2 g de um blend de monoglicerídeos (MGD, 33% de monolaurina e 41,3% monoglicerídeos C8 e C10)/kg de dieta ou (4) dieta com adição de 2 g de tributirina (TBT, 55,8% de tributirina e sílica como veículo)/kg de dieta. ²EPM: erro padrão da média agrupado. valor-P³: nível de significância.

DISCUSSÃO

Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia

A literatura científica é limitada em estudos envolvendo o uso de MGD em dietas para leitões na fase de creche. Entretanto, os resultados encontrados neste estudo corroboram com outras pesquisas (ARAÚJO et al., 2015; SAKDEE et al., 2016; GRECCO et al., 2018), que avaliaram uma mistura de acidificantes em dietas para leitões recém-desmamados sobre o desempenho zootécnico e não observaram melhorias nas variáveis analisadas.

Os achados do presente estudo são suportados por fatores como a complexidade das dietas fornecidas, auxiliando no desenvolvimento e maturação do trato gastrointestinal, favorecendo a atividade enzimática (LINDEMANN et al., 1986; MORGAN et al., 2014; PLUSKE et al., 2016), a inclusão de óxido de zinco e sulfato de cobre no premix das dietas, atuando como agentes antimicrobianos (KATOULI et al., 1999; ADEWOLE et al., 2016), ou pode estar associado ao manejo e procedimentos de bem-estar adotados durante o período experimental (RADECKI et al., 1988; SAKDEE et al., 2016), contribuindo para a ausência de respostas favoráveis, ou até mesmo afetando a eficiência de ação dos aditivos utilizados no presente estudo.

De acordo com Sakdee et al. (2016), a falta de resposta ou resultados discrepantes envolvendo o uso de aditivos alimentares em dietas para suínos sobre o desempenho pode ser atribuída também ao fator idade, fatores ambientais, sistema de manejo, a dose utilizada, a composição da dieta, além da saúde integral no início do experimento.

Os fatores mencionados acima estão diretamente associados ao desmame abrupto de leitões, promovendo redução no desempenho devido ao estresse causado pela transição maternidade-creche e comprometimento na atividade de enzimas metabólicas, afetando negativamente a saúde intestinal e refletindo em prejuízos no desempenho de produção (PLUSKE et al., 2018; JACKMAN et al., 2020). Essas injúrias causadas no sistema digestórios resultam em diminuição no consumo da dieta e causam ocorrência de diarreia nos animais, com diminuição da eficiência alimentar devido ao gasto energético para suporte ao sistema imunológico (BAUER et al., 2006; PLUSKE et al., 2018). Portanto, resultados conflitantes relativos às respostas biológicas dos leitões, quando adicionado

monoglicerídeos e tributirina nas rações podem estar relacionados à composição da ração e interação com outros compostos (ARAÚJO et al., 2015; GRECCO et al., 2018).

Durante o período de desmame há um agravamento dos quadros de diarreia, devido aos leitões apresentarem desidratação pela perda de água e solutos (ZLOTOWSKI et al., 2008; GRECCO et al., 2018). Achados na literatura relataram que os uso de MGD e TBT podem reduzir ou eliminar a maioria das bactérias patogênicas e cepas intestinais multirresistentes, tornando o ambiente inóspito ao seu desenvolvimento, refletindo também nos quadros de diarreias pós-desmame (WANG et al., 2017; ANACARSO et al., 2017).

Os resultados do presente estudo estão em concordância aos achados de Costa et al. (2011), que testaram butirato de sódio nas dietas de leitões desmamados e não evidenciaram melhorias sobre as variáveis de desempenho e ocorrência de diarreias. Os autores supramencionados justificaram a falta de resposta devido à alta digestibilidade da dieta que resultou com a ausência de substratos não digeríveis destinados aos microrganismos patogênicos, bem como as condições de experimentação favoráveis em que os leitões foram sujeitos, como evidenciado nas variáveis de desempenho no estudo atual.

