



ALINE MARIA SILVA BARBOSA

**DESEMPENHO E PARÂMETROS DE SAÚDE DE MATRIZES
SUÍNAS E DE SUAS LEITEGADAS COM O USO DE
PROBIÓTICO COMPOSTO DE *Bacillus subtilis*-541 E *Bacillus
amyloliquefaciens*-516**

**LAVRAS – MG
2023**

ALINE MARIA SILVA BARBOSA

**DESEMPENHO E PARÂMETROS DE SAÚDE DE MATRIZES SUÍNAS E DE SUAS
LEITEGADAS COM O USO DE PROBIÓTICO COMPOSTO DE *Bacillus subtilis*-541
E *Bacillus amyloliquefaciens*-516**

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

Orientador: Prof. Dr. Vinícius de Souza Cantarelli

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana de Paula Naves

**LAVRAS – MG
2023**

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

Barbosa, Aline Maria Silva.

Desempenho e parâmetros de saúde de matrizes suínas e de suas leitegadas com o uso de probiótico composto de *Bacillus subtilis*-541e *Bacillus amyloliquefaciens*-516 / Aline Maria Silva Barbosa. - 2023.

63 p. : il.

Orientador(a): Vinícius de Souza Cantarelli.

Coorientador(a): Luciana de Paula Naves.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Suinocultura. 2. Nutrição animal. 3. Probiótico. I. Cantarelli, Vinícius de Souza. II. Naves, Luciana de Paula. III. Título.

ALINE MARIA SILVA BARBOSA

**DESEMPENHO E PARÂMETROS DE SAÚDE DE MATRIZES SUÍNAS E DE SUAS
LEITEGADAS COM O USO DE PROBIÓTICO COMPOSTO DE *Bacillus subtilis*-541
E *Bacillus amyloliquefaciens*-516**

**PERFORMANCE AND HEALTH PARAMETERS OF SOWS AND THEIR
OFFSPRING WITH THE USE OF PROBIOTIC COMPOSITION OF *Bacillus subtilis*-
541 E *Bacillus amyloliquefaciens*-516**

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

APROVADA em 07 de agosto de 2023.

Prof. Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu - UFLA

Prof. Dr. César Augusto Pospissil Garbossa - USP

Prof. Dr. Vinícius de Souza Cantarelli - UFLA

Orientador

LAVRAS – MG

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe, Rosely, por todo incentivo e esforço para que eu pudesse me manter em Lavras e a toda minha família pelo apoio e orações.

Ao Luciano Caputo, meu melhor amigo, por todo apoio e companheirismo durante todos esses anos de UFLA, sou eternamente grata a tudo que fez e faz por mim.

Agradeço imensamente a minha amiga Maria Paula Carvalho que foi meu braço direito na finalização da parte de campo do experimento e na organização dos dados. Obrigada por estar sempre presente nos momentos difíceis.

A minha grande amiga Caroline Faria, por todas as conversas, atenção e cuidado. Quando mais precisei você estava sempre presente, apesar da distância, muito obrigada, Carol!

Aos amigos, Charles Müller e Gustavo Bessa por toda ajuda nas semanas de partos e, principalmente, por terem aberto mão das festas de final de ano para me ajudar com os partos, sou muito grata a vocês dois!

Ao meu amigo Rhuan Chaves, sempre presente na minha vida de UFLA e sempre me ajudando de todas as formas possíveis. Agradeço à linha de pesquisa ASIH, em especial aos integrantes Lorryne e Ygor, pela ajuda na parte de campo.

Aos professores Márvio Lobão Teixeira de Abreu e César Augusto Pospissil Garbossa a qual tenho uma enorme admiração e respeito, obrigada por terem participado da banca de qualificação e da banca de defesa.

Ao professor Vinícius de Souza Cantarelli, pela orientação, ao longo desses anos. Muito obrigada por todas as conversas e confiança no desenvolvimento do projeto. À professora Lucina de Paula Naves, pela coorientação, disponibilidade e conselhos.

À Fazenda São Paulo, por possibilitar a realização do projeto. A todos os funcionários da fazenda que são pessoas incríveis, que fizeram de tudo para que acontecesse da melhor forma possível. Sou muito grata a cada um de vocês!

Às empresas Animalnutri Ciência e Tecnologia e *Chr. Hansen S/A* por financiar e apoiar o projeto de pesquisa.

À Universidade Federal de Lavras e aos professores do Departamento de Zootecnia. Ao técnico do LPA Márcio Nogueira, pelo cuidado de pai que sempre teve comigo. À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

Devido à hiperproliferação das porcas modernas e a elevada exigência nutricional, estratégias nutricionais estão sendo vastamente pesquisadas e desenvolvidas, com finalidade de melhorar a eficiência produtiva. O uso de probióticos tem demonstrado um grande potencial devido às suas propriedades benéficas sobre a saúde intestinal e desempenho produtivo de porcas e suas progênes. Sendo assim, o experimento foi conduzido para avaliar os efeitos do probiótico na alimentação de 584 porcas, com 292 repetições, durante um ciclo reprodutivo, sobre o desempenho e parâmetros fisiológicos das porcas e suas leitegadas. Foi conduzido em uma granja comercial em Oliveira-MG, Brasil. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados e foram avaliados dois tratamentos dietéticos: tratamento controle, dieta basal sem probiótico e tratamento probiótico, dieta basal suplementada com 400g/tonelada do probiótico composto por *Bacillus subtilis*-541 e *Bacillus amyloliquefaciens*-516, fornecido *on top*. O consumo de ração foi avaliado durante todo o período experimental. O peso e espessura de toucinho das porcas foram mensurados na entrada e saída de cada fase. Os leitões foram pesados individualmente ao nascimento e ao desmame. Foram analisadas variáveis de desempenho e os parâmetros fisiológicos: cortisol, imunoglobulinas do colostro e do sangue, contagem bacteriana fecal, proteínas C-reativa, citocinas inflamatórias e histomorfometria ileal. Como principais resultados, as porcas do tratamento probiótico produziram maior quantidade de leite (8,388 kg/dia vs 7,736 kg/dia), tiveram maior perda corporal (8,196% vs 7,736%) e apresentaram menores níveis de cortisol pós-parto (0,600 µg/dL vs 1,110 µg/dL). Os leitões do tratamento probiótico apresentaram maior peso ao desmame (5,143 kg vs 4,812 kg), maior ganho de peso diário (188 g vs 176 g), menos mortes por esmagamento (18% vs 23,741%), menor incidência de artrite (2,081% vs 2,805), menor expressão de bactérias patogênicas (coliformes não - *E.coli*, coliformes *E.coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens*) e menor expressão de *Lactobacillus* sp. fecal ($1,3 \times 10^8$ vs $2,6 \times 10^8$), maior expressão de MPO fecal (61,273 min.gtecido⁻¹ vs 33,576 min.gtecido⁻¹) próximo ao desmame e maiores valores para medidas histomorfométricas ileal. A suplementação da ração com 400g/tonelada de probiótico durante a gestação e lactação melhora o desempenho e atua positivamente sobre parâmetros de saúde da porca e dos leitões.

