

**PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO
EM RAÇÕES DE LEITÕES AO DESMAME**

ANA LÍGIA SANCHES

2004

ANA LÍGIA SANCHES

**PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM RAÇÕES DE
LEITÕES AO DESMAME**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. José Augusto de Freitas Lima

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Sanches, Ana Lúgia

Probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame
/ Ana Lúgia Sanches – Lavras: UFLA, 2004.

63 p. : il.

Orientador: José Augusto de Freitas Lima.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia..

1. Nutrição de monogástrico. 2. Probiótico. 3. Prebiótico.
4. Simbiótico. 5. Leitões. 6. Desmame. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-636.40855

ANA LÍGIA SANCHES

**PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM RAÇÕES DE
LEITÕES AO DESMAME**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 29 de abril de 2004.

Prof. Luis David Solis Murgas - UFLA/DMV

Prof. Elias Tadeu Fialho - UFLA/DZO

Prof. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas - UFLA/DZO

Prof^ª Roberta Hilsdorf Piccoli - UFLA/DCA

**Prof. José Augusto de Freitas Lima
UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

*A Deus, pela constante presença
e por guiar todos os meus passos.*

OFEREÇO

*Aos meus pais, Renato e Elizabete,
por serem meus grandes alicerces e
por me amarem tanto. A minha querida
irmã, Juliana, pela força e incentivo em
todos os momentos da minha vida.
Ao Lúcio Girão, pelo companheirismo,
amor e maravilhoso apoio.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor José Augusto de Freitas Lima, pela orientação, dedicação e confiança.

Ao Professor Luis David Solis Murgas, pela amizade, confiança, incentivo e inestimáveis sugestões durante todas as etapas deste trabalho.

Aos professores Elias Tadeu Fialho, Rilke Tadeu Fonseca de Freitas e Roberta Hilsdorf Piccoli pelo enorme apoio e maravilhosas sugestões que enriqueceram este trabalho.

Às professoras Suely de Fátima Costa e Lisete Chamma Davide pelo incentivo e inestimável colaboração.

A FATEC, na pessoa de Rosemeire Kishibe, pelo fornecimento do Probiótico utilizado nos experimentos.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UFLA, Hélio Rodrigues e Marcelo Jesus da Silva, pela amizade e dedicação durante a condução dos experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária, Wiliam César Cortez e Wesley de Andrade Vilela, pela compreensão e ajuda na realização das análises laboratoriais.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA.

Aos colegas Éder Clementino Santos e Willams G. Santos pelo apoio e sugestões maravilhosas.

Aos colegas do NESUI pela grande ajuda na realização dos experimentos.

Aos amigos José Vieira Neto, Carolina Carvalho Brcko, Erin Caperuto de Almeida, Hunaldo Oliveira Silva, Marcus Leonardo Figueiredo Silva, Giovanni Resende de Oliveira, pessoas muito especiais que estiveram presentes e apoiaram a realização dos experimentos.

À família Girão, nas pessoas de Sra. Anna Maria Villela Girão e Sr. Luiz Carneiro de Freitas Girão, pelo apoio e grande amizade.

Ao meu grande amigo Vinícius de Souza Cantarelli pela orientação, confiança, e apoio diante de todas as dificuldades.

A todos aqueles, anônimos nesta seção, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ANA LÍGIA SANCHES, filha de Renato Sanches e Elizabete Aparecida Achcar Sanches, nasceu em São José do Rio Preto, SP, em 18 de maio de 1979.

Concluiu o segundo grau no colégio Tristão de Athaide em Catanduva, SP, no ano de 1996.

Em janeiro de 1997, ingressou na Faculdade de Agronomia e Zootecnia de Uberaba, MG. Em dezembro de 1999 transferiu o curso para a Universidade Federal de Lavras, MG, onde, em 20 de abril de 2002, obteve o título de Zootecnista.

Em fevereiro de 2002 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na mesma Universidade, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos.

Em 29 de Abril de 2004 submeteu-se à defesa de dissertação para obtenção do título de “Mestre”.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURA	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Idade ao Desmame.....	3
2.2 Microbiota intestinal.....	4
2.3 Alterações morfológicas intestinais	6
2.4 Diarréias pós-desmame.....	8
2.5 Antibióticos.....	9
2.6 Probióticos	12
2.6.1 Mecanismos de ação dos probióticos.....	14
2.7 Prebióticos	17
2.7.1 Mananoligossacarídeos (MOS).....	19
2.8 Simbióticos	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Localização	23
3.2 Experimentos	23
3.3 Experimento I	23
3.3.1 Animais e instalações.....	23
3.3.2 Dietas experimentais.....	24
3.3.3 Parâmetros avaliados	27
3.3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	27
3.4 Experimento II	28
3.4.1 Animais e instalações.....	28
3.4.2 Dietas experimentais	28
3.4.3 Parâmetros avaliados	29
3.4.3.1 Altura das vilosidades e profundidade das criptas	29
3.4.3.2 Análise microbiológica – Contagem de bactérias lácteas.....	30
3.4.3.3 pH do conteúdo do estômago e ceco.....	31
3.4.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	31

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Experimento I	33
4.2 Experimento II	34
4.2.1 Altura das vilosidades e profundidade das criptas	34
4.2.2. Análise microbiológica – Contagem de bactérias lácteas	39
4.2.3 pH do conteúdo do estômago e ceco.....	41
5 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXOS	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas rações.	25
TABELA 2. Composição percentual das rações experimentais.	26
TABELA 3. Ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) de leitões dos 23 aos 58 dias de idade.	33
TABELA 4. Altura das vilosidades (μm) do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	35
TABELA 5. Altura das vilosidades (μm) do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	35
TABELA 6. Profundidade das criptas (μm) do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.....	36
TABELA 7. Profundidade das criptas (μm) do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	36
TABELA 8. Relação vilosidade:cripta do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	37
TABELA 9. Relação vilosidade:cripta do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	37
TABELA 10. Valores de pH do conteúdo do estômago de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	41
TABELA 11. Valores de pH do conteúdo do ceco de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	43

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1. Contagem de bactérias lácteas (Log UFC/g) no conteúdo do jejuno de leitões com diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.	39
--	-----------

RESUMO

SANCHES, Ana Lúcia. **Probiótico, Prebiótico e Simbiótico em rações de leitões ao desmame**. 2004. 63p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.¹

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da adição de probiótico, prebiótico e simbiótico na alimentação de leitões desmamados aos 23 dias de idade, sobre o desempenho, parâmetros morfológicos e microbiológicos em diferentes idades após o desmame. No Experimento I, foram utilizados 96 leitões desmamados aos 23 dias de idade, sendo 48 machos castrados e 48 fêmeas, com peso médio de 7,40 kg ($\pm 1,05$ kg), utilizando um delineamento em blocos casualizados com quatro tratamentos, seis repetições e quatro leitões por unidade experimental, para avaliar o desempenho durante o período de 35 dias. As dietas foram isoprotéicas e isoenergéticas, formuladas à base de milho, farelo de soja e leite em pó modificado, adicionadas de: antibiótico, probiótico, prebiótico ou simbiótico. As dietas foram formuladas para atender as exigências dos leitões segundo NRC (1998). Observou-se que os aditivos testados não influenciaram ($P>0,05$) o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar. No Experimento II, foram utilizados 44 leitões desmamados aos 23 dias de idade, sendo 22 machos castrados e 22 fêmeas, com peso médio de 7,16 kg ($\pm 1,07$ kg), utilizando um delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 5 x 2 (5 tratamentos e 2 idades ao abate), quatro repetições e um animal por unidade experimental, para avaliar morfometria intestinal, contagem de bactérias lácteas no conteúdo do jejuno e pH do conteúdo estomacal e cecal em diferentes idades após o desmame. As rações foram as mesmas utilizadas no Experimento I, com a adição de um tratamento sem aditivo (controle negativo). Não houve diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$), sobre a altura das vilosidades, a profundidade das criptas e a relação vilosidade:cripta no duodeno e jejuno dos animais. A contagem de bactérias lácteas no conteúdo do jejuno foi numericamente maior para os leitões que receberam antibiótico, probiótico, prebiótico e simbiótico em relação aos que receberam a ração sem aditivo. Houve diferença ($P<0,05$) quando se comparou a média dos valores de pH do conteúdo do estômago entre 7 e 14 dias após o desmame, sendo que o tratamento sem aditivo resultou em maiores valores de pH no estômago em relação aos demais tratamentos. Os resultados de pH do conteúdo cecal

¹ **Comitê de Orientação:** Prof. José Augusto de Freitas Lima – UFLA (orientador); Prof. Elias Tadeu Fialho.– UFLA; Prof. Luis David Solis Murgas – UFLA; Prof. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Prof^a. Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA.

demonstram que os animais que receberam o tratamento com probiótico apresentaram maiores valores ($P < 0,05$) aos 7 dias após o desmame quando comparados aos demais tratamentos. Quando se comparou o pH cecal dos animais abatidos aos 7 e aos 14 dias após o desmame, observou-se que nos leitões alimentados com as rações contendo probiótico ocorreu uma redução ($P < 0,05$) no pH cecal aos 14 dias após o desmame. Conclui-se que a inclusão de probiótico, prebiótico e simbiótico na alimentação de leitões na fase pós-desmame melhorou a microbiota através do aumento do número de bactérias lácteas no jejuno e que o desempenho e os parâmetros morfológicos, não foram afetados pelo uso dos aditivos nas rações de leitões desmamados aos 23 dias de idade.

ABSTRACT

SANCHES, Ana Lgia. **Probiotic, Prebiotic and Synbiotic in weaning piglets rations**. 2004. 63p. Master Degree in Animal Science - Federal University of Lavras, Lavras - MG.¹

The objective of this study was to evaluate the effect of probiotic, prebiotic and synbiotic as a additive in the weaning piglets ration with 23 days old on the growth performance, morphologic and microbiological parameters in different periods after weaning. In Experiment I, a total of 96 (48 barrows and 48 gilts) weaned at 23 days old piglets (Landrace x Large White), with the initial weight of 7.40 ± 1.05 kg were distributed in a randomized block design with four treatments with six replicates and four pigs for experimental unit (2 barrows and 2 gilts), to evaluate the performance during the period of 35 days. The diets were formulated based on corn and soybean meal, modified dried milk, isoproteic and isocaloric to meet the nutritional needs of the piglets accord to NRC, 1998. The 4 treatments were based on: addition of antibiotic; probiotic; prebiotic and synbiotic as additive in the rations. It was observed that the tested additives had not influenced ($P > 0.05$) on the weight gain, feed intake and feed conversion over all experimental period. In Experiment II, a total of 44 (22 barrows and 22 gilts) weaned at 23 days old piglets (Landrace x Large White), with the initial weight of 7.16 ± 1.07 kg were distributed in a randomized block design with treatments arranged in the factorial way (5 rations and 2 slaughtred ages), the rations were as the same used in the Experiment I plus one negative control (ration without any additive), and 2 periods of slaughter age being 7 and 14 days after weaning time. It were used four replicates and one pig for experimental unit to evaluate the intestinal morfometry, counting of lactic bacteria in the jejunum and pH of the stomachal and cecal content of piglets at different ages after weaning. The data shown any differences among the treatments ($P > 0.05$) tested on the variables height of the villous, depth of crypt and relation villous:crypt in the duodenum and jejunum of the piglets. The counting of lactic bacteria in the jejunum were numerically higher for the piglets feeding antibiotic, probiotic, prebiotic and synbiotic in relation to those feeding ration without any additives. We also found statistical differences ($P < 0.05$) when compared the average values of pH of the content of the stomach from piglets after 7 and 14 days of weaning, being that the treatment without additive shown

¹ **Guidance Committee:** Prof. José Augusto de Freitas Lima – UFLA (Adviser); Prof Elias Tadeu Fialho.– UFLA; Prof. Luis David Solis Murgas – UFLA; Prof. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Prof^a. Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA.

higher pH values in the stomach in relation to the treatments with addition of additives in the rations. The results of pH of the cecal content shown that the piglets feeding rations with probiotic had higher pH values ($P < 0.05$) in day 7 after weaning as compared to others treatment tested. The cecal pH from 7 to 14 days after weaning shown that piglets feeding rations with probiotic, shown reduction ($P < 0.05$) in pH only 14 days after weaning period. In conclusion the addition of probiotic, prebiotic and synbiotic in the piglets rations improved microbiotic through the increase of the number of lactic bacteria in the jejunum and the growth performance as well morphologic parameters were not affected by the additives utilized in the piglets rations weaning at 23 days old.