Em contraste, Fang et al. (2014) avaliaram butirato de sódio em dietas para leitões e relataram que esses sais foram capazes de reduzir os efeitos do estresse em leitões desmamados devido à liberação de moléculas orgânicas dos sais no epitélio intestinal, promovendo a mitose e proliferação celular; e isso refletiu em redução na ocorrência de diarreia nos animais por meio de uma melhoria na área absorptiva da mucosa intestinal. Essa declaração evidenciou os resultados obtidos em leitões a partir da fase pré-inicial que receberam TBT na dieta.

Variáveis bioquímicas sanguíneas

Fatores como idade, sexo, composição nutricional, raça, período do ano, estressores e saúde do animal, devem ser considerados na avaliação dos resultados hematológicos e bioquímicos do sangue em leitões (COOPER et al., 2014). Os fatores mencionados acima refletiram em nossos achados, em razão de que durante o período de experimentação os animais apresentaram bom estado de saúde, recebendo o mesmo

manejo de arraçoamento das dietas e da mesma origem de criação. Os resultados mostraram que as concentrações de proteína total, albumina plasmática, colesterol total, alanina aminotransferase e glicose em leitões de creche permaneceram dentro dos valores de referência (FRIENDSHIP e HENRY, 1992; LOPES et al., 2007; PERRI et al., 2017), considerados na faixa fisiológica ideal (ELBERS et al., 1992).

Os animais tratados com MGD apresentaram concentrações plasmáticas de ureia maiores na fase inicial do que aqueles alimentados com TBT ou CN, mas dentro do valor de referência (FRIENDSHIP e HENRY, 1992; LOPES et al., 2007; PERRI et al., 2017), que sugeriu uma melhora na eficiência de utilização dos compostos nitrogenados (Nowak et al., 2019). Enquanto a ureia circulante no sangue é um resíduo produzido pela quebra de proteínas da dieta pelo fígado, concentrações elevadas podem indicar lesão renal e/ou hepática (SOTIRA et al., 2020).

Essas lesões podem ser identificadas a partir de análise histológica, hematológica ou bioquímica como no presente estudo, em que foram realizados exames de sangue para verificar as concentrações de AST e ALT. Notavelmente, as concentrações de AST foram alteradas na fase pré-inicial em animais do tratamento com MGD, sugerindo modificações fisiológicas no fígado; entretanto, este fato não foi observado na fase inicial do estudo, indicando função renal e hepática normais, e nenhum distúrbio relacionado à saúde animal.

Nowak et al. (2019), avaliaram os efeitos de aditivos combinados (preparações eubióticas) sobre as variáveis bioquímicas sanguíneas e relataram que os resultados refletiram em efeitos promissores na saúde, metabolismo e na absorção dos nutrientes da digesta, e tais características podem ser observadas por meio da bioquímica do sangue, como concentrações elevadas de proteínas totais, albuminas, glicose e triglicerídeos, mas reduzida concentração de ureia. Entretanto, no presente estudo essas variáveis não foram alteradas de acordo com os tratamentos experimentais.

Aqui, a determinação da concentração de fosfatase alcalina sanguínea (FAS) foi utilizada para investigar distúrbios intestinais como a disbiose intestinal (LOPES et al., 2007; MCFARLAND, 2008). Níveis acima dos valores de referência (118 a 395 U/L) de FAS (LOPES et al., 2007) foram obtidos em animais do grupo CP em comparação aos alimentados com TBT, o que pode ser explicado por intercorrências no período pós-desmame e a presença de antibiótico neste tratamento, provocando uma diminuição do

número de bactérias benéficas devido à disbiose intestinal, que refletiu no aumento da população de enterobactérias, e nessas situações há concentração elevada de FAS (ALAM et al., 2014).

