



ATHOS SILVEIRA MARQUES

**EFEITOS DO *BLEND* DE FARINHA DE COPRA HIDROLISADA E
CENTEIO FERMENTADO NO DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL
DE LEITÕES**

LAVRAS – MG

2021

ATHOS SILVEIRA MARQUES

**EFEITOS DO *BLEND* DE FARINHA DE COPRA HIDROLISADA E
CENTEIO FERMENTADO NO DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL
DE LEITÕES**

Projeto de Dissertação apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Zootecnia, área de
concentração em Nutrição e Produção de
Não Ruminantes, para obtenção do título
de Mestre.

Prof. PhD. Vinícius de Souza Cantarelli

Orientador

Prof. PhD. Rony Antonio Ferreira

Prof. PhD. Márvio Lobão Teixeira de Abreu

Co-orientadores

LAVRAS – MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Marques, Athos Silveira

Efeitos do *blend* de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado no desempenho e saúde intestinal de leitões / Athos Silveira Marques.

Orientador(a): Vinícius de Souza Cantarelli.

Coorientador(a): Márvio Lobão Teixeira Abreu, Rony Antonio Ferreira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Produtos fúngicos. 2. Peso corporal. 3 Ganho de peso diário. I. Cantarelli, Vinícius de Souza. II. Abreu, Márvio Lobão Teixeira de. III. Ferreira, Rony Antonio. IV. Título.

ATHOS SILVEIRA MARQUES

**Efeitos do *Blend* de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado
no desempenho e saúde intestinal de leitões**

Dissertação de mestrado apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, área de concentração em Produção e
Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do
título de mestre.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2021

Dr. Leonardo Batista Costa
Dr. Nikolas de Oliveira
Dr. Rony Antônio Ferreira

Orientador
Dr. Vinícius de Souza Cantarelli

LAVRAS – MG

2021

A minha família por sempre confiar e acreditar em mim e a todos que fizeram parte dessa conquista.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre me guiando em todos os meus passos, me dando força e proteção para nunca desistir dos meus sonhos.

À minha família, base de tudo, especialmente meus pais, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e me incentivando a lutar pelos meus sonhos. Vocês são a minha vida e eu serei eternamente grato pelo esforço que fizeram por mim.

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade concedida.

Ao Departamento de Zootecnia pelo aprendizado.

Ao CNPq, pela concessão de bolsas durante o curso de mestrado.

Ao meu orientador, Professor Vinícius de Souza Cantarelli, pelo meu aprendizado e pela confiança depositada.

Ao Renato Philomeno, por ter proporcionado uma experiência técnica que acrescentou muito no meu desenvolvimento.

Aos meus colegas da graduação, que sempre estiveram do meu lado.

Aos integrantes da república A Marvada, pelo companheirismo e amizade.

Ao grupo ASI, por proporcionar oportunidades, novos conhecimentos e além de tudo o companheirismo na realização desse projeto.

Ao Núcleo de Estudos em Suinocultura (NESUI), pelas experiências compartilhadas, novas amizades e crescimento pessoal proporcionado.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de uma mistura de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado (CF/FC) sobre o desempenho e parâmetros de saúde intestinal de leitões. Foram utilizados no estudo leitões (n=360) machos castrados e fêmeas, com peso corporal inicial de $6,53 \pm 0,004$ kg e 23 dias de idade. Os leitões foram distribuídos em blocos casualizados em 3 tratamentos distintos, oferecidos aos grupos durante 42 dias: CN (dieta controle negativo com óxido de zinco); CP (CN + 120 mg/kg de halquinol em todas as fases) e CF/FC (CN + 2,0 kg / ton de CF/FC nas fases pré-iniciais de 24 a 38 dias e 1,0 kg/ton de CF/FC nas fases iniciais de 39 a 66 dias). Nos dias 0, 4 e 9 do experimento foram coletadas amostras de sangue para avaliação do perfil imunológico (TNF- α e IL-10). Quanto ao desempenho, o estudo evidenciou que, nos períodos de 0 a 8 dias os animais que tiveram a inclusão de CF/FC tiveram maior (P<0,05) consumo de ração diário (CRD) e menor (P<0,05) conversão alimentar (CA) do que o tratamento CN, nos períodos de 9 a 14 e 15 a 28 dias, os tratamentos CP e CF/FC tiveram maior (P <0,05) peso e ganho de peso diário (GPD) em comparação aos suínos submetidos ao tratamento CN. Entre os tratamentos avaliados, não houve diferenças significativas para as demais variáveis de desempenho no período total do experimento. O tratamento CF/FC teve menor (P<0,05) concentração de TNF- α no quarto dia do experimento. Conclui-se que a inclusão do blend de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado melhora o GPD e o PC dos leitões até os 28 dias de creche e, se iguala com o tratamento com antibiótico. Este blend também diminui a resposta pró-inflamatória pois reduz a concentração sérica de TNF- α .

Palavras-chave: Centeio Fermentado; Copra Hidrolisada; Sistema Imune; Suínos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of a mixture of hydrolyzed copra flour and fermented rye (CF/FC) on the performance and parameters of gut health of piglets. In the study, were used castrated males and females' piglets (n = 360), with an initial body weight of 6.53 ± 0.004 kg and 23 days of age. Piglets were distributed in randomized blocks in 3 different treatments, offered to the groups for 42 days: CN (negative control diet with zinc oxide); CP (CN + 120 mg / kg of halquinol in all phases) and CF / FC (CN + 2.0 kg / ton of CF / FC in the pre-initial phases of 24 to 38 days and 1.0 kg / ton of CF / FC in the early stages of 39 to 66 days). On days 0, 4 and 9 of the experiment, blood samples were collected to assess the immunological profile (TNF- α and IL-10). As for performance, the study showed that, in periods from 0 to 8 days, the animals that had the inclusion of FC/FC had higher (P<0.05) daily feed intake (ADFI) and lower (P<0.05) feed conversion ratio (FCR) than the CN treatment, in the periods from 9 to 14 and 15 to 28 days, the CP and CF/FC treatments had greater (P <0.05) body weight (BW) and average daily gain (ADG) in compared to animals submitted to CN treatment. Among the treatments evaluated, there were no significant differences for the other performance variables in the total period of the experiment. The CF/FC treatment had a lower (P <0.05) concentration of TNF- α on the fourth day of the experiment. It is concluded that the inclusion of a blend of hydrolyzed copra flour and fermented rye improves the ADG and BW of the piglets up to 28 days of nursery and is equal to the antibiotic treatment. This blend also reduces the pro-inflammatory response as it reduces the serum concentration of TNF- α .

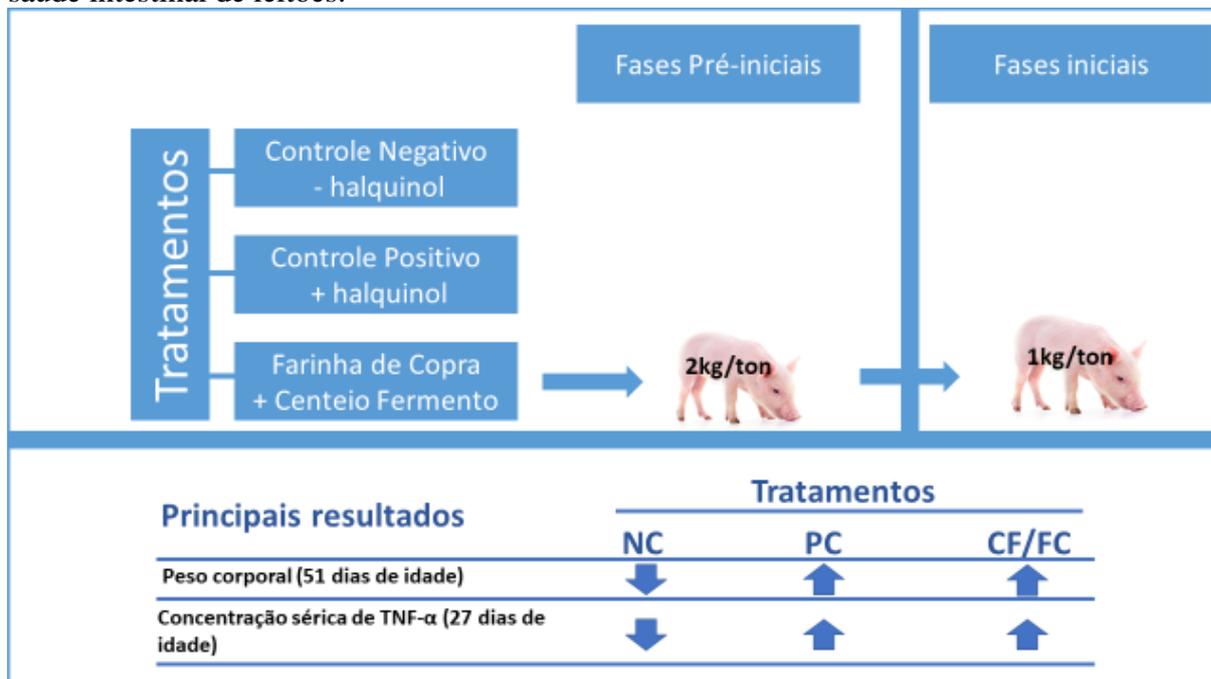
Keywords: Hydrolyzed Copra; Imune System; Rye fermentation; Swine.

EFEITOS DO BLEND DE FARINHA DE COPRA HIDROLISADA E CENTEIO FERMENTADO NO DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE LEITÕES.

Elaborado por **Athos Silveira Marques** e orientado por **Vinícius de Souza Cantarelli**

O pós-desmame é um período estressante para os leitões, pode acarretar diversos danos à saúde intestinal e bem-estar, afetando o desenvolvimento geral e, conseqüentemente, os ganhos econômicos. A solução mais utilizada para sanar esse problema era a utilização de antibióticos, mas devido à restrição, cada vez maior, do uso deles na produção suinícola, a utilização de aditivos é uma opção comumente empregada para amenizar os impactos do pós-desmame, como é o caso da farinha de copra hidrolisada e do centeio fermentado, que contém mananobiose e beta-glucanos que auxiliam a manutenção da microbiota intestinal suína e melhoram o desenvolvimento fisiológico e imunológico no período de creche. Dessa forma, foi avaliado o efeito da Farinha de Copra (FC) hidrolisada associada ao Centeio Fermentado (CF) em substituição do halquinol sobre o desempenho e os parâmetros de saúde intestinal de leitões em três tratamentos: T1) dieta controle sem inclusão de CF / FC hidrolisada e antibiótico; T2) dieta controle negativo com inclusão de halquinol (120 ppm em todas as fases); T3) ração com inclusão de CF/FC (2,0 Kg/tonelada nas fases pré-inicial I e II e 1,0 Kg/tonelada nas fases inicial I e II). Todas as dietas (T1, T2, T3) receberam inclusão de óxido de zinco em suas fases (pré-inicial I 3,438 Kg/ton, pré-inicial II 2,500 Kg/ton, inicial I e II 1,500 Kg/ton). Os resultados obtidos demonstraram que a inclusão de CF/FC é capaz de aumentar o ganho diário e o peso corporal dos leitões desmamados até os 28 dias de creche, além de reduzir a resposta inflamatória com redução da concentração de TNF- α .

Figura 1. Efeitos da farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado no desempenho e saúde intestinal de leitões.



Dissertação de mestrado em Zootecnia na UFPA, defendida em 26 de fevereiro de 2021.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamentos experimentais	39
Tabela 1 - Componentes contidos no centeio fermentado e farinha de copra hidrolisada	39
Tabela 2 - Rações experimentais da fase pré-inicial I, 0 a 7 dias de creche	40
Tabela 3 - Rações experimentais da fase pré-inicial II, 8 a 14 dias de creche	41
Tabela 4 - Rações experimentais da fase inicial I, 15 a 28 dias de creche	42
Tabela 5 - Rações experimentais da fase inicial II, 28 a 42 dias de creche	43
Tabela 6 - Efeito das dietas experimentais sobre peso corporal (PC), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração diário (CRD), conversão alimentar (CA) em suínos na fase de creche	46
Tabela 7 - Efeito das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia em leitões na fase de creche	47
Tabela 9 - Efeito das dietas experimentais sobre as concentrações de citocinas plasmáticas IL-10 e TNF- α (mg/ml) em leitões na fase de creche e nos dias 0, 4 e 9 de coleta	49

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Características do período pós-desmame	12
2.2 Características fisiológicas em leitões recém desmamados.....	13
2.2.1 Sistema imunológico	13
2.2.2 Barreira e morfometria intestinal	15
2.2.3 Microbiota	17
2. 3 Farinha de Copra (FC) hidrolisada	19
2. 4 Centeio Fermentado (CF)	21
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	22

REFERÊNCIAS	23
--------------------------	-----------

SEGUNDA PARTE	33
----------------------------	-----------

ARTIGO	33
---------------------	-----------

RESUMO.....	34
--------------------	-----------

ABSTRACT	35
-----------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO	36
---------------------------	-----------

2 MATERIAL E MÉTODOS	38
-----------------------------------	-----------

2. 1 Comissão de Ética no Uso de Animais	38
--	----

2.2 Local.....	38
----------------	----

2. 3 Animais e instalações.....	38
---------------------------------	----

2. 4 Delineamento experimental	38
--------------------------------------	----

2. 5 Tratamentos e Dietas.....	38
--------------------------------	----

2. 6 Procedimentos experimentais	43
--	----

2. 6. 1 Desempenho e incidência de diarreia.....	44
--	----

2.6.2 Análise imunológica: quantificação de citocinas no soro.....	44
--	----

2.6.3 Análise estatística.....	45
--------------------------------	----

3. RESULTADOS	46
----------------------------	-----------

3. 1 Desempenho dos leitões	46
-----------------------------------	----

3. 2 Incidência de diarreia.....	47
----------------------------------	----

4 DISCUSSÃO	49
5 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS	52

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A utilização de antibióticos é uma prática comumente utilizada na suinocultura, com a finalidade de tentar garantir o padrão de saúde dos animais e, conseqüentemente, os índices produtivos. Os antibióticos são utilizados como medida profilática e como melhoradores do desempenho, devido às condições sanitárias e ambientais nas quais os animais se encontram.