Palavras-chave: Aditivo alimentar. Microbiota. Nutrição funcional. Saúde intestinal. Suinocultura.

ABSTRACT

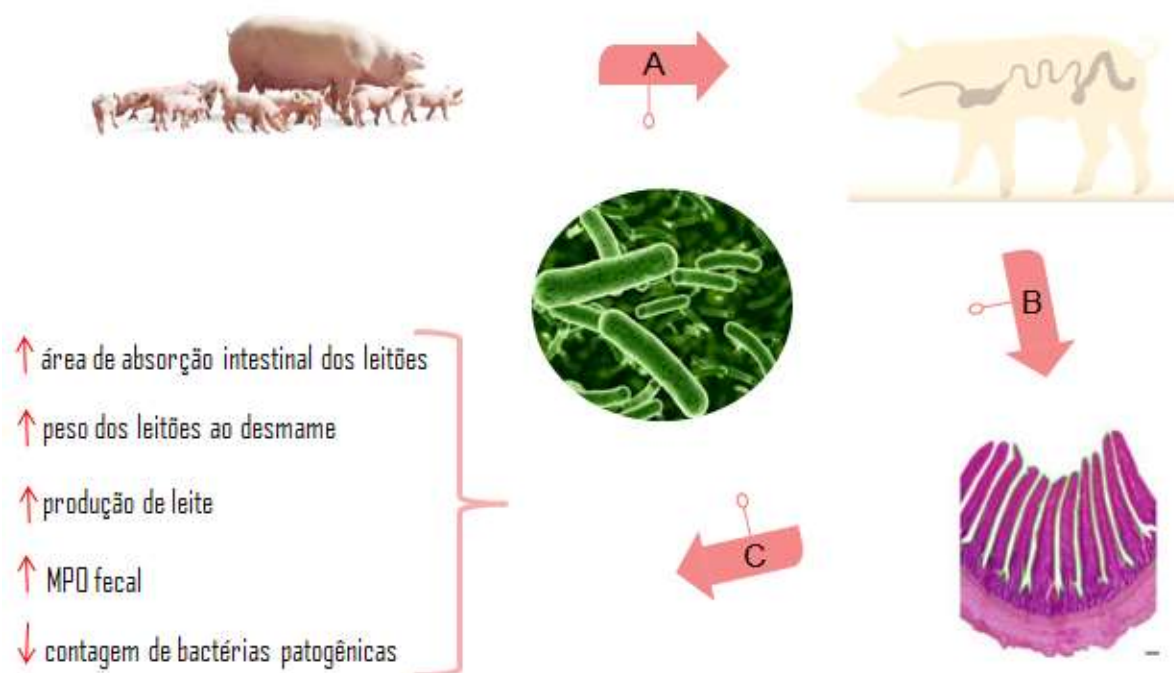
Due to the hyperprolificacy of modern sows and the high nutritional requirements, nutritional strategies are being extensively researched and developed, with the aim of improving production efficiency. The use of probiotics has demonstrated great potential due to their beneficial properties on intestinal health and productive performance of pigs and their progeny. Therefore, the experiment was conducted to evaluate the effects of probiotics in the diet of 584 sows, with 292 repetitions, during a reproductive cycle, on the performance and physiological parameters of the sows and their litters. It was conducted on a commercial farm in Oliveira-MG, Brazil. The experimental design was in randomized blocks, with two dietary treatments were evaluated: control treatment, basal diet without probiotic and probiotic treatment, basal diet supplemented with 400g/ton of probiotic composed of *Bacillus subtilis*-541 and *Bacillus amyloliquefaciens*-516, supplied *on top*. Feed consumption was evaluated throughout the experimental period. The weight and thickness of sow fat were measured at the entrance and exit of each phase. Piglets were weighed individually at birth and weaning. Performance variables and physiological parameters were analyzed: cortisol, colostrum and blood immunoglobulins, fecal bacterial count, C-reactive proteins, inflammatory cytokines and ileal histomorphometry. As main results, sows in the probiotic treatment produced a greater amount of milk (8.388 kg/day vs 7.736 kg/day), had greater body loss (8.196% vs 7.736%) and had lower postpartum cortisol levels (0.600 µg/ dL vs 1.110 µg/dL). Piglets in the probiotic treatment had greater weaning weight (5.143 kg vs 4.812 kg), greater daily weight gain (188 g vs 176 g), fewer deaths from crushing (18% vs 23.741%), lower incidence of arthritis (2.081% vs 2.805), lower expression of pathogenic bacteria (non-E.coli coliforms, E.coli coliforms, total coliforms and *Clostridium perfringens*) and lower expression of *Lactobacillus* sp. fecal (1.3×10^8 vs 2.6×10^8), higher expression of fecal MPO (61.273 vs 33.576 min.g.tissue⁻¹) close to weaning and higher values for ileal histomorphometric measurements. Feed supplementation with 400g/ton of probiotic during pregnancy and lactation improves performance and has a positive effect on the health parameters of the sow and piglets.

Keywords: Feed additive. Functional nutrition. Intestinal health. Microbiota. Swine farming.

Desempenho e parâmetros de saúde de matrizes suínas e de suas leitegadas com o uso de probiótico composto de *Bacillus subtilis*-541 e *Bacillus amyloliquefaciens*-516
Elaborado por **Aline Maria Silva Barbosa** e orientada por **Profº Drº Vinícius de Souza Cantarelli**

Esta dissertação aborda uma temática de grande interesse na suinocultura. Trata-se da suplementação probiótica (*Bacillus subtilis*-541 e *Bacillus amyloliquefaciens*-516) na ração de porcas. Foi realizado ensaio *in vivo* para obtenção de dados produtivos e reprodutivos de porcas e suas respectivas leitegadas durante um ciclo reprodutivo. Para as porcas foram mensurados os pesos na entrada e saída de cada fase, bem como espessura de toucinho. Os leitões foram pesados ao nascimento e ao desmame. Foram feitas análises sanguínea para mensuração de imunoglobulinas e proteína C-reativa, imunoglobulinas do colostro contagem bacteriana e mieloperoxidase fecal, histomorfologia intestinal dos leitões, análise de citocinas ileal e mensuração de cortisol salivar. Constatamos que, a suplementação probiótica para as porcas durante um ciclo reprodutivo teve um impacto positivo nos índices zootécnicos, como maior peso ao desmame dos leitões e maior produção de leite. E, os animais do tratamento probiótico apresentaram melhores parâmetros de saúde, as porcas apresentaram menores índices de cortisol pós-parto e os leitões apresentaram uma maior área de absorção intestinal, otimizando a digestão dos nutrientes presentes na dieta.

