



**LETÍCIA GOMES DE MORAIS**

**PROBIÓTICOS E ENZIMAS EM RAÇÕES PARA  
SUÍNOS NAS FASES INICIAL E DE  
CRESCIMENTO**

**LAVRAS – MG**

**2011**

**LETÍCIA GOMES DE MORAIS**

**PROBIÓTICOS E ENZIMAS EM RAÇÕES PARA SUÍNOS NAS FASES  
INICIAL E DE CRESCIMENTO**

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

Orientador

Dr. Vinícius de Souza Cantarelli

Coorientadores

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo

Dr. Paulo Borges Rodrigues

Dr. Raimundo Vicente de Sousa

**LAVRAS – MG**

**2011**

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

Morais, Leticia Gomes de.

Probióticos e enzimas em rações para suínos nas fases inicial e de crescimento / Leticia Gomes de Moraes. – Lavras : UFLA, 2012.  
55 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.  
Orientador: Vinicius de Souza Cantarelli.  
Bibliografia.

1. Bacillus. 2. Morfometria. 3. Pós-desmame. 4. Saúde intestinal  
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.408557

**LETÍCIA GOMES DE MORAIS**

**PROBIÓTICOS E ENZIMAS EM RAÇÕES PARA SUÍNOS NAS FASES  
INICIAL E DE CRESCIMENTO**

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

APROVADA em 10 de outubro de 2011.

Dr. José Walter da Silva Júnior	OuroFino Agronegócios
Dr. Marcus Leonardo Figueiredo Silva	Centro Oeste Rações Ltda
Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu	DZO/UFLA
Dr. Rony Antonio Ferreira	DZO/UFLA

Dr. Vinícius de Souza Cantarelli  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2011**

## OFEREÇO

*Aos meus pais, por participarem de cada momento,  
apoiares cada decis3o e serem o exemplo de vida que s3o.*

*Às irm3es mais incríveis da face da terra, pelas palavras nos  
momentos de maior necessidade.  
A minha família de sangue, que sempre esteve presente quando mais precisei.*

*A minha família adotiva, Paulo, Sueli e Ludmila,  
pela paciência quase sempre suficiente...*

*As minhas colegas de república,  
pelas diversões em cada etapa dessa vida de solteira que finda.*

*Ao Níkolás, meu amor e companheiro,  
por tudo que faz nosso amor o mais especial do mundo!*

## DEDICO

*A Deus, que nas mínimas coisas mostra sua glória e poder.  
À vovó Lyra (in memoriam), educadora ímpar, querida de todos.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Zootecnia, por conceder a oportunidade para realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao orientador Vinícius de Souza Cantarelli, pela orientação, paciência e amizade.

Ao coorientador Márcio Gilberto Zangeronimo, pelo envolvimento e grande ajuda na elaboração deste trabalho.

Ao coorientador Raimundo Vicente de Sousa, por sempre saber as respostas.

Aos professores Rony Antonio Ferreira e Márvio Lobão Teixeira de Abreu, pela participação na avaliação deste trabalho.

Ao amigo Marcus Leonardo Figueiredo Silva, por aceitar participar e contribuir com a avaliação deste trabalho.

Ao Dr. José Walter da Silva Júnior e à Ouro Fino Agronegócios, pela participação e colaboração na avaliação deste trabalho.

Aos colegas Fernando Morais de Carvalho Júnior, Luis Gustavo dos Santos Cerqueira e Hebert Silveira, pela ajuda indispensável e insubstituível na condução deste trabalho.

A todos os amigos do NESUI, em especial Marseile Reis Junqueira, Cesar Augusto Pospissil Garbossa, e Daniel Rodrigues Dutra pela companhia e presença quando mais necessário.

Às amigas, Anna Carolina do Nascimento Frazão, Isabel Machado Guigon de Araújo, Olívia Yongmi Cho e Thaís Costa Wiik Gomes, que demonstraram que a distância não significa ausência.

A todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, pelo apoio.

## RESUMO GERAL

Com o objetivo de avaliar as propriedades benéficas das bactérias *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidoacterium longo*, *Bifidobacterium thermophilum* e *Streptococcus faecium* associadas a um composto de enzimas (protease, amilase, celulase, pectinase, lipase e lactase) na dieta de suínos dos 24 aos 129 dias de idade, um estudo foi conduzido no Centro Experimental de Suínos (CES) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras, MG. Foram utilizados 80 leitões (fêmeas e machos castrados), desmamados aos 24 dias de idade, com peso médio inicial de 6,04 kg  $\pm$  0,178 kg. Parâmetros de desempenho, morfometria intestinal e incidência de diarreia foram analisados. O período experimental foi de 105 dias, com delineamento em blocos casualizados, composto pelos tratamentos: PB – *Bacillus subtilis*; PB + E – Probióticos associados a enzimas; ATB – antibióticos; CTR – dieta sem adição de promotores de crescimento, totalizando quatro tratamentos e cinco repetições. Os animais foram distribuídos em função do peso ao desmame e alojados em grupos de quatro animais por baía, compondo a parcela experimental. As variáveis de morfometria intestinal não foram afetadas pelas dietas ( $P > 0,05$ ). A adição de aditivos alternativos à dieta proporcionou pior ( $P < 0,05$ ) ganho de peso diário, peso final e conversão alimentar dos animais quando comparado aos que receberam antibióticos na dieta durante a fase de creche (24 aos 66 dias de idade). Por outro lado, o uso de probióticos + enzimas obteve mesmo peso final aos 129 dias que os animais suplementados com antibióticos, mesmo consumindo menor quantidade de ração ( $P < 0,05$ ). Todos os animais apresentaram grande incidência de diarreia nas duas primeiras semanas de creche. Os animais suplementados com antibióticos apresentaram alta incidência de diarreia no período em que houve troca de rações (45-52 dias) e no momento da mudança de instalações (66-70 dias). Apesar do alto percentual de diarreia nas primeiras semanas, os animais suplementados com *Bacillus subtilis* se destacaram na troca de ração, apresentando menor ( $P < 0,05$ ) incidência de diarreia observada. De modo geral, os aditivos testados não são tão eficientes quanto os antibióticos no momento de creche, porém no período de crescimento podem ser observadas melhoras no desempenho e frequência de diarreia.

Palavras-chave: *Bacillus*. Morfometria. Pós-desmame. Saúde intestinal.

## GENERAL ABSTRACT

With the objective of evaluating the beneficial properties of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longo*, *Bifidobacterium thermophilum* and *Streptococcus faecium* associated with a compound of enzymes (protease, amylase, cellulase, pectinase, lactase and lipase) in the diet of pigs from 24 to 129 days of age, a study was conducted at the Swine Experimental Center (SEC) of Lavras Federal University (LFU) in Lavras, MG. Were used 80 pigs (females and castrated males), weaned at 24 days of age, with initial average weight of  $6.04 \text{ kg} \pm 0.178 \text{ kg}$ . Performance parameters, intestinal morphology and incidence of diarrhea were analyzed. The experimental period was 105 days, with randomized block design, consisting of treatments: PB - *Bacillus subtilis*; PB + E - Probiotics associated to enzymes; ATB - antibiotics; CTR - diet without addition of growth promoters, a total of four treatments and five repetitions. The animals were standardized according to weight at weaning and housed in groups of four animals per pen, composing the experimental plot. The variables of intestinal morphology were not affected by diet ( $P > 0.05$ ). The addition of alternative additives to the diet provided worse ( $P < 0.05$ ) daily weight gain, final weight and feed conversion when compared to animals that received antibiotics in the diet during the nursery phase (24 to 66 days old). On the other hand, the use of probiotics plus enzymes got the same final weight at 129 days then the animals supplemented with antibiotics, while consuming less feed ( $P < 0.05$ ). All animals showed a high incidence of diarrhea in the first two weeks after weaning. The animals supplemented with antibiotics showed high incidence of diarrhea in the period when there was an exchange feed (45-52 days) and at the time of relocation (66-70 days). Despite the high percentage of diarrhea in the first week, animals supplemented with *Bacillus subtilis* stood out in exchange for food, with the lowest ( $P < 0.05$ ) incidence of diarrhea observed. In general, the additives tested are not as efficient as antibiotics at the time of post-weaning, but at the growth period it can be observed improvements in performance and frequency of diarrhea.