Biometria de órgãos digestórios e não digestórios, e pH do conteúdo do trato digestório

A biometria de órgãos não foi alterada em função dos tratamentos testados, bem como houve falta de resposta do pH do conteúdo do trato digestório de leitões. Esses achados estão de acordo com Grecco et al. (2018), que utilizaram uma mistura de acidificantes (formato de cálcio, lactato de cálcio e ácidos graxos de cadeia média) em dietas contendo colistina (40 ppm) ou halquinol (120 ppm) para leitões recém desmamados e não observaram alterações sobre o peso do estômago, intestino delgado, ceco, cólon, fígado, baço e rins. Os autores mencionados acima justificaram a ausência de efeito devido às dietas serem isonutricionais, como as do presente estudo.

Espera-se que a suplementação com acidificantes como a tributirina reduza o pH gástrico, o que afetaria o aumento da atividade das enzimas digestivas gástricas, bem como o aumento na digestão de proteínas (TUGNOLI et al., 2020), embora estes efeitos não tenham sido validados em estudos similares (BRAZ et al., 2011; ZHANG et al., 2020). Foi evidenciado que o uso de acidificantes na dieta não promoveu efeitos no quimo gastrintestinal (GRECCO et al., 2018), em acordo ao observado neste estudo em leitões que receberam os aditivos alimentares, sugerindo que esta não é o mecanismo de ação mais atuante destes compostos. Este fato é sustentado pela absorção parcial de acidificantes em nível de gástrico, que impede a entrada de sais no intestino delgado, reduzindo os possíveis efeitos benéficos (SOTIRA et al., 2020).

Amostras do epitélio e microbiota intestinal

O período pós-desmame é caracterizado pela diminuição da AV e aumento da PC no intestino delgado, comprometendo uma ótima digestão e absorção de nutrientes e não mantendo as funções e estruturas do epitélio intestinal (MONTAGNE et al., 2003; WANG et al., 2006). Portanto, a manutenção da arquitetura intestinal é importante para

a utilização ideal de nutrientes em leitões na fase de creche. Os resultados do presente estudo sugeriram que a utilização de TBT pode melhorar as alterações morfológicas do intestino delgado e como resultado aumentar a absorção de nutrientes em leitões baseado nos achados de aumento da relação AV:PC, embora esse fato não refletiu em melhoria no desempenho dos animais.

Para os achados histopatológicos do intestino delgado, foi constatado um maior escore de presença de infiltrado celular no íleo em leitões que receberam MGD, o que indicou maiores quantidades de células de defesa acumuladas no local para respostas inflamatórias e/ou infecções (SATESSA et al., 2020), mas sem afetar negativamente a morfometria intestinal nesta porção do intestino delgado. Em adição, o aumento da infiltração celular pode ocorrer devido à eliminação de microrganismos benéficos no intestino delgado, afetando a síntese de nutrientes (BEDFORD e GONG, 2018).

Os mecanismos de ação dos MGD e sais de ácidos orgânicos são compreendidos pela sua manutenção da integridade da mucosa intestinal (PLOGER et al., 2012), regulando a microecologia intestinal (HUANG et al., 2015; XU et al., 2016), e efeitos anti-inflamatórios (WANG et al., 2018). Tais efeitos positivos não foram evidenciados em melhoras do desempenho de produção ou em menor ocorrência de injúrias histológicas, demonstrando resultados inconsistentes na morfologia do intestino dos animais (SATESSA et al., 2020).

No entanto, podemos destacar o efeito positivo na microbiota patogênica do jejuno em leitões porque animais tratados com MGD tiveram redução na contagem de enterobactérias. Esses aditivos antimicrobianos perturbam as membranas celulares das bactérias promovendo a eliminação (DESBOIS et al., 2010). Portanto, esse resultado pode indicar em um atributo de melhoria na saúde intestinal (YANG et al., 2014).

Entretanto, Grecco et al. (2018) reiteraram que os resultados de estudos envolvendo aditivos alimentares em dietas para leitões são atribuídos pela quantidade dos ingredientes utilizados nas dietas, palatabilidade das dietas, maturidade e saúde intestinal dos leitões antes da condução experimental. Em um estudo anterior (ZHANG et al., 2020), a suplementação baseada em tributirina e salicilato de metila na dieta de leitões demonstrou melhorias benéficas na estrutura morfológica do trato gastrointestinal, resultando em um aumento na população de lactobacilos.