No entanto, a utilização de antibióticos é vista como causa do aumento da seleção de bactérias patogênicas resistentes, o que reforça a restrição do seu uso na nutrição e produção de suínos como uma tendência crescente.

Entre as novas estratégias voltadas a promover melhora na produção suinocultora estão as tecnologias alternativas, capazes de manter o equilíbrio da microbiota sem causar prejuízos à saúde e resistência de bactérias patogênicas.

Nesse contexto, o uso de prebióticos destaca-se como uma boa estratégia. Os prebióticos amenizam a possibilidade de doenças no hospedeiro, pois reduzem a capacidade de estabelecimento de microrganismos patogênicos no trato digestório dos animais.

A Farinha de Copra (FC) hidrolisada e o Centeio Fermentado (CF) são estudados como alternativas com diversos benefícios e características prebióticas, uma vez que apresentam componentes bioativos como galactomananos e beta-glucanos, respectivamente. O galactomanano é capaz de reduzir infecção subclínica de alguns patógenos em suínos, enquanto os beta-glucanos estimulam a proliferação de linfócitos, células do sistema imune que combatem microrganismos patogênicos.

Sendo assim, tanto a FC hidrolisada quanto o CF apresentam potencial como moduladores naturais do sistema imune e da microbiota intestinal, devido aos aspectos químicos e físicos presentes em suas estruturas. Entretanto, entre os estudos disponíveis ao tema, há pouco consenso acerca de seus efeitos na saúde intestinal de leitões. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da combinação da FC hidrolisada ao CF sobre o desempenho e parâmetros de saúde intestinal de leitões no período de creche.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características do período pós-desmame

O desmame é um processo natural, contudo, a suinocultura o realiza normalmente de forma precoce se comparado ao período natural, quando os animais atingem em torno de 21-28 dias de idade e cerca de 7 quilos, sendo reconhecido como um processo estressante para o animal (ABCS, 2014).

Ao serem submetidos a separação materna, os leitões são transferidos para a creche, local onde passam por diversas mudanças como transporte, alimentação, condições sociais e alojamento. Esses fatores, aliados a um sistema imune e digestivo pouco desenvolvido, provocam impactos negativos como a queda no consumo de alimentos, alterações da integridade intestinal e aumento na susceptibilidade às doenças, o que implica em um menor desempenho (GRESSE *et al.*, 2017; XIONG, 2019).

O desmame precoce é um período crítico que afeta o desenvolvimento do leitão, que precisa encontrar respaldo para seu crescimento, pois as enzimas digestivas são insuficientes, assim como a capacidade de absorção nutricional. Os animais possuem, nessa fase, uma baixa capacidade de ingestão de ração e, com a criticidade do período, somente a partir da fase de terminação o crescimento dos suínos deixa de lidar com fatores limitantes. A imaturidade fisiológica, interfere na imunidade passiva, afetando o desempenho e a saúde destes animais, tornando o leitão mais susceptível a ocorrência de diarreia (CAMPBELL *et al.*, 2013; DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017; MOESER *et al.*, 2017).

Todos estes efeitos decorrentes do desmame associados a mudança na dieta, provocam uma série de modificações gastrointestinais nos leitões, maturação lenta da mucosa intestinal, alterações na profundidade das criptas no intestino delgado e de natureza enzimática (MORÉS; MORAES, 2001; GRESSE *et al.*, 2017). Durante o desenvolvimento dos leitões, podem ocorrer alterações no metabolismo de aminoácidos, capazes de afetar a síntese proteica e agir em sinergia aos outros fatores do pós-desmame resultando em má-digestão, absorção de nutrientes e, como resultado, menor desempenho animal (MONTAGNE *et al.*, 2007; WAITITU *et al.*, 2016).

É importante ressaltar que alterações intestinais nos suínos durante o pós-desmame propiciam o acúmulo de substrato fermentável, e proporcionam um ambiente favorável para a multiplicação de bactérias patogênicas e enterotoxigênicas causadoras de diarreia (SILVA, 2009).

A síndrome da diarreia pós-desmame acarreta perdas econômicas significativas, com risco de mortalidade e atraso no desenvolvimento dos animais, que conseqüentemente elevam o número de perdas de animais e de gastos com medicamentos (LIMA, 2009).

Para minimizar os efeitos da síndrome diarreica, as intervenções dietéticas podem auxiliar na redução dos prejuízos, contudo, para que isso ocorra, é necessário compreender melhor como esses estressores do período pós desmame moldam a função epitelial, imune e de barreira intestinal a longo prazo, e assim descobrir novos alvos e (ou) intervenções de manejo para promover o desenvolvimento ideal e a saúde intestinal a longo prazo dos animais.

Ademais, com a proibição de alguns antibióticos promotores de crescimento, torna-se significativo o desenvolvimento de novas tecnologias capazes de mitigar estes efeitos adversos resultantes desta fase, que provocam *déficit* nutricional. Neste sentido, aditivos vêm sendo estudados para promover uma melhora na saúde e no desempenho dos animais.

2.2 Características fisiológicas em leitões recém desmamados

2.2.1 Sistema imunológico

Durante a gestação, em decorrência da placenta epitélio-corial, não é possível a passagem de macromoléculas, como as imunoglobulinas, dessa maneira os leitões nascem com o sistema imune imaturo, necessitando da ingestão do colostro, já que durante as primeiras horas após o nascimento as barreiras físicas intestinais ainda estão permeáveis e permitem a absorção de macromoléculas (SALMON *et al.*, 2009). Após a mamada de colostro, o leite continua sendo fonte de imunoglobulinas, porém o intestino delgado dos leitões passa por alterações e a capacidade de absorção das mesmas é reduzida, até que os leitões passem pelo desmame onde as Imunoglobulinas: IgM, IgG, IgA e IgE, são produzidas pelo sistema adaptativo. No entanto, a IgA secretada na mucosa entérica é o principal anticorpo do intestino, capaz de impedir a aderência de microrganismos indesejáveis à superfície dos enterócitos (MORAIS; NETO, 2003).

O sistema imune é responsável por elaborar respostas imunológicas, e pode ser classificado em duas categorias: imunidade inata e adquirida (LIPPOLIS, 2014). O sistema imune inato é a primeira linha de defesa do corpo, esta imunidade está presente assim que o animal nasce. O desmame prematuro ocorre em uma fase do desenvolvimento dos suínos em que o seu sistema imune adquirido está em formação e fortalecimento, assim, somado às

mudanças de alimentação, condições sociais e alojamento, a prática gera um representativo estresse que resulta em comum Resposta Inflamatória (DC) e vulnerabilidade (TIZARD, 2009).

No sistema imune inato as células efectoras realizam a fagocitose, onde são liberados mediadores do processo inflamatório, então se inicia o processo de produção de citocinas e quimiocinas, estes mecanismos de defesa são ativados por meio de antígenos como, por exemplo, microrganismos, lipossacarídeos entre outros, que apresentam Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs). Os PAMPs são reconhecidos pelos Receptores de reconhecimento de Padrões (RRP), ativando então a resposta imune inata, este tipo de interação ocorre também ao se tratar de antígeno/anticorpo e Antígeno/Receptor de Linfócitos T (TCR) (MOWAT, 2003).

Assim que ocorre o reconhecimento, inicia-se a fagocitose, um processo em que o antígeno é englobado pela célula de defesa, formando um fagossomo ao se unir a lisossomos, com o objetivo de eliminar o patógeno (CRUVINEL *et al.*, 2010).

Quando as defesas do sistema imune inato não são capazes de suprimir os agentes invasores, ocorre o desencadeamento da imunidade adquirida. Essa imunidade é capaz de detectar antígenos, através do reconhecimento de receptores expressos na superfície das células. A imunidade adquirida pode ser uma resposta humoral mediada por linfócitos B e, sendo dessa maneira, ao ser gerada uma resposta, ou observa-se a produção de anticorpos pelos Linfócitos B desencadeada por microrganismos extracelular, ou uma resposta imune celular mediada por Linfócitos T (LT), desencadeada por agentes intracelulares (ERF, 2004; TIZARD, 2009).

Esta resposta tem como características principais gerar memória e ser altamente específica, como as DC, que apresentam fragmentos proteicos de antígenos *Major Histocompatibility Complex* (MHC) aos $LT\alpha\beta$ ou antígenos lipídicos que irão estimular $LT\alpha\delta$ e células NK/T (CRUVINEL *et al.*, 2010).

A atividade das DC recebe destaque, uma vez que elas contribuem para gerar memória e são importantes para ativar e determinar qual o tipo de imunidade gerada pelos LT, entretanto durante a inflamação, outra célula importante para a apresentação de antígenos é o macrófago, estes atuam potencializando a ativação dos linfócitos e aumentando a liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL12, TNF- α) e quimiocinas (CRUVINEL *et al.*, 2010).

As células TCD4⁺ promovem a secreção das citocinas chamadas Th1 (I.e, IL-2 e IFN- γ) e Th2 (i.e, IL-4 e IL-10) (CRUVINEL *et al.*, 2010). As citocinas secretadas pelas células T desempenham papéis cruciais na iniciação e manutenção de respostas imunes contra patógenos virais e bacterianos em suínos (CHASE; LUNNEY, 2019).

As citocinas Th1 estão implicadas no desenvolvimento da resposta imune celular e ativação de macrófagos (CHENG *et al.*, 2016). Isso ocorre, de modo mais específico, nas respostas a patógenos intracelulares, como *Salmonella* (BAILEY, 2009). Ao contrário das citocinas Th1, as citocinas Th2 normalmente são ativadas por organismos como helmintos e ectoparasitas (CHASE; LUNNEY, 2019). Um exemplo desses organismos são os nematoides (BAILEY, 2009).

Desta forma, devido à importância dessas citocinas, alguns estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a sua relação com a utilização de probióticos, e foi observado que estes são capazes de modular a produção de citocinas pró-inflamatórias Th1 e aumentar a síntese de IL-10 e TGF- β , que desempenham um papel importante no controle das respostas inflamatórias nos tecidos, com funções anti-inflamatórias (CHE *et al.*, 2019).

Porém, é necessário obter mais informações sobre o local de ação desses múltiplos fatores da rede imunológica. Visto que, diversos fatores irão ocasionar desafios endógenos e exógenos, principalmente quando o leitão passa pelo desmame, nesse período nota-se a baixa ingestão de alimento e reduzido ganho de peso. Esses eventos decorrem da presença da secreção de ácido clorídrico e protease reduzidos que, aliados ao estresse, contribuem para o desenvolvimento de distúrbios intestinais. A principal base desses distúrbios é o estresse oxidativo que, geralmente, está relacionado aos processos inflamatórios (WEI *et al.*, 2017),

Reações adaptativas do organismo diante de fatores que provocam lesões, resultam em diversos eventos em cascata, como: a formação de edema, presença de linfócitos, vasodilatação, maior permeabilidade do epitélio, entre outros (IZCUE; COOMBES; POWRIE, 2006).

No entanto, é de extrema importância que todos estes fatores presentes no sistema imune da mucosa do intestino tenham uma discriminação efetiva entre entero-patógenos, antígenos de alimentos inofensivos ou antígenos de organismos comensais, definindo quais antígenos serão tolerados e quais irão provocar uma resposta. A ocorrência destes fatores, isolados ou combinados, provocam queda transitória na alimentação, reduzindo a absorção de nutrientes e, conseqüentemente, a queda no desempenho (JANSMAN, 2016). A absorção eficiente de nutrientes e a manutenção da homeostase imune são pré-requisitos importantes para um intestino saudável (SCHOKKER *et al.*, 2015).

2.2.2 Barreira e morfometria intestinal

Um intestino saudável é composto por diversas características, onde se destaca o epitélio intestinal: composto por várias células de inúmeras funções, o intestino barra seletivamente

patógenos e diversos antígenos (CHEN *et al.*, 2013). Um exemplo dessas células são os enterócitos, conectados por zônulas de oclusão, que são os principais responsáveis pela permeabilidade seletiva (BRITO, 2016). Outro papel dos enterócitos é a proteção da via sistêmica de microrganismos tóxicos, patogênicos ou outras substâncias indesejáveis presentes no lúmen intestinal (NUSRAT *et al.*, 2000).

As vilosidades revestem o epitélio, e têm como função principal o aumento da área de superfície e, conseqüentemente, da capacidade de absorção de nutrientes. O funcionamento do intestino está diretamente relacionado com a qualidade de suas vilosidades (PINHO, 2008). Frente a distúrbios morfológicos como perda e fusão das vilosidades, com a substituição das células colunares característica por cuboides, é possível notar conseqüências que incluem alteração no transporte de eletrólitos e água, desequilíbrio na absorção e redução da secreção de enzimas do epitélio, que prejudicam em sinergia o aproveitamento dos nutrientes. A intensidade dessas alterações é um fator determinante nas infecções intestinais (BUFFIE *et al.*, 2013).

As células da barreira estão em constante e rápida renovação (CEREIJIDO *et al.*, 2000). Este *turnover* celular é um processo dinâmico que envolve a proliferação, migração, diferenciação, apoptose e necrose celular (ZIEGLER *et al.*, 2003).

Em diversas situações a permeabilidade seletiva pode ser afetada por citocinas pró-inflamatórias, que promovem a diminuição da expressão das junções firmes (MADARA; STAFFORD, 1989). É o caso, por exemplo, do TNF- α , que apresenta um papel de degradação da barreira endotelial e epitelial tanto *in vitro* como *in vivo* (WANG, 2005). Estes fatores são agravados em períodos de estresse como o desmame, onde estão presentes diversos ajustes e alterações anatômicas, fisiológicas e imunológicas (PLUSKE *et al.*, 2003).