Keywords: *Bacillus*. Intestinal health. Morphometry. Post-weaning.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição centesimal e calculada das dietas experimentais.....	35
Tabela 2 Consumo de ração diário, ganho de peso diário e conversão alimentar e peso final de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na ração no período de 24 a 66 dias de idade e período de 24 a 129 dias de idade .....	39
Tabela 3 Morfometria dos diferentes segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta aos 45 dias de idade .....	40
Tabela 4 Porcentagem de diarreia observada de leitões alimentados com dietas suplementadas com probióticos, probióticos + enzimas, antibiótico e sem adição de promotores de crescimento durante a fase de creche .....	42

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Ambiente intestinal durante a vida dos suínos.....	12
2.2 Probióticos como aditivos alternativos para suínos.....	13
2.3 Enzimas exógenas na alimentação de suínos.....	17
2.4 Probióticos associados a enzimas nas dietas de suínos.....	18
REFERÊNCIAS.....	21
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS.....	27
ARTIGO1.....	27
Uso de probióticos e enzimas em rações para suínos, dos 24 aos 129 dias: efeitos sobre o desempenho, morfometria intestinal e incidência de diarreia.....	27
1 Introdução.....	30
2 Material e métodos.....	32
2.1 Local de realização do experimento.....	32
2.2 Animais e instalações.....	32
2.3 Delineamento experimental.....	33
2.4 Dietas experimentais.....	34
2.5 Procedimento experimental.....	36
2.6 Análises estatísticas.....	37
3 Resultados.....	38
4 Discussão.....	43
4.1 Parâmetros de desempenho.....	43
4.2 Parâmetros histológicos.....	46
4.3 Diarreia no período de creche.....	47
5 Conclusões.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXOS.....	53

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

A suinocultura moderna tem enfrentado novos desafios diante da exigência do consumidor, que tem buscado um alimento de qualidade e seguro, e das novas legislações quanto ao uso de antibióticos na alimentação animal, reavaliando o uso destas substâncias como melhoradores de desempenho. Além de atender estas requisições, a busca pela alta produtividade e consequente rentabilidade, tem sido foco dos produtores de suínos.

Dessa forma, acatar todas essas exigências e produzir um suíno que atenda as requisições têm sido o desafio produtivo enfrentado atualmente. No entanto, ainda não foi descoberta uma substância capaz de substituir eficientemente os antibióticos, especialmente em fases como o pós-desmame, onde o grande estresse ambiental e nutricional ao qual os animais são submetidos demandam um alto controle microbiano.

A imaturidade intestinal aliada ao estresse da desmama é o motivo de diversos problemas produtivos, especialmente a diarreia pós-desmame. A fim de minimizar este problema, os antibióticos ainda são a principal referência na estabilização dos animais, mas com a diminuição do uso destas substâncias, alternativas têm se destacado.

Diversos aditivos têm sido pesquisados a fim de substituir os antibióticos de forma eficiente, e entre eles os probióticos têm ganhado destaque. Estes aditivos são classificados como micro-organismos vivos os quais, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde intestinal do hospedeiro.

Apesar de alguns probióticos serem capazes de produzir substâncias antimicrobianas nem todos são capazes de produzir enzimas que melhoram a

disponibilidade de nutrientes no lúmen intestinal, sendo então a associação de probióticos e enzimas exógenas uma alternativa promissora na alimentação animal, uma vez que os efeitos dos probióticos poderão ser potencializados.

Dessa forma, o estudo teve como objetivo principal avaliar o efeito da utilização em rações de probiótico e enzimas sobre o desempenho, parâmetros morfométricos e incidência de diarreia em suínos em crescimento.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Ambiente intestinal durante a vida dos suínos

Os suínos possuem um ambiente intestinal estéril quando nascem, o qual é imediatamente colonizado por bactérias nos primeiros dias de vida (LUPP; FINLAY, 2005). A origem e proliferação destes micro-organismos depende de fatores tais como pH, disponibilidade de oxigênio e nutrientes no ambiente intestinal, bem como idade dos animais, dieta e condições de saúde (MORI et al., 2011; OHH, 2011).

No entanto, à medida que o animal se desenvolve, as populações microbianas são renovadas, sendo substituídas por outras mais estáveis, sugerindo que a adição de alimento (ou outras substâncias) no início da vida do leitão pode contribuir para o sucesso da estabilização da microbiota (CORTHESEY; GASKINS; MERCENIER, 2007).

Essa microbiota é composta principalmente por bactérias benéficas, sendo comumente encontradas no trato gastrointestinal de suínos: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacterioide*, *Fibrobacter*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* e outras bactérias ácido-lácticas. Existem mais de 500 espécies de bactérias na microbiota, em contagens que chegam a  $10^{12}$  células por grama de fezes (JENSEN; JENSEN; JAKOBSEN, 1997), sendo que a relação entre bactérias e células do hospedeiro pode chegar a 10:1 (GASKINS, 2001).

Tal concentração de bactérias comensais permanece constante desde que o ambiente seja propício para seu desenvolvimento. No entanto, por volta do 24º dia de vida, os leitões são submetidos ao desmame, evento que compromete o equilíbrio intestinal (MODESTO et al., 2009). A mudança brusca no perfil nutricional do alimento fornecido, bem como o contato com ambiente diferente,

gera um estresse no animal, que favorece o desenvolvimento de bactérias patogênicas (KIL; STEIN, 2010).

Sendo assim, para o controle específico desse crescimento de bactérias patogênicas, há mais de 50 anos faz-se uso de antibióticos em doses subterapêuticas, os quais têm ação principal de promoção do crescimento. Dentre os benefícios que tais substâncias apresentam, podem ser listadas: melhora no desempenho, redução na diarreia e da mortalidade na fase de creche (DIBNER; RICHARDS, 2005; KIL; STEIN, 2010).

Entretanto, o uso de antibióticos passou a ser questionado na década de 80, quando algumas bactérias patogênicas apresentaram-se resistentes a um diverso número de agentes antimicrobianos (DIBNER; RICHARDS, 2005). Dessa forma, seu uso foi banido na União Europeia em 2006, e a tendência é de se estender para o mundo todo. Desde então, aditivos que tenham o mesmo potencial antimicrobiano têm sido estudados, a fim de minimizar os impactos da remoção dos antibióticos da produção animal e dentre eles os probióticos têm ganhado destaque.

## **2.2 Probióticos como aditivos alternativos para suínos**

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem melhoras na saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO, 2002).

Essas substâncias têm capacidade de influenciar a população microbiana promovendo equilíbrio microbiano intestinal (OHH, 2011), e suas características englobam: (i) habilidade de colonizar o trato gastrointestinal, (ii) alto crescimento com baixa exigência de nutrientes, (iii) supressão de patógenos

entéricos, bem como suas células e metabólitos, (iv) facilidade de crescimento em larga escala, sob condições comerciais, e (v) sobreviver na ração e ao processamento desta com uma atividade estável (LANGE et al., 2010).

Os micro-organismos mais utilizados com esta finalidade são aqueles oriundos ou semelhantes às bactérias benéficas existentes no intestino dos animais (ROSS et al., 2010). As bactérias ácido-lácticas (gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus faecium* e *Enterococcus*) são comumente utilizadas, pois, além de serem residentes naturais do trato gastrointestinal, são capazes de resistir ao ambiente estomacal e produzir substâncias antimicrobianas (LI et al., 2003; RICHARDS; GONG; LANGE, 2005). Através da fermentação, as bactérias ácido-lácticas são capazes de baixar o pH ambiental, característica importante no momento pós-desmame, no qual os leitões têm baixa capacidade de produzir ácido clorídrico (VIOLA; VIEIRA, 2003).

No entanto as bactérias ácido-lácticas são ineficientes na formação de esporos e certas cepas são menos tolerantes à presença de oxigênio (LANGE et al., 2010), fazendo com que sua resistência ao processamento seja fragilizada. Dessa forma, os probióticos bacilares, especialmente as bactérias do gênero *Bacillus* têm sido utilizadas com finalidade probiótica, afinal tais micro-organismos são formadores de esporos (resistentes ao calor) e algumas cepas têm capacidade de produzir enzimas, sendo utilizadas na produção comercial de amilases e proteases (SCHALLMEY; SINGH; WARD, 2004). Seu mecanismo de ação difere das bactérias ácido-lácticas, principalmente pelo fato de que o *Bacillus* (sp *subtilis*) não tem capacidade de colonizar o trato gastrointestinal, sendo sua ação exclusivamente luminal (COPPOLA; TURNES, 2004).

Diversos estudos têm sido conduzidos, a fim de elucidar os efeitos e mecanismos que as diversas bactérias com características probióticas desempenham nas diferentes fases do ciclo de produção dos suínos.

Dentre estes estudos, pesquisas avaliando a influência da adição de probióticos à alimentação de suínos, desde a vida placentária, têm ganhado cenário. A inclusão de um *pool* probiótico na alimentação de fêmeas gestantes 12 dias antes do parto e durante 20 dias de lactação, bem como a adição deste mesmo *pool* à dieta dos leitões dos 14 aos 35 dias de idade levou Mori et al. (2011) a inferirem que a administração de probióticos a fêmeas gestantes afeta o estabelecimento da microbiota dos leitões após o desmame. Da mesma forma, Silva et al. (2010) observaram melhor desempenho dos leitões desmamados quando suas mães receberam probiótico (*Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum*).

Outros estudos têm se baseado no momento pós-desmame, onde se faz necessário um controle bacteriano mais eficiente. Dentre estes, Dutra (2011) observou que *B. Subtilis* foi eficiente em manter o equilíbrio intestinal, mas não foi capaz de melhorar o desempenho dos animais desafiados com *Escherichia coli* K88+. Em um estudo de meta-análise conduzido por Ohh (2011), foi feito um levantamento dos trabalhos que avaliaram a influência da suplementação de probióticos na dieta de suínos. Destes, 85,0% apresentaram resposta benéfica sobre a microbiota intestinal, 59,5% e 72,0% não tiveram influência sobre o ganho de peso e a conversão alimentar, respectivamente.