Em conjunto, os resultados demonstraram um potencial dos MGD em dietas para leitões na redução de enterobactérias alojadas em unidades de produção de leite, principalmente no período pós-desmame, devido também ao papel de atividade antimicrobiana e imunomoduladora pelos MGD como barreiras para proteger o epitélio intestinal de bactérias patogênicas como as enterobactérias (JACKMAN et al., 2020; XU et al., 2020).

CONCLUSÃO

O uso de aditivos alimentares complementares podem ser considerados como alternativas promissoras aos antibióticos, com efeitos positivos na diminuição de enterobactérias quando os leitões receberam MGD e maior relação AV:PC recebendo TBT, bem como redução na ocorrência de diarreia. Em adição, a redução nas concentrações de ureia, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase no sangue observadas em leitões alimentados com dietas contendo TBT exibiu o efeito potencial deste aditivo para leitões de creche.

Considerações finais

Nesse estudo a adição de aditivos alimentares, foram particularmente favoráveis à saúde intestinal dos leitões. Portanto recomenda-se o uso desses aditivos em substituição aos antibióticos, uma vez que estes estão proibidos na União Européia e em alguns países, por causar danos à saúde humana.

Diante dos resultados e discussão, pode-se considerar de maneira geral, que é possível melhorar a saúde intestinal de leitões utilizando aditivos compostos por substância isolados ou na forma de misturas (*blend*) como, ácidos orgânicos, leveduras, proteinato de zinco, tributirina e monoglicerídeos. Embora os resultados obtidos para o desempenho zootécnico tenham demonstrado semelhança entre os tratamentos, ou seja, não foi percebido efetivamente resultados satisfatórios, a inclusão dos aditivos demonstrou efetividade para o desenvolvimento da morfometria, morfologia e microbiologia intestinal podendo resultar em melhorias de saúde intestinal dos animais.

Mais estudos são necessários para avaliar o uso de aditivos alimentares sobre o desempenho zootécnico, uma vez que diversos fatores podem influenciar o modo de ação desses aditivos, os quais ainda não estão bem fundamentados.

REFERÊNCIAS

- 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.
- ALAM, S. N.; YAMMINE, H.; MOAVEN, O.; AHMED, R.; MOSS, A. K.; BISWAS, B.; RAYCHOWDHURY, A.; KALIANNAN, K.; GHOSH, S.; RAY, M.; HAMARNEH, S.; BARUA, S.; MALO, S. N.; BHAN, K. A.; MALO, M. S.; HODIN, R. A. Intestinal alkaline phosphatase prevents antibiotic-induced susceptibility to enteric pathogens. **Annals of surgery**, v. 259, n. 4, p. 715, 2014.
- ANACARSO, I.; QUARTIERI, A.; DE LEO, R.; PULVIRENTI, A. Evaluation of the antimicrobial activity of a blend of monoglycerides against *Escherichia coli* and *Enterococci* with multiple drug resistance. **Archives of microbiology**, v. 200, n. 1, p. 85-89, 2018.
- ARAUJO, G.; TERRÉ, M.; MEREU, A.; IPHARRAGUERRE, I. R.; BACH, A. Effects of supplementing a milk replacer with sodium butyrate or tributyrin on performance and metabolism of Holstein calves. **Animal Production Science**, v. 56, n. 11, p. 1834-1841, 2015.
- BAUER, D. C.; HUNTER, D. J.; ABRAMSON, S. B.; ATTUR, M.; CORR, M.; FELSON, D.; HEINEGARD, D.; JORDAN, J. M.; KEPLER, T. B.; LANE, N. E.; SAXNE, T.; TYREE, B.; KRAUS, V. B. Classification of osteoarthritis biomarkers: a proposed approach. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 14, n. 8, p. 723-727, 2006.
- BEDFORD, A.; GONG, J. Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 151-159, 2018.
- BERTO, P. N.; TSE, M. L.; RAMOS, D. R.; SALEH, M. A.; MIASSI, G. M.; YAMATOIGI, R. S.; BERTO, D. A.; MESSIAS, A. T. N. Dietary supplementation with hydrolyzed yeast and its effect on the performance, intestinal microbiota, and