Desta forma, o estresse compromete a integridade do epitélio e também das vilosidades intestinais, que passam por apoptose e descamação em seu ápice, com resultante atrofia e alteração na altura. Essas alterações provocam a redução na capacidade absorptiva e na eficiência digestiva do intestino delgado, o que pode desencadear quadros de diarreia (PLUSKE *et al.*, 2003).

Além das alterações mencionadas, o desmame ocasiona também redução do consumo de alimento, bem como modificação das funções enzimáticas, secretoras e de absorção. Por esse motivo, são necessários ajustes e alternativas nutricionais para aportar a redução dos efeitos negativos do período.

A dieta consumida por leitões influencia diretamente no índice de renovação epitelial. Esse índice é usualmente maior, por exemplo, entre leitões alimentados com dietas à base de cereais (WIESE *et al.*, 2003).

Outro exemplo é a inclusão de aditivos que contenham mananobiose, como é o caso da FC hidrolisada e do CF, que são capazes de se unir a bactérias patogênicas através de ligação competitiva. Esse composto fornece suporte para a função gastrointestinal, e impede sua colonização - além de apresentar propriedades imunomoduladoras e antimicrobianas (ALLAART *et al.*, 2017).

Desta forma, a dieta é totalmente aliada à saúde intestinal e, com isso, pode ter ação terapêutica, com participação na melhora e desenvolvimento da microbiota intestinal do suíno, com regulação do funcionamento gastrointestinal - o que resulta em melhor crescimento (BRITO *et al.*, 2014).

2.2.3 Microbiota

A microbiota intestinal dos mamíferos apresenta um ecossistema altamente complexo, composto de forma dinâmica e diversa, que se desloca ao longo de todo o Trato Gastrointestinal (TGI), e pode variar ao longo do tempo. Essa microbiota é constituída por uma mistura de protozoários, fungos e, principalmente, bactérias (GABRIEL *et al.* 2006).

Com essa composição, a microbiota intestinal tem funções como fermentação de carboidratos, produção de vitaminas, manutenção das funções normais das vilosidades, regulação de respostas imunológicas e a proteção contra bactérias patogênicas (BUFFIE *et al.*, 2013). Há também funções biológicas que interagem no crescimento como no desenvolvimento do aparelho digestório, e que podem contribuir para a eficiência da utilização dos alimentos - além de exercer um papel vital no metabolismo, na resistência dos patógenos e no desenvolvimento da imunidade (LEE; HASE, 2014; LIANG *et al.*, 2018).

A colonização do intestino é iniciada ainda ao nascimento, a partir da microbiota vaginal materna e apresenta primeiramente bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, como *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Streptococcus spp*, entre outras, sendo moldada pelo consumo do colostro e do leite materno, até se estabilizar (ALUTHGE *et al.*, 2019; LASKOWSKA; JAROSZ, 2019). A presença do ácido láctico fornece vantagens nutricionais para a população de bactérias que colonizam o intestino, construindo um microbioma orientado para o leite (FRESE *et al.*, 2015).

A acidez do estômago estabelece uma barreira protetora contra proliferação de microrganismos patogênicos, gerando um ambiente ácido que favorece a manutenção de microrganismos benéficos como os *Lactobacillus* (UTIYAMA, 2004).

A microbiota do leitão é modulada em função do contato com o meio ambiente e das fezes maternas, e está sujeita à influência de diversos fatores, como desmame, que é acompanhado pela mudança do leite, um alimento altamente digestível, para a ração, que tem uma composição mais complexa e menos digerível e provoca consequências críticas no comportamento e na fisiologia gastrointestinal, ainda imaturo (LALLÈS *et al.*, 2007).

Normalmente, leitões recém-desmamados apresentam um baixo consumo de ração, além de uma baixa eficiência na produção de ácido clorídrico, o que prejudica a redução do pH do estômago e resulta em produção ineficiente de pepsina, com digestão incompleta de proteínas e de carboidratos (LALLÈS *et al.*, 2007).

Esse quadro favorece a proliferação de microrganismos patogênicos no intestino delgado e grosso, como *E. coli*, *Streptococcus* e *Clostridium*, que podem aderir a mucosa intestinal e, durante a fermentação, respondem pela produção de toxinas que danificam o epitélio (MOLLY, 2001).

E. coli, por exemplo, produz enterotoxinas que se ligam nos receptores presentes no epitélio iniciando então reações inflamatórias. Esse processo, unido às lesões de vilosidade, leva ao acúmulo de grande quantidade de líquido e eletrólitos na luz intestinal. Uma vez que o intestino não é capaz de reabsorver esse excesso, o processo culmina na diarreia (VANNUCCI; GUEDES, 2009). Todas essas alterações morfológicas e funcionais levam à redução da função intestinal, como menor atividade enzimática e absorptiva. Portanto, é de suma importância o desenvolvimento de tecnologias capazes de minimizar o desenvolvimento de bactérias patogênicas, diarreias, e favorecer a saúde intestinal desses animais. O uso estratégico de fibras na nutrição é uma alternativa que se enquadra nessa demanda, e que apresenta uso crescente para o desempenho de leitões.

Para que um alimento seja considerado uma fonte satisfatória de fibra, é necessário que apresente entre 2%-3% desse constituinte químico. Em sólidos, 3 g/100 g é uma proporção satisfatória e, em líquidos, 1,5 g/100 ml em sua base integral. Alimentos considerados como de alto teor de fibra devem apresentar o dobro dessa quantidade considerada satisfatória. As fibras dietéticas são carboidratos não digeríveis resistentes à ação enzimática, que colaboram à saúde da microbiota intestinal e para sua mobilidade. Além disso, essas fibras agem de forma bifidogênica, ou seja, estimulam o avanço de bactérias dessa natureza, que retraem a presença de espécies putrefativas. O uso de ingredientes com alto teor de fibras dietéticas na alimentação

de leitões desmamados é apontado como uma forma efetiva de auxiliar na modulação da microbiota intestinal. Isso decorre do fato de que parte da fração fibrosa ingerida permanece disponível para a fermentação no intestino grosso, e produz ácidos graxos de cadeia curta benéficos para a saúde do leitão (BUDIÑO *et al.*, 2015; MEDEIROS *et al.*, 2010; PUPA, 2008).

A FC hidrolisada e o CF apresentam compostos que reduzem a adesão enterotoxinas de microrganismos patogênicos como a *E. coli*, que levam a alteração do balanço eletrolítico do intestino delgado, efeito encontrado também em outros prebióticos ricos em Mananoglucosacarídeos (MOS) (ALLAART *et al.*, 2017).

Os Mananoglucosacarídeos (MOS) se encontram principalmente na parede celular de leveduras, e atuam de forma profilática e terapêutica. Os MOS auxiliam na estimulação da imunidade a nível sistêmico e promovem a melhora da fisiologia intestinal como, por exemplo, no aumento das vilosidades presentes no intestino dos leitões (HALAS; NOCHTA, 2012).

Os β -Glucanos podem ser extraídos de leveduras, fungos e cereais, e a sua atuação no sistema imune vem sendo comprovada, com destaque para a implicação benéfica na modulação imunológica por meio de ligação com receptores da imunidade inata, além de efeitos antimicrobianos reduzindo infecções por *E. coli* e consequentemente melhorando a produtividade dos leitões recém-desmamados (PARK; LEE; KIM 2018).

A viabilidade e efeitos da utilização de prebióticos têm despertado crescente interesse científico, uma vez que a adição desse ingrediente na alimentação animal demonstra ser benéfica, sobretudo no aporte à homeostase da microbiota intestinal (TIAN *et al.*, 2018).

Silva e Nörnberg (2003), apontam que além de estimular o aumento de microrganismos benéficos, os prebióticos promovem modificações positivas no epitélio intestinal que aumentam a sua área de contato e a absorção de nutrientes pela mucosa.

Desta forma, estudos sobre quantidades, combinações e novas fontes de prebióticos são sistematicamente realizados, sendo necessárias mais pesquisas para avaliar ingredientes alternativos e os seus efeitos sobre a microbiota intestinal, sobretudo de suínos.

2. 3 Farinha de Copra (FC) hidrolisada

A FC é um resíduo agroindustrial oriundo da polpa de copra, que se apresenta disponível e com preço acessível no mercado. Seu processamento ocorre com a extração do óleo e a desidratação do resíduo da polpa do coco, contendo $4,60 \pm 0,01/100$ g de proteína e $62,19 \pm 0,53\%$ de fibra. Por não apresentar fatores antinutricionais conhecidos, a FC é utilizada pela indústria de ração (KRAIKAEW; MORAKUL; KEAWSOMPONG, 2020).

Além de ser um alimento fibroso, a FC pode ser um alimento funcional que exerce papel prebiótico (DUARTE *et al.*, 2014). Esta ação decorre dos componentes da parede celular deste alimento (61% de galactomananos, 26% de mananos e 13% de celulose), estudado pela primeira vez por Balasubramaniam (1976). Seu alto teor de fibra insolúvel, principalmente na forma de galactomanano, pode reduzir seu potencial como fonte de proteína e energia, e promover aumento da viscosidade do conteúdo intestinal (KRAIKAEW; MORAKUL; KEAWSOMPONG, 2020).

Com o intuito de melhorar a disponibilidade dos compostos bioativos da parede celular da FC, para que sejam biodisponíveis e possam exercer sua função, é necessário que ocorra um processo de hidrólise ácida, com adição de solução de Ácido Clorídrico (HCL) (THONGSOO *et al.*, 2014). Existe ainda a opção de realizar o processo por mananase, importante para aumentar a disponibilidade e qualidade dos componentes celulares ofertados pela FC na alimentação animal subsequente a bioconversão em açúcares fermentáveis, promovendo também a liberação de oligossacarídeos - um componente alimentar funcional que pode ser utilizado como prebiótico (IBUK *et al.*, 2014; KRAIKAEW; MORAKUL; KEAWSOMPONG, 2020).

Os prebióticos MOS resultam da não digestão de oligossacarídeos e são altamente benéficos, influenciando a microbiota intestinal e estimulando o aumento de microrganismos benéficos. Fernandez *et al.* (2020) concluíram que a suplementação de ração com 20,5% de MOS teria uma influência significativa para aumentar a quantidade de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. e promover a diminuição do grupo *Enterobacteriaceae* no intestino de aves.

Recentemente, a FC hidrolisada por mananase, com 10% de β -1,4-manobiose (MNB) em sua composição, foi relatada como eficaz para melhorar a morfologia intestinal em frangos de corte (IBUKI *et al.*, 2014).

As adesinas de algumas bactérias patogênicas possuem afinidade de ligação a oligossacarídeos indigestíveis (ARIANDI; MERYANDINI, 2015). A D-manose mostrou inibição entre 20% e 60% da adesão de bactérias como *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni* e *Salmonella Typhimurium*. Já o oligossacarídeo β -galactomanano, reduziu a infecção subclínica de *Salmonella* em suínos na fase de terminação (ANDRÉS-BARRANCO *et al.*, 2015).

Ibuki *et al.* (2014) mostraram que a adição de MNB em dietas contendo FC possui efeitos imunomoduladores, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, que reduzem significativamente a expressão de mediadores inflamatórios *in vivo* em suínos. No entanto, estudos adicionais são

necessários para se ter um melhor entendimento dos efeitos dos componentes bioativos da FC na saúde intestinal de suínos, medidos através de parâmetros imunológicos, microbiológicos e morfológicos.

2. 4 Centeio Fermentado (CF)

Alimentos como centeio, aveia e trigo são capazes de impedir a adesão de patógenos como *E. coli* K88 (ETEC K88) ao epitélio intestinal. Entre estes alimentos, o centeio apresenta maior afinidade de ligação com a ETEC K88 (ZHU *et al.*, 2018). Além de ser um alimento funcional, o centeio também pode ser utilizado como substrato para fungos com propriedades imunomoduladoras, como o *Agaricus subrufescens* (WISITRASSAMEEWONG *et al.*, 2012; ZHU *et al.*, 201).

Os produtos derivados da fermentação de *A. subrufescens*, como os β -glucanos, contém diversos componentes que exercem um papel fundamental na saúde intestinal e no controle de bactérias patogênicas (WISITRASSAMEEWONG *et al.*, 2012). Um exemplo dessas bactérias é a *Salmonella* spp (FABÀ *et al.*, 2020). A fermentação do centeio ocorre através da colonização dos grãos pelo *Agaricus* spp. Para que ocorra este processo de fermentação, o centeio inoculado deve ser coberto por uma camada de musgo de turfa e calcário, e mantido em ambiente controlado que favoreça o seu crescimento (NEARING *et al.*, 2016).

Compostos bioativos, como os β -glucanos, podem ser isolados de seus corpos de frutificação ou extraídos diretamente da cultura pura de micélios (WISITRASSAMEEWONG *et al.*, 2012). Lin e Yang (2006) identificaram altas concentrações de β - (1,3) -D-glucano na ponta dos micélios e na área dos septos de *Agaricus* spp.

Diversos estudos demonstraram os efeitos imunomoduladores de diferentes β -glucanos in vitro e in vivo, na saúde intestinal e no equilíbrio da microbiota em suínos (FABÀ *et al.*, 2020). Eles são capazes de modular o sistema imunológico, estimulando a proliferação de linfócitos, melhorando o efeito citotóxico da célula *Natural Killer* (NK) e aumentando a expressão de citocinas (CHEN *et al.*, 2017)

Nesse sentido, rações suplementadas com centeio coberto de micélio de *Agaricus subrufescens* tendem a reduzir o desprendimento de *Salmonella* nas fezes durante a fase ativa da infecção. Com isso, a fermentação a partir de *Agaricus subrufescens* se apresenta como alternativa promissora para o controle desse patógeno na produção de suínos (ALLAART *et al.*, 2017). No entanto, mais estudos são necessários para elucidar os efeitos deste aditivo na saúde e desempenho de animais de produção.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os leitões sofrem com o estresse do desmame, pois são imaturos tanto fisiologicamente quanto imunologicamente, o que os torna suscetíveis aos patógenos a que são expostos, principalmente no ambiente ocasionando, por exemplo, diarreias. Sendo os antibióticos uma opção para amenizar o problema.