Jasek (1992) afirmou no entanto, que suínos alimentados com *Lactobacillus* melhoraram o desempenho e diminuíram a população de *E. coli* nas fezes, resultado semelhante ao encontrado por Ross et al. (2010), que observaram melhora no desempenho de leitões desmamados aos 35 dias de idade durante a fase de creche. As bactérias utilizadas nesse estudo foram *Lactobacillus amylovorus* e *Enterococcus faecium* previamente isoladas das fezes dos animais, sendo que ambas apresentaram propriedades probióticas em testes *in vitro*. Somado a estes resultados, observaram também a influência dos

probióticos sobre a população microbiana, reduzindo a contagem de bactérias Gram-negativas.

Alguns estudos buscaram resultados da adição de probióticos à dieta de suínos em crescimento e terminação. Os resultados encontrados para essa fase são diferentes do período da creche, pois os probióticos (especialmente *Bacillus subtilis*) apresentam melhores ações em animais que passam por um momento estressante (GIANG et al., 2011).

Foi observado por Veum e Bowman (1973) que a suplementação com *Saccharomyces* não influenciou o desempenho de animais de terminação. Da mesma forma Kornegay e Risley (1996) não observaram nenhuma melhora no ganho de peso e conversão alimentar de animais para mesma fase. Em acordo com estes resultados Giang et al. (2011) verificaram que a suplementação com *Bacillus* e *Saccharomyces* não apresentou efeito sobre a microbiota (altamente estável nessa fase), estado imunológico, e digestibilidade de suínos em crescimento e terminação.

Por outro lado, Davis et al. (2008) suplementaram animais com um complexo de diferentes cepas de *Bacillus* e verificaram melhora na eficiência alimentar no período de terminação, mas não houve melhora no desempenho durante o período de crescimento. A diferença entre estes resultados pode ser explicada pelo fato de Davis et al. (2008) terem utilizado antibiótico (tilosina) na ração basal dos tratamentos, e os demais estudos não terem feito uso de qualquer tipo de antimicrobiano.

Com base nestes resultados, é possível afirmar que os probióticos apresentam diversos modos de ação, altamente dependentes dos demais componentes fornecidos nas dietas. Dessa forma, substâncias capazes de aumentar a disponibilidade de nutrientes que atuem como substratos para o desenvolvimento destes probióticos podem desempenhar um papel interessante na nutrição de suínos.

### 2.3 Enzimas exógenas na alimentação de suínos

O principal objetivo de fazer-se o uso de enzimas exógenas na alimentação de suínos, é potencializar o aproveitamento de nutrientes dos alimentos fornecidos, pois muitas vezes a dieta possui um alto valor nutricional, mas baixa digestibilidade, isso é, nem todos os nutrientes fornecidos estão disponíveis diante do perfil enzimáticos apresentado pelo animal. Dentre os ingredientes mais utilizados na formulação de rações para suínos estão o milho e a soja, os quais apresentam respectivamente uma média de 10,3% e 19,1% de polissacarídeos não amiláceos em sua estrutura, especialmente na parede celular (CLASSEN, 1996; KNUDSEN, 1997).

Tais substâncias possuem celulose, hemicelulose e pectina em sua composição, as quais só são disponibilizadas através da fermentação de bactérias no intestino grosso ou da adição de enzimas específicas na dieta (celulase e pectinase). A presença destes polissacarídeos (especialmente a celulose) no intestino dos animais tem um efeito inibitório sobre a lipase e protease pancreáticas, prejudicando ainda mais a digestibilidade da dieta (ALMIRALL et al., 1995). Sendo assim, torna-se importante a inclusão de enzimas capazes de desestruturar tais substâncias (WYATT; PARR; BEDFORD, 2008).

Aliados ao problema nutricional suínos na fase de desmame apresentam problemas digestivos ainda maiores. A dieta de um leitão lactente é composta basicamente de leite, o qual apresenta 96% de digestibilidade e em média 4,51% de lactose (MARTINS et al., 2007). Isso faz com que a atividade enzimática de outras enzimas, tais como lipase, maltase, amilase e protease, seja menor. Dessa forma, o momento do desmame é caracterizado por grande estresse para o animal, pois além das alterações ambientais, a imaturidade intestinal potencializa o efeito das alterações nutricionais (XU et al., 2011).

Dessa maneira, outras enzimas podem ser consideradas na formulação das rações pós-desmame a fim de minimizar os efeitos deste estresse. Liu et al. (2010) observaram melhora no desempenho de leitões desmamados, suplementados com lipases exógenas, enquanto que Lin et al. (2008) verificaram melhores resultados de desempenho de animais suplementados com diferentes enzimas (pancreáticas e para polissacarídeos não amiláceos). Maiores concentrações de tripsina, lipase e amilase aumentaram o ganho de peso de leitões nessa fase, sugerindo que a maior concentração de enzimas também tem efeito no desempenho dos animais (XU et al., 2011). Sendo assim, os efeitos nutricionais das enzimas aliados à forma de atuação dos probióticos, possivelmente atuam de forma sinérgica, sugerindo que a suplementação conjunta destes aditivos pode trazer benefícios ao hospedeiro.

#### **2.4 Probióticos associados a enzimas nas dietas de suínos**

O modo de ação pelo qual as enzimas degradam os ingredientes da dieta pode contribuir diretamente com a eficiência dos probióticos. Dependendo do tipo de enzima, a quebra dos ingredientes da dieta pode gerar a produção de oligossacarídeos que, ao final do intestino delgado, tornam-se substratos para a fermentação bacteriana, podendo ser benéficos para a produção de ácidos graxos voláteis, alterando assim a população bacteriana.

O fato de hidrolisarem polissacarídeos gera produtos que têm um efeito direto sobre a saúde intestinal, manipulando o crescimento de micro-organismos (PLUSKE et al., 2002; WILLIAMS; VERSTEGEN; TAMMINGA, 2001). Essa ação ocorre geralmente pela inclusão de celulases e pectinases na dieta. A quebra dos carboidratos da parede celular de plantas reduz seu comprimento, produzindo polímeros e oligômeros. Em determinado momento, esses fragmentos tornam-se pequenos e numerosos, o suficiente para servirem como

substrato para fermentação bacteriana específica (WYATT; PARR; BEDFORD, 2008) e favorecem a proliferação de bactérias ácido-lácticas, as quais indiretamente, diminuem o crescimento de certas bactérias patogênicas (CHOI; NAMIKING; PAIK, 1994; HÖGBERG; LINDBERG, 2004; KIARIE et al., 2007). Entretanto é preciso controlar a inclusão de enzimas, pois uma suplementação exacerbada pode levar a redução exagerada dos polissacarídeos, produzindo monossacarídeos, os quais em excesso levam à diarreia osmótica (SILVA; NÖRNBERG, 2003).

Os produtos da hidrólise enzimática podem atuar diretamente sobre as bactérias patogênicas. Alguns oligossacarídeos têm a capacidade de se aderir às fímbrias de bactérias patogênicas impedindo-as de se aderirem à parede intestinal, sendo dessa forma eliminadas do trato gastrointestinal. Essa é possivelmente a explicação para a redução na incidência e severidade de diarreia (INBORR; OGLE, 1988; KIARIE et al., 2008) e efeito benéfico sobre a saúde intestinal (KIM et al., 2003) em leitões de creche observados.

Outra forma das enzimas melhorarem a saúde intestinal em associação aos probióticos deve-se ao fato de reduzir a viscosidade do conteúdo intestinal, diminuindo a taxa de passagem da dieta, permitindo uma ação melhorada dos probióticos que têm ação luminal (*Bacillus*). A redução da taxa de passagem da digesta permite uma maior ação das enzimas digestivas e aumenta a proteção intestinal endógena, melhorando a disponibilidade de substratos para a proliferação microbiana (OMOGBENIGUN; NYACHOTI; SLOMINSKI, 2004; VERSTEGEN; WILLIAMS, 2002).

De acordo com Ohh (2011), o poder de reduzir a viscosidade da digesta provavelmente não seja a principal causa do efeito das enzimas sobre a população microbiana. Segundo o autor esse efeito está ligado principalmente ao nível de desafio o qual os animais são submetidos. O autor ainda afirma que o efeito primordial das enzimas não é em aumentar a digestibilidade dos nutrientes

para o animal, e sim de produzir substrato para as bactérias benéficas, o que explica por que os animais apresentam melhor resposta às enzimas na ausência de antibióticos promotores de crescimento.

Outros trabalhos demonstraram resultados contrastantes, afirmando que a suplementação de enzima sem associação com probióticos reduziu a contagem de *Salmonella* nas fezes de aves, causa provável da liberação de substâncias prebióticas ou redução do pH, devido ao aumento na produção de ácidos graxos voláteis (JACKSON et al., 2003, 2004; KHANONGNUCH; SANGUANSOOK; LUMYONG, 2006).

Dessa forma, a suplementação de probióticos e enzimas devem ser vista como estratégia nutricional e sanitária para a criação de suínos. Sugere-se também conhecer melhor os efeitos dos diferentes *blends* enzimáticos, bem como das misturas probióticas, uma vez que cada substância desempenha diferentes funções e é influenciada por diferentes fatores.