- immune response of weaned piglets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.
- BRAZ, D. B.; COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; TSE, M. L.; ALMEIDA, V. V.; MIYADA, V. S. Acidificantes como alternativa aos antimicrobianos promotores do crescimento de leitões. **Archivos de zootecnia**, v. 60, n. 231, p. 745-756, 2011.
- 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. 1-4, 2013.
- COOPER, C. A. Hematologic and biochemical reference intervals for specific pathogen free 6-week-old Hampshire-Yorkshire crossbred pigs. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2014.
- COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B.; ALMEIDA, V. V.; TSE, M. L. P.; BRAZ, D. B.; ANDRADE, C.; MOURÃO, G. B.; MIYADA, V. S. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de zootecnia**, v. 60, n. 231, p. 687-698, 2011.
- DESBOIS, A, P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 6, p. 1629-1642, 2010.
- ELBERS, A. R. W.; COUNOTTE, G. H. M.; TIELEN, M. J. M. Haematological and clinicochemical blood profiles in slaughter pigs: Reference values, between and within herd variability and the relationship with herd factors and growth performance. **Veterinary Quarterly**, v. 14, n. 2, p. 57-62, 1992.
- FANG, C. L.; SUN, H.; WU, J.; NIU, H. H.; FENG, J. Effects of sodium butyrate on growth performance, haematological and immunological characteristics of weanling piglets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 4, p. 680-685, 2014.
- FRIENDSHIP, R. M.; HENRY, S. C. Cardiovascular system, hematology and clinical chemistry. **Diseases of swine**, v. 7, p. 6, 1992.
- GAVA, M. S. **Metodologia de morfometria intestinal em frango de corte**. 2012.
- GRECCO, H. A.; AMORIM, A. B.; SALEH, M. A.; Tse, M. L.; TELLES, F. G.; MIASSI, G. M.; PIMENTA, G. M.; BERTO, A. D. Evaluation of growth performance and gastro-intestinal parameters on the response of weaned piglets to dietary organic acids. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 401-414, 2018.

- GUO, M.; HAYES, J.; CHO, K. O.; PARWANI, A. V.; LUCAS, L. M.; SAIF, L. J. Comparative pathogenesis of tissue culture-adapted and wild-type Cowden porcine enteric calicivirus (PEC) in gnotobiotic pigs and induction of diarrhea by intravenous inoculation of wild-type PEC. **Journal of Virology**, v. 75, n. 19, p. 9239-9251, 2001.
- HUANG, C.; SONG, P.; FAN, P.; HOU, C.; THACKER, P.; & MA, X. Dietary sodium butyrate decreases postweaning diarrhea by modulating intestinal permeability and changing the bacterial communities in weaned piglets. **The Journal of nutrition**, v. 145, n. 12, p. 2774-2780, 2015.
- International Organization for Standardization. (2006). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms—Colony-Count Technique, **ISO 4832**. International Organization for Standardization, Geneva, <https://www.iso.org/standard/38282.html>, (accessed 2022).
- JACKMAN, J. A.; BOYD, R. D.; ELROD, C. C. Medium-chain fatty acids and monoglycerides as feed additives for pig production: towards gut health improvement and feed pathogen mitigation. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2020.
- KATOULI, M.; MELIN, L.; JENSEN-WAERN, M.; WALLGREN, P.; MÖLLBY, R. The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. **Journal of applied microbiology**, v. 87, n. 4, p. 564-573, 1999.
- LINDEMANN, M. D.; CORNELIUS, S. G.; EL KANDELGY, S. M.; MOSER, R. L.; PETTIGREW, J. E. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. **Journal of animal science**, v. 62, n. 5, p. 1298-1307, 1986.
- LIU, Y.; ESPINOSA, C. D.; ABELILLA, J. J.; CASAS, G. A.; LAGOS, L. V. LEE, S. A.; KWON, W. B.; MATHAI, J. K.; NAVARRO, D. M. D. L.; JAWORSKI, N. W.; STEIN, H. H. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. **Animal nutrition**, v. 4, n. 2, p. 113-125, 2018.
- LOPES, S. T DOS A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. D.; EMANUELLI, M. P. **Manual de patologia clínica veterinária**. Santa Maria: UFSM-Universidade Federal de Santa Maria, 2007.
- MANZANILLA, E. G.; NOFRARIAS, M.; ANGUITA, M.; CASTILLO, M.; PEREZ, J. F.; MARTIN-ORUE, S. M.; KAMEL, C.; GASA, J. Effects of butyrate, avilamycin,