Representação esquemática



A) porcas e leitões alimentados com tratamento com probiótico; B) análise histomorfométrica ileal; C) principais resultados obtidos de análises.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2 - Classificação do escore de fezes dos leitões lactentes.....	41
Figura 3 - Efeito da adição do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes na histomorfometria ileal de leitões aos 18 dias de vida.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ingredientes e composição nutricional das dietas basais para fêmeas suínas na fase de gestação e lactação.	36
Tabela 2 – Ingredientes e composição nutricional da dieta basal de leitões lactentes.	38
Tabela 3 – Desempenho das porcas alimentadas com probiótico durante a gestação e lactação.	45
Tabela 4 – Impacto da dieta probiótica nas fases de gestação e lactação sobre o desempenho dos leitões.	46
Tabela 5 - Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre a mortalidade, remoção, medicamento e diarreia dos leitões e porcas.	47
Tabela 6 – Níveis de cortisol salivar em porcas alimentadas com probiótico durante as fases de gestação e lactação.	48
Tabela 7 – Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre as concentrações de imunoglobulinas e proteína C-Reativa de leitões.	48
Tabela 8 – Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre a contagem bactéria e MPO nas fezes de leitões.	49
Tabela 9 - Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre as citocinas de superfície de mucosa ileal e histomorfometria ileal de leitões aos 18 dias de vida.	50

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	11
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Gestação da fêmea suína	12
2.2 Lactação da fêmea suína e sua importância na suinocultura	13
2.3 Características dos leitões ao nascimento	15
2.4 Uso de probióticos na suinocultura	16
2.5 Uso de probióticos do gênero <i>Bacillus</i> na alimentação animal (2,4)	19
2.6 Mecanismos de ação dos probióticos do gênero <i>Bacillus</i>	20
2.7 Relação do uso de probióticos e estresse.....	21
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
CAPÍTULO II.....	32
ARTIGO.....	32

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

No sistema de produção de suínos, a nutrição é um fator essencial para manutenção da saúde e para o máximo desempenho animal. Na suinocultura, o uso de antibióticos sempre foi comumente utilizado. Contudo, o uso indiscriminado dessas substâncias pode ocasionar uma possível resistência bacteriana tanto para os animais quanto aos seres humanos. Por esse motivo, o uso de alguns antimicrobianos como colistina, tilosina e tiamulina, com finalidade de aditivos melhoradores de desempenho foram proibidos no sistema de produção animal. Diante desse cenário, políticas do uso correto de antibióticos vêm sendo implantadas e medidas alternativas ao seu uso vêm sendo vastamente pesquisadas.

O surgimento e aplicação de novas tecnologias nutricionais buscam preservar a saúde e o bem-estar dos animais, tornando-os mais resilientes frente aos desafios em que são expostos, tais como ambiental e sanitário. Dentre as tecnologias aplicadas atualmente, na nutrição de suínos, o uso de probióticos tem ganhado destaque devido a sua ação benéfica na fisiologia e como potencial agente na diminuição do estresse. Os probióticos são microorganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Nas duas últimas décadas, houve um aumento do uso de probióticos, principalmente do gênero *Bacillus*, devido a sua atividade metabólica no intestino, que fortalece a função de barreira e preserva a integridade intestinal.

A suinocultura busca maximizar o potencial reprodutivo das matrizes suínas, como maior número de leitões desmamados por parto, e para se obter esse índice, a nutrição da fêmea é um dos principais fatores que afeta o desenvolvimento e sobrevivência dos embriões e dos fetos. Com isso, o uso de probióticos é uma estratégia interessante, pois atua sobre o microbioma intestinal, favorecendo bactérias benéficas e atuando de forma competitiva com bactérias patogênicas, produzindo melhorias significativas na saúde intestinal e desempenho produtivo. Os probióticos atuam sobre a modulação do sistema imunológico da fêmea, que reflete na imunidade da leitegada que é passada via colostro, onde adquirem anticorpos.

No ciclo reprodutivo da fêmea suína, a gestação é um período com diferentes exigências nutricionais, à medida que os fetos vão se desenvolvendo há aumento da demanda por nutrientes oriundos da ração e há, também, demanda de nutrientes para o desenvolvimento do complexo mamário. A lactação é um período de constante desgaste para a matriz, pois

ocorre mobilização corporal para a produção de leite a fim de atender as necessidades dos leitões lactentes. Considerando os papéis funcionais dos probióticos à base de *Bacillus* o seu uso torna-se uma ferramenta com alto potencial de atenuar os efeitos negativos em fases desafiadoras como é a gestação e lactação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gestação da fêmea suína

A gestação é o período entre o momento da fecundação até o parto, que na espécie suína tem duração média 115 dias. Porém as fêmeas têm sido selecionadas para aumento no número de leitões nascidos (BAXTER et al., 2020; KOBK-KJELDAGER et al., 2020). Observa-se uma tendência para o aumento da duração da gestação na espécie. Isto se deve ao fato de que, ao contrário das demais espécies múltiparas (como ratos e ovelhas) ou uníparas com múltiplos fetos, nas quais acontece a aceleração na maturação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal fetal, elevando os níveis de cortisol fetal que atingem o útero e antecipam o processo de parto (VAN DIJK et al., 2005), no suíno o número de fetos não é inversamente proporcional à duração da gestação (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Na realidade, o aumento nos dias gestacionais surge como uma ferramenta para amenizar o baixo peso individual ao nascimento (DEARLOVE et al., 2018), pois o acréscimo de cada dia gestacional entre o 113 e 118 dias permite um ganho adicional de aproximadamente 68 gramas, assim sendo, a estratégia é permitir o início do parto naturalmente mais tardio (KEMP; DA SILVA; SOEDE, 2018) ficando a indução restrita apenas a matrizes com gestação de risco (PINILLA et al., 2008), incrementando em um ou dois dias a média da gestação.

Desde o momento da concepção até o parto, as exigências nutricionais da fêmea são alteradas, tendo em vista que cada etapa destina nutrientes para determinados processos do desenvolvimento fetal (MALLMANN et al., 2019). Para cumprir o objetivo final de gerar leitões saudáveis através de gestações sucessivas, a matriz suína deve completar uma série de estágios que incluem: recuperação da lactação anterior, recuperação da condição corporal, retorno ao ciclo estral normal, maturação adequada de oócitos e desenvolvimento do concepto e crescimento fetal (WANG et al., 2017).

Apesar das mudanças diárias nas necessidades (FERREIRA et al., 2021; GAILLARD; DOURMAD, 2022), dois períodos distintos podem ser identificados por suas marcas

especificidades na exigência de aminoácidos, sendo 0 a 70-85 dias e 85 ao parto (ABCS, 2014; ROSTAGNO et al., 2017). No terço inicial e médio ocorre a reposição dos tecidos e estabelecimento da placenta por volta do 30º dia (DANTZER, 1985) e a angiogênese se mantém ativa até o final do terço médio da gestação (FIORIMANTI et al., 2022). A nutrição materna neste momento pode ainda influenciar na proporção de fibras musculares da progênie, refletindo no crescimento pós-natal e desempenho subsequente (MALLMANN et al., 2019; NISSEN et al., 2005).