## REFERÊNCIAS

ALMIRALL, M. et al. The differences in intestinal viscosity produced by barley and  $\beta$ -glucanases alter digesta enzymes activities and ileal nutrient digestibilities more in broilers than in cocks. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 125, p. 947-955, Aug. 1995.

CHOI, K. H.; NAMIKING, H.; PAIK, I. K. Effects of dietary fructooligosaccharides on the suppression of intestinal *Salmonella typhimurium* in broiler chickens. **Korean Journal of Animal Science**, Jeju, v. 36, p. 271-281, Aug. 1994.

CLASSEN, H. L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 62, p. 21-27, May 1996.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, jul./ago. 2004.

CORTHESEY, B.; GASKINS, H. R.; MERCENIER, A. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 137, p. 781S-790S, Mar. 2007.

DAVIS, M. E. T. et al. Effect of a *Bacillus*-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 1459-1467, June 2008.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p. 634-643, Nov. 2005.

DUTRA, D. R. **Prebiótico e probiótico para leitões experimentalmente desafiados com *Escherichia coli* K88+**. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London: FAO/WHO, 2002. Working Group Report.

GASKINS, H. R. Intestinal bacteria and their influence on swine froth. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. **Swine nutrition**. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: CRC, 2001. p. 585-608.

GIANG, H. H. et al. Effects of supplementation of probiotics on the performance, nutrient digestibility and faecal microbiota in growing-finishing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Korea, v. 24, n. 5, p. 655-661, May 2011.

HÖGBERG, A.; LINDBERG, J. E. Influence of cereal non-starch polysaccharides and enzyme supplementation on digestion site and gut environment in weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 116, n. 1/2, p. 113-128, 2004.

INBARR, J.; OGLE, R. B. Effect of enzyme treatment of piglet feeds on performance and post weaning diarrhea. **Swedish Journal Agricultural Research**, Sweden, v. 8, p. 129-133, Apr. 1988.

JACKSON, M. E. et al. A dose-response study with the feed enzyme  $\beta$ -mannanase in broilers provided with corn-soybean meal based diets in the absence of antibiotic growth promoters. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 1992-1996, June 2004.

JACKSON, M. E. et al. Beneficial effect of  $\beta$ -mannanase feed enzyme on performance of chicks challenged with *Eimeria spp.* and *Clostridium perfringens*. **Avian Diseases**, Washington, v. 47, p. 759-763, July 2003.

JASEK, S. Effect of biogen probiotic addition on reproduction results and physiological indices in pigs: 2. effect of biogen-T dietary additive on results of rearing weaners. **Rocznik Naukowe Zootechniki**, Kraków, v. 31, n. 2, p. 229, 1992.

JENSEN, M. S.; JENSEN, S. K.; JAKOBSEN, K. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 437-445, Sept. 1997.

KHANONGNUCH, C.; SA-NGUANSOOK, C.; LUMYONG, S. Nutritive quality of mannanase treated copra meal in broiler diets and effectiveness on some fecal bacteria. **International Journal of Poultry Science**, Pakistan, v. 5, n. 11, p. 1087-1091, 2006.

KIARIE, E. et al. Growth performance, gastrointestinal microbial activity, and nutrient digestibility in early-weaned pigs fed diets containing flaxseed and carbohydrase enzyme. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, p. 2982-2993, Nov. 2007.

KIARIE, E. et al. Nonstarch polysaccharide hydrolysis products of soybean and canola meal protect against enterotoxigenic *Escherichia coli* in piglets. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, p. 502-508, Mar. 2008.

KIL, D. Y.; STEIN, H. H. Invited review: management and feeding strategies to ameliorate the impact of removing antibiotic growth promoters from diets feed to weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 90, p. 447-460, July 2010.

KIM, S. W. et al. Use of carbohydrases in corn-soybean meal-based nursery diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 2496-2504, Feb. 2003.

KNUDSEN, K. E. B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 67, n. 4, p. 319-338, 1997.

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

LANGE, C. F. M. et al. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, Champaign, v. 134, n. 1/3, p. 124-134, 2010.

LI, M. et al. Evaluation of QIAamp® DNA mini stoll kit for microbial ecological studies. **Journal of Microbiological Methods**, Champaign, v. 54, n. 1, p. 13-20, 2003.

LIN, Y. P. et al. Probiotic lactobacillus reuteri suppress proinflammatory cytokines via c-Jun. **Inflammatory Bowel Diseases**, New York, v. 14, p. 1068-1083, Aug. 2008.

LIU, F. C. et al. Application of porcine lipase secreted by *Pichia pastoris* to improve fat digestion and growth performance of post-weaning piglets. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Taiwan, v. 58, p. 3322-3329, Feb. 2010.

LUPP, C.; FINLAY, B. B. Intestinal microbiota. **Current Biology**, London, v. 15, n. 7, p. R235-R236, 2005.

MARTINS, T. D. D. et al. Produção e composição do leite de porcas híbridas mantidas em ambiente quente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1079-1083, jul./ago. 2007.

MODESTO, M. et al. A novel strategy to select *Bifidobacterium* strains and prebiotics as natural growth promoters in newly weaned pigs. **Livestock Science**, Champaign, v. 122, p. 248-258, June 2009.

MORI, K. et al. Oral administration of multispecies microbial supplements to sows influences the composition of gut microbiota and fecal organic acids in their post-weaned piglets. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 112, n. 2, p. 145-150, 2011.

OHH, S. J. Meta analysis to draw the appropriate regimen of enzyme and probiotic supplementation to pigs and chicken diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Champaign, v. 24, n. 4, p. 73-586, Apr. 2011.

OMOGBENIGUN, F. O.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A. Dietary supplementation with multi-enzyme preparations improves nutrient and growth performance in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 1053-1061, Apr. 2004.

PLUSKE, J. R. et al. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pigs. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 15, p. 333-371, Out. 2002.

RICHARDS, J. D.; GONG, J.; LANGE, C. F. M. de. The gastrointestinal microbiota and its role in monogastric nutrition and health with an emphasis on pigs: current understanding, possible modulations, and new technologies for ecological studies. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 85, p. 421-435, Feb. 2005.

ROSS, G. R. et al. Effects of probiotic administration in swine. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 109, n. 6, p. 545-549, 2010.

SCHALLMEY, M.; SINGH, A.; WARD, O. P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 1-17, Jan. 2004.

SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na alimentação de não ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 983-990, set./out. 2003.

SILVA, M. L. F. et al. Probiotics and antibiotics as additives for sows and piglets during nursery phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 11, p. 2453-2459, Mar. 2010.

VERSTEGEN, M. W. A.; WILLIAMS, B. A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for monogastric animals. **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, p. 113-127, May 2002.

VEUM, T. L.; BOWMAN, G. L. *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture in diets for mechanically-fed neonatal piglets and early growing self-fed pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 37, p. 67-71, July 1973.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Ácidos orgânicos e suas misturas em dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 1., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2003, p. 255-284.

WILLIAMS, B. A.; VERSTEGEN, M. W. A.; TAMMINGA, S. Fermentation in the monogastric large intestine: its relation to animal health. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 14, n. 2, p. 207-227, 2001.

WYATT, C. L.; PARR, T.; BEDFORD, M. Mechanisms of action for supplemental NSP and phytase enzymes in poultry diets. In: POULTRY NUTRITION CONFERENCE, 35., 2008, South Carolina. **Annals...** South Carolina: PNC, 2008. p. 12-22.

XU, C. L. et al. Performance, nutrient utilization and serum biochemical characteristics of weanling pig with dietary supplementation of pancreatic enzymes. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 81, n. 5, p. 498-502, May 2011.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

**ARTIGO1**

**Uso de probióticos e enzimas em rações para suínos, dos 24 aos 129 dias:  
efeitos sobre o desempenho, morfometria intestinal e incidência de diarreia**

Artigo a ser submetido à revista *Animal Feed Science and Technology*

## RESUMO

Objetivando avaliar o efeito da inclusão de probióticos associados a enzimas na ração de suínos dos 24 aos 129 dias de idade sobre o desempenho, morfometria intestinal e incidência de diarreia, foi conduzido um estudo no Centro Experimental de Suínos da UFLA, no qual foram utilizados 80 leitões (fêmeas e machos castrados), desmamados aos 24 dias de idade, com peso inicial de  $6,04 \pm 0,18$  kg. O período experimental foi de 105 dias, em delineamento em blocos casualizados, cujos tratamentos foram: PB – *Bacillus subtilis*; PB + E – probióticos + enzimas; ATB – antibióticos; CTR – controle adicionado à dieta, totalizando quatro tratamentos e cinco repetições, unidade experimental. Os animais foram distribuídos com base no peso ao desmame e alojados em grupos de quatro animais por baía (parcela experimental). A inclusão de aditivos à dieta proporcionou piora ( $P < 0,05$ ) no ganho de peso diário, peso final e conversão alimentar dos animais quando comparado aos que receberam antibióticos dos 24 aos 66 dias de idade. Por outro lado, o uso de probióticos + enzimas obteve mesmo peso final aos 129 dias que os animais suplementados com antibióticos, mesmo consumindo menor quantidade de ração ( $P < 0,05$ ). As variáveis de morfometria intestinal não foram afetadas pelas rações ( $P > 0,05$ ). Todos os animais apresentaram grande incidência de diarreia nas duas primeiras semanas de creche. Os animais suplementados com antibióticos apresentaram alta incidência de diarreia durante as trocas de rações (45-52 dias) e no momento da mudança de instalações (66-70 dias). Apesar do alto percentual de diarreia nas primeiras semanas, os animais suplementados com *B. subtilis* se destacaram na troca de ração, apresentando menor ( $P < 0,05$ ) incidência de diarreia. Os aditivos testados não apresentaram a mesma eficiência dos antibióticos na fase de creche, entretanto podem ser observadas melhorias no desempenho e frequência de diarreia no período de crescimento.