1 INTRODUÇÃO

O desmame constitui uma prática muito importante na produção de suínos, principalmente levando-se em consideração o fato de que a empresa suinícola visa o maior número de leitões desmamados / porca / ano, o que significa máxima produtividade.

Porém, a fase pós-desmame é considerada a mais preocupante na produção de suínos, uma vez que os leitões são expostos a vários fatores estressantes, como a mudança de alimentação, a formação de novos grupos e, conseqüentemente, os novos líderes e a separação da matriz, entre outros. Logo após o desmame, o leitão ainda não está apto para consumir uma dieta farelada, uma vez que o sistema enzimático, bem como as estruturas do intestino delgado, não estão bem desenvolvidas. Como consequência disso, o consumo nos primeiros dias é muito pequeno, o que resulta em atraso no ganho de peso desses animais. Nessa fase também é muito comum o desenvolvimento de bactérias patogênicas no trato gastrintestinal dos leitões, causando diarréias e podendo aumentar a mortalidade desses animais.

Durante muitas décadas têm-se utilizado antibióticos em doses subterapêuticas na nutrição dos leitões, visando reduzir os efeitos da desmama precoce, partindo do conceito de que os antibióticos reduzem a população bacteriana patogênica, resultando em melhor absorção e desempenho dos animais.

Porém, a utilização desses antibióticos vem sendo banida, principalmente pela União Européia e outros países, pois os consumidores estão se preocupando com o fato de que os antibióticos podem promover o aparecimento de bactérias patogênicas multirresistentes a esses antibióticos e podem, também, apresentar resíduos na carne e demais subprodutos animais.

A empresa suinícola, desejando concorrer de forma participativa no mercado internacional, deve se adaptar a essa tendência de não utilização de antibióticos, mesmo sabendo dos benefícios sobre o desempenho dos animais com a utilização desses produtos como promotores de crescimento.

Uma das vantagens da utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos como promotores de crescimento é a ausência do fenômeno da resistência bacteriana, o que representa aspecto importante em relação aos riscos de saúde pública e segurança dos produtos.

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da utilização de probiótico, prebiótico e simbiótico na alimentação de leitões desmamados aos 23 dias de idade, sobre o desempenho, parâmetros morfológicos e microbiológicos em diferentes idades após o desmame.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Idade ao Desmame

No período de 1970 a 1999, a idade do desmame foi drasticamente reduzida de, aproximadamente, 56 para 21 dias. O desmame em idades cada vez menores tornou-se possível graças aos conhecimentos acumulados nesse período sobre fisiologia digestiva, em particular sobre o sistema enzimático envolvido, a nutrição, o manejo e a sanidade dos leitões (Tardin, 1985).

No Brasil, os suinocultores vêm, nos últimos tempos, praticando o desmame dos leitões entre 21 e 28 dias de idade, porém com grande interesse em desmamar os leitões cada vez mais cedo, na expectativa de aumentar o número de leitões por porca/ano, o que, em teoria, pode ser obtido pela redução no período de lactação, pois as matrizes em lactação são consideradas improdutivas. Portanto, o objetivo com essa prática seria o de elevar a produtividade na exploração intensiva de suínos, via redução do intervalo entre partos/porca/ano (Moita et al., 1994; Passos Jr., 1997).

Entretanto, o desmame entre 21 e 28 dias de idade, segundo Trindade Neto et al. (1994), tornou-se um desafio para os nutricionistas, pois requer combinação perfeita entre os ingredientes das rações, bem como a biodisponibilidade de seus nutrientes.

O leitão jovem constitui a categoria de suínos com maiores dificuldades em atender às demandas em nutrientes, quando comparado aos animais em crescimento, terminação e reprodução. Isso porque o sistema digestivo do leitão recém-nascido está naturalmente adaptado ao leite da porca e a troca desse alimento por outro tipo de alimentação, no caso do desmame precoce, pode

associar-se a distúrbios gastrintestinais e redução no crescimento (Ferreira et al., 1988).

Freitas et al. (1995) relataram que o estresse provocado pela separação brusca dos leitões jovens de suas mães pode acarretar decréscimo no consumo de ração e no ganho de peso das leitegadas. O estresse pode ser consequência do estabelecimento de nova ordem social entre os animais e de mudanças no ambiente, na forma e na fonte de alimentação. Com o desmame, o leitão passa de uma alimentação líquida altamente digestível para uma ração seca, de menor digestibilidade. Como consequência, o sistema digestivo do leitão deve modificar o pH, a secreção enzimática, a motilidade e a absorção intestinal, provocadas pelo novo regime alimentar (Hansen, 1993).

De acordo com Mahan (1991), o período inicial após o desmame tem se caracterizado por redução no desempenho dos animais. Fatores como a idade e peso ao desmame, estresse do desmame, baixo consumo de alimento, composição da dieta, imaturidade digestiva e fatores ambientais podem ser as causas de redução do crescimento durante a 1ª semana após o desmame.

2.2 Microbiota intestinal

Ao nascimento, o trato gastrintestinal do leitão é considerado estéril. Dentro de poucas horas, após a exposição ao meio ambiente, abundante população microbiana se desenvolve rapidamente no trato intestinal. Inicialmente, *Escherichia coli* e espécies de *Streptococos* e *Clostrídios* proliferam, com baixo desenvolvimento de *Lactobacillus*, pois não há secreção de ácido clorídrico nas primeiras horas de vida. A mudança progressiva normal na população bacteriana, envolve diminuição da predominância de *Escherichia coli*, juntamente com a colonização predominante da população de outros microorganismos anaeróbios facultativos no intestino delgado (*Lactobacillus* e

Streptococcus) e de uma população de anaeróbios estritos no intestino grosso (*Bacteróides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Fusibacterium*, *Clostridium*); as concentrações no intestino delgado estão em torno de 10^5 - 10^9 UFC/g (Radescki & Yokoyama, 1991).

Em leitões a acidificação do estômago é mediada pelos ácidos clorídrico e láctico. A produção de ácido clorídrico aumenta gradualmente com o avanço da idade. Como os leitões não alcançam a capacidade adulta de acidificação do estômago até os dois meses e meio de vida, o alto pH do estômago, por causa da insuficiente produção de ácido clorídrico, favorece a proliferação de bactérias patogênicas (Fuller, 1989).

Segundo Rossell (1992), existem dois tipos de microbiota no trato gastrointestinal. O primeiro consiste na indígena, microorganismos benéficos que se encontram em relações simbióticas com o hospedeiro, através de um longo período de evolução; e o outro consiste em microorganismos potencialmente patogênicos.

Mudanças na dieta podem ter efeito profundo nas proporções relativas de espécies dominantes e sub-dominantes. A dieta pode influenciar dramaticamente as espécies potencialmente toxinfeciosas capazes de tornar dominantes pela sua associação com a mucosa intestinal (Mitsuoka et al., 1987).

O ceco de suínos abriga larga e diversa população de bactérias predominantemente anaeróbias. Robinson et al. (1981) verificaram que 35% dos isolados do ceco foram de *Bacteróides ruminicola* e 21%, de *Selenomonas ruminantion*. Outras bactérias gram-negativas isoladas incluíram *Butyrivibrio fibrisolvens* (6%), *Bacteróides uniformis* (3%) e as gram-positivas predominantes foram *Lactobacillus acidophilus* (7,6%), *Peptostreptococcus productus* (3%) e *Eubacterium aerofaciens* (2,5%).

Sobre a fixação das bactérias no epitélio intestinal, existem dois tipos de populações bacterianas que podem se estabelecer no trato digestivo. O primeiro consiste de bactérias que se associam às células epiteliais, como o *Lactobacillus acidophilus* e a *Escherichia coli*. O segundo, tendo como exemplo o *Streptococcus faecium*, ocorre livremente no lúmen intestinal. Essas bactérias do lúmen multiplicam-se em taxas suficientemente rápidas, para não serem eliminadas pelo peristaltismo (Miles, 1993). Já as bactérias que se aderem, sendo praticamente todas as espécies de bactérias gram-negativas e algumas gram-positivas, apresentam um ou mais tipos de fímbrias que possuem propriedades adesivas e estão envolvidas na aderência das células bacterianas ao tecido hospedeiro, tendo papel importante na colonização (Finaly & Falkow, 1989; Krogfelt, 1991).

A resistência da microbiota normal à colonização do intestino por bactérias patogênicas ocorre principalmente em duas regiões do intestino: no conteúdo luminal, por causa da produção de metabólitos tóxicos, e na superfície da mucosa intestinal, em razão da ocupação dos sítios de associação pela microbiota normal (Hentges, 1992).

2.3 Alterações morfológicas intestinais

Durante a fase de amamentação, o leitão recebe alimento altamente digestível que permite seu rápido desenvolvimento. Após a desmama, submetido às rações secas, passa a receber amidos, óleos e proteínas vegetais, para as quais não possui sistema digestivo adequadamente desenvolvido. Além disso, as rações são elaboradas, em sua maioria, à base de farelo de soja, o que provoca reações imunológicas de hipersensibilidade transitória no intestino. Essas reações, associadas ao fato de as rações serem secas, produzem alterações nas

vilosidades intestinais, prejudicando a digestão dos alimentos e absorção de nutrientes (Santos, 2002).

O intestino delgado, principal local de digestão dos monogástricos, tem como unidade funcional as vilosidades, que são projeções da mucosa, revestidas por células epiteliais colunares, os enterócitos. A maturação dos enterócitos ocorre durante o processo de migração da cripta para a ponta do vilo. Essas células exercem função de digestão, por meio de enzimas, destacando-se as dissacaridasas, e de absorção. O número e o tamanho das vilosidades dependem do número de células que as compõem. Assim, quanto maior o número de células, maior o tamanho da vilosidade e, por conseqüência, maior a área de absorção de nutrientes.

Considerando que a mucosa intestinal tem crescimento contínuo, devido à descamação das células para o lúmen intestinal, fica evidente que a reposição celular necessita de energia, que provém das reservas do organismo animal e do alimento. Com isso, torna-se importante enfatizar que parte da energia ingerida pelo animal fica destinada à manutenção da mucosa, e quanto maior a necessidade de reparo da mesma, menor será a energia utilizada para o ganho de peso.

Segundo Hampson (1986), as principais modificações estruturais no intestino, impostas pelo desmame, são os encurtamentos das vilosidades, indicativos de destruição de enterócitos e o aumento da lâmina própria, indicativo de aumento na profundidade das criptas, proliferação celular e imaturidade de enterócitos. A redução na área de absorção resulta em menor desenvolvimento enzimático e, conseqüentemente, diminuição no transporte de nutrientes (Riopérez et al., 1991).

Hampson & Kidder (1986) relataram que, após a desmama aos 21 dias de idade, a altura das vilosidades foram reduzidas para, aproximadamente, 75%

dos valores da pré-desmama em 24 horas. Cera (1988), verificou vilosidades longas e uniformes em leitões desmamados aos 21 dias de idade. Todavia, foi observada a atrofia das vilosidades entre o terceiro e sétimo dia após a desmama, com recuperação a partir do 14º dia.

Nabuurs (1995) concluiu que a mortalidade após a desmama está associada ao menor tamanho das vilosidades e à maior profundidade das criptas e que o fornecimento de ração durante o período de amamentação é benéfico para prevenir o encurtamento das vilosidades após o desmame. Além disso, após o desmame há um período temporário de jejum, durante o qual o leitão não consome ração suficiente para suprir suas necessidades energéticas de manutenção.

2.4 Diarréias pós-desmame

Segundo Jonsson & Conway (1992), as principais causas do aparecimento de diarréia pós-desmame em leitões são: I- súbita privação de anticorpos maternos e de outros fatores de proteção presentes no leite da porca, II- alteração da dieta, III- extremos de temperatura e umidade e IV- estresses dietéticos e sociais. Qualquer um destes fatores pode aumentar a susceptibilidade à infecção e, se combinados, o risco de infecção é amplificado. A diarréia pós-desmame pode ser de origem osmótica, como resultado do consumo excessivo de ração quando as funções digestivas e absorptivas não estão completamente desenvolvidas, e pode ser resultado da ação de enterotoxinas produzidas por algumas cepas de *Escherichia coli*, *Stafilococcus* e *Clostridium*. (Hampson, 1986).

Está bem claro que a microbiota nativa exerce profunda influência sobre a estrutura morfológica e capacidade digestiva e absorptiva do trato gastrointestinal. Isto é mais bem ilustrado em estudo realizado por Kelly et al. (1992), segundo o quais suínos convencionais apresentaram a parede intestinal e

a lâmina própria mais espessa, vilosidades mais curtas, criptas mais profundas, menor atividade das dissacaridases e uma taxa maior de renovação dos enterócitos do que animais livres de germes.