Porém, atualmente, existe a tendência de obter novas alternativas ao uso dos antibióticos e a intenção de reduzir uso deles, desta forma, as pesquisas para a validação do uso de novos aditivos são necessárias, já que estes apresentam potencial para minimizar os danos ocasionados pelo desmame.

Como uma alternativa para o diminuir o uso de antibióticos, a FC hidrolizada e o CF já são utilizados em diversos países devido ao seu custo reduzido e sua oferta no mercado, sua utilização e pesquisas apontam seus benefícios aos leitões quando utilizadas corretamente.

Desta forma, a promoção da saúde intestinal e do desenvolvimento imunológico através da dieta trazem diversos benefícios ao produtor, visto que significam a obtenção de melhor desempenho durante o período de creche.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE SUÍNOS. ABCS. **Produção de suínos: teoria e prática**. 1. ed. Brasília: ABCS, 2014.

ALLAAR, J. *et al.* New innovative feeding strategy for reduction of salmonella in swine. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF BIOLOGICAL, CHEMICAL AND PHYSICAL HAZARDS IN PIGS AND PORK*. 12., 201, Foz do Iguaçu. **Anais** [...]. Foz do Iguaçu: Embrapa suínos e aves, 2017. p. 21-24.

ALUTHGE, N. D. *et al.* Boar Invited Review: The pig microbiota and the potential for harnessing the power of the microbiome to improve growth and health. **American Society of Animal Science**, v. 97, n. 9, p. 3741-3757, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/skz208>. Acesso em: 12 dez. 2020.

ARIANDI, Y.; MERYANDINI, A. Enzymatic hydrolysis of copra meal by Mannanase from *Streptomyces* sp. BF3.1 for the production of Mannoooligosaccharides. **Hayati Journal of Bioscience**, v. 22, n. 2, p. 79-86. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4308/hjb.22.2.79>. Acesso em: 2 dez. 2020.

ARIONA, J. M. *et al.* Original article Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age. Effects of level of energy intake. **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, n. 4, p. 339-354, 2002.

BAILEY, M. The mucosal immune system : Recent developments and future directions in the pig. **Developmental and Comparative Immunology Journal**, v. 33, n. 3, p. 375-383, 2009.

BALASUBRAMANIAM, K. Polysaccharides of the kernel of maturing and matured coconuts. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 1370-1373, 1976.

BALASUBRAMANIAN, B.; LEE, S. I.; KIM, I. H. Inclusion of dietary multi-species probiotic on growth performance, nutrient digestibility, meat quality traits, faecal microbiota and diarrhoea score in growing–finishing pigs. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 1, p. 100–106, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1340097>. Acesso em: 20 jan. 2020.

BUDIÑO, F. E. L. *et al.* Desempenho e digestibilidade de leitões alimentados com rações contendo feno de alfafa e frutoligossacarídeo na fase inicial. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, p. 796-810, 2015.

BUFFIE, C.G. *et al.* Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, p. 790-801, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nri3535>. Acesso em: 10 jan. 2020.

BURKEY, T. E.; SKJOLAAS, K. A.; MINTON, J. E. Board-invited review: Porcine mucosal immunity of the gastrointestinal tract. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 4, p. 1493–1501, 2009.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 19, p. 1- 4, 2013.

CAPELOZZI, V. L. Papel da imuno-histoquímica no diagnóstico do câncer de pulmão. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 4, p. 375-382, 2009.

CARATTOLI, A. *et al.* Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. **Euro Surveill**, v. 22, n. 31, p. 30589, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.31.30589>. Acesso em: 30 nov. 2019.

CARVALHO, P. R.; TROTTA, E. D. Advances in sepsis diagnosis and treatment. **Jornal de Pediatria**, v. 79, (Suppl 2), p. S195–S204, 2003.

CASEY, P. G. *et al.* A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella* enterica serovar *Typhimurium*. **Applied Environmental Microbiology**, v.73, n. 6, p. 1858-1863, 2007.

CHASE, C. ; LUNNEY, J. K. Immune System. *In*: ZIMMERMAN, J. J. *et al.* (Ed.). **Diseases of Swine**. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons. 2019. p. 264–291.

CHE, D. *et al.* Eleutheroside B increase tight junction proteins and anti-inflammatory cytokines expression in intestinal porcine jejunum epithelial cells (IPEC-J2). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 103, n. 4, p. 1174-1184, 2019.

CHEN, H. *et al.* Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 10, p. 1837-1848, 2013.

CHEN, W. B. *et al.* Effects of *Armillariella tabescens* mycelia on the growth performance and intestinal immune response and micro flora of early-weaned pigs. **Animal Science Journal**, v. 88, n., p. 1388–1397, 2017.

CHENG, C. *et al.* Supplementing Oregano Essential Oil in a Reduced-Protein Diet Improves Growth Performance and Nutrient Digestibility by Modulating Intestinal Bacteria, Intestinal Morphology, and Antioxidative Capacity of Growing-Finishing Pigs. **Animals**, v. 8, n. 9, p. 159, 2018.

CHENG, Y. H. *et al.* Fermentation products of *Cordyceps militaris* enhance performance and modulate immune response of weaned piglets. **South African Journal of Animal Science**, v. 46, n. 2, p. 0-7, 2016.

COOMBS, R. R. A.; GELL, P. G. H. Classification of allergic reactions responsible for drug hypersensitivity reactions. In: COOMBS, R.R.A.; GELL, P.G.H. (Eds.). **Clinical Aspects of Immunology Coombs**. Philadelphia: Davis, 1968. p. 575-596.

CRUVINEL, W. M. *et al.* Immune system – Part I Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. **The Brazilian Journal of Rheumatology**, v. 50, n. 4, p. 434-447, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>. Acesso em: 20 jan. 2020.

BRITO, J. M. *et al.* Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes - revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 1, p. 3070-3084, 2014.

DEMEO, M. T. *et al.* Intestinal permeation and gastrointestinal disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 34, n. 4, p. 385–396, 2002.

DENG, K.; WONG, C. W.; NOLAN, J. V. Carry-over effects of dietary yeast RNA as a source of nucleotides on lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. **British Poultry Science**, v. 46, n. 6, p. 673–678, 2005.

DENCK, F. M.; HILGEMBERG, J. O.; LEHNEN, C. R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 629-638, 2017.

SILVA, Gefferson Almeida *et al.* Impacto do desmame no comportamento e bem-estar de leitões: revisão de literatura. **Revista Veterinária em Foco**, v. 12, n. 1, p. 33-48, 2014.

DIAO, H. *et al.* Effects of benzoic acid (VevoVital®) on the performance and jejunal digestive physiology in young pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 1–7, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s40104-016-0091-y>. Acesso em: 20 jan. 2020.

DOWARAH, R. *et al.* Effect of swine-based probiotic on growth performance, nutrient utilization and immune status of early-weaned grower-finisher crossbred pigs. **Animal Nutrition and Feed Technology**, v. 16, n. 3, p. 451–461, 2016.

DOWARAH, R. *et al.* Effect of swine based probiotic on performance, diarrhoea scores, intestinal microbiota and gut health of grower-finisher crossbred pigs. **Livestock Science**, v. 195, , p. 74–79, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.006>.

DUARTE, F. K. *et al.* Acta Scientiarum Effect of hydrolyzed copra meal separately or in combination with *Bacillus cereus* var . *toyoi* on growth performance of broiler chickens. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 4, p. 373–377, 2014.

ERF, G. F. Cell-Mediated Immunity in Poultry. **Poultry Science, Champaign**, v. 83, n. 4, p. 580-590, 2004.

FABÀ, L.; RALPH, L.; PETRA ROUBOS, V. D. H. *et al.* Feed additive blends fed to nursery pigs challenged with Salmonella. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 1, p. 1-10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jas/skz382>. Acesso em: 20 jan. 2020.

FRESE, S. A. et al. Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 28, 2015. Disponível em: <http://www.microbiomejournal.com/content/3/1/28>. Acesso em: 20 jan. 2020.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como Avaliar os efeitos do uso de prebióticos , probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DTE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO. 5., 2004. Camburiu, SC. **Anais [...]**. Camburiu, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2004. p. 6-28

GABRIEL, I. *et al.* Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 3, p. 499-511, 2006.

GRESSE, R. *et al.* Gut Microbiota dysbiosis in postweaning piglets : understanding the keys to health. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 10, p. 851-873, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.004>. Acesso em: 20 jan. 2020.

GUEDES, R. M. C; GEBHART, C. J. Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against *Lawsonia intracellularis*. **Journal of Veterinary Diagnostic**, v. 15, n. 5, p. 438-446, 2003.

HALAS, V. *et al.* Mannan oligosaccharides in nursery pig nutrition and their potential mode of action. **Animals (Basel)**, v. 2, n. 2, p. 261-274, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ani2020261>. Acesso em: 2 fev. 2020.

HEDEMANN, M. S.; JENSEN, S. K. The activity of lipolytic enzymes is low around the weaning – measurements in pancreatic tissue and small intestine contents. In: LINDBERG, J. E.; OGLE, B (Eds). **Digestive Physiology of pigs**. Wallingford, UK; CABI Publishing, 2001. p. 28-30.

HOOPER, L. V.; MACPHERSON, A. J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 3, p. 159–169, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nri2710>. Acesso em: 3 fev. 2020.

HUANG, Z. *et al.* Beneficial effects of novel hydrolysates produced by limited enzymatic broken rice on the gut microbiota and intestinal morphology in weaned piglets. **Journal of Functional Foods**, v. 62, p. 103560, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103560>. Acesso em: 3 fev. 2020.

IBUKI, M.; FUKUI, K.; YAMAUCHI, K. Effect of dietary mannanase-hydrolysed copra meal on growth performance and intestinal histology in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, p. 636–642, 2014.

IBUKI, M. *et al.* Anti-Inflammatory effects of mannanase-hydrolyzed copra meal in a porcine model of colitis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 5, p. 645-651, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0424>. Acesso em: 10 dez. 2020.

IZCUE, A.; COOMBES, J. L.; POWRIE, F. 2 Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation. **Immunological Reviews**, v. 212, p. 256-271, 2006. Disponível em: [10.1111/j.0105-2896.2006.00423.x](https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2006.00423.x). Acesso em: 3 mar. 2020.

JANSMAN, A. J. M. Health and functions of the gastrointestinal tract in pigs: Effects of functional ingredients and feed and ingredient processing. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 7, p. 12-21, 2016.

JOYSOWAL, M. *et al.* Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* FT28 on growth performance, nutrient digestibility, health status, meat quality, and intestinal morphology in growing pigs. **Veterinary World**, v. 11, n. 12, p. 1669–1676, 2018.

KELLEY, D.; COUTTS, A. G. Early nutrition and the development of immune function in the neonate. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 59, n. 2, p. 177-185, 2000.

KIL, D. Y.; STEIN, H. H. Board Invited Review: Management and feeding strategies to ameliorate the impact of removing antibiotic growth promoters from diets fed to weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 90, n. 4, p. 447–460, 2010. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.4141/cjas10028>. Acesso em: 3 fev. 2020.

KOVACS-NOLAN, J. *et al.* β -1, 4-Mannobiose Stimulates Innate Immune Responses and Induces TLR4-Dependent Activation of Mouse Macrophages but Reduces Severity of Inflammation during Endotoxemia in Mice **The Journal of Nutrition** **Nutritional Immunology**, v. 143, n. 3, p. 384–391, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/jn.112.167866>. Acesso em: 2 fev. 2020.

KRAIKAEW, J.; MORAKUL, S.; KEAWSOMPONG, S. Melhoria nutricional da farinha de copra usando mananase e *Saccharomyces cerevisiae*. **3 Biotech**, v. 10, p. 274 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02271-9>. Acesso em: 2 fev. 2020.

LALLÈS, J. P. *et al.* Nutritional management of gut health in pigs around weaning. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n. 2, 260–268, 2007.

LAN, R. X.; LI, T. S.; KIM, I. H. Effects of essential oils supplementation in different nutrient densities on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and fecal microbial shedding in weaning pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 214, p. 77-85, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.011>. Acesso em: 12 dez. 2020.

LANGEMEIER, A. *et al.* Effects of a Combination of Essential Oils (Victus LIV), Increased Zinc Oxide and Copper Sulfate, or Their Combination in Nursery Diets on Pig Performance. **Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports**, v. 3, n. 7, p. 27-37, 2017.

LASKOWSKA, E.; JAROSZ, Ł. Effect of Multi-Microbial Probiotic Formulation Bokashi on Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines Profile in the Serum , Colostrum and Milk of Sows , and in a Culture of Polymorphonuclear Cells Isolated from Colostrum. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, n. 11, p. 220-232, 2019.

LAZAR, V. et al. Aspects of gut microbiota and immune system interactions in infectious diseases, immunopathology, and cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1830, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01830>. Acesso em: 3 jul. 2020.

LEE, W. J.; HASE, K. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. **Nature Chemical Biology**, v. 10, n. 6, p. 416–424, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nchembio.1535>. Acesso em: 4 jul. 2020.

LI, NING-YA *et al.* Impact of Maternal Selenium Supplementation from Late Gestation and Lactation on Piglet Immune Function. **Biological Trace Element Research**, v., 194, n. 1, p. 159-167, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01754-y>. Acesso em: 2 set. 2020.

LI, X.; AKHTAR, S.; CHOUDHRY, M. A. Alteration in intestine tight junction protein phosphorylation and apoptosis is associated with increase in IL-18 levels following alcohol intoxication and burn injury. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1822, n. 2, p. 196–203, 2012.