Palavras – chave: *Bacillus*. Pós-desmame. Saúde intestinal

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of a pool of enzymes associated with probiotics included on pig diets on the performance, intestinal morphology and incidence of diarrhea from 24 to 129 days old. The study was conducted at the Swine Experimental Center, UFPA. Were used 80 pigs (females and castrated males), weaned at 24 days of age, with initial average weight of  $6.04 \pm 0.18$  kg. The experimental period was 105 days, with randomized block design, with treatments as: PB - *Bacillus subtilis*; PB + E - Probiotics + Enzymes; ATB - antibiotics; CTR - control, a total of four treatments and five repetitions. The animals were distributed according to the weight at weaning and housed in groups of four animals per pen, experimental plot. The variables of intestinal morphology were not affected by diet ( $P > 0.05$ ). The addition of additives to the diet provided worse ( $P < 0.05$ ) daily weight gain, final weight and feed conversion when compared to animals that received antibiotics from 24 to 66 days old. On the other hand, the use of enzymes + probiotics got the same final weight to 129 days the animals supplemented with antibiotics, while consuming less feed ( $P < 0.05$ ). All animals showed a high incidence of diarrhea in the first two weeks of experiment. The animals supplemented with antibiotics showed high incidence of diarrhea during the exchange diets (45-52 days) and at the time of relocation (66-70 days). Despite the high percentage of diarrhea in the first week, animals supplemented with *B. subtilis* stood out in exchange for food, with lower ( $P < 0.05$ ) incidence of diarrhea. The additives tested are not as effective as antibiotics at the time of day care, but the growth period can be observed improvements in performance and frequency of diarrhea.

Keywords: *Bacillus*. Intestinal health. Post weaning.

## 1 INTRODUÇÃO

O alvo da suinocultura moderna é a alta produtividade em todas as fases do ciclo de produção. Novas pesquisas no sentido de melhorar a rentabilidade do produtor, bem como a segurança dos alimentos fornecidos ao consumidor, têm guiado os estudos recentes em busca de substituir os antibióticos como melhoradores de desempenho por substâncias igualmente eficazes no controle bacteriano.

O principal momento em que esta estratégia mostra-se necessária é a fase pós-desmame, pois tal período é caracterizado por gerar grande estresse aos animais (KIL; STEIN, 2010). A mudança ambiental e nutricional associadas à imaturidade intestinal aumentam a susceptibilidade dos leitões à proliferação de bactérias patogênicas tais como *Salmonella* e *Escherichia coli* (DIBNER; RICHARDS, 2005). Esses micro-organismos aderem-se à mucosa intestinal e provocam reações inflamatórias que, dependendo da intensidade, podem levar o animal a óbito.

Em outras situações, as bactérias patogênicas podem diminuir o desempenho dos animais, por diminuir seu consumo e aproveitamento de nutrientes na dieta (WEBER et al., 2001). A fim de combater essa atividade prejudicial ao animal, os substitutos dos antibióticos têm sido pesquisados no sentido de eliminar, inativar ou competir com a microbiota patogênica (CHOI et al., 2011; GAGGIÀ; MATTARELLI; BIAVATI, 2010; GIANG et al., 2011).

Dessa forma, aditivos como os probióticos e enzimas têm ganhado destaque, pois essas substâncias são eficazes em aumentar a população bacteriana benéfica e melhorar a disponibilidade de nutrientes, respectivamente (OELSCHLAEGER, 2010; XU et al., 2011). Os modos de ação destas substâncias, são influenciados por fatores como a concentração fornecida do aditivo, substâncias coexistentes, pH ambiental, tipo e quantidade de bactérias

patogênicas presentes, componentes da dieta, forma de fornecimento, entre outros (OELSCHLAEGER, 2010; VILÀ; ESTEVE-GARCIA; BRUFAU, 2010).

Sendo assim, faz-se necessário desenvolver pesquisas que envolvam tais substâncias, tanto isoladas, quanto atuando de forma conjunta, uma vez que as formas de ação podem possuir efeitos sinérgicos.

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da inclusão na ração de probióticos e enzimas, sobre o desempenho, morfometria intestinal e incidência de diarreia em leitões do desmame até o final da fase de crescimento.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local de realização do experimento**

O experimento foi conduzido no período de 14 de maio a 27 de agosto de 2010, na unidade de creche e crescimento do Centro Experimental de Suínos (CES) do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, latitude 21°14'30" (S), longitude 45°00'10" (O) e 919 metros de altitude.

O clima da região, segundo a classificação climática Köppen-Geiger, é classificado como subtropical úmido, caracterizado pela baixa amplitude térmica. As temperaturas trimestrais para o meses de junho, julho e agosto tiveram média inferior a 22°C, com máximas de 24°C a 32°C e mínima de 14°C. A precipitação média do trimestre foi inferior a 100 mm (7% da média anual) segundo dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE (2011). A temperatura ambiental média durante o período experimental foi de 22,9°C registrando mínimas e máximas de 8°C e 29°C, respectivamente. Sendo a temperatura ambiental monitorada através de termômetros, pelos quais foram registradas diariamente as temperaturas máximas e mínimas. Para diminuir a amplitude térmica, medidas tais como: manejo de cortinas e janelas e o uso de ventiladores e aquecedores foram aplicados nas horas mais convenientes do dia.

### **2.2 Animais e instalações**

Foram utilizados 40 suínos machos castrados e 40 fêmeas, híbridos, de alto potencial genético, desmamados aos 24 dias de idade com peso inicial de  $6,04 \pm 0,18$  kg, oriundos de uma granja comercial situada na cidade de Juiz de Fora, MG.

Durante o período experimental correspondente à fase de creche, os animais foram alojados em baias suspensas (1,10 x 1,15) com piso completamente ripado, dotadas de comedouros manuais e bebedouros tipo chupeta. No período que compreendeu a fase de crescimento os animais foram transferidos para o galpão experimental de crescimento, em baias de piso de concreto (2,00 x 1,60), equipadas com comedouros manuais e bebedouros tipo chupeta. O controle ambiental de temperatura foi realizado através de ventiladores e aquecedores, mantendo a temperatura em 28°C na primeira semana de creche, decrescendo semanalmente até 22°C na última semana deste período, e para o período de crescimento a temperatura média foi de 19°C.

### **2.3 Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos e cinco repetições, com quatro animais por parcela experimental (dois machos castrados e duas fêmeas). O critério para formação dos blocos foi o peso dos animais.

Os tratamentos experimentais foram: 1) Ração Controle (RC) com *Bacillus subtilis*, 200g/ton, 2) RC com *pool* probióticos + enzimas, 200g/ton, 3) RC com antibióticos e 4) RC sem adição de aditivos melhoradores de desempenho.

Os probióticos utilizados nas rações foram adicionados na proporção de 200 gramas por tonelada. O tratamento à base de *Bacillus subtilis* (PB) foi composto exclusivamente por esta bactéria, a qual possui características específicas, como produção de metabólitos antibióticos e enzimas. A mistura de probiótico e enzimas, referente ao tratamento (PB + E) apresentaram em sua composição os probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidoacterium longo*, *Bifidobacterium thermophilum* e *Streptococcus faecium*) e um composto de

enzimas (protease, amilase, celulase, pectinase, lipase e lactase), assemelhando-se em efeitos ao *Bacillus subtilis*.