- and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of animal science**, v. 84, n. 10, p. 2743-2751, 2006.
- MCFARLAND, L. V. **Antibiotic-associated diarrhea: epidemiology, trends and treatment**. 2008.
- MODINA, S. C.; POLITO, U.; ROSSI, R.; CORINO, C.; DI GIANCAMILLO, A. Nutritional regulation of gut barrier integrity in weaning piglets. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1045, 2019.
- MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal feed science and technology**, v. 108, n. 1-4, p. 95-117, 2003.
- MORGAN, T.; PLUSKE, J.; MILLER, D.; COLLINS, T.; BARNES, A. L.; WEMELSFELDER, F.; FLEMING, P. A. Socializing piglets in lactation positively affects their post-weaning behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 158, p. 23-33, 2014.
- NGUYEN, D. H.; SEOK, W. J.; KIM, I. H. Organic acids mixture as a dietary additive for pigs - A review. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 952, 2020.
- NOWAK, P.; KASPROWICZ-POTOCKA, M.; ZAWORSKA, A.; NOWAK, W.; STEFAŃSKA, B.; SIP, A.; GRAJEK, W.; GRAJEK, K.; FRANKIEWICZ, A. The effect of combined feed additives on growing pigs' performance and digestive tract parameters. **Annals of Animal Science**, v. 19, n. 3, p. 807-819, 2019.
- PERRI, A. M.; O'SULLIVAN, T. L.; HARDING, J. C.; WOOD, R. D.; FRIENDSHIP, R. M. Hematology and biochemistry reference intervals for Ontario commercial nursing pigs close to the time of weaning. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 58, n. 4, p. 371, 2017.
- PÉREZ-CALVO, E.; WICAKSONO, A. N.; CANET, E.; DAULTON, E.; ENS, W.; HOELLER, U.; VERLHAC, V.; CELI, P.; COVINGTON, J. A. The measurement of volatile organic compounds in faeces of piglets as a tool to assess gastrointestinal functionality. **biosystems engineering**, v. 184, p. 122-129, 2019.
- PLÖGER, S.; STUMPF, F.; PENNER, G. B.; SCHULZKE, J. D.; GÄBEL, G.; MARTENS, H.; SHEN, Z.; GÜNZEL, D.; ASCHENBACH, J. R. Microbial butyrate