LIANG, H. *et al.* Dietary L-Tryptophan Modulates the Structural and Functional Composition of the Intestinal Microbiome in Weaned Piglets. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1-12, 2018.

LIMA, J. G. M. M.; MORÉS, N.; SANCHES, R. L. As diarreias nutricionais na suinocultura Nutritional diarrheas in pig production. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, (Supl 1), p. 17-30, 2009. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/actavet/37-suple-1/suinos-03.pdf>. Acesso em: 2 set. 2020.

LIN, J. H.; YANG, S. S. Mycelium and polysaccharide production of *Agaricus blazei* Murrill by submerged fermentation. **Journal Microbiol Immunol**, v. 39, n. 2, p. 98-108, 2006.

LIPPOLIS, J. D. Immunological signaling networks: integrating the body's immune response. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 14 (Suppl), p. 53-63, 2008.

LUNA, L.G. **Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3ª Ed., New York. NY: McGraw-Hill Press, 1968.

MADARA, J. L.; STAFFORD, J. Interferon- γ directly affects barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. **Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 2, p. 724–727, 1989.

MASSACCI, R. F. *et al.* Late weaning is associated with increased microbial diversity and *Faecalibacterium prausnitzii* abundance in the fecal microbiota of piglets. **Animal Microbiome**, v. 2, n. 2, p. 1-12, 2020.

MEDEIROS, M. J. et al. Composição química de misturas de farinhas de banana verde com castanha-do-brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 396-402, 2010.

MODINA, S. C. *et al.* Nutritional Regulation of Gut Barrier Integrity in Weaning Piglets. **Animals**, v. 9, p. 1-15, 2019.

MOESER, A. J.; POHL, C. S.; RAJPUT, M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs. **Animal Nutrition**, v. 3, p. 313-321, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2017.06.003>. Acesso em: 20 set. 2020.

MOLLY, K. Formulation to solve the intestinal puzzle. **Pig Progress**, v. 17, p. 20-22, 2001.

MONTAGNE, L. *et al.* Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 1, p. 45–57, 2007.

MORAIS, M. B.; FAGUNDES NETO, U. Enteropatia ambiental. **Estudos Avançados**, v. 17, n. 48, p. 137-149, 2003.

MORÉS, N.; AMARAL, A. L. Patologias associadas ao desmame. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., . 2001. Porto Alegre., **Anais [...]**. Porto Alegre: ABRAVES, 2001. p. 1–10. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Palestras2001/Nelson_Mores.pdf. Acesso em: 2 jul. 2020.

MORGULIS, M. S. Imunologia aplicada. *In*: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES. E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 231-245.

MOWAT, A. M. I. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. **Nature Reviews**, v. 3, p. 331-341, 2003.

NEARING, M. M; KOCH, I.; REIMER, K. J. Uptake and transformation of arsenic during the reproductive life stage of *Agaricus bisporus* and *Agaricus campestris*. **Journal of Environmental Science**, v. 49, p. 140-149, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.06.021>. Acesso em: 10 jan. 2020.

ORIÁ, R. B.; BRITO, G. A. C. **Sistema digestório**: Integração básico-clínica. São Paulo: Blucher, 2016.

PARK, J. H.; LEE, S. I.; KIM, I. H. Effect of dietary β -glucan supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and characteristics of feces in weaned pigs. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 1193-1197, 2018.

PINHO, M. A Biologia molecular das doenças inflamatórias intestinais. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 28, n. 1, p. 119-123, 2008.

PLAYNE, M. J. Determination of ethanol, volatile fatty acids, lactic acid, and succinic acids in fermentation liquids by gas chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, n. 8, p. 638-644, 1985.

PLUSKE, J. E. A. et al. Age, sex and weight at weaning influence the physiological and gastrointestinal development of weanling pigs. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 27, p. 51-54, 2003.

PRAYOONTHIEN, P. *et al.* In vitro fermentation of copra meal hydrolysate by human fecal microbiota. **3 Biotech**, v. 9, n. 3, p. 2-11, 2019.

PUPA, J. M. R. Saúde intestinal dos leitões: o papel de alguns agentes reguladores. **Simpósio Brasil de Suinocultura**, 2008. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_k5s77d2o.pdf#page=11>. Acesso em: 20 fev. 2021.

REN, M. *et al.* Branched-chain amino acids are beneficial to maintain growth performance and intestinal immune-related function in weaned piglets fed protein restricted diet. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 12, p. 1742-1750, 2015.

GERTNERA, L. R. S.; SANTIN, E.; SAAD, M. B. Influência da fumonisina sobre a resposta imunológica de aves: revisão bibliográfica. **Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 6, n. 3, p. 401-411, 2008. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/cienciaanimal/article/view/10628>. Acesso em: 2 fev. 2020.

SALMON, H. *et al.* Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 33, p. 384-393, 2009.

SCHOKKER, D. et al. Long-lasting effects of early-life antibiotic treatment and routine animal handling on gut microbiota composition and immune system in pigs. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, p. 1-18, 2015.

SILVA, V. K. *et al.* Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade alimentados com rações contendo extrato de leveduras e prebiótico e criados em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 4, p. 690-696, 2009.

SOUZA, M. L. R. Probióticos e a permeabilidade intestinal. **Pós em Revista**, v. 6, n. 2, p. 299-306, 2012.

SU, G. *et al.* Effects of plant essential oil supplementation on growth performance, immune function and antioxidant activities in weaned pigs. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0788-3>. Acesso em: 20 jan. 2020.

TAKEDA, K.; KAISHO, T.; AKIRA, S. Toll like receptors. **Annual Review of Immunology**, v. 21, n. 1, p. 335-376, 2003. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141126>. Acesso em: 2 dez. 2020.

THONGSOOK, T.; CHAIJAMRUS, S. Original article Modification of physiochemical properties of copra meal by dilute acid hydrolysis. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 1461–1469, 2014.

TIAN, S. *et al.* Effects of galactooligosaccharides on growth and gut function of newborn suckling piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 9, p. 1-11, 2018.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: Uma introdução**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

UAUY, R.; QUAN, R.; GIL, A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. **The Journal of nutrition**, v. 124, n. suppl_8, p. 1436S-1441S, 1994.

UPADHAYA, S. D.; LEE, K. Y.; KIM, I. H. Effect of protected organic acid blends on growth performance, nutrient digestibility and faecal micro flora in growing pigs. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n. 1, p. 238-242, 2016.

UTIYAMA, C. E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém desmamados**. 2004. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

VANNUCCI, F. A; GUEDES, R. M. C Fisiopatologia das diarreias em suínos - revisão bibliográfica. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 39, n.7, p. 2233-2242, 2009

VIRDI, V. *et al.* Yeast-secreted, dried and food-admixed monomeric IgA prevents gastrointestinal infection in a piglet model. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 5, p. 527-530, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-019-0070-x>. Acesso em: 2 fev. 2020.

WAITITU, S. M. *et al.* Dietary yeast-based nucleotides as an alternative to in-feed antibiotics in promoting growth performance and nutrient utilization in weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 96, n. 3, p. 289-293, 2016.

WANG, D. *et al.* Effects of keratinase on performance, nutrient utilization, intestinal morphology, intestinal ecology and inflammatory response of weaned piglets fed diets with different levels of crude protein. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 12, p. 1718-1728, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11132>. Acesso em: 20 nov. 2020.

WANG, F. *et al.* Interferon- γ and Tumor Necrosis Factor- α Synergize to Induce Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction by Up-Regulating Myosin Light Chain Kinase Expression. **The American Journal of Pathology**, v. 166, n. 2, p. 409–419, 2005. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000294401062264X>. Acesso em: 2 dez. 2020.

WEI, H.-K. *et al.* A carvacrol–thymol blend decreased intestinal oxidative stress and influenced selected microbes without changing the messenger RNA levels of tight junction proteins in jejunal mucosa of weaning piglets. **Animal**, v. 11, n. 2, p. 193-201, 2017

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

WIESE, F.; SIMON, O.; WEYRAUCH, K. D. Morphology of the Small Intestine of Weaned Piglets and a Novel Method for Morphometric Evaluation †. **Anat. Histol. Embryol**, v. 109, n. 32, p. 102–109, 2003.

WISITRASSAMEEWONG, K. *et al.* *Agaricus subrufescens*: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 2, p. 131-146, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.01.003>. Acesso em: 20 dez. 2020.

XIONG, X. *et al.* Nutritional Intervention for the Intestinal Development and Health of weaned Pigs. **Frontiers of Veterinary Science**, v. 6, n. 46, p. 1-14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00046>. Acesso em: 2 dez. 2020.

ZENG, Z. *et al.* Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 3, p. 279-285, 2015.

ZHANG, J *et al.* PSXVII-12 Effect of dietary supplementation with brewer's yeast hydrolysate on growth performance, nutrients digestibility, blood profiles and meat quality in growing to finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. suppl. 3, p. 338–338, 2018.

ZHANG, J. Y.; PARK, J. W.; KIM, I. H. Effect of supplementation with brewer's yeast hydrolysate on growth performance, nutrients digestibility, blood profiles and meat quality in growing to finishing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 10, p. 1565-1572, 2019.

ZHU, C. *et al.* Effect of yeast *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on serum antioxidant capacity, mucosal sIgA secretions and gut microbial populations in weaned piglets. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 9, p. 2029–2037, 2017. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61581-2](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61581-2). Acesso em: 2 fev. 2020.

ZHU, Y. *et al.* Screening of the ability of natural feed ingredients commonly used in pig diets to interfere with the attachment of ETEC K88 (F4) to intestinal epithelial cells. **Animal Feed Science and Technology**, v. 88, p. 35, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.06.005>. Acesso em: 2 abr. 2020.

ZIEGLER, T. R. *et al.* Trophic and cytoprotective nutrition for intestinal adaptation, mucosal repair, and barrier function. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 229–261, 2003. Disponível em: [doi:10.1146/annurev.nutr.23.011702.073036](https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073036). Acesso em: 2 abr. 2020.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO

(Animals Norms)

**Efeitos do *blend* de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado no desempenho e
saúde intestinal de leitões**

(Norma NBR 6022 – ABNT 2018)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de uma mistura de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado (CF/FC) sobre o desempenho e parâmetros de saúde intestinal de leitões. Foram utilizados no estudo leitões (n=360) machos castrados e fêmeas, com peso corporal inicial de $6,53 \pm 0,004$ kg e 23 dias de idade. Os leitões foram distribuídos em blocos casualizados em 3 tratamentos distintos, oferecidos aos grupos durante 42 dias: CN (dieta controle negativo com óxido de zinco); CP (CN + 120 mg/kg de halquinol em todas as fases) e CF/FC (CN + 2,0 kg / ton de CF/FC nas fases pré-iniciais de 24 a 38 dias e 1,0 kg/ton de CF/FC nas fases iniciais de 39 a 66 dias). Nos dias 0, 4 e 9 do experimento foram coletadas amostras de sangue para avaliação do perfil imunológico (TNF- α e IL-10). Quanto ao desempenho, o estudo evidenciou que, nos períodos de 0 a 8 dias os animais que tiveram a inclusão de CF/FC tiveram maior (P<0,05) consumo de ração diário (CRD) e menor (P<0,05) conversão alimentar (CA) do que o tratamento CN, nos períodos de 9 a 14 e 15 a 28 dias, os tratamentos CP e CF/FC tiveram maior (P <0,05) peso e ganho de peso diário (GPD) em comparação aos suínos submetidos ao tratamento CN. Entre os tratamentos avaliados, não houve diferenças significativas para as demais variáveis de desempenho no período total do experimento. O tratamento CF/FC teve menor (P<0,05) concentração de TNF- α no quarto dia do experimento. Conclui-se que a inclusão do blend de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado melhora o GPD e o PC dos leitões até os 28 dias de creche e, se iguala com o tratamento com antibiótico. Este blend também diminui a resposta pró-inflamatória pois reduz a concentração sérica de TNF- α .

Palavras-chave: Centeio Fermentado; Copra Hidrolisada; Sistema Imune; Suínos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of a mixture of hydrolyzed copra flour and fermented rye (CF/FC) on the performance and parameters of gut health of piglets. In the study, were used castrated males and females' piglets ($n = 360$), with an initial body weight of 6.53 ± 0.004 kg and 23 days of age. Piglets were distributed in randomized blocks in 3 different treatments, offered to the groups for 42 days: CN (negative control diet with zinc oxide); CP (CN + 120 mg / kg of halquinol in all phases) and CF / FC (CN + 2.0 kg / ton of CF / FC in the pre-initial phases of 24 to 38 days and 1.0 kg / ton of CF / FC in the early stages of 39 to 66 days). On days 0, 4 and 9 of the experiment, blood samples were collected to assess the immunological profile (TNF- α and IL-10). As for performance, the study showed that, in periods from 0 to 8 days, the animals that had the inclusion of FC/FC had higher ($P < 0.05$) daily feed intake (ADFI) and lower ($P < 0.05$) feed conversion ratio (FCR) than the CN treatment, in the periods from 9 to 14 and 15 to 28 days, the CP and CF/FC treatments had greater ($P < 0.05$) body weight (BW) and average daily gain (ADG) in compared to animals submitted to CN treatment. Among the treatments evaluated, there were no significant differences for the other performance variables in the total period of the experiment. The CF/FC treatment had a lower ($P < 0.05$) concentration of TNF- α on the fourth day of the experiment. It is concluded that the inclusion of a blend of hydrolyzed copra flour and fermented rye improves the ADG and BW of the piglets up to 28 days of nursery and is equal to the antibiotic treatment. This blend also reduces the pro-inflammatory response as it reduces the serum concentration of TNF- α .

Keywords: Hydrolyzed Copra; Imune System; Rye fermentation; Swine.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a suinocultura, adota investimentos constantes em melhorias genéticas, ambientais e nutricionais com intuito de garantir a produtividade mediante a seus desafios. O desmame precoce é uma etapa desafiadora para leitões, que envolve estresse, maior risco de diarreia e queda no desempenho (MARTINS *et al.*, 2018 SILVA *et al.*, 2014).