Em contrapartida, o terço final (85 dias até o parto) tem como destino principal dos nutrientes a demanda para crescimento fetal, além de garantir a manutenção da condição corporal da matriz durante a lactação (KIM, 2010; SEOANE et al., 2020). Neste sentido, uma série de pesquisas buscaram a melhoria nos índices produtivos de leitões através de estratégias nutricionais para a fêmea, como o uso de ácidos graxos (CRAIG et al., 2019), aminoácidos (AZAD et al., 2018; HONG et al., 2020; ZHOU et al., 2022) e níveis de alimentação (MALLMANN et al., 2018).

2.2 Lactação da fêmea suína e sua importância na suinocultura

O consumo de alimento pela matriz é um dos principais desafios para os nutricionistas, isso devido à alta demanda de nutrientes, durante o período de lactação, portanto, há a necessidade de uma dieta balanceada para o estágio de produção específico (MOREIRA, 2014). Conhecer o padrão de consumo de ração durante a lactação é crucial, pois permite antecipar possíveis problemas e maximizar seu desempenho (RODRÍGUEZ et al., 2023). As fêmeas hiperprolíficas possuem um elevado número de leitões nascidos vivos e maior capacidade de produção de leite. Todavia, possuem um baixo apetite, por isso devemos buscar uma maior ingestão de nutrientes, para o atendimento do elevado número de leitões que essas fêmeas necessitam amamentar (YAGÜE, 2019).

Durante a fase de lactação, o complexo mamário deve se desenvolver para realizar a produção de leite e apoiar o crescimento dos leitões, e é por isso também que as porcas aumentam a carga metabólica durante essa fase (BERCHIERI-RONCHI et al., 2011). Em razão desse aumento da carga metabólica, pode ocasionar alguns problemas, como uma elevada produção de espécies reativas de oxigênio que, quando em desequilíbrio, causam estresse oxidativo (SILVA, 2020)

A fase de lactação também tem impacto sobre a condição corporal da fêmea, e relacionase diretamente ao ciclo anterior e ao desempenho reprodutivo dos ciclos seguintes.

Muitas fêmeas passam por catabolismo durante o período de lactação para manter a produção de leite, isso ocorre quando a fêmea não consegue aumentar o consumo de ração na mesma proporção que a produção de leite aumenta (STRATHE et al., 2017). Também podem ocorrer problemas no desenvolvimento da glândula mamária, redução na produção de leite e, conseqüentemente, diminuição da qualidade dos leitões (SILVA, 2020).

O desenvolvimento da glândula mamária e a produção de leite nas porcas são fatores importantes para a saúde e produtividade, mas também para o desenvolvimento adequado da prole (GRAHOFER e PLUSH, 2023). A glândula mamária dos suínos tem pouca capacidade de armazenamento, devido às cisternas serem relativamente pequenas. O parênquima mamário das porcas é composto por 80% de células epiteliais, responsáveis pela produção de leite, e, 20% células estromais, que são células do tecido conjuntivo, com função de suporte (TROTIER, 2015).

As glândulas do tecido mamário são divididas em torácicas, abdominais e inguinais. Segundo Farmer (2018), a quantidade de nutrientes disponíveis para o desenvolvimento do tecido mamário, depende das concentrações de nutrientes disponíveis no sangue e, também, da sua taxa de fluxo, ou seja, circulação sanguínea para as glândulas. De acordo com De Paula (2019) quando uma maior quantidade de sangue chega até a glândula mamária, a disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento e manutenção da glândula mamária aumenta, assim como a quantidade de nutrientes disponíveis para a síntese de leite.

O colostro contém anticorpos maternos e células imunologicamente ativas essenciais para a sobrevivência dos leitões. Os leitões recém-nascidos podem absorver e usar diretamente essas substâncias, desse modo, o colostro é vital para os leitões em lactação (WU et al., 2023). O colostro e o leite são as principais fontes de nutrição para os neonatos, eles podem ter um impacto profundo nos leitões a curto e longo prazo, por meio de processos fisiológicos (YAO et al., (2023).

A remoção do leite da glândula é um fator primário para a produção de leite, de forma que as características da leitegada influenciam no potencial produtivo e desenvolvimento das glândulas. Dessa forma leitões leves podem exercer baixo estímulo de sucção e subdesenvolvimento do tecido na fase de lactação. Além de todo aspecto funcional do colostro e do leite eles também são fonte de energia, a falha em consumir uma quantidade suficiente de energia é um fator que contribui para a mortalidade neonatal dos leitões. (MENDES, 2023).

2.3 Características dos leitões ao nascimento

Os leitões podem ser classificados de acordo com o peso ao nascimento, normalmente são divididos em leves, médios e pesados. MADSEN e BEE (2014) categorizaram como leitões leves quando estavam entre 0,8 e 1,3 kg, leitões de peso médio entre 1,3 a 1,7 kg e leitões pesados, os que apresentaram peso superior a 1,7 kg. Em um estudo feito por Liu et al., (2014), os autores usaram duas formas de classificação, leitões de peso leve (LPL) e leitões de peso normal (LPN). Todos os leitões foram pesados ao nascimento, em seguida foi calculada a média da leitegada, os leitões com peso superior à média da leitegada foram considerados LPN e, leitões com dois desvios padrão abaixo do peso médio foram classificados como LPL.

De forma semelhante, os pesquisadores Smit et al., (2013) usaram duas formas para classificar os leitões, de acordo com o peso ao nascimento. Após obter a média da leitegada, os leitões que apresentaram peso superior a um desvio padrão acima da média eram considerados pesados, os que apresentaram mais de um desvio abaixo da média, leitões leves. Contudo, existem conflitos entre os autores relacionando o peso e a qual classe ele se enquadra.

Durante a gestação podem acontecer falhas reprodutivas infecciosas e não infecciosas que causam o processo de mumificação, originando os leitões mumificados (ZANELLA et al., 2007). Os mesmo autores ressaltam que as infecções pelo Parvovírus suíno, *Leptospira* sp. e Enterovírus estão entre as principais causas infecciosas. A parvovirose em suínos tem importância reprodutiva, pois causa morte embrionária, fetos mumificados e poucos leitões por leitegada. Esse vírus tem predileção por tecidos em multiplicação, o que fundamenta a infecção dos fetos. Para Bortolozzo (2012), a falta de espaço uterino como possível causa de morte, relacionando com o número de leitões por leitegada, seria a principal causa não infecciosa de leitões mumificados.

No decorrer da gestação, alguns leitões possuem um crescimento intrauterino retardado, sendo então caracterizados como CIUR. De acordo com Wang et al., (2008) a privação de nutrientes na vida intrauterina pode alterar o metabolismo fetal para assegurar a sobrevivência, levando a alterações permanentes na estrutura, fisiologia e metabolismo. Com isso, os leitões CIUR apresentam uma taxa de crescimento inferior a leitões normais. Segundo Wu et al., (2006) o retardo do crescimento intrauterino é uma condição em que o feto não atinge seu potencial de crescimento durante a gestação, levando ao baixo peso ao nascimento.