Hampson et al. (1985) e Nabuurs et al. (1993) relataram que *Escherichia coli* é geralmente detectada em leitões com diarreia e também em fezes de leitões saudáveis. Miller (1984) concluiu que a presença de *Escherichia coli* no intestino delgado de leitões não desmamados, sem evidente aparecimento nas fezes, é um indício de que estes organismos podem estar presentes em pequeno número no trato intestinal de animais saudáveis. Entretanto, após a desmama, certos animais dentro de um grupo sofrem maior proliferação de *Escherichia coli* e desenvolvem diarreia pós-desmama.

Segundo Borowski (1995), o controle das diarreias pós-desmame é difícil e se baseia em correções ambientais, de manejo, de nutrição e de estimulação imunitária. Como em alguns casos essas medidas se mostram insuficientes, indica-se como medida complementar a antibioticoterapia. O mesmo autor testou amostras de *Escherichia coli* isoladas a partir de leitões com quadro clínico de diarreia entre 1 e 14 dias após o desmame e verificou tendência à apresentação de maior concentração de casos de resistência múltipla, em virtude da relação direta entre o uso freqüente de alguns princípios ativos e o surgimento de focos de resistência aos mesmos.

2.5 Antibióticos

Segundo Colusi (1993), os antibióticos são utilizados comercialmente desde 1940, aproximadamente, pois sua presença em baixas doses na alimentação animal pode produzir melhora na conversão alimentar e no ganho de peso. Quando administrados em pequenas doses e mantidos no alimento durante toda a vida do animal, são capazes de induzir seleção da microbiota

intestinal a favor das bactérias benéficas, promovendo melhor absorção de nutrientes.

Jensen (1998) afirma que a quantidade adicionada à dieta varia de acordo com cada agente antimicrobiano, deve ser o suficiente para inibir as bactérias susceptíveis e, conseqüentemente, afetar a composição da microbiota intestinal.

Segundo revisão realizada por Menten (2002), ao contrário do que se poderia presumir a respeito da ação de antibióticos promotores de crescimento na ração sobre a microbiota de animais, não ocorre redução no número de microorganismos no trato intestinal dos animais tratados. Fuller et al. (1960), revisaram vários estudos sobre o efeito de antibióticos na microbiota e notaram que os resultados foram conflitantes. De uma maneira geral, verificaram que a contagem total de bactérias não se alterou, mas houve mudanças na proporção de várias bactérias. Trabalhos mais recentes, utilizando técnicas mais apropriadas de cultura, confirmam os resultados anteriores (Stutz et. al., 1983; Engberg et. al., 2000).

Segundo Anadón & Martinez-Larrañaga (1999), o uso de aditivos alimentares antimicrobianos pode resultar na seleção de bactérias resistentes e comprometer a eficiência dos antibióticos na medicina humana, uma vez que a resistência pode ser transferida entre bactérias. Isso significa que o uso desses aditivos como promotores de crescimento pode contribuir para o aumento de um “pool” ambiental de genes resistentes.

Santos (2002) afirma que como conseqüência da seleção de bactérias resistentes, determinados antibióticos deixam de ser ativos contra certas bactérias, segundo o princípio fundamental da evolução das espécies em presença de novas condições ambientais. Além de se proliferar, as bactérias resistentes podem transmitir os genes a outras bactérias que jamais estiveram em contato com o antibiótico em questão. As bactérias desenvolvem resistência por

família de antibióticos, mas uma bactéria pode se tornar multirresistente, isto é, resistente, simultaneamente, a várias famílias de antibióticos.

Menten (2002), em uma revisão, relata outro fator de risco para a saúde humana proveniente da utilização de antibióticos como promotores de crescimento para animais. Trata-se da presença de resíduos na carne, ovos e leite que entram na alimentação humana. Estes resíduos podem ser os próprios aditivos ou seus metabólitos, que podem se acumular nos produtos comestíveis; os riscos potenciais incluem desde reações de hipersensibilidade até propriedades cancerígenas. O autor sugere, ainda, que esse fator de risco pode ser controlado com métodos sensíveis de análise, e que as contaminações dos alimentos produzidos podem ser evitadas com o uso criterioso dos antibióticos; porém, o que causa maiores dúvidas e inseguranças é o fato de esses antibióticos induzirem resistência cruzada para bactérias patogênicas em humanos.

O mesmo autor relatou que os mais recentes eventos envolvendo os promotores de crescimento foram a suspensão, pela União Européia, do uso de avoparcina a partir de 1º de abril de 1997 e, a partir de janeiro de 1999, a proibição dos antibióticos bacitracina de zinco, espiramicina, virginamicina e tilosina e dos quimioterápicos carbadox e olaquinox. O aumento das infecções hospitalares por bactérias resistentes à vancomicina foi associada ao uso de avoparcina como promotor de crescimento, por serem estruturalmente semelhantes. A União Européia estendeu a licença dos produtos monensina, salinomicina avilamicina e flavomicina até o final de 2005, devendo ocorrer a proibição total de promotores de crescimento antimicrobianos a partir de 2006. No Brasil, os produtos que são proibidos como aditivos de rações são: tetraciclina, penicilinas, cloranfenicol, sulfonamidas, furazolidona, nitrofuranos, avoparcina, arsenicais e antimoniais. Atualmente, os aditivos autorizados como promotores de crescimento pelo Ministério da Agricultura são: avilamicina, carbadox, olaquinox, bacitracina de zinco, dicloridrato de

clorexidina, espiramicina, eritromicina, enramicina, flavomicina, lasalocida, lincomicina, monensina, ractopamina, sulfato de colistina, sulfato de tilosina, salinomicina e virginamicina (Ministério da Agricultura, informação pessoal).

Algumas implicações serão acarretadas pela total remoção dos antibióticos da produção animal, tais como redução da resistência bacteriana, aumento da dificuldade para controlar doenças, até então sob controle, aumento nos custos de produção, aumento da concorrência entre os produtos e aumento na busca por produtos alternativos (Santos, 2002).

2.6 Probióticos

Segundo Day (1985), os aditivos são substâncias agregadas nas dietas especialmente para controlar agentes prejudiciais ao processo digestivo. Esses aditivos chamados de biorreguladores ou promotores de crescimento foram mencionados pela primeira vez por Parker, em 1974, como organismos ou substâncias que ajudam a manter o balanço microbiano intestinal.

Os aditivos utilizados nas rações constituídos por microorganismos vivos ou bactérias úteis foram denominados probióticos. De acordo com os relatos de Crawford (1979), probiótico pode ser definido como uma cultura de microorganismos vivos específicos, implantados no trato digestivo do animal através do alimento, garantindo o efetivo estabelecimento da população intestinal de microorganismos. Segundo Vanbelle et al. (1990), probióticos podem ser definidos como bactérias naturais do intestino, as quais, após uma ingestão em doses efetivas, são capazes de se estabelecer ou mesmo colonizar o trato digestivo e manter ou aumentar a microbiota natural, prevenindo a colonização de organismos patogênicos, assegurando a melhor utilização dos alimentos.

Segundo Montes & Pugh (1993), os probióticos são mais eficientemente utilizados em ocasiões estressantes como na desmama, na mudança de alimentação, em falhas na ingestão de colostro, durante transporte de animais, em situações de alta densidade de indivíduos e durante ou após tratamento com antibióticos.

Bactérias e leveduras são utilizadas como probióticos. As espécies normalmente utilizadas, segundo Leedle (2000), são: *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus salivarium*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium* sp, *Bacillus subtilis*, *Bacillus toyoi*, *Streptococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*, entre outras.

Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), os produtos registrados como probióticos possuem os microorganismos *Bacillus toyoi*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Dale (1992) afirma que o valor do probiótico não está comprovado. A base teórica que apóia o uso de probióticos na alimentação animal é de que a população microbiana do intestino não é a ideal para se alcançar um rendimento ótimo. Se esta população (em especial composta por *Escherichia coli*) pode ser constituída por um tipo mais benéfico de bactéria, o animal seria mais saudável, poderia digerir melhor os alimentos e, por exclusão competitiva poderia resistir à colonização de bactérias danosas como *Salmonella*.

O mesmo autor ainda citou alguns fatores que podem interferir na possível ação do probiótico, entre eles a exposição do alimento ao calor e a umidade excessiva durante a armazenagem, ou mesmo durante a fabricação, substâncias que inibem o probiótico, como alguns tipos de antibióticos presentes

na ração; o processo de peletização comumente empregado nas rações pode diminuir o número de microorganismos viáveis no alimento; os microorganismos probióticos podem estar presentes em número insuficiente para que possa ser formada uma colônia no trato gastrintestinal e se estabelecer uma relação simbiótica com o animal hospedeiro; o microorganismo deve ter uma vida de armazenamento longa e boas características de mesclagem em aparelhos de mistura.

Segundo Tournut (1994), algumas normas foram adotadas pela Expert Commission on Animal Feeds para a avaliação da eficácia de um probiótico. Primeiramente, o probiótico é avaliado por checagem de suas características genéticas; em seguida, são feitos ensaios em que o probiótico em questão deve permanecer estável sob diversas condições: por no mínimo um ano, em condições de estoque para apresentação comercial; por dois meses no alimento comercializado sob a forma peletizada e por três meses quando submetidos à temperatura de 80° C.

2.6.1 Mecanismos de ação dos probióticos

Segundo Fernandes (2003), existem algumas possíveis hipóteses sobre os mecanismos de ação dos probióticos as quais serão descritas a seguir.

A primeira consiste na competição pelos sítios de adesão. Sugere-se que certas bactérias produtoras de ácido láctico competem com bactérias patogênicas por sítios de aderência intestinais (Sissons, 1989).

A atividade antimicrobiana também é um mecanismo de ação dos probióticos. A produção de ácido láctico e acético pelas bactérias utilizadas como probióticos reduz o pH do ambiente do trato intestinal, prevenindo o crescimento de vários patógenos e permitindo o desenvolvimento de certas

espécies de *Lactobacillus* (Klaenhammer, 1982; Atherton & Robbins, 1987). Outras substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas, acidofilina, lactalina, peróxido de hidrogênio e toxinas letais para certos patógenos, também são produzidas por microorganismos de ação probiótica (Vanbelle et al., 1990).

Certos microorganismos produzem metabólitos capazes de neutralizar os efeitos de enterotoxinas produzidas por algumas bactérias (Sissons, 1989), e ainda reduzem a absorção de substâncias tóxicas como, por exemplo, a amônia (Vanbelle et al., 1990).

As bactérias produtoras de ácido láctico podem aumentar a atividade de macrófagos e linfócitos (Vanbelle et al., 1990).

O *Bacillus subtilis* não é um microorganismo da microbiota indígena, é caracterizado como transitório no trato gastrointestinal, pois não possui a capacidade de se fixar ao epitélio intestinal, e sim de competir com outras bactérias por nutrientes e produzir substâncias antimicrobianas (Kornegay & Risley, 1996).

Outra função do *Bacillus subtilis* é o impacto sobre as funções imunes, proliferando leucócitos mononucleares, aumentando os interferons e as células T, o que, porém, ainda não está bem explicado. Esta espécie de bactéria produz catalases e enzimas, as quais promovem o crescimento de lactobacilos. São bactérias gram-positivas, aeróbicas e formadoras de esporos. Quando na forma de esporos, as células são metabolicamente inativas, e mais resistentes aos efeitos letais como calor, frio, radiação, barreiras gástricas; e também podem ser armazenadas sem refrigeração por longos períodos. Uma vez no intestino, os esporos germinam, o que é um pré-requisito para ocorrerem os efeitos probióticos. Probióticos à base de *Bacillus subtilis* necessitam de reinoculação constante, pois os níveis dessas bactérias são reduzidos em 24 horas (Sanders et al., 2003).

Avaliando o efeito da suplementação de iogurte ou leite acidificado em leitões na contagem de coliformes e lactobacilos no estômago e intestino, Fuller (1986) verificou diminuição na população de *Escherichia coli* no estômago e duodeno dos animais tratados com iogurte e que o efeito de preparações probióticas na diminuição da incidência de diarreia foi devido aos metabólitos produzidos.