#### **2.4 Dietas experimentais**

Os animais receberam dietas formuladas à base de milho, farelo de soja, soja micronizada e milho pré-gelatinizado, suplementadas com vitaminas, minerais e aminoácidos, formuladas para atender as exigências mínimas dos suínos no período de 24 a 129 dias de idade segundo as recomendações de Rostagno et al. (2005). A composição centesimal e os valores calculados das dietas experimentais encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 Composição centesimal e calculada das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dietas <sup>1</sup>			
	Pré-inicial 1	Pré-inicial 2	Inicial	Crescimento
Milho	23,00	31,7	48,50	68,70
Farelo de soja	20,20	24,75	27,60	27,38
Soja Micronizada	14,00	12,50	4,00	0,00
Milho Pré-Gelatinizado	14,00	14,00	9,00	0,00
Açúcar	3,00	2,00	1,00	0,00
Óleo de Soja	1,00	1,00	1,00	0,87
Soro de Leite em Pó	20,00	10,00	5,00	0,00
Fosfato Bicálcico	1,84	1,52	1,45	1,10
Calcáreo	0,52	0,74	0,64	0,62
Sal	0,55	0,55	0,50	0,45
Premix vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix mineral <sup>3</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Lisina HCL 78%	0,556	0,305	0,261	0,260
DL-Metionina 99%	0,139	0,071	0,043	0,044
L-Treonina 98%	0,246	0,114	0,067	0,068
L-Triptofano 99%	0,039	0,00	0,00	0,00
Caulim	0,70	0,55	0,74	0,30
Composição Calculada				
Proteína bruta (%)	20,00	21,00	19,37	18,08
Energia Met. (Kcal/kg)	3353,2	3352,7	3260	3230,4
Lisina dig. (%)	1,521	1,331	1,152	1,029
Met dig. (%)	0,425	0,372	0,323	0,308
Treonina dig. (%)	0,958	0,838	0,726	0,670
Triptofano dig. (%)	0,258	0,230	0,210	0,192
Fósforo disp. (%)	0,564	0,449	0,400	0,307
Cálcio (%)	0,887	0,826	0,725	0,590

<sup>1</sup>Pré-inicial 1: 24 – 31 dias; Pré-inicial 2: 32 – 49 dias; Inicial: 50 – 64 dias; Crescimento: 65 – 129 dias

<sup>2</sup>Suplemento vitamínico contendo por kg do produto: 8.000.000 UI de vitamina A; 1.200.000 UI de vitamina D<sub>3</sub>; 20.000 mg de vitamina E; 2.500 mg de vitamina K<sub>3</sub>; 1.000 mg de vitamina B<sub>1</sub>; 4.000 mg de riboflavina (B<sub>2</sub>); 2.000 mg de piridoxina (B<sub>6</sub>); 20.000 mg de vitamina B<sub>12</sub>; 25.000 mg de niacina; 10.000 mg de ácido pantotênico; 600 mg de ácido fólico; 50 mg de biotina; 50.000 mg de vitamina C; 125 mg de antioxidante

<sup>3</sup>Suplemento Mineral contendo, por kg do produto: 500 mg de selênio; 70.000 mg de ferro; 20.000 mg de cobre; 40.000 mg de manganês; 80.000 mg de zinco; 800 mg de iodo; 500 mg de cobalto

No tratamento suplementado com antibiótico (ATB) foi utilizado antibiótico como promotor de crescimento. Os animais receberam ração experimental formulada para a fase com adição fixa de Bacitracina de Zinco (55ppm) e adição variável de Colistina, sendo esta 40ppm no período de 24 a 63 dias e 50ppm de 64 a 129 dias de idade.

## **2.5 Procedimento experimental**

As instalações de creche não foram submetidas à limpeza e desinfecção prévia, caracterizando o desafio sanitário o qual os animais foram expostos. As rações foram fornecidas à vontade, durante o período experimental de 105 dias. Os suínos foram pesados no início, 21º, 42º, 63º, 84º e 105º dias de experimento para determinação do ganho de peso. Diariamente foi realizada a limpeza das baias e, duas vezes ao dia, a ração fornecida e os desperdícios foram pesados para a determinação do consumo de ração. A conversão alimentar foi obtida por meio da relação do consumo com o ganho de peso neste período.

As variáveis analisadas para desempenho foram peso final, consumo de ração diário, ganho de peso diário e conversão alimentar.

Ao 7º dia de experimento dois animais recebendo tratamento (PB) vieram a óbito, não sendo observadas outras mortes durante todo o período experimental restante.

Uma vez por dia, durante as seis primeiras semanas experimentais, um pesquisador previamente treinado verificou a presença de diarreia nas baias, uma vez que fezes líquidas caracterizaram essa variável.

No momento da segunda pesagem, aos 21 dias de experimento, um animal de cada baia foi selecionado de acordo com a média de peso dos animais da baia e abatido para coleta de segmentos de duodeno, jejuno e íleo para determinação dos parâmetros histológicos.

Dois segmentos de dois centímetros foram coletados de duodeno (primeiros cinco centímetros distais ao esfíncter gastroduodenal – piloro), jejuno (porção medial, equidistante do final do duodeno e início do íleo) e íleo (últimos cinco centímetros proximais à válvula ileocecal) por cortes transversais. As amostras foram fixadas em “*Boin*” e embebidas em parafina. As lâminas foram coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (LODDI et al., 2000). Para cada lâmina foram mensuradas altura e largura de vilosidade, profundidade de cripta e calculadas área de vilosidade e relação vilosidade:cripta. Todas as mensurações foram repetidas em 30 vilosidades e 30 criptas por amostra, utilizando um sistema analisador de imagens Leica (Image-Pro Plus versão 4.5.0.27, com aumento de 40 vezes) acoplado ao microscópio óptico.

A altura de vilosidade foi representada pela distância entre a abertura da cripta e o topo da vilosidade. A profundidade de cripta foi mensurada da base da vilosidade à abertura da cripta. A área de vilosidade e relação vilosidade:cripta foram calculadas pelas respectivas fórmulas: altura x largura da vilosidade e altura de vilosidade/profundidade de cripta.

## **2.6 Análises estatísticas**

Os dados experimentais foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) no qual os dados de desempenho e morfometria apresentaram distribuição normal e os dados de escore fecal apresentaram-se não paramétricos.

Para verificação dos índices de desempenho e morfometria dos diferentes tratamentos foi aplicado um modelo de análise de variância, onde os dados foram submetidos ao teste SNK com 1% de probabilidade. As médias de escore fecal foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis e todas as análises estatísticas foram realizadas através do pacote estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE – SAS INSTITUTE, 1998).

### **3 RESULTADOS**

Os resultados da análise global de desempenho no período de 24 a 66 dias de idade (fase de creche) e de 24 a 129 dias de idade (fases de creche e crescimento) estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 Consumo de ração diário, ganho de peso diário e conversão alimentar e peso final de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na ração no período de 24 a 66 dias de idade e período de 24 a 129 dias de idade

Variável <sup>1</sup>	Tratamento <sup>2</sup>				CV <sup>3</sup> (%)	P =
	CTR	ATB	PB	PB + E		
Período de 24 a 66 dias						
CRD (kg)	0,470	0,547	0,521	0,460	9,51	0,1388
GPD (kg)	0,249 <sup>ab</sup>	0,310 <sup>b</sup>	0,239 <sup>ab</sup>	0,211 <sup>a</sup>	13,99	0,0057
CA	1,89 <sup>ab</sup>	1,76 <sup>b</sup>	2,18 <sup>a</sup>	2,18 <sup>a</sup>	11,18	0,0040
PF (kg)	16,50 <sup>ab</sup>	19,03 <sup>b</sup>	16,07 <sup>ab</sup>	14,89 <sup>a</sup>	8,89	0,0057
Período de 24 a 129 dias						
CRD (kg)	1,287	1,369	1,332	1,230	5,67	0,0577
GPD (kg)	0,624	0,637	0,604	0,600	6,25	0,419
CA	2,06	2,15	2,21	2,05	5,40	0,1786
PF (kg)	71,59	72,91	69,42	69,04	5,71	0,4165

<sup>1</sup>CRD= consumo de ração diário; GPD= ganho de peso diário; CA= conversão alimentar; PF= peso final

<sup>2</sup>CTR= controle; ATB= antibióticos; PB = *Bacillus subtilis*; PB+E= probióticos + enzimas

<sup>a,b</sup>Médias seguidas de diferentes letras sobrescritas na linha diferem entre si pelo teste SNK (P<0,05)

<sup>3</sup>Coefficiente de variação

No período de 24 a 66 dias os animais que receberam dietas suplementadas com antibióticos apresentaram melhor PF, GPD e CA. Não foi observada diferença significativa para CRD nessa fase.

Por outro lado, no período experimental de 24 a 129 dias de idade não foram observados efeitos dos diferentes aditivos sobre as variáveis de desempenho.

Com relação à morfometria intestinal os resultados estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 Morfometria dos diferentes segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta aos 45 dias de idade

Variável <sup>1</sup>	Tratamento <sup>2</sup>				Média	CV <sup>3</sup> (%)	P =
	PB	PB + E	ATB	CTR			
Duodeno							
HV (mm)	0,309	0,362	0,371	0,365	0,352	19,38	0,4767
PC (mm)	0,191	0,191	0,221	0,193	0,199	12,83	0,2288
V:C	1,639	1,883	1,730	1,891	1,786	21,34	0,6769
AV (mm <sup>2</sup> )	0,042	0,058	0,056	0,050	0,051	21,74	0,1615
Jejuno							
HV (mm)	0,274	0,272	0,316	0,284	0,286	17,47	0,5016
PC (mm)	0,169	0,195	0,193	0,184	0,185	11,87	0,2584
V:C	1,620	1,406	1,668	1,546	1,560	17,91	0,4982
AV (mm <sup>2</sup> )	0,033	0,039	0,039	0,034	0,036	22,63	0,5708
Íleo							
HV (mm)	0,280	0,276	0,311	0,281	0,287	13,23	0,4724
PC (mm)	0,157	0,173	0,186	0,177	0,173	11,90	0,2247
V:C	1,778	1,604	1,686	1,612	1,670	12,85	0,5653
AV (mm <sup>2</sup> )	0,037	0,039	0,043	0,036	0,039	20,81	0,5842

<sup>1</sup>HV = altura de vilosidade; PC = profundidade de cripta; V:C = relação vilosidade:cripta; AV = área de vilosidade

<sup>2</sup>PB = *Bacillus subtilis*; PB + E = probióticos + enzimas; ATB, antibióticos; CTR = controle

<sup>3</sup>CV = coeficiente de variação

Não foi observado efeito significativo ( $P > 0,05$ ) da suplementação de aditivos sobre as variáveis morfométricas analisadas.