Os autores Lynegaard et al., (2020) afirmaram que com o aumento do número de leitões por parto, houve um acréscimo de leitões leves submetidos à restrição de crescimento

intrauterino. Os autores ainda ressaltam que os leitões CIUR podem ser identificados em fazendas de acordo com o formato da cabeça. Eles apresentam três características marcantes: a) o formato da testa é íngreme, semelhante a um golfinho; b) olhos esbugalhados e c) rugas perpendiculares à boca (CHEVAUX et al. 2010 e HALES et al. 2013).

Já no momento do parto, os anexos embrionários de alguns leitões não são rompidos, e quando não há assistência humana para retirar o leitão ele morre por asfixia. Outro fator que pode acarretar a morte é a presença de fluidos na cavidade oral e nasal, impedindo a passagem do ar, caracterizando o leitão como morto ao nascer. E, por fim, os leitões natimortos. Segundo os autores Sprecher et al., (1974), os leitões natimortos podem ser classificados em dois tipos, I e II. Natimorto tipo I, incluem os fetos que morreram antes do final da gestação, geralmente por causas infecciosas e, natimorto tipo II, são animais que morreram durante o parto, que são associados à asfíxia intrauterina e partos distócicos.

2.4 Uso de probióticos na suinocultura

Os pesquisadores Chalvon-Demersay et al., (2021) ressaltam que nos animais monogástricos, um dos principais interesses é a relação entre nutrição e saúde intestinal, principalmente no intestino delgado. E que essa relação se mantém em quatro pilares interconectados, são eles: função de barreira e absorção; aptidão imunológica intestinal; homeostase do estresse oxidativo e equilíbrio da microbiota, que precisam ser controlados para uma saúde intestinal adequada. As cepas de *Bacillus* aplicadas como probióticos têm vários modos de ação que podem afetar um ou mais dos pilares mencionados.

Nas últimas décadas, o interesse nas cepas de *Bacillus* como probiótico aumentou intensivamente e várias aplicações foram estudadas em suínos e aves (MINGMONGKOLCHAI e PANBANGRED, 2018; LI et al., 2019, 2021; DING et al., 2021). A espécie *B. subtilis* tem sido uma das mais examinadas para uso como probiótico, tanto em humanos quanto em animais (CUTTING, 2011; LUISE et al., 2019; TAN; LIM e BOONTIAM, 2020). Já a espécie *B. amyloliquefaciens* possui muitos genes homólogos à *B. subtilis*, e foi atribuído como possível probiótico para suínos, pois mostrou um aumento no peso corporal juntamente com uma diminuição nas condições diarreicas em leitões (DHUMAL; CHAUDHARI; MOHAN, 2021).

Um estudo conduzido por Tsukahara et al., (2018) investigou a suplementação de um composto probiótico (*B. mesentericus*, *Clostridium butyricum* (*Cl. Butyricum*) e *Enterococcus faecalis* (*Ent. faecalis*) sobre o desempenho reprodutivo de porcas infectadas com o vírus de

diarréia epidêmica suína, durante o terço final de gestação e primeira semana de lactação. Foi comprovado que as fêmeas que receberam o composto probiótico tiveram o sistema imunológico fortalecido, aumentando significativamente a concentração de IgA e IgG no leite. Houve melhora no desempenho reprodutivo, diminuindo o intervalo desmame cio, maior peso ao nascimento dos leitões e menor mortalidade até o desmame.

A resposta no sistema imunológico ao uso de probióticos para fêmeas em gestação foi estudada por Li et al., (2020), que encontraram efeitos positivos sobre o desempenho reprodutivo, equilíbrio da microbiota intestinal e imunidade das fêmeas, que ao final do estudo apresentaram maior concentração sérica de imunoglobulinas G e A. Da mesma forma, (LASKOWSKA; JAROSZ; GRĄDZKI, 2019) encontraram maiores concentrações de citocinas pró-inflamatórias no sangue periférico e colostro de fêmeas alimentadas com uma formulação probiótica multimicrobiana, conferindo maior capacidade protetora do colostro contra infecções neonatais.

KONIECZKA et al., (2023) pesquisaram o efeito do uso de *B. subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516 sobre o desempenho e parâmetros de saúde de porcas e suas progênes durante um ciclo reprodutivo. As porcas do tratamento probiótico apresentaram melhores resultados para variáveis de desempenho, menor perda de espessura de toucinho e peso corporal durante a lactação. Houve uma tendência no aumento do peso ao desmame dos leitões do tratamento probiótico. As porcas desse mesmo tratamento apresentaram maior produção de IgG no sangue. Da mesma forma, os leitões tiveram aumento dos níveis de IgM no sangue e mucosa ileal e apresentaram mucosa ileal mais espessa, devido às vilosidades mais longas e placas de Payer maiores.

Em uma pesquisa semelhante, Salagrias-García et al., (2022), avaliaram o uso de *B. subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516 na alimentação de fêmeas suínas e suas progênes durante três ciclos reprodutivos. As fêmeas que foram suplementadas com ambos os probióticos, tiveram maior número de leitões nascidos totais e, as porcas do tratamento *B. amyloliquefaciens* tiveram maior número de nascidos vivos e desmamados. Além de apresentar altas correlações entre as composições da microbiota de porcas e seus leitões após o desmame, evidenciando a colonização.

KIM et al., (2019) avaliaram a suplementação de *B. subtilis* DSM 25841 em leitões desmamados e desafiados com *E.coli* F18. Os resultados deste estudo indicaram que a suplementação alimentar de *Bacillus* aumentou a taxa de crescimento de suínos infectados com a bactéria patogênica, melhorando a integridade intestinal e diminuindo a permeabilidade

intestinal. Os resultados reforçam as características dos bacilos quanto ao aumento da degradação de fibras no trato intestinal e ao aumento da população de microorganismos benéficos, que competem por sítios de ligação, reduzindo a proliferação de patógenos.

O uso do probiótico *B. amyloliquefaciens* SC06, e sua atuação sobre desempenho zootécnico e a incidência de diarreia em leitões desmamados, foi investigado por Ji et al., (2013). Os animais que foram suplementados com o probiótico apresentaram maior peso corporal ao final do experimento, maior ganho de peso diário, e menor incidência de diarreia. Os autores ressaltaram que o tratamento com *B. amyloliquefaciens* poderia inibir as respostas pró-inflamatórias induzidas pela bactéria *E.coli*, através da supressão das vias de sinalização MAPK nas células epiteliais intestinais, justificando a diminuição da incidência de diarreia dos leitões suplementados com *B. amyloliquefaciens*.