Aumento da presença de *Lactobacillus* sp. no intestino dos leitões que receberam rações suplementadas com probiótico ocasionou uma diminuição das bactérias *Pseudomonas* sp. e *Clostridium perfringens* e do nível de pH no intestino dos suínos, segundo relatos de Tereda et al. (1994) utilizando probiótico para leitões durante um período de seis semanas. Porém, os autores não constataram diferenças significativas no ganho de peso e na eficiência alimentar entre as rações contendo ou não probiótico.

Em contraste, pesquisas desenvolvidas por Roth & Kirchgessener (1988) utilizando probiótico à base de *Bacillus toyoi* em rações para leitões com 21 dias de idade, evidenciaram melhoria no ganho de peso, consumo alimentar e conversão alimentar, o que também foi observado por Korniewicz (1992).

Em seus experimentos, Vassalo et al. (1995) concluíram que as rações suplementadas com probióticos beneficiaram o desempenho dos leitões. Indicaram também que a provável melhoria da microbiota ocorreu, principalmente, em função do controle das bactérias patogênicas presentes no trato gastrointestinal. Ozawa et al. (1983) constataram que a administração de *S. faecalis* em bezerras e leitões promoveu a colonização de bactérias benéficas, diminuindo a ocorrência de *Salmonella* no intestino.

Santos (1998) constatou, em seus experimentos, que o fornecimento de probióticos para leitões em aleitamento, aos 28 dias de idade, promoveu maior contagem de lactobacilos e, aos 49 dias, menor número de coliformes em relação

aos demais tratamentos, embora esta diferença não tenha sido significativa. Aos 63 dias, os animais tratados com probiótico possuíam maior altura de vilosidade.

Cupere et al. (1992) avaliaram o efeito de três diferentes probióticos (*Bacillus cereus* “toyoi”, *Lactobacillus* sp. e *Streptococcus faecium*) na prevenção de mortalidade e excreção fecal de *Escherichia coli* hemolítica, em leitões desmamados, e obtiveram resultados insatisfatórios, que podem ser explicados pela idade dos leitões, pela curta duração da administração, pelo propósito terapêutico e pela baixa dosagem dos probióticos usados.

2.7 Prebióticos

Segundo Gibson & Roberfroid (1995), prebióticos são ingredientes nutricionais não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e atividade de uma ou mais espécies de bactérias benéficas intestinais, melhorando a saúde do seu hospedeiro.

Gibson & Roberfroid (1995) selecionaram alguns pré-requisitos para que uma substância possa ser considerada um prebiótico:

- não deve ser hidrolisada ou absorvida durante sua passagem pelo trato digestivo superior;
- deve ser fermentadas seletivamente por um número limitado de bactérias potencialmente benéficas no cólon;
- deve possuir capacidade de alterar a microbiota intestinal de maneira favorável à saúde do hospedeiro;
- deve induzir efeitos benéficos intestinais ao hospedeiro.

Algumas das fontes de prebióticos mais estudadas são alguns açúcares, absorvíveis ou não, fibras, álcoois de açúcares e oligossacarídeos.

A maioria dos oligossacarídeos é solúvel em água e outros fluidos fisiológicos, razoavelmente estável sob condições de pH fisiológico e suficientemente estável termicamente para sobreviver aos processos comuns de produção de alimentos.

Em seres humanos, bem como em outros monogástricos, os oligossacarídeos passam pelo estômago e intestino delgado relativamente intactos. No intestino grosso, bactérias, principalmente as bifidobactérias, fermentam os oligossacarídeos não digestíveis em ácido acético, butírico, propiônico e outros ácido graxos voláteis, baixando o pH do intestino grosso. Estes ácidos graxos criam um ambiente que é desfavorável às bactérias patogênicas gram-negativas, tais como a *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Campylobacter*.

No desmame, a microbiota dos leitões ainda é altamente dominada por *Lactobacillus* e *Bifidobacter*, e também é adaptada ao uso de oligossacarídeos presentes no leite materno. O principal objetivo da inclusão de oligossacarídeos na dieta de desmame é de suavizar as mudanças no intestino do animal jovem e manter uma microbiota dominada por *Bifidus* pelo máximo tempo possível, mas, principalmente durante o período estressante do desmame.

Segundo Spring (2000), os oligossacarídeos possuem a capacidade de reduzir a prevalência de cepas, impedindo a colonização do trato gastrintestinal por patógenos, modulam respostas imunológicas e reduzem a estimulação antigênica do trato gastrintestinal através de modulação do microambiente intestinal e adsorção de toxinas. Açúcares tipo mananoligossacarídeos na dieta podem bloquear a adesão bacteriana através da aderência a proteínas específicas

da superfície da célula bacteriana e, portanto, reduzir a colonização intestinal por patógenos.

Perdok (2000) cita alguns prebióticos: mananoligossacarídeos, frutoligossacarídeos, transgalactoligossacarídeos, manose, arabinose, galactose e lactose.

Os oligossacarídeos (frutoligossacarídeo e transgalactoligossacarídeo) são fermentados no ceco e promovem o aumento do número de lactobacilos. Essas bactérias suprimem o crescimento de patógenos e bactérias putrefáticas pela produção de ácido acético e ácido lático, que diminui o pH intestinal e pode reduzir a incidência de diarreia (Modler et al., 1990).

2.7.1 Mananoligossacarídeos (MOS)

Segundo Fernandes et al. (2003), os mananoligossacarídeos são carboidratos complexos contendo D-manose, derivados da parede celular de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). Estes produtos já representam alternativa viável para melhorar a saúde e o desempenho animal.

Segundo Menten (2002), os mananoligossacarídeos adicionados à dieta podem aderir às fímbrias bacterianas, bloqueando a adesão das bactérias à superfície intestinal, podendo manter a integridade da mucosa intestinal.

Uma técnica que vem sendo utilizada para caracterizar as propriedades adesivas das fímbrias, é a reação de hemaglutinação, que tem sido dividida em duas categorias, manose-sensível e manose-resistente. A hemaglutinação de fímbrias manose-sensível é inibida pela D-manose, presente no mananoligossacarídeo. As fímbrias em que a hemaglutinação não é bloqueada pela D-manose são denominadas manose resistentes (Mol & Oudega, 1996).

Muitas bactérias enteropatogênicas possuem fímbrias do tipo 1, caracterizadas pelo fato de a hemaglutinação ser inibida pela presença de D-manose.

Patógenos que não expressam fímbrias tipo 1, como *Clostridium perfringens* e *Campylobacter*, também tiveram suas populações reduzidas na presença de mananoligossacarídeo, sugerindo efeito indireto (Menten, 2001). Pode ser possível que essas reduções tenham sido influenciadas por outras interações com a microbiota do trato gastrointestinal ou pelo sistema imune.

O mananoligossacarídeo é capaz de induzir a ativação de macrófagos por ocupar os sítios receptores de manose dos macrófagos nas glicoproteínas da superfície celular. Uma vez que três ou mais desses sítios de ligação estejam ocupados, inicia-se uma reação em cascata, que resulta em ativação dos macrófagos e liberação de citocinas, o que caracteriza ativação da resposta imune (Savage et al., 1996).

Os macrófagos ativados são muito mais eficientes na apresentação de antígenos às células produtoras de anticorpos, resultando numa maior capacidade de fagocitar bactérias e destruir organismos invasores (Savage, 1987; Spring, 2000).

No entanto, ainda não está claro como o mananoligossacarídeo atua para modificar as respostas do sistema imunológico. Segundo Spring & Privulescu (1998), a ampla gama de efeitos imunológicos associada à administração desse aditivo na dieta sugere que existe uma mobilização generalizada, tanto de linfócitos B quanto T.

Spring & Privulescu (1998) estudaram o efeito de Mananoligossacarídeo sobre o sistema imune de leitões neonatos livres de germes e leitões criados convencionalmente, durante um período de 60 dias e constataram que os níveis de Ig na bile não diferiram entre os leitões livres de germes e os criados convencionalmente. Contudo, os leitões criados convencionalmente

apresentaram níveis maiores de Ig no conteúdo intestinal, bem como no plasma sanguíneo. Newman (2001), fornecendo mananoligossacarídeo a matrizes, observou aumento no teor de imunoglobulinas do colostro e aumento dos pesos de desmame.

Santos (2002), utilizando níveis crescentes de manose na alimentação de leitões, não verificou diferenças significativas sobre o desempenho dos animais. Em contraste, Brendemuhl et al. (1999), fornecendo 0,2% de mananoligossacarídeo para leitões dos 10 aos 28 kg, observaram maior ganho de peso médio diário e consumo de ração médio diário quando comparado com o fornecimento de 0,1% do prebiótico.

2.8 Simbióticos

Segundo Menten (2002), o conceito de simbiótico alia o fornecimento de microorganismos probióticos juntamente com substâncias prebióticas específicas que estimulem seu desenvolvimento e atividade, potencializando o efeito de ambos os produtos. No desenvolvimento de simbióticos, é necessário a seleção de estirpes com melhor capacidade de utilização de um determinado prebiótico, para que se obtenha efeito sinérgico na implantação e proliferação das bactérias desejáveis. O prebiótico utilizado deve exercer ação que favoreça a sobrevivência da bactéria probiótica e aumente a atividade das bactérias presentes naturalmente no trato gastrintestinal (Roberfroid, 1998).

Os simbióticos vêm sendo estudados a pouco tempo e existe a necessidade de realização de estudos aprofundados.

Bouhnik et al. (1996), estudando a utilização de um simbiótico na dieta de humanos, observaram aumento na quantidade de unidades formadoras de colônias de bifidobactérias na microbiota fecal e esse aumento continuou sendo

significativo mesmo após duas semanas do término de administração do simbiótico.

Nemcová et al. (1999) observaram aumento na população de lactobacilos e bifidobactérias quando forneceram simbiótico (frutooligossacarídeo em conjunto com *Lactobacillus* sp.) para leitões.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização

Os dois experimentos foram conduzidos no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de outubro de 2002 a abril de 2003. O município de Lavras está localizado na região sul do Estado de Minas Gerais, a 21° 14' 30'' (S) de latitude, 45° 00' (O) de longitude e 910 metros de altitude. O clima da região, segundo classificação de Koppen, é do tipo Cwb, tropical úmido, com duas estações definidas: chuvosa (novembro/abril) e seca (maio/outubro) (Ometto, 1981).

3.2 Experimentos

No experimento I avaliou-se o efeito da adição de probiótico, prebiótico e simbiótico sobre o desempenho de leitões desmamados aos 23 dias de idade. No experimento II foram avaliados os efeitos da adição de antibiótico, probiótico, prebiótico e simbiótico sobre os parâmetros morfológicos e microbiológicos do intestino de leitões desmamados aos 23 dias de idade, em diferentes idades após o desmame.

3.3 Experimento I

3.3.1 Animais e instalações

Foram utilizados 96 leitões mestiços (Landrace x Large White), sendo 48 machos castrados e 48 fêmeas, desmamados, em média, aos 23 dias de idade,

com peso médio de 7,40 kg (\pm 1,05 kg). Os leitões foram alojados na creche por um período de 35 dias, em grupos de quatro animais, sendo 2 machos e 2 fêmeas, em baias suspensas (2,00 x 1,20 m), dotadas de comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta, em sala de alvenaria, com ambiente semi-controlado com lâmpadas e ventiladores. Antes de alojar os animais, a creche foi limpa e desinfetada, permanecendo por um período de sete dias em vazio sanitário. A temperatura e a umidade relativa do ar do período experimental estão apresentadas na Tabela 1A.

3.3.2 Dietas experimentais

As dietas foram isocalóricas e isoprotéicas, constituídas à base de milho, farelo de soja e leite em pó modificado, suplementadas com minerais e vitaminas. Foram formuladas para atender às exigências nutricionais dos leitões no período de creche, segundo NRC (1998). A composição bromatológica dos ingredientes e a composição percentual das rações encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

As dietas experimentais foram as seguintes:

1. Ração com antibiótico (Controle positivo)
2. Ração com probiótico
3. Ração com prebiótico
4. Ração com Simbiótico (Probiótico + Prebiótico)

Os aditivos foram adicionados à dieta nas seguintes dosagens:

- Antibiótico – 60 g por tonelada de ração.
- Probiótico (a base de *Bacillus Subtilis*) – 150 g por tonelada de ração.

- Prebiótico (mananoligossacarídeo) – 1000 g por tonelada de ração.
- Simbiótico = Probiótico (150 g) + prebiótico(1000 g) – 1150 g por tonelada de ração.

O antibiótico utilizado é caracterizado por possuir efeito sobre as bactérias *Escherichia coli*, *Pasteurella*, *Proteus*, *Streptococcus* e *Treponema*.