A influência da suplementação destes aditivos sobre a incidência de diarreias durante a fase de creche encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4 Porcentagem de diarreia observada de leitões alimentados com dietas suplementadas com probióticos, probióticos + enzimas, antibiótico e sem adição de promotores de crescimento durante a fase de creche

Período	Tratamentos			
	CTR	ATB	PB	PB + E
24 – 45	38,0 %	17,0 %	26,0 %	29,0 %
45 - 66	16,1 %	11,2 %	8,0 %	13,6 %

Foi observada maior incidência percentual de diarreia nas três primeiras semanas de creche (24 – 45 dias de idade), das quais os animais submetidos à alimentação sem adição de melhoradores de desempenho superaram em 21 pontos percentuais aqueles alimentados com ração suplementada com antibiótico, menor incidência observada.

No segundo período (45 a 66 dias de idade) todos os animais apresentaram diminuição no percentual de diarreia observada, no entanto, os animais que receberam alimentação à base de *Bacillus subtilis* apresentaram o menor percentual de diarreia (8,0%) superando os animais alimentados com antibióticos na ração.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Parâmetros de desempenho

Os animais do tratamento com antibióticos apresentaram os melhores resultados de desempenho para o período de creche, reflexo da capacidade dessas substâncias em diminuir a população bacteriana patogênica e, dessa forma, reduzir a competição por nutrientes e a quantidade de metabólitos microbianos, os quais prejudicam o crescimento do animal (ANDERSON et al., 1999; DIBNER; RICHARDS, 2005). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Weber et al. (2001) e Cromwell (2002) que avaliaram o impacto do uso de antibióticos no desempenho de leitões pós-desmame.

Apesar de não significativo, o uso de antibióticos promoveu consumo de ração 12,9% melhor no período de 24 a 45 dias. O maior consumo de ração diário observado no período total pelos animais suplementados com antibiótico pode ser explicado pela sua ação sobre a população de bactérias patogênicas. Quando presentes, estes micro-organismos aderem-se à parede da mucosa, o que gera uma resposta inflamatória, levando à liberação de citocinas (principalmente Interleucina – 6) que ativam o centro da saciedade no sistema nervoso central, diminuindo o consumo do animal (JOHNSON, 1997). Indiretamente, os antibióticos diminuem a ativação do centro da saciedade, resultando em maior consumo de ração pelos animais.

Em determinados momentos, os animais suplementados com *Bacillus subtilis* na ração apresentaram consumo semelhante àqueles que receberam antibióticos na dieta. Isso pode estar associado a alguns mecanismos de ação exclusivos desta substância. Apesar de estimular o sistema imune (VILÀ; ESTEVE-GARCIA; BRUFAU, 2010), este aditivo não gera resposta inflamatória como as bactérias patogênicas, dessa forma o fato de inibir o

crescimento de patógenos (COSTA et al., 2004) diminui a inflamação da mucosa e conseqüentemente a liberação das citocinas previamente mencionadas e dessa forma ocorre menor estímulo do centro da saciedade.

Apesar da capacidade antibiótica e de estímulo do sistema imune, os animais que receberam *Bacillus subtilis* na dieta não apresentaram mesmo desempenho que os animais suplementados com antibióticos na fase de creche (24 a 66 dias). Estes resultados vão de acordo com Budiño et al. (2005), que adicionaram uma mistura probiótica (*Bacillus licheniformis* + *Bacillus subtilis*) à dieta de leitões dos 21 aos 70 dias de idade e observaram valores de desempenho semelhantes ao grupo controle.

Estes resultados estão possivelmente associados ao fato do *Bacillus subtilis* não ter capacidade de colonizar o trato gastrointestinal dos animais, uma vez que sua atuação é limitada ao lúmen do intestino. Mesmo possuindo uma grande capacidade antimicrobiana e enzimática indireta (SCHALLMEY; SINGH; WARD, 2004), a quantidade de bactérias patogênicas na fase pós-desmame é muito grande (XU et al., 2011), e dessa forma a ação probiótica do *Bacillus subtilis* pode ter sido limitada, uma vez que os principais fatores que determinam a eficiência ou não de um probiótico é a concentração deste no ambiente intestinal (OELSCHLAEGGER, 2010).

Além das possíveis causas anteriormente citadas, o fato de os animais suplementados com *B. Subtilis* não apresentarem desempenho similar aos animais alimentados com dieta à base de antibióticos pode estar relacionada com a composição do probiótico. Choi et al. (2011), observaram que animais suplementados com um composto de probióticos (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus oryzae*) na dieta apresentaram resultados de desempenho similares aos de animais suplementados com antibiótico (clortetraciclina). Da mesma forma, Ross et al.

(2010) verificaram melhor conversão alimentar para as cinco primeiras semanas de creche quando fez-se uso de uma mistura de diferentes probióticos na dieta.

Li, Liu e Xu (2008), encontraram maior ganho de peso médio diário e melhor conversão alimentar quando adicionaram *Bacillus subtilis* e frutoligossacarídeos à dieta. Já Giang et al. (2011) verificaram que a mistura composta por *Bacillus*, *Saccharomyces* e bactérias ácido-lácticas melhoraram o ganho de peso e conversão alimentar de suínos na fase de crescimento (28,8-54,2 kg), superando aqueles suplementados apenas por *Bacillus* ou *Bacillus* + *Saccharomyces*.

Mesmo tendo capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes na dieta, animais recebendo a associação de enzimas e probióticos não apresentaram melhora no desempenho. Isso pode ser explicado pela mudança na alimentação dos animais. No período de creche, para atender a evolução das exigências nutricionais, a alimentação dos suínos foi alterada três vezes, e cada dieta possuía composição de alimentos diferente. Diante desta mudança, um novo perfil enzimático seria necessário, entretanto as enzimas exógenas fornecidas não foram alteradas, mostrando-se possivelmente, ineficientes diante das novas dietas.

Esse fato pode ter tido influência sobre o probiótico, provavelmente a redução na ação das enzimas diminuiu a disponibilidade de nutrientes disponíveis para a microbiota intestinal, levando então à diminuição na sua ação probiótica. A razão exata pela qual os probióticos adicionados à dieta não promoveram melhora no desempenho dos animais ainda não está bem esclarecido, entretanto é observado na literatura que, de 121 trabalhos com probióticos, 72 (59,5%) não tiveram influência sobre o desempenho (OHH, 2011).

Foi observado menor consumo dos animais alimentados com rações à base de probióticos e enzimas na dieta, bem como menor peso final no período

total (24 a 129 dias de idade). Teoricamente, o composto de enzimas exógenas é capaz de aumentar a digestibilidade do alimento através da hidrólise de substratos que dificultam a digestão e ação contra fatores antinutricionais específicos (OHH, 2011). Ainda pode-se sugerir que o *pool* enzimático adicionado à dieta de crescimento proporcionou uma produção de oligossacarídeos pela quebra de carboidratos da parede celular das células de milho e soja (WYATT; PARR; BEDFORD, 2008), os quais apresentaram uma ação prebiótica, acentuando os benefícios característicos dos probióticos no período total.

Li, Liu e Xu (2008) demonstraram que a adição de carboidrases melhorou o desempenho de leitões e provocou redução na atividade das enzimas endógenas no intestino delgado. Essa característica pode ter influenciado o desempenho dos animais suplementados com probióticos + enzimas e assim não terem se assemelhado ao dos animais suplementados com antibióticos.

Por estarem presentes em maior quantidade, os probióticos possivelmente controlaram mais eficientemente a população de bactérias patogênicas, o que gerou melhora no aproveitamento dos nutrientes pelo animal e dessa forma diminuiu a necessidade de ingestão de alimentos.

#### **4.2 Parâmetros histológicos**

A avaliação histológica do epitélio intestinal é um dos indicadores utilizados para verificação da saúde intestinal. No entanto o mecanismo pelo qual os aditivos utilizados neste estudo influenciaram essa saúde não refletiu neste parâmetro, já que não houve diferença significativa entre os animais suplementados com as diferentes dietas experimentais. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Silva et al. (2010) que verificaram que não houve diferença entre probióticos e antibióticos + probióticos para nenhum

parâmetro histológico. Já Ross et al. (2010) descreveram a superfície da mucosa intestinal como “mais preservada” em animais que receberam inclusão de probióticos na ração, mas sem diferenças estatísticas. Já Choi et al. (2011) observaram maior relação vilosidade:cripta em duodeno e íleo de animais alimentados com dietas suplementadas com antibiótico (lincomicina).

Com base em estudos anteriores, esperava-se uma melhora nos parâmetros morfométricos dos animais suplementados com antibióticos, pois o desempenho destes animais foi superior, entretanto este aditivo promoveu melhora através de mecanismos que não interferiram na mucosa intestinal.