VAN der PEET-SCHWERING et al., (2020) conduziram um estudo com suínos nas fases de crescimento e terminação utilizando um probiótico composto por *B. amyloliquefaciens* DSM 25840 e *B. DSM 32324* a fim de avaliar o desempenho e saúde dos animais. Os animais do tratamento probiótico apresentaram melhores resultados para conversão alimentar e ganho de peso diário. Além disso, os animais do tratamento probiótico tiveram um número menor de casos de ileíte.

Apesar dos estudos apontarem uma série de benefícios após a utilização dos probióticos, quando avaliado desempenho dos leitões encontram-se algumas divergências. CHANCE et al., (2022a) e Menegat et al., (2019), não observaram efeito significativo no peso ao nascimento. Já, Zhang et al., (2020), apesar de relatar um maior número de nascidos, encontrou um menor peso ao nascimento dos leitões provenientes de fêmeas alimentadas com probióticos durante o fim da gestação, porém, ao desmame este grupo passou a ser o mais pesado. Em contrapartida, outros autores demonstraram que o grupo tratado com probióticos era estatisticamente mais pesado ao nascimento que os grupos controle (CHANCE et al., 2022a; DOMINGOS et al., 2021; HU et al., 2021; LIU et al., 2020).

O uso das cepas 541 (*B. subtilis*) e 516 (*B. amyloliquefaciens*) são consideradas adequadas para alimentação de acordo com avaliação feita pela Autoridade Europeia em Segurança dos Alimentos (EFSA) (BAMPIDIS et al., 2019a, 2021; DHUMAL et al., 2021). Apesar das avaliações positivas emitidas pela EFSA quanto à segurança e potencial eficácia para utilização das espécies *B. subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516, o uso em fêmeas suínas reprodutoras durante um ciclo completo foi pouco relatado. Diante do exposto, tornam-

se necessários estudos que avaliem estas cepas sob o desempenho e saúde desta categoria animal e seus impactos na prole.

2.5 Uso de probióticos do gênero *Bacillus* na alimentação animal (2,4)

Com o objetivo de melhorar o desempenho e a saúde dos animais, muitos esforços vêm sendo realizados nos últimos anos. A busca por aditivos nutricionais seguros e eficientes são impulsionados principalmente pela demanda de retirada dos antibióticos usados com esta finalidade (World Health Organization - WHO, 2015). Neste contexto, os probióticos surgem como uma alternativa promissora devido a sua capacidade de melhorar a resposta imunológica, manutenção da saúde intestinal e melhora na eficiência nutricional (PEREIRA et al., 2022). Os probióticos são microrganismos viáveis, bactérias ou leveduras, que quando ingeridos em quantidade suficiente podem exercer efeitos positivos no estado de saúde do hospedeiro (CUTTING, 2011).

Dos diferentes probióticos disponíveis comercialmente, muitas cepas de *Bacillus* spp. estão sendo usadas atualmente como probióticos para animais monogástricos. Os bacilos são bactérias gram-positivas, catalase-positivas, formadoras de esporos, aeróbias e anaeróbias facultativas, o que as distingue dos clostrídios e esporolactobacilos. As espécies de *Bacillus* que foram mais exploradas como probióticos, para animais monogástricos, foram mais comumente isoladas do solo e do trato gastrointestinal de animais, sendo elas: *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*), *B. lincheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis* e *B. cereus* (LUISE et al., 2022).

Os probióticos podem ser empregados de forma individual ou por meio da combinação de diferentes estirpes microbianas buscando ampliação dos efeitos benéficos (Food and Drug Administration - FDA e WHO, 2006). Por serem formadores de esporos, os *Bacillus* sp. são especialmente interessantes para a nutrição animal, pois, sendo estáveis ao calor têm várias vantagens sobre outros não formadores de esporos, como a resistência ao processamento de ração (ou seja, peletização e extrusão), (KIM et al., 2019). Uma segunda vantagem é que o esporo é capaz de sobreviver ao baixo pH da barreira gástrica, mantendo sua atividade ao longo do intestino (CUTTING, 2011).

2.6 Mecanismos de ação dos probióticos do gênero *Bacillus*

Por meio de uma série de mecanismos distintos, os probióticos podem atuar na exclusão competitiva de patógenos, modulação das respostas imunes do hospedeiro, produção de compostos antimicrobianos, inativação de enterotoxinas e manutenção da integridade da barreira intestinal (DUBREUIL, 2017; KIM et al., 2019). Os probióticos podem proteger o epitélio competindo com bactérias patogênicas por nutrientes e locais de absorção (MALAGO e KONINKX, 2011).

Um modo de ação pelo qual as cepas de *Bacillus* podem melhorar o desempenho do crescimento dos animais pode ser atribuído à produção de enzimas extracelulares, vitaminas e peptídeos que podem melhorar a digestibilidade dos nutrientes, indiretamente promover o crescimento e modular a abundância de bactérias comensais e benéficas no intestino (LUISE et al., 2022). Segundo os autores Elshagabee et al., (2017), a maioria das cepas de *Bacillus*, incluindo *B. coagulans*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. cereus*, poderia produzir enzimas capazes de degradar hidratos de carbono (α -amilase, β -amilase, arabinase, celulase, quitinase, quitosanase, dextranase e galactanase), peptídeos (aminopeptidase, esterase e serina proteases) e lipídeos (fosfolipase C). Implicando assim, em melhor aproveitamento dos alimentos, uma vez que há aumento na atividade de enzimas digestivas.

Para os autores, Mohammed et al., (2014) e Tanaka et al., (2014) a melhor digestão dos alimentos e capacidade de absorção de nutrientes também são indiretamente devidas ao efeito imunoestimulatório das cepas de *Bacillus*, bem como ao controle do estresse oxidativo, que pode melhorar significativamente a morfologia intestinal. Além disso, as cepas de *Bacillus* podem produzir vitaminas do grupo B, incluindo cobalamina (B₁₂) e inositol (B₇). De acordo com os autores Xu et al., (2012), *B. subtilis* promove ativação de macrófagos e a indução de citocinas pró-inflamatórias. A ativação ocorre devido ao aumento da expressão de enzimas lisossômicas (lactato desidrogenase, β -glucuronidase) e atividades de enzimas citoplasmáticas (fosfatase ácida) presentes nas células dos macrófagos. Essas enzimas então intimamente envolvidas na função fagocítica de eliminação de partículas estranhas.

Bactérias do gênero *Bacillus* possuem capacidade de síntese de enzimas antioxidantes, que atuam como sequestradores de radicais livres, protegendo as células contra danos oxidativos. Os autores Bai et al., (2017) encontraram maior atividade de superóxido dismutase, glutatona peroxidase, glutatona redutase no soro e fígado de frangos de corte, resultando em uma redução no conteúdo de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias hepáticas. ZHAO et al., (2020) encontraram resultados semelhante em relação à maior

atividade de enzimas antioxidantes em um estudo feito com frangos de corte desafiados com enterite necrótica subclínica, quando suplementados com probiótico do gênero *Bacillus*.