TABELA 1 Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas rações

Composição ¹	Ingredientes					
	Milho	Farelo de soja	Leite em pó modificado ⁴	Fosfato bicálcico	Calcário calcítico	Óleo de soja
Matéria seca (%) ²	87,50	88,20	94,75	-	-	99,30
Proteína bruta (%) ²	8,20	46,50	10,00	-	-	-
ED (Kcal/kg) ³	3476	3421	-	-	-	8469
Cálcio(%) ²	0,03	0,28	1,05	25,38	38,00	-
Fósforo(%) ²	0,07	0,21	0,41	19,90	-	-
Lisina (%) ³	0,25	2,78	-	-	-	-
Met + Cis (%) ³	0,37	1,27	-	-	-	-

¹ Valores expressos em matéria natural

² Análises realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFPA

³ Valores segundo Rostagno (2000)

⁴ Leite em pó Modificado – mistura de leite em pó integral e soro de leite em pó integral.

TABELA 2 Composição percentual das rações experimentais

Ingrediente (%)	Tratamentos			
	Antibiótico	Probiótico	Prebiótico	Simbiótico
Milho	53,600	53,600	53,600	53,600
Farelo de soja	32,685	32,685	32,685	32,685
Leite pó modificado	10,000	10,000	10,000	10,000
Fosfato bicálcico	1,500	1,500	1,500	1,500
Calcário calcítico	1,000	1,000	1,000	1,000
Óleo de soja	0,600	0,600	0,600	0,600
Sal iodatado	0,300	0,300	0,300	0,300
Caulim	0,109	0,100	0,015	-
Antibiótico	0,006	-	-	-
Probiótico	-	0,015	-	-
Prebiótico	-	-	0,100	-
Simbiótico	-	-	-	0,115
Premix vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100	100	100	100
Nível Nutricional calculado				
Proteína bruta (%)	20,500	20,500	20,500	20,500
ED (kcal/kg)	3400	3400	3400	3400
Ca (%)	0,947	0,947	0,947	0,947
Fósforo disponível (%)	0,550	0,550	0,550	0,550
Lisina Total (%)	1,204	1,204	1,204	1,204
Metionina + cistina (%)	0,698	0,698	0,698	0,698

¹- Vit. A (8.000.000 UI); Vit. D₃ (1.200.000 UI); Vit. E (20.000 mg); Vit. K₃ (2500mg); Tiamina (1000mg); Riboflavina (4000mg); Vit B₁₂ (20mg); Niacina (25000mg); Ácido Pantotênico (10000mg); Biotina (50g); Ácido Fólico (600mg); Vit. C (50000mg); Antioxidante (125mg).

²- Zn (80000mg); Fe (70000mg); Mn (40000mg); Cu (20000mg); I (800mg); Co (500mg); Se (500mg); Veículo qsp (1000g).

3.3.3 Parâmetros avaliados

Os parâmetros avaliados foram ganho de peso médio diário, consumo de ração médio diário e conversão alimentar. Para determinação do ganho de peso, os animais foram pesados aos 23 e 58 dias de idade (35 dias de experimento). As sobras de rações e o desperdício foram pesados semanalmente para determinação do consumo. A conversão alimentar foi obtida por meio da relação entre o consumo de ração e o ganho de peso durante o período experimental.

3.3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi em blocos casualizados (DBC), utilizando-se quatro tratamentos com seis repetições. Cada unidade experimental foi composta por quatro leitões, totalizando 24 leitões por tratamento. Os blocos foram formados para controlar as diferenças iniciais de peso.

O modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$$

Sendo:

Y_{ij} : valor observado referente ao tratamento i no bloco j ;

μ : constante associada a todas as observações;

T_i : efeito do tratamento i , com $i = 1, 2, 3, 4$;

B_j : efeito do bloco j , com $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$;

e_{ij} : erro experimental associado a Y que, por hipótese, tem distribuição normal com média zero e variância σ^2 .

A análise estatística foi realizada utilizando o Sistema de Análise Estatística e Genética da Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1993), versão 5.0.

3.4 Experimento II

3.4.1 Animais e instalações

Foram utilizados 44 leitões mestiços (Landrace x Large White), sendo 22 machos castrados e 22 fêmeas, desmamados, em média, aos 23 dias de idade, com peso médio de 7,16 kg ($\pm 1,07$ kg). No dia da desmama (23 dias de idade), quatro leitões, sendo dois machos castrados e duas fêmeas, foram abatidos e serviram como referência para comparações. Os leitões foram alojados por um período de 7 dias na creche, em grupos de dois animais, quando foi retirado um leitão de cada tratamento e de cada repetição (totalizando 20 leitões) o qual foi abatido para a realização das análises. Os demais leitões permaneceram recebendo os tratamentos até o 14º dia após o desmame, quando também foram abatidos (totalizando 20 leitões). As instalações foram as mesmas do Experimento I. Antes de alojar os animais, a creche foi limpa e desinfetada, permanecendo por um período de sete dias em vazio sanitário. A temperatura e a umidade relativa do ar do período de experimentação estão apresentadas na Tabela 1B.

3.4.2 Dietas experimentais

As dietas foram as mesmas do Experimento I com a adição de um tratamento sem aditivo, denominado controle negativo, contendo a mesma composição das demais dietas experimentais.

As dietas experimentais foram as seguintes:

1. Ração sem aditivo (controle negativo);
2. Ração com antibiótico (controle positivo);
3. Ração com probiótico;
4. Ração com prebiótico;
5. Ração com Simbiótico (Probiótico + Prebiótico).

Os aditivos alimentares foram adicionados às dietas nas mesmas dosagens do experimento I.

3.4.3 Parâmetros avaliados

3.4.3.1 Altura das vilosidades e profundidade das criptas

Após cada abate, foi retirado um fragmento fechado com aproximadamente 2 cm de comprimento do duodeno e do jejuno. O primeiro, a 10 cm da inserção com o estômago, e o segundo, na região correspondente a 50% do comprimento do intestino delgado. As amostras foram, então, imediatamente lavadas em água destilada, identificadas e fixadas em BOUIN (solução aquosa saturada de ácido pícrico, formol e ácido acético) por 24 horas; em seguida foram retiradas do BOUIN e conservadas em álcool 70% para futuras análises.

As lâminas foram confeccionadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se a técnica descrita por Junqueira & Junqueira (1983), com algumas adaptações. Foram feitas duas lâminas de cada região coletada, contendo dois cortes cada. As análises morfométricas dos cortes histológicos foram realizadas

no Laboratório de Citologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, utilizando microscópio óptico (OLYMPUS BX50) com aumento de 40 vezes. Para medição de altura de vilosidades e profundidade de criptas foi utilizado o analisador de imagem “Sigma Scan Pro 2.0” Jandel (1995). Foram selecionadas e medidas, comprimento em linha reta de acordo com a unidade adotada (μm), 20 vilosidades e 20 criptas, bem orientadas, de cada região intestinal, por animal. As relações entre vilosidades e criptas também foram calculadas.

As medidas de altura de vilosidades foram tomadas a partir da base superior da cripta até o ápice da vilosidade e as criptas foram medidas entre as vilosidades da base inferior até a base superior da cripta.

3.4.3.2 Análise microbiológica – Contagem de bactérias lácteas

De cada animal abatido, foi isolada uma seção do jejuno de aproximadamente 30 cm de comprimento, por dupla ligadura, removida e levada até um ambiente limpo e esterilizado. Em seguida, abriu-se um dos lados da dupla ligadura e pesou-se 25 gramas do conteúdo em um pote plástico estéril, os quais foram encaminhados para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, onde se procedeu as demais etapas da análise.

Uma vez no laboratório, procedeu-se a retirada do conteúdo do jejuno de dentro do pote plástico estéril, o qual foi transferido para um recipiente contendo 225 ml de água peptonada a 0,1% estéril. Em seguida, foram realizadas diluições decimais das amostras em água peptonada 0,1%, sendo retiradas alíquotas de 1 ml da diluição, adequada para as placas de Petri. O método de plaqueamento utilizado foi em profundidade com sobrecamada, em meio M R S (Agar de Man, Rogosa e Sharpe). As placas foram incubadas a 28°C por 72 horas.

Os resultados obtidos foram expressos como Log. na base 10 da contagem, por grama do conteúdo da digesta (UFC/g).

3.4.3.3 pH do conteúdo do estômago e ceco

Após cada abate, as seções do trato gastrointestinal foram expostas por uma incisão mediana e isoladas assepticamente com dupla ligadura. Em seguida, foi medido o pH da porção distal do estômago e do ceco, onde o sensor do peagâmetro foi introduzido diretamente em um incisão feita em cada segmento.

3.4.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi em blocos casualizados (DBC) com cinco tratamentos e quatro repetições e a análise estatística foi em esquema fatorial 5 X 2 (5 tratamentos e 2 idades ao abate). A parcela experimental foi o animal.

O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + B_j + T_i + I_k + TI_{ik} + e_{ijk}$$

Sendo:

Y_{ijk} : valor observado referente ao tratamento i , na repetição j , na idade ao abate k ;

μ : uma constante associada a todas as observações;

B_j : efeito do bloco j , com $j = 1, 2, 3, 4$;

T_i : efeito do tratamento i , com $i = 1, 2, 3, 4, 5$;

I_k : efeito da idade ao abate k , com $k = 1, 2$ (7 e 14 dias após o desmame);

$(IT)_{ki}$: efeito da interação do tratamento i com a idade ao abate k ;

e_{ijk} : erro experimental associado.

A análise estatística foi realizada utilizando o Sistema de Análise Estatística e Genética da Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1993), versão 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I

Os resultados de ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3. Ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) de leitões dos 23 aos 58 dias de idade¹.

TRATAMENTO	VARIÁVEL		
	GPMD (KG)	CRMD (KG)	CA
Antibiótico	0,353	0,624	1,79
Probiótico	0,311	0,607	1,96
Prebiótico	0,352	0,635	1,81
Simbiótico	0,320	0,556	1,75
C.V.(%)	13,17	10,07	8,83

¹Não houve diferença ($P>0,05$) pelo teste F.

Os dados de desempenho dos leitões alimentados com rações contendo probiótico, prebiótico e simbiótico não diferiram ($P>0,05$) daqueles alimentados com ração contendo antibiótico.

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Santos (2002), quando utilizou níveis de manose e antibiótico promotor de crescimento para leitões. Mikkelsen et al. (2003) compararam a utilização de dois prebióticos

distintos para leitões desmamados e não verificaram diferenças significativas sobre os dados de desempenho.

Este comportamento também foi observado por Santos (1998) quando utilizou antibiótico e probiótico à base de *Lactobacillus* sp. em leitões na fase de aleitamento e de creche.

Em contraste, Kosaza (1986) quando combinou a utilização de probiótico à base de *Bacillus Toyoi* com antibióticos, verificou aumento no ganho de peso e eficiência alimentar em leitões desmamados. Brendemuhl et al. (1999), fornecendo 0,2% de mananoligossacarídeo para leitões dos 10 aos 28 kg, observou maior ganho de peso médio diário e consumo de ração médio diário quando comparado com o fornecimento de 0,1% do prebiótico.

Como a eficácia dos produtos é estritamente dependente da quantidade e das características dos aditivos, é muito difícil estabelecer um paralelo entre estudos e comparar resultados.

O fato de os animais alimentados com rações suplementadas com os aditivos prebiótico, probiótico e simbiótico não terem apresentado diferenças significativas no desempenho, em comparação com os alimentados com antibiótico, mostrou que é viável a utilização desses aditivos para evitar a utilização de antibióticos, mantendo-se o mesmo padrão de desempenho animal.

4.2 Experimento II

4.2.1 Altura das vilosidades e profundidade das criptas

Os resultados de altura de vilosidades, profundidade de criptas e relação vilosidade: cripta do intestino delgado dos leitões, de acordo com os tratamentos, encontram-se nas Tabelas 4 a 9.

TABELA 4. Altura das vilosidades (μm) do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos¹.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média
	7	14	
Sem aditivo	403,32	340,51	371,91
Antibiótico	418,32	448,68	433,50
Probiótico	297,76	360,86	329,31
Prebiótico	359,23	354,64	356,93
Simbiótico	386,09	360,34	373,21
C.V. (%)	23,45		

¹Não houve diferença ($P>0,05$) pelo teste F.