O uso profilático de antibióticos, sobretudo entre leitões no desmame precoce por longo tempo, foi uma forma para a melhoria da saúde e dos índices produtivos. No entanto, esses fármacos são contemporaneamente associados ao maior risco de seleção de bactérias patogênicas. Como resultado, a tendência é a restrição ao uso dos antibióticos como melhoradores (FABÀ *et al.*, 2020; OLIVEIRA, 2011).

Em contrapartida, a utilização de aditivos como probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, óleos essenciais, entre outros, tem sido uma boa estratégia, uma vez que, atuam mantendo o equilíbrio da microbiota e resultam em menor resistência de bactérias patogênicas (CORASSA *et al.*, 2012). Esse grupo de aditivos apresenta uma premissa bastante positiva à suinocultura, pois ajuda promover o desempenho e saúde animal com diminuição do uso de antibióticos.

Dentre esses aditivos, os prebióticos demonstra ser uma boa opção, com resultados satisfatórios. Esses compostos alimentares não digeríveis podem promover, de forma direta e indireta, a manutenção da microbiota intestinal ao estimular a seletividade de bactérias, levando ao aumento de bactérias benéficas (SILVA; NÖRNBERG, 2003).

Como uma opção de prebióticos, os produtos fúngicos fermentados têm se destacado em relação à melhoria da saúde gastrointestinal e controle patogênico entre suínos. A ação desses prebióticos ocorre durante a fermentação e promove degradação de polissacarídeos em oligossacarídeos indigestíveis e bioativos que, em algumas de suas formas, oferecem afinidade de ligação a adesinas de algumas *Enterobacteriaceae* patogênicas. Assim, o uso adequado de oligossacarídeos é considerado um fator potencial para menor adesão bacteriana. Nessa finalidade, o centeio se apresenta com forte ligação a *E. coli* patogênica (FABÀ *et al.*, 2020; SILVA; NÖRNBERG, 2003).

A Farinha de Copra (FC) hidrolisada e o Centeio Fermentado (CF) têm recebido alegação em estudos de diversos benefícios e características prebióticas, sobretudo porque apresentam componentes bioativos como galactomananos e β -glucanos, respectivamente.

Os β -glucanos são polissacarídeos presentes em grãos de cereais e assim como nas paredes celulares de fungos e algas, inclusive marinhas, com propriedades imunomoduladoras

que auxiliam na saúde intestinal de suínos. Os galactomananos são capazes de reduzir infecção subclínica de *Salmonella* em suínos, enquanto os β -glucanos estimulam a proliferação de linfócitos, células do sistema imune, que combatem microrganismos patogênicos. Especificamente entre leitões, os β -glucanos são associados ao maior desempenho e melhor conversão alimentar, fatores que seriam consequências da estabilidade e salubridade ocasionadas pela consistente resposta imune dos leitões na fase de creche (FABÀ *et al.*, 2020; KRAIKAEW; MARAKUL; KEAWSOMPONG, 2020; LEDUR *et al.*, 2012).

Sendo assim, tanto FC hidrolisada quanto CF possuem forte potencial como moduladores naturais do sistema imune e da microbiota intestinal, devido aos aspectos químicos e físicos presentes em suas estruturas. Contudo, dado aos poucos resultados acerca dos benefícios mais comuns alegados a esses componentes, é fundamental o desenvolvimento de estudos que comprovem seus efeitos e benefícios na saúde intestinal de leitões.

Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do *blend* da farinha de copra hidrolisada e do centeio fermentado sobre o desempenho e parâmetros de saúde intestinal de leitões no período de creche. De acordo com Kogut e Klasing (2009), a análise deste *blend* vai ao encontro da ampla valorização das dietas e intervenções em nutrição animal que interagem na resposta imune a partir do uso de componentes bioativos, como os já discutidos na copra hidrolisada e no centeio indicados ao estudo, com ação baseada nos reflexos decorrentes da saúde e equilíbrio imune dos animais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Comissão de Ética no Uso de Animais

O projeto que iniciou este estudo foi aprovado no Protocolo nº 14 / 2018, de acordo com os princípios de ética em experimentação animal adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

2.2 Local

O estudo foi realizado na unidade de creche de uma granja comercial (Auma Negócios), localizada no município de Patos de Minas, no estado de Minas Gerais, Brasil.

2.3 Animais e instalações

Foram utilizados 360 leitões machos castrados e fêmeas, com peso corporal inicial de $6,53 \pm 0,004$ kg, obtidos da própria granja onde foi realizado o experimento. Os leitões foram desmamados aos 23 dias de idade, e alojados na unidade de creche dotada de baias com piso ripado, com comedouros semiautomáticos e bebedouros tipo chupeta.

2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi feito em blocos casualizados, definidos de acordo com o peso inicial, com uso de três tratamentos e 12 repetições para as variáveis de desempenho e 10 repetições para as outras variáveis. A escolha dos animais para as variáveis que avaliariam a saúde intestinal foi feita a partir do peso mais próximo ao peso médio da baia. Como unidade experimental, foi considerada a baia com dez leitões cada. O período experimental foi de 42 dias, dividido em quatro períodos: pré-inicial I (24 a 31 dias de idade), pré-inicial II (32 a 38 dias de idade), inicial I (39 a 52 dias de idade) e inicial II (53 a 66 dias de idade).

2.5 Tratamentos e Dietas

As dietas experimentais ofertadas, antederam os níveis nutricionais comercial utilizados pela granja Auma Negócios, apresentadas nas Tabelas 2, 3, 4 e 5. Os tratamentos experimentais

foram divididos em 4 fases, em conformidade ao já descrito período experimental, no intervalo de 42 dias de creche, nas seguintes fases: pré-inicial 1 (24 a 31 dias de idade), pré-inicial 2 (32 a 38 dias de idade), inicial 1 (39 a 52 dias de idade) e inicial 2 (53 a 66 dias de idade).

Os animais foram distribuídos em três tratamentos, sendo estes: o controle negativo (CN) dieta experimental sem a inclusão dos aditivos avaliados (CF/FC - e halquinol); controle positivo (CP) com dieta com inclusão de halquinol (120 ppm em todas as fases); CF/FC com 2,0 Kg/tonelada nas fases pré-inicial I e II, e 1,0 Kg/tonelada nas fases inicial I e II, como esquematizado na Tabela 1. Todos os tratamentos tiveram a inclusão de um programa com Óxido de Zinco (ZnO) em doses terapêuticas (pré-inicial I 3,438 Kg/ton, Pré-inicial II 2,500 Kg/ton, inicial I 1,500 Kg/ton e inicial II 1,500 Kg/ton) e ácidos orgânicos (Ácido fórmico [min], 120,0 g/kg; ácido propiônico [min]: 110,00 g/kg) como antimicrobianos, sendo os ácidos utilizados com a finalidade de agir na ampliação da absorção nutricional e digestibilidade.

A composição do aditivo centeio fermentado juntamente com a farinha de copra hidrolisada, usados neste experimento, está explícita na Tabela 2.

Tabela 1 - Tratamentos experimentais

Tratamento	Itens	Fases			
		Pré-inicial I	Pré-inicial II	Inicial I	Inicial II
Controle negativo (NC)	halquinol	-	-	-	-
	CF/FC	-	-	-	-
Controle positivo (CP)	halquinol	0,200 Kg/ton	0,200 Kg/ton	0,200 Kg/ton	0,200 Kg/ton
	CF/FC	-	-	-	-
	halquinol	-	-	-	-
CF/FC (2 kg/1kg)	CF/FC	2 Kg/ton	2 Kg/ton	1 Kg/ton	1 Kg/ton

Tabela 8 - Componentes contidos no centeio fermentado e farinha de copra hidrolisada.

Aditivos	Componentes	
	<i>Agaricus subrufescens</i> (%)	β -1,4-manobiose (%)
Centeio fermentado	~ 40	-
Farinha de copra hidrolisada	-	14
Centeio fermentado e farinha de copra hidrolisada	~ 40	14

Tabela 9 - Rações experimentais da fase pré-inicial I, 0 a 7 dias de creche.

	CN	CP	CF/FC
Milho	400.162	400.162	400.162
Milho gelatinizado	68.000	68.000	68.000
Farelo de soja	140.000	140.000	140.000
Leite pó	100.000	100.000	100.000
Leite soro em pó	150.000	150.000	150.000
Óleo soja	25.000	25.000	25.000
Açúcar	25.000	25.000	25.000
Plasma sanguíneo	30.000	30.000	30.000
Núcleo pré-inicial 1 ¹	4.950	4.950	4.950
Extrato de levedura	20.000	20.000	20.000
Fosfato bicálcico	6.000	6.000	6.000
Calcário calcítico	2.000	2.000	2.000
Sal comum	3.500	3.500	3.500
Óxido de Zinco 80%	3.438	3.438	3.438
Calin	2.200	2.000	0.200
Halquinol 60%	-	0.200	-
Ácidos orgânicos ²	4.000	4.000	4.000
CF/FC ³	-	-	2.000
Lisina-HCL	6.050	6.050	6.050
DL-metionina	3.650	3.650	3.650
Treonina	3.300	3.300	3.300
Triptofano	1.000	1.000	1.000
Valina	1.750	1.750	1.750
TOTAL	1000.000	1000.000	1000.000
Valores calculados	CN	CP	CF/FC
Energia metabolizável (kcal/kg)	3424	3424	3424
Gordura (%)	4.685	4.685	4.685
Proteína bruta (%)	19.926	19.926	19.926
Lisina digestível (%)	1.685	1.685	1.685
Met + Cis digestível (%)	1.016	1.016	1.016
Treonina digestível (%)	1.176	1.176	1.176
Triptofano digestível (%)	0.343	0.343	0.343
Lactose (%)	15.000	15.000	15.000
Cálcio total(%)	0.762	0.762	0.762
Fósforo disponível (%)	0.583	0.583	0.583

Pré-inicial I: 24 aos 31 dias de idade. ¹Núcleo pré-inicial 1: Premix Vitamínico e Mineral: 4.00 kg; Fitase 10.000: 0.05 kg; Anti-Oxidante: 0.200 kg; Aromatizante: 0.50 kg; Palatabilizante: 0.200 kg.

²Ácidos orgânicos: Ácido fórmico (min): 120.00 g/kg; Ácido propiônico (min): 110.00 g/kg. ³Centeio fermentado/Farina de copra hidrolisada (CF/FC): produto comercial com 13.4% de proteína bruta, 15.3% de fibra bruta, 7.9% de gordura, 3.5% de cinza bruta, 5% de cálcio, 0.1 de sódio, 0.2% lisina e 0.1% metionina.

Tabela 10 - Rações experimentais da fase pré-inicial II, 8 a 14 dias de creche.

Ingredientes	CN	CP	CF/FC
Milho	396.100	396.100	396.100
Milho gelatinizado	78.200	78.200	78.200
Farelo de soja	185.000	185.000	185.000
Leite em pó	50.000	50.000	50.000
Leite soro em pó	150.000	150.000	150.000
Óleo	35.000	35.000	35.000
Açúcar	25.000	25.000	25.000
Plasma sanguíneo	20.000	20.000	20.000
Núcleo pré-inicial 2 ¹	4.950	4.950	4.950
Extrato de levedura	20.000	20.000	20.000
Fosfato bicálcico	7.000	7.000	7.000
Calcário calcítico	3.000	3.000	3.000
Sal comum	3.000	3.000	3.000
Óxido de Zinco 80%	2.500	2.500	2.500
Halquinol 60%	-	0.200	-
Ácidos orgânicos ²	4.000	4.000	4.000
CF/FC ³	-	-	2.000
Calin	2.200	2.000	0.200
Lisina-HCL	5.550	5.550	5.550
DL-metionina	3.250	3.250	3.250
Treonina	2.900	2.900	2.900
Triptofano	0.850	0.850	0.850
Valina	1.500	1.500	1.500
TOTAL	1000.00	1000.00	1000.00
Valores calculados	CN	CP	CF/FC
Energia metabolizável (kcal/kg)	3437	3437	3437
Gordura (%)	5.709	5.709	5.709
Proteína bruta (%)	19.632	19.632	19.632
Lisina digestível (%)	1.581	1.581	1.581
Met + Cis digestível (%)	0.947	0.947	0.947
Treonina digestível (%)	1.102	1.102	1.102
Triptofano digestível (%)	0.321	0.321	0.321
Lactose (%)	12.750	12.750	12.750
Cálcio total(%)	0.774	0.774	0.774
Fósforo disponível (%)	0.562	0.562	0.562

Pré-inicial II: 32 aos 38 dias de idade. ¹Núcleo pré-inicial 2: Premix Vitamínico e Mineral: 4.00 kg; Fitase 10.000: 0.05 kg; Anti-Oxidante: 0.200 kg; Aromatizante: 0.50 kg; Palatabilizante: 0.200 kg. ²Ácidos orgânicos: Ácido fórmico (min): 120.00 g/kg; Ácido propiônico (min): 110.00 g/kg. ³Centeio fermentado/Farinha de copra hidrolisada (CF/FC): produto comercial com 13.4% de proteína bruta, 15.3% de fibra bruta, 7.9% de gordura, 3.5% de cinza bruta, 5% de cálcio, 0.1 de sódio, 0.2% lisina e 0.1% metionina.

Tabela 11 - Rações experimentais da fase inicial I, 15 a 28 dias de creche.