#### **4.3 Diarreia no período de creche**

No primeiro período de creche os animais recebendo dietas suplementadas com aditivos promotores de crescimento apresentaram incidência de diarreia menor que a dos animais que receberam dietas controle. Essa observação pode ser justificada pelos diversos mecanismos de ação de antibióticos, probióticos e enzimas, previamente descritos, como proteção de mucosa, aumento da microbiota benéfica e produção de oligossacarídeos prebióticos pelas enzimas.

No segundo período da creche (45 a 66 dias de experimento) apesar de os animais alimentados com rações controle ainda apresentarem a maior porcentagem de incidência de diarreia (16,1%) a diferença deste para os demais foi de, no máximo, oito pontos percentuais. Isso demonstra que a melhora na incidência de diarreia de todos os animais não está ligada diretamente a sua dieta, mas também à maturidade intestinal adquirida com o tempo.

Aos 49 dias, os animais foram submetidos a uma troca de ração ajustada para as exigências da idade. Sendo assim, o novo perfil nutricional possivelmente foi suportado melhor pelos animais alimentados com rações à

base de *Bacillus subtilis*, uma vez que estes apresentaram menor percentual de diarreia no segundo período (8,0%).

Esses resultados são confirmados por Huaynate et al. (2006) que observaram queda na porcentagem de diarreia de leitões recém-desmamados recebendo dietas suplementadas com 200 e 300 ppm de um *pool* probiótico quando comparado ao controle e à inclusão de 100 ppm.

Zangeronimo et al. (2011) encontraram menor incidência de diarreia em animais de creche suplementados com antibióticos e animais recebendo probióticos associados a prebióticos na dieta apresentaram maior incidência de diarreia, semelhante aos animais sem suplementação de probióticos na dieta. Já Silva et al. (2010), não observaram diferença entre os animais alimentados com diferentes dietas à base de promotores de crescimento (antibióticos, probióticos e associação destes) entre as frequências de diarreia.

Essa melhora na incidência de diarreia dos animais suplementados com *B. subtilis* pode estar relacionada ao fato deste aditivo apresentar uma ação luminal, combatendo a microbiota patogênica antes da adesão na mucosa intestinal. Sua atuação no início da creche não foi suficiente para controlar a diarreia inicialmente, mas promoveu um desenvolvimento de mucosa que foi capaz de suportar o estresse causado pela mudança de alimento aos 49 dias.

## **5 CONCLUSÕES**

Pode-se concluir que a adição de antibióticos é indicada para a fase inicial, pelo fato dos animais apresentarem melhor desempenho e baixa incidência de diarreia. No entanto, considerando-se as fases, inicial e de crescimento, pode ser considerada a adição de probióticos e enzimas à dieta, pois os animais apresentaram desempenho semelhante ao dos animais que consumiram antibiótico.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON, D. B. et al. Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. **Pig News and Information**, Wallingford, v. 20, n. 4, p. 115N-122N, 1999.

BUDIÑO, F. E. L. et al. Effect of probiotic and prebiotic inclusion in weaned piglet diets on structure and ultra-structure of small intestine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 6, p. 921-929, 2005.

CHOI, J. Y. et al. Evaluation of multi-microbe probiotics prepared by submerged liquid or solid substrate fermentation and antibiotics in weaning pigs. **Livestock Science**, Champaign, v. 138, p. 144-151, Jan. 2011.

COSTA, G. M. et al. Diarréia em leitões lactentes por *Clostridium perfringens* tipo A em granjas tecnificadas nos estados de Minas Gerais e São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 401-404, jun. 2004.

CROMWELL, G. L. Why and how antibiotics are used in swine production. **Animal Biotechnology**, New York, v. 13, p. 7-27, May 2002.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p. 634-643, Nov. 2005.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 141, p. S15-S28, Mar. 2010.

GIANG, H. H. et al. Effects of supplementation of probiotics on the performance, nutrient digestibility and faecal microbiota in growing-finishing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Sweden, v. 24, n. 5, p. 655-661, May 2011.

HUAYNATE, R. A. R. et al. Effect of adding macro and micro minerals in pig feces feed diets with different levels of probiotic. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 3, p. 385-392, May 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. **Sistemas meteorológicos e ocorrências significativas em Minas Gerais e Junho/Agoosto de 2010**. 2011. Disponível em: <<http://infoclima1.cptec.inpe.br>>. Acesso em: 20 ago. 2011.

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

KIL, D. Y.; STEIN, H. H. Invited review: management and feeding strategies to ameliorate the impact of removing antibiotic growth promoters from diets feed to weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 90, p. 447-460, July 2010.

LI, X.; LIU, L. Q.; XU, C. L. Effects of supplementation of fructo-oligosaccharide and/or *Bacillus subtilis* to diets on performance and intestinal microbiota in broilers. **Archiv für Tierzucht**, Dummerstorf, v. 51, n. 1/6, p. 64-70, 2008.

LODDI, M. M. et al. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

OELSCHLAEGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions: a review. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 300, p. 57-62, Sept. 2010.

OHH, S. J. Meta analysis to draw the appropriate regimen of enzyme and probiotic supplementation to pigs and chicken diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Champaign, v. 24, n. 4, p. 73-586, Apr. 2011.

ROSS, G. R. et al. Effects of probiotic administration in swine. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 109, n. 6, p. 545-549, 2010.

ROSTAGNO, M. H. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. 186 p.

SCHALLMEY, M.; SINGH, A.; WARD, O. P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 1-17, Jan. 2004.

SILVA, M. L. F. et al. Probiotics and antibiotics as additives for sows and piglets during nursery phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 11, p. 2453-2459, Mar. 2010.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS system for Microsoft Windows**: version 6.12. Cary, 1998. 1 CD-ROM.

VILÀ, B.; ESTEVE-GARCIA, E.; BRUFAU, J. Probiotic micro-organisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action. **Reviews World's Poultry Science**, Rotterdam, v. 65, p. 369-378, Sept. 2010.

WEBER, T. E. et al. Evaluation of conjugated linoleic acid and dietary antibiotics as growth promotants in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 2542-2549, June 2001.

WYATT, C. L.; PARR, T.; BEDFORD, M. Mechanisms of action for supplemental NSP and phytase enzymes in poultry diets. In: POULTRY NUTRITION CONFERENCE, 35., 2008, South Carolina. **Annals...** South Carolina: PNC, 2008. p. 12-22.

XU, C. L. et al. Performance, nutrient utilization and serum biochemical characteristics of weanling pig with dietary supplementation of pancreatic enzymes. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 81, n. 5, p. 498-502, May 2011.

ZANGERONIMO, M. G. et al. Herbal extracts and symbiotic mixture replacing antibiotics in piglets at the initial phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 5, p. 1045-1051, Dec. 2011.

## ANEXOS

## ANEXO A – TABELAS

Tabela 1A - Análise de variância e coeficiente de variação para peso final de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 66 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	45,695856	6,967	0,0057
REP	4	7,498031	0,857	0,5164
Erro	12	26,234434		
CV	8,89			

Tabela 2A - Análise de variância e coeficiente de variação para consumo de ração médio diário de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 66 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,025729	3,803	0,1388
REP	4	0,006376	0,707	0,6025
Erro	12	0,027061		
CV	9,51			

Tabela 3A - Análise de variância e coeficiente de variação para ganho de peso médio diário de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 66 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,026075	6,981	0,0057
REP	4	0,002394	0,481	0,7496
Erro	12	0,014940		
CV	13,99			

Tabela 4A - Análise de variância e coeficiente de variação para conversão alimentar de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 66 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,754249	4,940	0,0184
REP	4	0,030147	0,148	0,9603
Erro	12	0,610279		
CV	11,18			

Tabela 5A - Análise de variância e coeficiente de variação para peso final de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 129 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	50,196663	1,024	0,4165
REP	4	61,333992	0,938	0,4747
Erro	12	196,109438		
CV	5,71			

Tabela 6A - Análise de variância e coeficiente de variação para consumo de ração médio diário de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 129 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,054101	3,299	0,0577
REP	4	0,021684	0,992	0,4488
Erro	12	0,065588		
CV	5,67			

Tabela 7A - Análise de variância e coeficiente de variação para ganho de peso médio diário de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 129 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,004523	1,018	0,4190
REP	4	0,005694	0,961	0,4636
Erro	12	0,017778		
CV	6,25			

Tabela 8A - Análise de variância e coeficiente de variação para conversão alimentar de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta no período de 24 a 129 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,075909	1,930	0,1786
REP	4	0,017177	0,328	0,8541
Erro	12	0,157300		
CV	5,40			

Tabela 9A - Análise de variância e coeficiente de variação para morfometria do duodeno de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta aos 45 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,012329	0,885	0,4767
REP	4	0,020926	1,126	0,3897
ERRO	12	0,055754		
CV	19,38			

Tabela 10A - Análise de variância e coeficiente de variação para morfometria do jejuno de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta aos 45 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,006253	0,832	0,5016
REP	4	0,004564	0,455	0,7669
Erro	12	0,030061		
CV	17,47			

Tabela 11A - Análise de variância e coeficiente de variação para morfometria do íleo de suínos alimentados com diferentes aditivos nutricionais na dieta aos 45 dias de idade

FV	GL	SQ	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0,003868	0,894	0,4724
REP	4	0,001268	0,220	0,9223
Erro	12	0,017309		
CV	13,23			