* Idade do desmame de Referência (0 dias), altura da vilosidade = 355,35 μm

TABELA 5. Altura das vilosidades (μm) do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos¹.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média
	7	14	
Sem aditivo	280,00	332,91	306,45
Antibiótico	329,95	329,90	329,92
Probiótico	288,97	292,83	290,90
Prebiótico	306,17	327,49	316,83
Simbiótico	260,87	311,02	285,94
C.V. (%)	22,42		

¹Não houve diferença ($P>0,05$) pelo teste F.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), altura da vilosidade = 293,60 μm

TABELA 6. Profundidade das criptas (μm) do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos¹.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média
	7	14	
Sem aditivo	474,91	541,34	508,12
Antibiótico	443,36	503,75	473,55
Probiótico	473,91	509,55	491,73
Prebiótico	436,34	520,15	478,24
Simbiótico	502,44	530,74	516,59
C.V. (%)	8,06		

¹Não houve diferença ($P>0,05$) pelo teste F.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), profundidade das criptas = 446,95 μm

TABELA 7. Profundidade das criptas (μm) do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos¹.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média
	7	14	
Sem aditivo	371,07	370,62	370,84
Antibiótico	334,99	377,02	356,00
Probiótico	387,42	345,94	366,68
Prebiótico	342,50	328,33	335,41
Simbiótico	384,42	340,12	362,27
C.V. (%)	10,26		

¹Não houve diferença ($P>0,05$) pelo teste F.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), profundidade das criptas = 280,26 μm

TABELA 8. Relação vilosidade:cripta do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos¹.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média
	7	14	
Sem aditivo	0,86	0,63	0,75
Antibiótico	0,96	0,89	0,93
Probiótico	0,64	0,71	0,68
Prebiótico	0,86	0,68	0,77
Simbiótico	0,77	0,68	0,73
C.V. (%)	28,16		

¹Não houve diferença (P>0,05) pelo teste F.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), relação vilosidade:cripta = 0,81

TABELA 9. Relação vilosidade:cripta do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos¹.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média
	7	14	
Sem aditivo	0,76	0,89	0,83
Antibiótico	0,98	0,88	0,93
Probiótico	0,76	0,85	0,81
Prebiótico	0,91	1,01	0,96
Simbiótico	0,69	0,92	0,81
C.V.(%)	24,53		

¹Não houve diferença (P>0,05) pelo teste F.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), relação vilosidade:cripta = 1,05

Não foi observado efeito ($P>0,05$) dos tratamentos e da idade após o desmame sobre altura de vilosidades, profundidade de criptas e relação vilosidade:cripta do duodeno e jejuno dos leitões.

Estes resultados estão de acordo com os dados de desempenho, para o qual também não foi verificada diferença entre os aditivos e o antibiótico.

Provavelmente, a não observação de diferenças morfológicas se deve à grande variabilidade observada na morfometria intestinal entre os animais recém-desmamados, sendo uns mais, outros menos susceptíveis à mudança de dieta nessa fase. Os pesos dos animais abatidos aos 7 e aos 14 dias após o desmame não foram diferentes ($P>0,05$), o que pode ter contribuído para os resultados semelhantes entre os abates. Outro fator que pode ter influenciado os resultados é o fato de os animais não terem sofrido nenhum tipo de desafio para a realização do experimento. O pequeno tempo de administração dos aditivos também pode ter influenciado os resultados de morfometria. Santos (1998) verificou que os animais tratados com probiótico desde a fase de aleitamento possuíam maior altura de vilosidade aos 63 dias de idade.

Berto et al. (1996), trabalhando com dietas simples e complexa para leitões, verificaram alturas de vilosidades do duodeno semelhantes no 7º e 21º dias após o desmame; contudo, a altura das vilosidades do jejuno foi maior no 21º dia, comparado com o 7º dia após o desmame.

Em contraste, Cera (1988) relatou que à medida que avançava a lactação, a altura das vilosidades de leitões diminuiu, apresentando acentuada redução no 3º e 7º dia após o desmame. Santos (2002) verificou maior altura das vilosidades no duodeno e jejuno de leitões com 60 dias de idade tratados com 0,1% e 0,2% de manose, porém não identificou diferenças significativas no desempenho e na profundidade de criptas do duodeno dos leitões.

4.2.2. Análise microbiológica – Contagem de bactérias lácteas

Os resultados da contagem de bactérias lácteas no conteúdo do jejuno de leitões com diferentes idades após o desmame são apresentados na Figura 1.

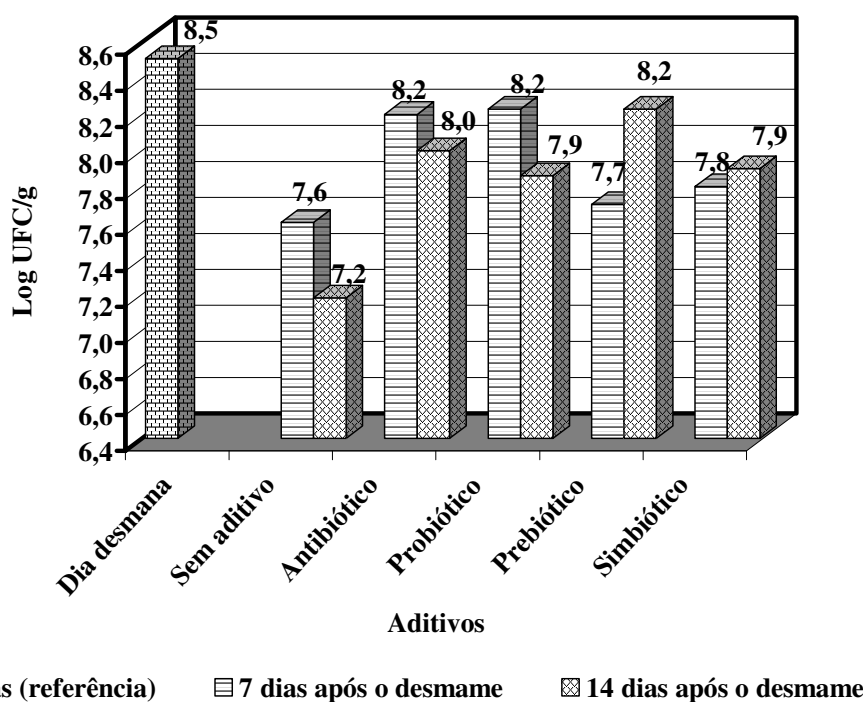


FIGURA 1. Contagem de bactérias lácteas (Log UFC/g) no conteúdo do jejuno de leitões com diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.

A contagem de bactérias lácteas no conteúdo do jejuno foi numericamente maior para os leitões que receberam antibiótico, probiótico, prebiótico e simbiótico em relação ao tratamento sem aditivo. Observou-se redução numérica na contagem nos leitões que receberam a ração sem aditivo, a

ração com antibiótico e a ração com probiótico, abatidos aos 7 dias em relação aos abatidos aos 14 dias após o desmame. Entretanto, observou-se o contrário para os leitões que receberam a ração com prebiótico e simbiótico, ou seja, os animais abatidos aos 7 dias após o desmame apresentaram menor número de bactérias lácteas no conteúdo do jejuno do que os leitões abatidos aos 14 dias após o desmame.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Ozawa et al. (1981), os quais, utilizando probiótico à base de *Bacillus subtilis* em leitões desmamados, notaram aumento significativo no número de streptococos e bifidobactéria no intestino delgado e redução no número de bacteróides. Nemcová et al. (1999) observaram aumento na população de lactobacilos e bifidobactérias quando forneceram simbiótico (frutooligossacarídeo em conjunto com *Lactobacillus* sp.) para leitões. Mikkelsen et al. (2003), fornecendo oligossacarídeo para leitões, verificaram aumento significativo no número de lactobacilos em leitões abatidos aos 7 dias após o desmame, em relação aos abatidos aos 3 dias após o desmame.

Triagens realizadas no Japão demonstraram que levou-se aproximadamente um mês para induzir aumento na contagem de bifidobactérias após o início da administração diária de prebiótico em humanos. Este período pode variar em detrimento da dosagem utilizada do prebiótico (Mitsuoka, 1986), indicando que o prebiótico necessita de tempo maior para alterar a composição da microbiota intestinal de maneira benéfica.

Ao contrário, Spriet et al. (1987) e Kornegay et al. (1996) não verificaram efeito do fornecimento de *Bacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de suínos. Mathew et al. (1997), utilizando prebiótico para leitões, não verificaram aumento de bactérias lácteas no íleo de leitões desmamados em relação ao tratamento controle e, também, em relação à idade após o desmame.

O aumento na contagem de bactérias lácteas no jejuno dos leitões pode reduzir a população de bactérias patogênicas por estas competirem por sítios de adesão na parede intestinal (Sissons, 1989; Tereda et al., 1994; Vassalo et al., 1995; Ozawa et al., 1983, Vanbelle et al., 1990).

4.2.3 pH do conteúdo do estômago e ceco

Os resultados dos valores do pH do conteúdo do estômago de leitões em diferentes idades após o desmame são apresentados na Tabela 10.

TABELA 10. Valores do pH do conteúdo do estômago de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média ¹
	7	14	
Sem aditivo	4,81	5,01	4,90 A
Antibiótico	4,41	4,54	4,47 B
Probiótico	4,02	4,63	4,33 B
Prebiótico	4,41	4,44	4,42 B
Simbiótico	4,18	4,65	4,42 B
C.V.(%)	7,79		

¹Médias com letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) pelo teste SNK.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), valor do pH = 3,69

Não houve diferença ($P > 0,05$) nos valores de pH do conteúdo do estômago quando se comparou os animais abatidos aos 7 dias com os abatidos aos 14 dias após o desmame.

Houve diferença ($P < 0,05$) quando se comparou a média dos valores de pH do conteúdo do estômago entre 7 e 14 dias após o desmame, sendo que o tratamento sem aditivo resultou em maiores valores ($P < 0,05$) de pH no estômago em relação aos demais tratamentos.

O dia do desmame foi caracterizado por um baixo pH do conteúdo do estômago dos leitões. A capacidade de produção de ácido clorídrico do leitão é muito pequena e insuficiente para a correta manutenção da faixa de pH ideal nas primeiras semanas de vida. Contudo, esse problema é contornado pela presença dos *Lactobacillus* sp., os quais hidrolisam parte da lactose presente no leite, produzindo ácido láctico, reduzindo o pH e, com isso, diminuindo a proliferação de agentes patogênicos. Com o desmame, e com a redução do consumo de lactose, há redução drástica na população de *Lactobacillus* sp. e, conseqüentemente, aumento do pH, o que favorece a proliferação de bactérias patogênicas que, em geral, se desenvolvem em meios mais alcalinos. Segundo Blanchard (2000), a faixa de pH para o crescimento de *Escherichia coli* está entre 4,3 e 9,5; para *Salmonella*, entre 4,0 e 9,0; e para *Lactobacillus* sp., entre 3,8 e 7,2.

No presente experimento observou-se valores de pH no conteúdo do estômago capazes de favorecer a proliferação de bactérias benéficas, como os *Lactobacillus* sp., mas também capazes de favorecer o crescimento de bactérias patogênicas, uma vez que esses valores de pH foram superiores a 4,0.

Os valores de pH no conteúdo do estômago estão de acordo com os encontrados por Manners et al. (1962) e Delforg (1987), os quais encontraram valores de 5,0 e 4,23, respectivamente, em leitões da mesma faixa etária. No entanto, os valores de pH estomacal foram superiores aos encontrados por Zangerônimo (2004) em leitões com a mesma idade após o desmame.

Têm-se verificado, em vários estudos, resultados controversos de medidas do pH do conteúdo do estômago, devido a uma série de fatores, entre eles a região em que foram feitas as determinações, o tipo de técnica adotada e o tempo após a ingestão de alimento, entre outros (Ferreira, 1986).

Adams (2000) afirma que o pH tende a aumentar ao longo do trato gastrointestinal, chegando a neutro no reto.

Os resultados dos valores do pH do conteúdo do ceco de leitões em diferentes idades após o desmame são apresentados na Tabela 11.

TABELA 11. Valores do pH do conteúdo do ceco de leitões em diferentes idades após o desmame, de acordo com os tratamentos.

TRATAMENTOS	IDADE APÓS O DESMAME*		Média ¹
	7	14	
Sem aditivo	5,91 Ba	5,89 Aa	5,91
Antibiótico	5,95 Ba	5,90 Aa	5,93
Probiótico	6,24 Aa	5,83 Ab	6,04
Prebiótico	5,89 Ba	5,78 Aa	5,83
Simbiótico	5,78 Ba	6,03 Aa	5,90
C.V. (%)	3,22		

Médias com letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) pelo teste SNK.

Médias com letras minúsculas distintas na mesma linha diferem (P<0,05) pelo teste F.