Ingredientes	CN	CP	CF/FC
Milho	487.100	487.100	487.100
Milho gelatinizado	61.250	61.250	61.250
Farelo de soja	240.000	240.000	240.000
Leite em pó	75.000	75.000	75.000
Óleo	40.000	40.000	40.000
Açúcar	25.000	25.000	25.000
Plasma sanguíneo	10.000	10.000	10.000
Núcleo Inicial 1 ¹	4.950	4.950	4.950
Extrato de levedura	20.000	20.000	20.000
Fosfato bicálcico	8.000	8.000	8.000
Calcário calcítico	4.000	4.000	4.000
Sal comum	4.000	4.000	4.000
Palatabilizante ²	0.200	0.200	0.200
Óxido de Zinco 80%	1.500	1.500	1.500
Halquinol 60%	-	0.200	-
Ácidos orgânicos ²	4.000	4.000	4.000
CF/FC ³	-	-	1.000
Calin	2.200	2.000	1.200
Lisina-HCL	5.700	5.700	5.700
DL-metionina	2.900	2.900	2.900
Treonina	2.750	2.750	2.750
Triptofano	0.750	0.750	0.750
Valina	0.900	0.900	0.900
TOTAL	1000.00	1000.00	1000.00
Valores calculados	CN	CP	CF/FC
Energia metabolizável (kcal/kg)	3420	3420	3420
Gordura (%)	6.452	6.452	6.452
Proteína bruta (%)	19.112	19.112	19.112
Lisina digestível (%)	1.474	1.474	1.474
Met + Cis digestível (%)	0.878	0.878	0.878
Treonina digestível (%)	1.025	1.025	1.025
Triptofano digestível (%)	0.298	0.298	0.298
Lactose (%)	5.250	5.250	5.250
Cálcio total(%)	0.723	0.723	0.723
Fósforo disponível (%)	0.494	0.494	0.494

Inicial I: 39 aos 52 dias de idade. ¹Núcleo Inicial 1: Premix Vitamínico e Mineral: 4.00 kg; Fitase 10.000: 0.05 kg; Anti-Oxidante: 0.20 kg; Aromatizante: 0.50 kg; Palatabilizante: 0.200 kg. ²Ácidos orgânicos: Ácido fórmico (min): 120.00 g/kg; Ácido propiônico (min): 110.00 g/kg. ³Centeio fermentado/Farinha de copra hidrolisada (CF/FC): produto comercial com 13.4% de proteína bruta, 15.3% de fibra bruta, 7.9% de gordura, 3.5% de cinza bruta, 5% de cálcio, 0.1 de sódio, 0.2% lisina e 0.1% metionina.

Tabela 12 - Rações experimentais da fase inicial II, 28 a 42 dias de creche.

Ingredientes	CN	CP	CF/FC
Milho	589.750	589.750	589.750
Farelo de Soja	300.000	300.000	300.000
Óleo	30.000	30.000	30.000
Açúcar	25.000	25.000	25.000
Farinha de Carne	25.000	25.000	25.000
Premix Vitamínico e Mineral	4.000	4.000	4.000
Fosfato bicálcico	5.000	5.000	5.000
Calcário calcítico	2.000	2.000	2.000
Sal comum	5.000	5.000	5.000
Lisina-HCL	3.450	3.450	3.450
DL-Metionina	1.750	1.750	1.750
Treonina	1.250	1.250	1.250
Triptofano	0.100	0.100	0.100
Óxido de zinco 80%	1.500	1.500	1.500
Halquinol 60%	-	0.200	-
Ácidos orgânicos ¹	4.000	4.000	4.000
CF/FC ³	-	-	1.000
Calin	2.200	2.000	1.200
TOTAL	100.00	100.00	100.00
Valores calculados	CN	CP	CF/FC
Energia metabolizável (kcal/kg)	3355	3355	3355
Gordura (%)	5.709	5.709	5.709
Proteína bruta (%)	19.063	19.063	19.063
Lisina digestível (%)	1.311	1.311	1.311
Met + Cis digestível (%)	0.780	0.780	0.780
Treonina digestível (%)	0.912	0.912	0.912
Triptofano digestível (%)	0.264	0.264	0.264
Cálcio total(%)	0.736	0.736	0.736
Fósforo disponível (%)	0.430	0.430	0.430

Inicial I: 53 aos 66 dias de idade. ¹Ácidos orgânicos: Ácido fórmico (min): 120.00 g/kg; ácido propiônico (min): 110.00 g/kg. ³Centeio fermentado/Farina de copra hidrolisada (CF/FC): produto comercial com 13.4% de proteína bruta, 15.3% de fibra bruta, 7.9% de gordura, 3.5% de cinza bruta, 5% de cálcio, 0.1 de sódio, 0.2% lisina e 0.1% metionina.

2. 6 Procedimentos experimentais

Os animais foram alimentados (ração e água) *ad libitum* durante todo o período experimental. A ração foi pesada e fornecida duas vezes ao dia nos períodos da manhã e da tarde, a quantidade ofertada era de acordo com escore do comedouro (quantidade presente de

ração no comedouro), que determinava a quantidade fornecida de ração nos períodos definidos. As sobras de ração foram coletadas em bandejas dispostas ao redor do comedouro, quantificadas (pesadas) e descartadas.

Para avaliar os parâmetros imunológicos foram colhidas amostras de sangue, via jugular, de um total de 40 animais, sendo estes com o peso mais próximo da média da baía – 10 de cada grupo considerado ao estudo. Nestas amostras foram analisados os marcadores de resposta inflamatórias como IL-10 e TNF α , após 0, 4 e 9 dias do início do experimento.

2. 6. 1 Desempenho e incidência de diarreia

Os animais foram pesados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dias de experimento, sendo a ração fornecida e as sobras quantificadas diariamente. Com base nesses dados, foram calculados o Ganho de Peso Diário (GPD), o Consumo de Ração Diário (CRD) e Conversão Alimentar (CA).

Para avaliar a incidência de diarreia, as baias foram observadas duas vezes ao dia (manhã e tarde), durante todo o período experimental. A análise dos animais quanto ao escore fecal foi realizada através da classificação do escore na baía e calculada a ocorrência de diarreia em porcentagem relacionada aos dias de estudo. Seguindo a metodologia de Casey *et al.* (2007), a ausência de diarreia foi determinada pela observação de fezes normais e a presença de diarreia foi determinada pela observação de fezes líquidas e pastosas.

2.6.2 Análise imunológica: quantificação de citocinas no soro

A fim de avaliar a concentração sérica do Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- α) e Interleucina-10 (IL-10) no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), foi colhido 5 ml de sangue, via jugular, utilizando frascos sem anticoagulante. Sendo, esse sangue, armazenado por oito horas a 4° C para que se pudesse retirar o soro, o qual foi pipetado em microtubos e congelado a -20° até à análise. Para quantificar a concentração utilizou-se kit ELISA (*Porcine Tumor Necrosis Factor α ELISA Kit*, Sigma Aldrich, Missouri, EUA; *Interleukin-10 Sandwich ELISA Kit*, FineTest, Wuhan, China) específico para suíno, seguindo as instruções do fabricante. A absorbância foi registrada a 450 nm utilizando um leitor de 168 placas ELISA (*Multiskan GO Espectrofotômetro para Microplacas*, ThermoScientific, Vantaa, Finland) e cada amostra foi testada em duplicata.

2.6.3 Análise estatística

O teste Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados. Quando as variáveis não apresentarem distribuição normal, as transformações dos dados foram realizadas usando PROC RANK (SAS Institute, Cary, NC, US, 2009). Os dados foram submetidos a uma análise de variância usando o Pacote estatístico GLM (SAS Institute, Cary, NC, US, 2009). A análise do efeito dos tratamentos foi realizada pelo teste F a nível de $P < 0,05$ quando significativo e tendência à $P > 0,05$ à $P < 0,1$, teste de Tukey foi adotado para comparar as médias.

Para analisar a incidência de diarreia, um modelo linear generalizado (análise binomial) foi realizado utilizando o procedimento GenMod do SAS 9.3, com um nível de significância de 0,05. Todos os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico do software SAS (SAS Institute, Cary, NC, US, 2009).

3. RESULTADOS

3.1 Desempenho dos leitões

Tabela 13 - Efeito das dietas experimentais sobre peso corporal (PC), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração diário (CRD), conversão alimentar (CA) em suínos na fase de creche.

Variáveis	Tratamentos			SEM	CV, %	Valor P \ddot{Y}
	CN	CP	CF/FC			
Peso inicial (Kg)	6.532	6.527	6.535	0.004	16.730	0.383
0 a 8 dias						
PC 8d (Kg)**	7.350	7.480	7.592	0.358	16.026	0.0839
GPD (Kg)	0.143	0.144	0.145	0.001	2.521	0.1882
CRD (Kg)	0.159 B	0.163 B	0.185 A	0.008	17.332	0.0154
CA	1.085 B	1.140 AB	1.273 A	0.057	17.308	0.0090
9 a 14 dias						
PC 14d (Kg)	8.867 B	9.615 A	9.573 A	0.43	15.686	0.0002
GPD (Kg)	0.262 B	0.340 A	0.330 A	0.016	18.377	0.0002
CRD (Kg)	0.383	0.421	0.423	0.016	13.157	0.0619
CA	1.449 A	1.200 B	1.293 B	0.037	11.015	<.0001
15 a 28 dias						
PC 28d (Kg)	14.954 B	16.156 A	16.007 A	0.561	12.455	<.0001
GPD (Kg)	0.434 B	0.467 A	0.455 AB	0.011	9.211	0.0361
CRD (Kg)	0.648	0.706	0.685	0.023	12.283	0.1399
CA	1.490	1.510	1.461	0.026	5.972	0.4410
29 a 42 dias						
PC 42d (Kg)**	23.135	24.208	23.914	0.808	11.536	0.0641
GPD (Kg)	0.584	0.568	0.565	0.025	14.931	0.7073
CRD (Kg)	0.962	0.997	0.975	0.034	11.850	0.6008
CA	1.651	1.695	1.732	0.024	5.266	0.0584
0 a 42 dias						
GPD (Kg)	0.395	0.421	0.414	0.013	10.593	0.0618
CRD (Kg)	0.620	0.659	0.649	0.02	10.779	0.1370
CA	1.567	1.544	1.542	0.013	2.967	0.3541

* NC = Controle negativo (com óxido de Zn); CP = controle positivo (NC + halquinol 120 ppm); CF/FC = NC inclusão de 2 kg / tonelada de centeio fermentado e farinha de copra hidrolisada na fase de pré-inicial e 1 kg / tonelada na fase inicial.

** PC = peso corporal, GPD = ganho de peso diário; ADFI = consumo médio diário de ração; CA = taxa de conversão alimentar, CV = coeficiente de variação; SEM = erros padrão. \ddot{Y} . As médias na linha, seguidas de diferentes letras maiúsculas, diferem pelo teste de Tukey com $P < 0,10$.

Os leitões alimentados com CF/FC no período de 0 a 8 dias de experimento tiveram maior ($P<0,05$) CA que os animais do tratamento CN, e não se diferiu do CP. O grupo CF/FC teve maior ($P<0,05$) CRD do que os demais tratamentos.

No período de 9 a 14 dias, os animais do tratamento CF/FC e CP obtiveram maior peso corporal, GPD e melhor CA ($P<0,05$) em comparação com o CN.

Na fase de 15 a 28 dias, os animais do tratamento CF/FC tiveram maior ($P<0,05$) peso corporal que o controle negativo, não se diferenciando do tratamento com a inclusão de halquinol em todas as fases. Já para a variável GPD os animais submetidos ao tratamento CF/FC não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, posicionando como intermediário, visto que o tratamento com a presença de antibiótico se posicionou superior que o tratamento controle negativo.

Durante todo o período experimental não houve diferença significativa entre os tratamentos nas variáveis de desempenho.

3. 2 Incidência de diarreia

Conforme demonstrado na Tabela 8, não houve diferença significativa entre os tratamentos sobre a incidência de diarreia nos períodos avaliados neste estudo.

Tabela 14 - Efeito das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia em leitões na fase de creche.

Variáveis	Tratamentos*			ChiSq**
	CN	CP	CF/FC	
0 a 14 dias	11.309	11.607	10.119	0.807
14 a 28 dias	0.893	0.893	1.488	0.704
28 a 42 dias	1.19	2.976	2.679	0.217
Total	4.464	5.159	4.762	0.7654

* NC = Controle negativo (com óxido de Zn); CP = controle positivo (NC + halquinol 120 ppm); CF/FC = NC inclusão de 2 kg / tonelada de centeio fermentado e farinha de copra hidrolisada na fase de pré-inicial e 1 kg / tonelada na fase inicial. ** As médias na linha, seguidas de diferentes letras maiúsculas, diferem pelo teste Qui-quadrado de Tukey com $P < 0,05$

3.5 Citocinas plasmáticas

No quarto dia de experimento, os animais do tratamento CP e CF/FC obtiveram menor ($P < 0,05$) concentração sérica de TNF- α em comparação com CN (Tabela 9). Durante os períodos 0 e 9 dias não obtivemos resultados.

Tabela 9 - Efeito das dietas experimentais sobre as concentrações de citocinas plasmáticas IL-10 e TNF- α (mg/ml) em leitões na fase de creche e nos dias 0, 4 e 9 de coleta.

Variáveis	Tratamentos*			CV, %	SEM	P value [¥]
	CN	CP	CF/FC			
IL-10 (Dia 0)	3033.81	3149.71	2849.95	40.3429	431.68	0.8372
TNF- α (Dia 0)	14.5261	9.5975	9.3036	49.0485	1.9822	0.086
IL-10 (Dia 4)	1084.52	1051.61	835.99	63.7589	202.09	0.5009
TNF- α (Dia 4)	31.9294 A	21.5862 B	22.1682 B	33.1859	2.4612	0.0074
IL-10 (Dia 9)	8018.36	8198.57	7929.78	27.367	729.66	0.9642
TNF- α (Dia 9)	6.0515	8.5029	8.2517	93.4721	2.7475	0.6999

* NC = Controle negativo (com óxido de Zn); CP = controle positivo (NC + halquinol 120 ppm); CF/FC = NC inclusão de 2 kg / tonelada de centeio fermentado e farinha de copra hidrolisada na fase de pré-inicial e 1 kg / tonelada na fase inicial.