- and its role for barrier function in the gastrointestinal tract. **Annals of the New York academy of sciences**, v. 1258, n. 1, p. 52-59, 2012.
- PLUSKE, J. R.; WILLIAMS, I. H.; AHERNE, F. X. Maintenance of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **Animal Science**, v. 62, n. 1, p. 131-144, 1996.
- PLUSKE, J. R. Invited review: aspects of gastrointestinal tract growth and maturation in the pre-and postweaning period of pigs. **Journal of animal science**, v. 94, n. suppl_3, p. 399-411, 2016.
- PLUSKE, J. R.; TURPIN, D. L.; KIM, J. C. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. **Animal Nutrition**, 4: 187–196. 2018.
- RADECKI, S. V.; JUHL, M. R.; MILLER, E. R. Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 10, p. 2598-2605, 1988.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F., LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Imprensa Universitária/UFV, Viçosa, MG, 2017.
- SAKDEE, J.; POEIKHAMPHA, T.; RAKANGTHONG, C.; POUNGPONG, K.; BUNCHASAK, C. Effect of tributyrin supplementation in diet on production performance and gastrointestinal tract of healthy nursery pigs. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 15, p. 954-962, 2016.
- SANTOS, J. R. **Probióticos e simbiótico sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com Salmonella Enteritidis**. 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- SATESSA, G. D.; KJELDSSEN, N. J.; MANSOURYAR, M.; HANSEN, H. H.; BACHE, J. K.; NIELSEN, M. O. Effects of alternative feed additives to medicinal zinc oxide on productivity, diarrhoea incidence and gut development in weaned piglets. **animal**, v. 14, n. 8, p. 1638-1646, 2020.
- SOTIRA, S.; DELL'ANNO, M.; CAPRARULO, V.; HEJNA, M.; PIRRONE, F.; CALLEGARI, M. L.; TUCCI, T. V.; ROSSI, L. Effects of tributyrin supplementation on growth performance, insulin, blood metabolites and gut microbiota in weaned piglets. **Animals**, v. 10, n. 4, p. 726, 2020.

- TUGNOLI, B.; GIOVAGNONI, G.; PIVA, A.; GRILLI, E. From acidifiers to intestinal health enhancers: How organic acids can improve growth efficiency of pigs. **Animals**, v. 10, n. 1, p. 134, 2020.
- XU, J.; CHEN, X.; YU, S.; SU, Y.; ZHU, W. Effects of early intervention with sodium butyrate on gut microbiota and the expression of inflammatory cytokines in neonatal piglets. **PloS one**, v. 11, n. 9, p. e0162461, 2016.
- XU, Y. T.; LIU, L. I.; LONG, S. F.; PAN, L.; PIAO, X. S. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p. 110-119, 2018.
- XU, Y.; LAHAYE, L.; HE, Z.; ZHANG, J.; YANG, C.; PIAO, X. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic Escherichia coli F4 (K88+). **Animal nutrition**, v. 6, n. 3, p. 269-277, 2020.
- WANG, Y. et al. Effect of lactoferrin on the growth performance, intestinal morphology, and expression of PR-39 and protegrin-1 genes in weaned piglets. **Journal of animal science**, v. 84, n. 10, p. 2636-2641, 2006.
- WANG, Y.; WU, Y.; WANG, B.; CAO, X.; FU, A.; LI, Y.; LI, W. Effects of probiotic *Bacillus* as a substitute for antibiotics on antioxidant capacity and intestinal autophagy of piglets. **Amb Express**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.
- WANG, C. C.; WU, H.; LIN, F. H.; GONG, R.; XIE, F.; PENG, Y.; HU, C. H. Sodium butyrate enhances intestinal integrity, inhibits mast cell activation, inflammatory mediator production and JNK signaling pathway in weaned pigs. **Innate immunity**, v. 24, n. 1, p. 40-46, 2018.
- WIESE, F.; SIMON, O.; WEYRAUCH, K. D. Morphology of the small intestine of weaned piglets and a novel method for morphometric evaluation. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 32, n. 2, p. 102-109, 2003.
- YANG, L.; BIAN, G.; SU, Y.; ZHU, W. Comparison of faecal microbial community of lantang, bama, erhualian, meishan, xiaomeishan, duroc, landrace, and yorkshire sows. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 27, n. 6, p. 898, 2014.
- ZHANG, W-X.; ZHANG, Y.; ZHANG, X. W.; DENG, Z. X.; LIU, J. X.; HE, M. L.; WANG, H. F. Effects of dietary supplementation with combination of tributyrin and

essential oil on gut health and microbiota of weaned piglets. **Animals**, v. 10, n. 2, p. 180, 2020.

ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D.; DE BARCELLOS, D. E. S. N. Patogenia das diarréias dos suínos: modelos e exemplos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 1, p. s81-s86, 2008.