* Dia do desmame de Referência (0 dias), valor do pH = 5,70

Verificou-se interação entre tratamento e idade (P<0,05) após o desmame, nos animais que receberam ração contendo probiótico, ocorrendo uma redução do pH do conteúdo do ceco em função da idade de abate.

Os resultados de pH do conteúdo cecal demonstram que os animais que receberam o tratamento com probiótico apresentaram maiores valores ($P < 0,05$) aos 7 dias após o desmame, quando comparados aos demais tratamentos. Este resultado pode ser atribuído ao fato de o probiótico utilizado no experimento ter sido à base de *Bacillus subtilis*, que não possui a característica de redução de pH, ou seja, sua função é basicamente competir com as bactérias patogênicas por nutrientes e produzir substâncias antibacterianas. Porém, este resultado contrasta com o resultado da contagem de bactérias lácteas no jejuno dos leitões, segundo o qual os animais tratados com o probiótico apresentaram, números maiores de UFC/g de bactérias lácteas. Tereda et al. (1994), Klaenhammer (1982), Atherton & Robbins (1987) relatam que com o aumento de bactérias produtoras de ácido láctico no intestino de leitões, ocorre redução do pH do ambiente do trato gastrointestinal, o que não foi verificado nesse experimento.

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos, nos animais abatidos aos 14 dias após o desmame, sobre o pH do conteúdo cecal.

Quando se comparou o pH cecal dos animais abatidos aos 7 e aos 14 dias após o desmame observou-se, nos animais que receberam o tratamento com probiótico, redução ($P < 0,05$) no pH cecal aos 14 dias após o desmame.

Os valores de pH do conteúdo cecal dos animais são semelhantes aos encontrados por Santos (2002) utilizando manose em leitões com 60 dias de idade e Zangerônimo (2004) utilizando níveis protéicos em leitões com 7, 14 e 21 dias após o desmame.

5 CONCLUSÕES

A inclusão de probiótico, prebiótico e simbiótico na alimentação de leitões na fase pós desmame melhorou a microbiota através do aumento do número de bactérias lácteas no jejuno. O desempenho e os parâmetros morfológicos não foram afetados pelo uso dos aditivos nas rações de leitões desmamados aos 23 dias de idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, A. C. Acidifiers: important components of pig feeds. **Technical Information**, Manila, p. 1-6, 2000.
- ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 59, n. 2/3, p. 183-198, June 1999.
- ATHERTON, D.; ROBBINS, S. Probiotics – a European perspective. In: LYONS, T. P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholas – ville: Alltech Technical, 1987. p. 166-176.
- BERTO, D. A.; KRONKA, R. D.; SANTOS, H. S. L.; THOMAZ, M. C.; CURTARELLI, S. M. Efeitos do tipo de ração inicial sobre a morfologia intestinal e digestibilidade dos nutrientes em leitões. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 34-39, jan./fev. 1996.
- BLANCHARD, P. Less buffering... more enzymes and organic acids. **Pig Progress**, Chaiwan, Hong Kong, v. 16, n. 3, p. 23-25, 2000.
- BOROWSKI, S. M. Sensibilidade a antimicrobianos de amostras de *E. coli* isoladas de suínos apresentando diarreia no período pós-desmame. **Arquivos de Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v. 25, p. 431-435, 1995.
- BOUHNİK, Y.; FLOURIE B.; RIOTTOT, M.; BISETTI, N.; GAILING, M.; GUIBERT, A.; BORNET, F.; RAMBAUD, J. Effects of fructo-oligosacharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. **Nutrition and Cancer**, Paris, v. 26, n. 1, p. 21-29, 1996.
- BRENDEMUEHL, J. H.; HARVEY, M. R. **Evaluation of Bio-Mos (Mananoligosaccharide) in diets for pigs. I Growth performance response during nursery and growing-finishing phases**. Gainesville, Florida, USA: University of Florida, 1999. (Report to Alltech).

CERA, K.R. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.66, n. 3, p.574-584, 1988.

COLUSI, A. D. Uso racional de antibióticos e quimioterápicos em avicultura. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1993, Santos. **Anais...** Santos: APINCO, 1993. p. 67-81.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. São Paulo: SINDIRAÇÕES/ANFAR, Campinas: CBNA/SDR/MA, 1998. p. 371.

CUPERE, F.; DEPREZ, P.; DEMEULENAERE, D. Evaluation of the effect of 3 probiotics on experimental *E. coli* enterotaxaemia in weaned piglets. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 39, n. 4, p. 277-284, June 1992.

CRAWFORD, J. S. "Probiotics" in animal nutrition. In: ARKANSAS NUTRITION CONFERENCE 1979, **Proceedings...** 1979. p. 45-55.

DALE, N. Probióticos para aves. **Avicultura Profissional**, Athens, v. 10, n. 3, p. 88-89, Feb. 1992.

DAY, E. J. **Bases fundamentales em la nutricion de pollos parrileros.** American Cynamid Company, 1985. p. 95-100.

DELFORG, J. L. New concept in the use of acidulents in animal feeds. In: VIRGINIAMYCIN SIMPOSIUM, 1987, Sicilia, Italy, p. 56.

ENGBERG, R. M.; HEDEMAN, M. S.; LESER, T. D.; JENSEN, B. B. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 9, p. 1311-1319, Sept. 2000.

FERNANDES, P. C. C.; MALAGUIDO, A.; SILVA, A. V. Manejo nutricional visando substituir a utilização de antimicrobianos em alimentos para aves. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS - CBNA. Campinas, SP. **Anais...** Campinas: CBNA, 2003, p. 135-166.

FERREIRA, A. S. **Estimativa de produção e composição de leite de porca e aleitamento artificial de leitões**. 1986. 121 p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FERREIRA, A. S.; COSTA, P. M. A.; GOMES, J. C.; et al. Desaparecimento da ingesta, pH estomacal e duodenal e formação de coágulos de leite de porca e de vaca e de extrato de soja no estômago e intestino delgado de leitões. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 308-316, maio/jun. 1988.

FINALY, B. B.; FALKOW, S. Common themes in microbial pathogenicity. **Microbiological Reviews**, Massachusetts, v. 53, n. 2, p. 210-230, June 1989.

FULLER, R. Probiotics. **Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplements**, Oxford, p. 15-75, 1986.

FULLER, R. **Probiotics**: the scientific basis. London: Chapman & Hall, 1989. 307 p.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. A review. **Journal Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 365-378, May 1989.

FULLER, R.; NEWLAND, L. G. M. et al. The normal intestinal flora of pig. IV. The effect of dietary supplements of penicillin, chlortetracyclin or copper sulfate on the cecal flora. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 23, p. 195-205, 1960.

FREITAS, H. T.; FERREIRA, A. S.; LUDWIG, A. Manejo de desmame precoce de leitões. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília, DF. **Anais...** Brasília: SBZ, 1995. p. 432-433.

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

HAMPSON, D. J. Attempts to modify changes in the piglet small intestine after weaning. **Research in Veterinary Science**, London, v. 40, n. 3, p.313-317, May 1986.

HAMPSON, D. J.; HINTON, M.; KIDDER, D. E. Coliform numbers in the stomach and small intestine de heshly pigs following at three weeks of age. **Journal Comparative Pathology**, London, v. 95, n. 3, p. 353-362, 1985.

HAMPSON, D. J.; KIDDER, D. E. Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglet small intestine. **Research in Veterinary Science**, London, v. 40, n. 1, p. 24-31, Jan. 1986.

HANSEN, J. A. Evaluation of animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 1853, 1993.

HENTGES, D. J. Gut flora and disease resistance. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientif basis**. London: Chapman and Hall, 1992. p. 87-109.

JANDEL CORPORATION. “**Sigma Scan Pro**”. User’s manual Version 2.0 for Windows. San Rafael, CA: Jandel Scientific Software, 1995.

JENSEN, B. B. The impact of feed additives on the microbial ecology of young pigs. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Suweon, v. 7, p. 45-64, 1998. Supplement.

JONSSON, E.; CONWAY, P. Probiotics for pigs. In: FULLER, R. **Probiotics – The Scientific Basis**. London: Chapman and Hall, 1992. p. 259-316.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1983. 123 p.

KELLY, D.; BEGBIE, R.; KING, T. P. Postnatal intestinal development. In: VARLEY, M. A.; WILLIAMS, P. E. V.; LAWRENCE, T. L. J. (Ed.). **Neonatal survival and growth**. Edinburgh: British Cociety of Animal Production, 1992. p. 63-79, (Occasional Publication, 15).

KLAENHAMMER, T. R. Microbiological consideration in selection and preparation of Lactobacillus strains for use as dietary adjuncts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 7, p. 1339-1349, July 1982.

KORNEGAY, E. T.; RISLEY, C. R. Nutrient digestibilities of a corn-soybean meal diet as influenced by Bacillus products fed to finishing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 799-805, Apr. 1996.

KORNIWICZ, A. Feed additives in swine feeding. **Instytut Zootechniki Biuletyn Informacyjny**, Krakow, v. 30, n. 3/6, p. 66-90, 1992.

KOSASA, M. Toyocerin (Bacillus Toyoi) as growth promoter for animal feeding. **Microbiology Alimentar Nutrition**, v. 4, p. 121, 1986.

KROGFELT, K. A. Bacterial adhesion: genetics, biogenesis, and role in pathogenesis of fimbrial adhesions of *Escherichia coli*. **Review Infections Disease**, Chicago, v. 13, n. 4, p. 721-735, July/Aug. 1991.

LEEDLE, J. Intestinal microbiology – action mechanisms. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000a. p.1-14.

MAHAN, D. C. Efficacy of initial postweaning diet and supplemental coconut oil or soybean oil for weaning swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 4, p. 1397-1402, Apr. 1991.

MANNERS, J. H.; POND, M. C.; LOOSLI, M. C.; LOWEY, R. S. Effects of isolated soy bean protein in the casein on the gastric pH and rate of passage of food residues on baby pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 21, n. 1, p.49-55, Feb. 1962.

MATHEW, A. G.; ROBBINS, C. M.; CHATTIN, S. E.; QUIGLEY, J. D. Influence of gactosyl lactose on energy and protein digestibility, enteric microflora, and performance of weaning pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 4, p. 1009-1016, Apr. 1997.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2001, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre: ABRAVES, 2001. p. 364-373.

MENTEN, J. F. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: CBNA, 2002. p. 251-276.

MIKKELSEN, L. L.; JAKOBSEN, M.; JENSEN, B. B. Effects of dietary oligosaccharides on microbial diversity and fructo-oligosaccharide degrading bacteria in faeces of piglets post-weaning. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 109, n. 1/4, p. 133-150, Oct. 2003.

MILES, R. D. Manipulation of the microflora of the gastrointestinal tracts: natural ways to prevent colonization by pathogens. In: ALLTECH'S NINTH ANNUAL SYMPOSIUM: biotechnology in the feed industry. 1993. **Proceedings...** Nicholasville Technical, 1993. p. 133-150.

MILLER, B. G. Influence of diet on postweaning malabsorption and diarrhea in the pig. **Research in Veterinary Science**, London, v. 36, n. 2, p. 187-193, 1984.

MITSUOKA, T. Effect of long-term intake of neosugar on intestinal flora and serum lipids. In: NEOSUGARS CONFERENCE, 3., 1986, Tokyo, Japan. **Proceedings...** Tokyo, Japan, 1986. v. 31.

MITSUOKA, T.; HIDAHA, H.; EIDE, T. Effect of fructooligosaccharides on intestinal microflora. **Die Nahrung**, Berlin, v. 31, n. 5/6, p. 427-436, 1987.

MODLER, H. W.; MCKELLAR, R. C.; YAGUCHI, M. Bifidobacteria and bifidogenic factors. **Canadian Institute of Food Science Technology Journal**, Ontário, v. 23, n. 1, p. 29-41, Feb. 1990.

MOITA, A. M. S.; COSTA, P. M. A.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, J. M.; TEIXEIRA, J. A. Exigência de proteína bruta de leitões de 12 a 28 dias de idade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 23, n. 5, p. 792-801, set./out. 1994.

MOL, O.; OUDEGA, B. Molecular and structural aspects of fimbriae biosynthesis and assembly in *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 25-52, Oct. 1996.

MONTES, A. J.; PUGH, D. G. The use of probiotics in food-animal practice. **Veterinary Medicine**, Lexena, v. 88, n. 3, p. 282-288, Mar. 1993.

NABUURS, M. J. S. Microbiological structural and functional changes of the small intestine of pigs at weaning. **Pigs News Information**, Wallingford, v. 16, n. 3, p. 93-97, 1995.