** CV = coeficiente de variação; SEM = erros padrão. ¥. As médias na linha, seguidas de diferentes letras maiúsculas, diferem pelo teste de Tukey com $P < 0,05$.

4 DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, não foram observadas diferenças nas variáveis de desempenho no período total de experimento (Tabela 6). Os autores Ibuki *et al.* (2014), ao avaliar a suplementação de farinha de copra hidrolisada entre porcos *Yorkshire* decinco a sete dias de vida, não obtiveram diferença nos grupos testados em relação ao desempenho de ganho de peso diário.

Alguns estudos apontam que a composição de ingredientes como a FC e o CF exercem efeitos benéficos para suínos (UTIYAMA *et al.*, 2006; CORASSA; LOPES; BELLAVER, 2012; RIDDER *et al.*, 2013; LYNCH *et al.*, 2017; WALIA *et al.*, 2016). Esses efeitos são associados principalmente a atividade imunomoduladora desses aditivos prebióticos, que interagem com a microbiota e o sistema imune, beneficiando a saúde do animal e, conseqüentemente, promove o aumento do desempenho (MIGUEL, RODRIGUEZ-ZAS, PETTIGREW, 2004; KOGAN; KOCHER, 2007).

Esse conjunto de resultados pode ser observado nos períodos de 9 a 14 e 15 a 28 dias de experimento (Tabela 7), onde os animais suplementados com CF/FC obtiveram melhor desempenho que o controle negativo (CN) e se equiparar com o tratamento contendo a inclusão de antibiótico (CP) para as variáveis PC, GPD nas duas fases assim como a conversão alimentar na fase correspondente de 15 a 28 dias. Allaart *et al.* (2017) comprovaram esses resultados obtendo um bom desempenho desses dois ingredientes em um ensaio *in vivo* e *in vitro*, que se assemelha aos resultados encontrados por esse trabalho até os 28 dias.

Os prebióticos influenciam de forma benéfica o trato gastrintestinal ao promover a fermentação seletiva de bactérias, ou seja, estes representam uma fonte nutricional para as mesmas que em sua maioria geram metabólitos que ao serem fermentados podem reduzir o pH intestinal, estimular a imunidade e tornar o ambiente desfavorável para bactérias patogênicas, entre outros benefícios que reduzem as incidências de diarreia (BUDDINGTON *et al.*, 2002). Diferentes resultados são encontrados nas avaliações do uso de prebióticos para leitões em fase de creche, o que demonstra a necessidade de promover cada vez mais estudos com rigor metodológico sobre os níveis ideais desses compostos a serem utilizados para obter o melhor desempenho de leitões na fase de creche (SANTOS *et al.*, 2010).

As adições dos componentes avaliados na dieta apresentaram respostas diversificadas para cada fase, as quais podem estar relacionados às condições experimentais, como a ausência de desafios sanitários (granja, com boas condições sanitárias), reduzindo assim os efeitos da farinha de copra hidrolisada e do centeio fermentado, já que em geral estes têm bons resultados

quando existe alguma condição que promove algum desafio (KOGAN; KOCHER, 2007; POZZA *et al.*, 2010). Fabà *et al.* (2020) em seus achados evidenciaram uma tendência de melhor desempenho para os animais que tiveram a suplementação de centeio fermentado após serem desafiados com *Salmonella entérica (ssp.) e Typh.*

Animais quando estão submetidos a estresse imunológico, a secreção excessiva de citocinas inflamatórias no sistema imunológico, podendo ser citadas entre elas a interleucina-1, 6 e TNF- α , podem gerar danos às estruturas intestinais e refletir na função digestiva, absorptiva e causar danos na barreira intestinal. Tais reflexos que podem desencadear riscos de disfunções intestinais como inflamação, risco de doenças intestinais e diarreia (HU *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2021).

O tratamento CF/FC, foi capaz de reduzir a concentração de proteína TNF- α , devido a composição química envolvida na dieta, que apresenta mananobiose. Esse achado demonstra a capacidade dos prebióticos de modular a resposta imune, reduzindo mediadores pró-inflamatórios, melhorando a integridade da barreira intestinal, o que corrobora com os resultados encontrados por Ibuki *et al.*, (2014).

O aumento dessa citocina pró-inflamatória não é considerado benéfico para a saúde intestinal dos leitões, já que esta quando muito elevada pode prejudicar a função de barreira por reduzir a expressão das proteínas *tight junctions*, o que pode indicar que os leitões passaram por um desafio durante esse período como, por exemplo, uma inflamação que promove o aumento de citocinas como IL-6 e TNF- α , sendo estas fundamentais para uma resposta imune adequada (SUZUKI *et al.*, 2011). Elevados níveis de TNF- α tem correlação negativa com marcadores nutricionais, tais como a transferrina e o colesterol (AGUILERA *et al.*, 1998). Brenner *et al.*, (1990) relatou que TNF- α prejudica a síntese hepática de albumina em ratos, estes fatores podem acarretar um efeito anorexigênico em suínos.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a inclusão do *blend* de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado com 2 kg / tonelada de na dieta pré-inicial e de 1 kg / tonelada na dieta inicial melhora o ganho e o peso dos leitões até os 28 dias de creche e, se iguala com o tratamento com antibiótico. Este programa do *blend* também diminui a resposta inflamatória com redução na concentração de TNF- α

Dessa maneira, a inclusão do *blend* de farinha de copra hidrolisada e centeio fermentado nas dietas de leitões tem potencial de substituir a utilização de halquinol como antibiótico promotor de crescimento durante as fases iniciais.

REFERÊNCIAS

AGUILERA, A. *et al.* Anorexigen (TNF-alpha, cholecystokinin) and orexigen (neuropeptide Y) plasma levels in peritoneal dialysis (PD) patients: their relationship with nutritional parameters. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association**, v. 13, n. 6, p. 1476-1483, 1998.

ALLAART, J. *et al.* New innovative feeding strategy for reduction of salmonella in swine. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF BIOLOGICAL, CHEMICAL AND PHYSICAL HAZARDS IN PIGS AND PORK. 12., 2017, Foz do Iguaçu, PR. **Anais [...]**. Foz do Iguaçu: Embrapa Suínos e Aves, 2017. p. 94-98.

BALL, R. O.; AHERNE, F. X. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. II. Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1105-1115, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.4141/cjas87-116>. Acesso em: 2 jul. 2020.

BRITO, P. V. A. M. *et al.* Concentração mínima inibitória de óxido de zinco para amostras de *Escherichia coli* isoladas de suínos com diarreia pós-desmame. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, n. 4, p. 353- 361, 1994.

BRENNER, D.; BUCK, M.; FEITELBERG, S.; CHOJKIER, M. Tumor necrosis factor alpha inhibits albumin gene expression in a murine model of cachexia. **J Clin Invest**, v. 1990; 85: 248-255

BUDDINGTON, R. K. *et al.* Non-digestible oligosaccharides and defense functions: lessons learned from animal models. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, 231-239, 2002.

CORASSA, A.; LOPES, D. C.; BELLAVAR, C. Mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos e probióticos para leitões de 21 a 49 dias de idade. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. 235, p. 467-476. 2012.

HU, C. H. *et al.* Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 3, p. 1094-1101, 2013.

HU, C. H. *et al.* Effects of zinc oxide supported on zeolite on growth performance, intestinal microflora and permeability, and cytokines expression of weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 181, n. 1/4, p. 65-71, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.02.003>. Acesso em: 3 set. 2020.

IBUKI, M. *et al.* Anti-Inflammatory effects of mannanase-hydrolyzed copra meal in a porcine model of colitis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 5, p. 645-651, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0424>. Acesso em: 10 dez. 2020.

JHA, R. *et al.* Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. Nutritional intervention for the intestinal health of young monogastric animals. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 48-60, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00048>. Acesso

em: 10 dez. 2020.

KAMBE, T. *et al.* The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. **Physiological Reviews**, v. 95, n. 3, p. 749-784, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2014>. Acesso em: 12 dez. 2020.

KIM, J. C. *et al.* Nutrition and pathology of weaner pigs: nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1/2, p. 3-16, 2012. Acesso em: 10 dez. 2020.

KIM, Y. Y. *et al.* Acidifier as an Alternative Material to antibiotics in animal feed. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1048-1060, 2005.

KOGAN, G.; KOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. **Livestock Science**, v. 109, n. 1-3, p. 161-165, 2007.

KOGUT, M. H.; KLASING, K. An immunologist's perspective on nutrition, immunity, and infectious diseases: Introduction and overview. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, n. 1, p. 103-110, 2009.

KRAIKAEW, J.; MARAKUL, S.; KEAWSOMPONG, S. Nutritional improvement of copra meal using mannanase and *Saccharomyces cerevisiae*. **3 Biotch Science and Technology**, v. 10, p. 274-284, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02271-9>. Acesso em: 4 jul. 2019.

LEDUR, V. S. *et al.* Respostas fisiológicas e de desempenho de leitões suplementados com B-glucanos e desafiados imunologicamente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 443-450, 2012.

LEONARD, S. G.; SWEENEY, T.; BAHAR, B.; LYNCH, B.P.; O'DOHERTY, J.V., Effects of dietary seaweed extract supplementation in sows and post-weaned pigs on performance, intestinal morphology, intestinal microflora and immune status. **British Journal of Nutrition**, v. 106, p. 688-699, 2011.

LUNA, U. V. *et al.* Mananoligossacarídeo e β -glucano em dietas de leitões desmamados. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 591-599, Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-7146>. Acesso em: 13 de jan. 2021.

LYNCH, H. *et al.* Investigation of in-feed organic acids as a low cost strategy to combat Salmonella in grower pigs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 139, p. 50-57, 2017.

MARTINS, A. A. *et al.* Aspectos gerais do desmame de leitões. **Ciência Veterinária UniFil**, v. 1, n. 2, p. 1-9, 2018.

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

OLIVEIRA JR., J. M. *et al.* Acidificante e digestibilidade de nutrientes em suínos em crescimento. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, p. e23365, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1089-6891v18e-26365>. Acesso em: 10 jan. 2021.

PARK, J. H.; LEE, S. I.; KIM, I. H. Effect of dietary β -glucan supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and characteristics of feces in weaned pigs. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 1193-1197, 2018.

PLAYNE, M. J. Determination of ethanol, volatile fatty acids, lactic acid, and succinic acids in fermentation liquids by gas chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, n. 8, p. 638-644, 1985.

POZZA, P. C. *et al.* Desempenho, microbiota intestinal e peso de órgãos de leitões na fase inicial recebendo rações com simbiótico e probiótico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1327-1334, 2010.

PUPA, J. M. R. Saúde intestinal dos leitões: o papel de alguns agentes reguladores. **Simpósio Brasil de Suinocultura**, 2008. Disponível em: < http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_k5s77d2o.pdf#page=11>. Acesso em: 20 fev. 2021.

RIDDER, L. de *et al.* Evaluation of three intervention strategies to reduce the transmission of Salmonella Typhimurium in pigs. **Veterinary Journal**, v. 197, n. 3, p. 613-618, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.03.026>. Acesso em: 2 jul. 2020.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas Brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. Ed., Viçosa: UFV/ Departamento de Zootecnia, 2017.

SANTOS, V. M. *et al.* Digestibilidade, desempenho e características morfofisiológicas do trato digestório de leitões desmamados sob dietas com mananoligossacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 99-105, 2010.

SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Revista Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 983-990, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782003000500029>. Acesso em: 10 set. 2020.

SUN, Xiao *et al.* Dietary Fiber Ameliorates Lipopolysaccharide-Induced Intestinal Barrier Function Damage in Piglets by Modulation of Intestinal Microbiome. **Msystems**, v. 6, n. 2, 2021.

SUZUKI, H. *et al.* Roles of oxidative stress in stomach disorders. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 35-39, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3164/jcbrn.11-115SR>. Acesso em: 12 set. 2020.

TIWARI, P. U; SINGH, K. A; JHA, R. Fermentation characteristics of resistant starch, arabinoxylan, and β -glucan and their effects on the gut microbial ecology of pigs: A review, **Animal Nutrition**, v. 5, n. 3, p. 217-226, Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.04.003>. Acesso em: 12 dez. 2020.

TOKACH, M. D.; VIER, C. M. Swine nutritional opportunities during the nursery period. In: BARCELOS, D. E. *et al.* (ed.) **Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos II**. Porto Alegre, RS: Ed. UFRGS, 2017. p. 49–58.

UTIYAMA, C. E. *et al.* Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2359-2367, 2006.

WALIA, K. *et al.* Effect of feeding sodium butyrate in the late finishing period on Salmonella carriage, seroprevalence, and growth of finishing pigs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 131, p. 79-86, 2016.

WANG, D. *et al.* Effects of keratinase on performance, nutrient utilization, intestinal morphology, intestinal ecology and inflammatory response of weaned piglets fed diets with different levels of crude protein. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 12, p. 1718-1728, 2011.

WISITRASSAMEEWONG, K. *et al.* Agaricus subrufescens: A review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 2, p. 131–146, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.01.003>. Acesso em: 20 dez. 2020.

ZHU, H. *et al.* Fish oil enhances intestinal barrier function and inhibits corticotropin-releasing hormone/corticotropin-releasing hormone receptor 1 signalling pathway in weaned pigs after lipopolysaccharide challenge. **British journal of nutrition**, v. 115, n. 11, p. 1947-1957, 2016.

ZHU, Y. *et al.* Screening of the ability of natural feed ingredients commonly used in pig diets to interfere with the attachment of ETEC K88 (F4) to intestinal epithelial cells. **Animal Feed Science and Technology**, v. 242, p. 111-119. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.06.005>. Acesso em: 20 ago. 2019.

ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D. E. S. N. Pathogenesis of diarrhoea in pigs: models and examples. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, (Supl 1), p. s81-s86. 2008.