Outro meio de atuação dos *Bacillus* é a inibição direta de patógenos. Essas bactérias são capazes de produzir enzimas que atuam contra a parede celular de bactérias patogênicas, como a elastase e endopeptidases. Os *Bacillus* possuem propriedades antifúngicas e antibióticas como lipopetídeos surfactantes (surfactina e iturina), fengicinas e bacilomicinas, que causam a lise de bactérias indesejadas na microbiota intestinal. Além das propriedades mencionadas, Miller e Bassler (2001), ressaltaram que além da produção de bacteriocinas e moléculas antimicrobianas, os probióticos à base de *Bacillus* podem atuar na modulação de seus genes virulentos. Essas bactérias produzem moléculas sinalizadoras (autoindutoras) que induzem uma resposta em alta densidade celular via ativação da expressão gênica, processo chamado de *quorum sensing*.

Segundo Ding et al., (2021), a inclusão de *B. subtilis* na alimentação de leitões na fase de creche e terminação favorece a colonização de bactérias benéficas como os *Lactobacillus*, *Leucobacter*, *Bifidobacteria*, *Megasphaera*, *Coprococcus* e *Prevotella*. Diante dessas vias de atuação, os probióticos promovem a eubiose intestinal, através da colonização do trato gastrointestinal por meio de bactérias comensais e não patogênicas, pela modulação do ambiente intestinal.

2.7 Relação do uso de probióticos e estresse

Na produção de suínos existem muitas situações estressantes a qual os animais são expostos. Tais como: mudanças ambientais, mistura de lotes, manejos de vacinação, momento do parto, desmame e transporte para abatedouro. Nesses momentos, ocorre a ativação do eixo hipotálamo – hipófise - adrenal (HHA) que é o sistema responsável pela resposta ao estresse no corpo. Resulta em um aumento na produção e liberação de cortisol que age em vários tecidos do organismo (JURUENA et al., 2004).

O hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotrofina, que estimula a hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico que atua nas glândulas adrenais que estimula a secreção de cortisol. O cortisol é um hormônio esteroide que atua em resposta ao estresse. Algumas funções desempenhadas pelo cortisol são a regulação do metabolismo, resposta imune e adaptação ao estresse (JURUENA et al., 2004).

Diante disso, busca-se alternativas a fim de proporcionar o bem estar animal durante todas as fases de criação dos animais. Além de enriquecimento ambiental, que tem sido

vastamente utilizado em granjas comerciais, a fim de diminuir os níveis de estresse, muitos aditivos vem sendo pesquisados para melhorar o bem estar animal através da nutrição. Existem pesquisas que indicam que os probióticos podem estar relacionados à redução do estresse em animais. Os probióticos podem ajudar a regular a produção de hormônios do estresse, como o cortisol, e reduzir a resposta do eixo HHA a situações estressantes.

Um estudo desenvolvido por Yang et al., (2020) avaliou a suplementação de um probiótico à base de *Lactobacillus* (*L. reuteri* 260178 e *L. salivarius* MH 517354) em leitões durante o pré e pós desmame. Quando avaliados os níveis de cortisol plasmático, os animais que foram suplementados com o probiótico apresentaram menores níveis do hormônio, em relação aos animais que não receberam o probiótico. Segundo os autores, a eficácia do probiótico para a diminuição do estresse, possivelmente é devido à colonização da *L. reuteri* e *L. salivarius* na mucosa intestinal, que reduziu a inflamação do patógeno e otimizou a estrutura bacteriana comensal, que aliviou o estresse e aumentou a imunidade e antioxidação.

UPADHAYA et al., (2017) avaliaram o uso de um probiótico à base de *Bacillus* em leitões desmamados e desafiados com *Salmonella Typhimurium*. Os leitões dos tratamentos que continham o probiótico (*B. subtilis* RX7 e *B. methylotriphycus* C14) apresentaram menores níveis de cortisol e haptoglobina séricos quando comparados aos animais que não receberam a alimentação com *Bacillus*. Os autores ressaltaram que os resultados possivelmente estão associados aos efeitos imunomoduladores dos probióticos.

LIU et al., (2020) avaliaram o uso do probiótico *Pediococcus acidilactici* ZPA017 em fêmeas suínas no final da gestação e durante a lactação. As fêmeas do tratamento probiótico apresentaram menores concentrações de haptoglobina. Os autores afirmam que a redução nas concentrações dessa proteína de fase aguda é um parâmetro importante em animais suplementados com probióticos, sendo um indicador de bem-estar animal. Uma vez que alta concentração de haptoglobina indica algum distúrbio fisiológico, como dano tecidual, infecções ou estresse.

Probióticos à base de leveduras vivas derivados de *Saccharomyces cerevisiae* têm capacidade imunomoduladoras, com efeitos positivos direta e indiretamente no sistema imunológico quando aplicados na alimentação de porcas na fase final de gestação e período lactacional. Melhora a composição do colostro e parâmetros relacionados à função hepática e imunidade, mitigando assim, efeitos negativos associados ao estresse (PENG et al., 2020).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os probióticos são importantes ferramentas nutricionais pois têm capacidade de colonizar o trato gastrointestinal. Isso ajuda a equilibrar a microbiota intestinal, o que é crucial para uma digestão eficaz. As bactérias probióticas ajudam na quebra dos nutrientes advindos da ingestão da ração, melhorando a absorção de vitaminas e minerais.

As espécies do gênero *Bacillus* melhoram o desempenho zootécnico, estimulam o sistema imune e previnem infecções por microorganismos patogênicos. Diante sua funcionalidade no organismo, seu uso torna-se uma ferramenta nutricional aliada ao sistema de produção de suínos. O mecanismo de ação dos probióticos envolve a regulação da microbiota por meio de exclusão competitiva e tem capacidade de competir por sítios de ligação com bactérias patogênicas, como *E. coli* e *Clostridium perfringens*, que causam diarreia.

Contudo, existem poucos relatos na literatura associando o uso de *B. subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516, como um único probiótico na alimentação de fêmeas suínas, no período de um ciclo reprodutivo. Fazendo-se necessário uma investigação sobre o seu uso e suas implicações sobre o desempenho e parâmetros de saúde sobre as fêmeas e suas leitegadas.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE SUÍNOS (ABCS). **Produção de suínos: Teoria e prática**. 1. ed. Brasília: Coordenação técnica da Integrall Soluções em Produção Animal, 2014.

AZAD, M. A. K. et al. Effects of different methionine levels on offspring piglets during late gestation and lactation. **Food and Function**, v. 9, n. 11, p. 5843–5854, 2018.

BAI, K. et al. (2017). Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96, p.74–82, 2017.

BAMPIDIS, V. et al. Safety and efficacy of EB15 10 (*Bacillus subtilis* DSM 25841) as a feed additive for piglets (suckling and weaned), pigs for fattening, sows in order to have benefits in piglets, sows for reproduction and minor porcine species. **EFSA Journal**, v. 17, n. 11, 2019a.