NABUURS, M. J. S.; ZIJDERVELD, F. G.; DE LEEUW, P. W. Clinical and microbiological field studies in the Netherlands of diarrhea in pigs at weaning. **Research in Veterinary Science**, London, v. 55, p. 700-707, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine:** nutrient requirements tables. 10. ed. rev. Washington, D. C.: National Academy 1998. p. 110-123.

NEMCOVÁ, R.; BOMBA, A.; GANCARCIKOVÁ, S.; HERICH, R.; GUBA, P. Study of the effect of *Lactobacillus paracasei* and fructo-oligosaccharides on the faecal microflora in weaning piglets. **Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v. 112, p. 225-228, 1999.

NEWMAN, K. E. Effect of mannan oligosaccharide on the microflora and immunoglobulin status of sows and piglet performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 189, 2001. Supplement, 1.

OMETO, J. C. **Bioclimatologia vegetal**. São Paulo: CERES, 1981. 425 p.

OZAWA, K.; YABU-UCHI, K.; YAMANAKA, K. Effect of *Straptococcus faecalis* BIO-4R on intestinal flora of weaning piglets and calves. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v. 45, n. 5, p. 1513, 1983.

OZAWA, K.; YOKOTA, H.; KIMURA, M.; MITSUOKA, T. Effects of administration of *Bacillus subtilis* strain BN on intestinal flora of weaning piglets. **Japan Journal Veterinary Science**, Tokyo, v. 43, n. 5, p. 771-775, 1981.

PASSOS, JR. H. S. Nutrição e meio ambiente para leitões em sistema de produção com desmame precoce segregado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 8., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: ABRAVES, 1997. p. 41-54.

PERDOK, I. H. Substituto dos antibióticos: uma análise das tendências mundiais. In: SEMINÁRIO TOP PIGS, 1., 2000, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2000. p. 45-54.

RADESCKI, S. V.; YOKOYAMA, M. T. Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In: MILLER, E. R.; ULLREY, D. E.; LEWIS, A. (Ed.). **Swine nutrition**. [S.l.]: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 439-447.

RIOPÉREZ, J.; SÁNCHEZ, C. P.; CANTAÑO, M. Estudio histopatológico Del ileon de lechones precozmente destetados dependiente Del cereal utilizado em su alimentacion. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 40, n. 150, p. 261-271, 1991.

ROBERFROID, M. B. Probiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. **British Journal of Nutrition**, Edinburgh, v. 80, p. 197-202, 1998. Supplement, 2.

ROBINSON, I. M.; ALLISON, M. J.; BUCKLIN, J. A. Characterization of the cecal bacteria of normal pigs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 41, n. 4, p. 950-955, 1981.

ROSELL, V. Acidification and probiotics in spanish pig and calf rearing. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman e Hall, 1992. p. 176-180.

ROSTAGNO, H. S. **Tabela brasileira para aves e suínos**. Viçosa: UFV, 2000. 141 p.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive effects of toyocerin. 1 Piglet feeding. **Landwirtschaftliche Forschung**, Frankfurt, V. 41, n. 1/2, p. 58-62, 1988.

SAEG – Sistemas para análises estatísticas. versão 5.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1993.

SANDERS, M. E.; MORELLI, L.; TOMPKINS, T. A. Sporeforms as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** – Institute of Food Technologists. v. 2, p. 101-110, 2003.

SANTOS, M. S. **Probiótico à base de Lactobacilos para leitões na fase de aleitamento e de creche**. 1998. 76 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SANTOS, W. G. **Manose na alimentação de leitões na fase de creche (Desempenho, parâmetros fisiológicos e microbiológicos)**. 2002. 66 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAVAGE, D. C. Factors of influencing biocontrol of bacterial pathogens in the intestine. **Food Technology**, Chicago, v. 41, n. 7/8, p. 82-87, July/Aug. 1987.

SAVAGE, T. F.; COTTER, P. F.; ZAKRZEWSKA, E. I. The effect of feeding a mannan oligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG and bile IgG of Wrolstad MW male turkeys. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, p. 43-145, 1996. Supplement, 1.

SISSONS, J. W. Potencial of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals – a review. **Journal Science Food Agriculture**, London, v. 49, n. 1, p. 1-13, Jan. 1989.

SPRIET, S. M.; DECUYPERE, J. A.; HENDERICKX, H. K. Effect of *Bacillus toyoi* (Toyocerin) on the gastrointestinal microflora, concentration of some bacterial metabolites, digestibility of the nutrients and the small intestinal mean retention time in pigs. **Mededelingen van de Faculteit van de Landbouwkunde van de Rijksuniversiteit te Gent**, Gent, v. 52, p. 1673, 1987.

SPRING, P. The effect of dietary Mannan oligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *Salmonella* – challenged broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 2, p. 205-211, Feb. 2000.

SPRING, P.; PIRVULESCU, M. Mannanligosaccharides: Its logical role as natural feed additive for piglets. In: ANNUAL SYMPOSIUM BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 13., 1998, Norttingham. **Proceedings...** Norttingham: University of Norttingham, 1998. p. 553.

STUTZ, M. W.; JOHNSON, S. L.; JUDITH, F. R. Effects of the diet and bacitracin on growth feed efficiency, and population of *Clostridium perfringens* in the intestine of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, n. 8, p. 1619-1625, Aug. 1983.

TARDIN, A. C. Fisiologia digestiva e nutrição no desmame precoce de leitões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2., 1985, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: UFRJ, 1985. p. 33-35.

TEREDA, A.; HARA, H.; LI, T. S. Effect of a microbial preparation on fecal flora and fecal metabolic products of pigs. **Animal Science Technology**, Tokyo, v. 65, n. 9, p. 806-814, Sept. 1994.

TOURNUT, J. Probiotics: guidelines for evaluating efficacy and objectives. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 13., 1994, Bangkok. **Proceeding...** Bangkok, 1994. p. 26-30.

TRINDADE NETO, M. A. Y.; LIMA, J. A. F.; BERTECHINI, A. G. et al. Dietas e nível protéico para leitões desmamados aos 28 dias de idade – fase inicial. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 92-99, jan./fev. 1994.

VANBELLE, M.; TELLER, C.; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 40, n. 7, p. 543-670, July 1990.

VASSALO, M.; FIALHO, E. T.; OLIVEIRA, A. I. G.; TEIXEIRA, A. S.; BERTECHINI, A. G. Suplementação de probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg (Desempenho e Metabolismo). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 1995. p. 522-523.

ZANGERÔNIMO, M. G. **Redução do nível de proteína bruta da ração com suplementação de aminoácidos sintéticos para leitões na fase inicial.** 2004. 53 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ANEXOS

ANEXO A	EXPERIMENTO I	Pág.
TABELA 1A.	Temperatura média, mínima, máxima, umidade relativa do ar e desvio padrão durante o período do Experimento I.	58
TABELA 2A.	Análise de variância para ganho de peso médio diário (GPMD) de leitões na fase de creche.	58
TABELA 3A.	Análise de variância para consumo de ração médio diário (CRMD) de leitões na fase de creche.	58
TABELA 4A.	Análise de variância para conversão alimentar (CA) de leitões na fase de creche.	59

TABELA 1A. Temperatura média, mínima, máxima, umidade relativa do ar e desvio padrão durante o período do Experimento I.

Período	TEMPERATURA			UMIDADE RELATIVA
	Máxima	Mínima	Média	
25/10/2002 a 30/11/2002	29,24 ± 2,92	17,84 ± 1,79	22,51 ± 1,88	70,9 ± 9,8
06/02/2003 a 12/03/2003	30,10 ± 2,61	18,46 ± 0,92	23,84 ± 1,78	70,4 ± 12,9

TABELA 2A. Análise de variância para ganho de peso médio diário (GPMD) de leitões na fase de creche.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	3	0,832451	0,277483	0,2724
Bloco	5	0,218218	0,436435	0,1021
Erro	15	0,290405	0,193603	
CV% = 13,175				

TABELA 3A. Análise de variância para consumo de ração médio diário (CRMD) de leitões na fase de creche.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	3	0,221609	0,738699	0,1593
Bloco	5	0,477618	0,955237	0,0717
Erro	15	0,557725	0,371816	
CV% = 10,068				

TABELA 4A. Análise de variância para conversão alimentar (CA) de leitões na fase de creche.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	3	0,164388	0,547962	0,1429
Bloco	5	0,122605	0,245210	
Erro	15	0,391085	0,260723	
CV% = 8,834				

ANEXO B	EXPERIMENTO II	Pág.
TABELA 1B.	Temperatura média, mínima, máxima, umidade relativa do ar e desvio padrão durante o período do Experimento II.	61
TABELA 2B.	Análise de variância para altura das vilosidades do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame.	61
TABELA 3B.	Análise de variância para altura das vilosidades do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame.	61
TABELA 4B.	Análise de variância para profundidade das criptas do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame.	62
TABELA 5B.	Análise de variância para profundidade das criptas do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame.	62
TABELA 6B.	Análise de variância para relação vilosidade:cripta do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame.	62
TABELA 7B.	Análise de variância para relação vilosidade:cripta do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame.	63
TABELA 8B.	Análise de variância para pH do conteúdo do estômago de leitões em diferentes idades após o desmame.	63
TABELA 9B.	Análise de variância para pH do conteúdo cecal de leitões em diferentes idades após o desmame.	63

TABELA 1B. Temperatura média, mínima, máxima, umidade relativa do ar e desvio padrão durante o período do Experimento II.

Período	TEMPERATURA			UMIDADE RELATIVA
	Máxima	Mínima	Média	
20/03/2003 26/03/2003	a 27,22 ± 1,58	17,77 ± 0,59	21,38 ± 0,59	80,00 ± 5,5
27/03/2003 02/04/2003	a 27,77 ± 2,86	16,90 ± 1,20	21,40 ± 1,20	69,40 ± 10,54

TABELA 2B. Análise de variância para altura das vilosidades do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	46621,87	11655,47	0,22338
Bloco	3	25064,93	8354,976	0,36932
Idade	1	0,390672	0,390672	
T X I	4	19064,52	4766,129	
Erro	27	206544,9	7649,810	
CV% = 23,45				

TABELA 3B. Análise de variância para altura das vilosidades do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	10559,73	2639,933	
Bloco	3	9979,131	3326,377	
Idade	1	6571,226	6571,226	0,2478
T X I	4	4993,220	1248,305	
Erro	27	127162,3	4709,713	
CV% = 22,42				

TABELA 4B. Análise de variância para profundidade das criptas do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	11045,78	2761,446	0,1696
Bloco	3	818,0361	272,6787	
Idade	1	30154,60	30154,60	0,0002
T X I	4	4154,637	1038,659	
Erro	27	42774,32	1584,234	
CV% = 8,06				

TABELA 5B. Análise de variância para profundidade das criptas do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	6178,525	1544,631	0,3578
Bloco	3	10970,59	3656,862	0,0651
Idade	1	1362,953	1362,953	0,3243
T X I	4	9936,812	2484,203	0,1507
Erro	27	36508,02	1352,149	
CV% = 10,26				

TABELA 6B. Análise de variância para relação vilosidade:cripta do duodeno de leitões em diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	0,288617	0,721543	0,2180
Bloco	3	0,101562	0,338541	
Idade	1	0,100756	0,100756	0,1536
T X I	4	0,106075	0,265189	
Erro	27	1,262582	0,467623	
CV% = 28,16				

TABELA 7B. Análise de variância para relação vilosidade:cripta do jejuno de leitões em diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	0,174748	0,436870	
Bloco	3	0,177176	0,590586	0,2931
Idade	1	0,819702	0,819702	0,1895
T X I	4	0,113615	0,284039	
Erro	27	1,221956	0,452576	
CV% = 24,53				

TABELA 8B. Análise de variância para pH do conteúdo do estômago de leitões com diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	1,674985	0,418746	0,0227
Bloco	3	0,349140	0,116380	
Idade	1	0,841000	0,841000	0,0146
T X I	4	0,469475	0,117368	
Erro	27	3,337960	0,123628	
CV% = 7,794				

TABELA 9B. Análise de variância para pH cecal de leitões com diferentes idades após o desmame.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Tratamento	4	0,175265	0,438162	0,3327
Bloco	3	0,708500	0,236167	
Idade	1	0,489999	0,489999	0,2564
T X I	4	0,437225	0,109306	*
Erro	27	0,984249	0,364536	
CV% = 3,225				

* (P<0,05)