BAMPIDIS, V. et al. Safety and efficacy of ZM16 10 (*Bacillus amyloliquefaciens* DSM 25840) as a feed additive for sows in order to have benefits in piglets, sows for reproduction, piglets (suckling and weaned), pigs for fattening and minor porcine species. **EFSA Journal**, v. 17, n. 11, p. 1–10, 2019b.

BAMPIDIS, V. et al. Safety and efficacy of EB15 10 (*Bacillus subtilis* DSM 25841) as a feed additive for piglets (suckling and weaned), pigs for fattening, sows in order to have benefits in piglets, sows for reproduction and minor porcine species. **EFSA Journal**, v. 17, n. 11, p. 1– 10, 2019c.

BAMPIDIS, V. et al. Safety and efficacy of an additive consisting of *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 25840 for all animal species (Chr. Hansen A/S). **EFSA Journal**, v. 19, n. 4, p. 1–9, 2021.

BAXTER, E. M. et al. Managing the litter from hyperprolific sows. In: CHANTAL FARMER (Ed.). . The suckling and weaned piglet. Tjele, Denmark: Wageningen **Academic Publishers**. v. 3012p. 219–238, 2020.

BERCHIERI-RONCHI, C. B. et al. Oxidative stress status of highly prolific sows during gestation and lactation. **Animal**, v.5, n.11, p.1774-1779, 2011.

BORTOLOZZO, F. P.; GAGGINI, T. S.; FERRARI, C. V. & WENTZ, I. Leitões mumificados em um sistema de produção: como interpretar e enfrentar diferentes desafios? **VII SINSUI – Simpósio Internacional de Suinocultura**. Porto Alegre-RS – Maio de 2012.

BRIDI, A. M.; SILVA, C. A. **Métodos de Avaliação da Carcaça e da Carne Suína**. Londrina: Midiograf, p. 92, 2007.

CASEY, G. et al. A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and

alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 6, p. 1858-1863, 2007.

CHANCE, J. A. et al. Influence of yeast-based pre- and probiotics in lactation and nursery diets on nursery pig performance and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli*. **Journal of Animal Science**, 2022a.

CHANCE, J. A. et al. Effects of yeast-based pre- and probiotics in lactation diets of sows on litter performance and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* of sows. **Journal of Animal Science**, 7 maio 2022b.

CHAUVON-DEMERSAY, T, et al. Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health. **Frontier Veterinary Science**, v.8, 2021.

CHEVAUX, E. et al. Intra-uterine growth retardation (IUGR): morphological and behavioural description. **In: Proceedings of the 21st international pig veterinary society congress**. v. 18, n. 21, p. 209, 2010.

CRAIG, J. R. et al. Feeding conjugated linoleic acid without a combination of medium-chain fatty acids during late gestation and lactation improves pre-weaning survival rates of gilt and sow progeny. **Animals**, v. 9, n. 2, 2019.

CUTTING, S. M. *Bacillus* probiotics. **Food Microbiology**, v. 28, n. 2, p. 214–220, 2011.

DANTZER, V. Electron microscopy of the initial stages of placentation in the pig. **Anatomy and Embryology**, v. 172, n. 3, p. 281–293, 1985.

DE PAULA, Ygor Henrique et al. Irrigation of the mammary glands of sows. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v.6, n.5, 2019.

DEARLOVE, B. A. et al. Oral caffeine administered during late gestation increases gestation length and piglet temperature in naturally farrowing sows. **Animal Reproduction Science**, v. 198, p. 160–166, 2018.

DHUMAL, G.; CHAUDHARI, K.; MOHAN, M. *Bacillus amyloliquefaciens* : A Review. **STM Journals**, v. 11, n. 1, p. 9–17, 2021.

DING, H., ZHAO, X., MA, C., GAO, Q., YIN, Y., KONG, X. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* DSM 32315 alters the intestinal microbiota and metabolites in weaned piglets. **Journal Applied Microbiology**, v.130, p. 217-232, 2021.

DOMINGOS, R. L. et al. *Saccharomyces Cerevisiae* var. *Boulardii* CNCM I-1079 during late gestation and lactation improves voluntary feed intake, milk production and litter performance of mixed-parity sows in a tropical humid climate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 272, n. June 2020, p. 1–8, 2021.

DUBREUIL, J. D. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and probiotics in swine: What the bleep do we know? **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, v. 36, n. 3, p. 75–90, 2017.

ELSHAGHABEE, F. M. F. et al. Bacillus as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1490, 2017.

FARMER, Chantal. Nutritional impact on mammary development in pigs: a review. **Journal of Animal Science**, v.96, n.9, p.3748-3756, 2018.

FERREIRA, S. V. et al. Plane of nutrition during gestation affects reproductive performance and retention rate of hyperprolific sows under commercial conditions. **Animal**, v. 15, n. 3, p. 100153, 2021.

FIORIMANTI, M. R. et al. Placental vascularization in middle and late gestation in the pig. **Reproduction and Fertility**, v. 3, n. 1, p. 57–66, 2022.

Food and Drug Administration (FDA); World Health Organization (WHO). **Probiotics in food Chemical and Functional Properties of Food Components**, Third Edition. Rome: [s.n.], 2006

GAILLARD, C.; DOURMAD, J. Y. Application of a precision feeding strategy for gestating sows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 287, n. August 2021, p. 115280, 2022.

GRAHOFER, A. e PLUSH, K. Lactation in swine: review article. **Animal Frontiers**, v.13, n.3, p.112-118, 2023.

HALES, J. et al. Individual physical characteristics of neonatal piglets affect preweaning survival of piglets born in a noncrated system. **Journal of Animal Science**. p. 4991–5003, 2013.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. *Reprodução Animal*. 7. ed. South Carolina: Manole, 2004.

HONG, J. et al. Effects of L-Arginine Supplementation during Late Gestation on Reproductive Performance in Piglet. **Animals**, v. 10, n. 1313, p. 1–19, 2020.

HU, J, et al. Effects of two bacillus strains probiotic supplement on reproduction performance, nutrient digestibility, blood profile, fecal score, excreta odor contents and fecal microflora in lactation sows, and growth performance in sucking piglets. **Livestock Science**, v. 244, p. 104293, 2021.

Jl, J, et al. Bacillus amyloliquefaciens SC06 inhibits ETEC-induced pro-inflammatory responses by suppression of MAPK signaling pathways in IPEC-1 cells and diarrhea in weaned piglets. **Livestock Science**, v. 158, p. 206–214, 2013.

JIA, R, et al. Protective effects of Bacillus subtilis ASAG 216 on growth performance, antioxidant capacity, gut microbiota and tissues residues of weaned piglets fed deoxynivalenol contaminated diets. **Food and Chemical Toxicology**, v.148, 2021.

JURUENA, M, F. et al. The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 26, n. 3, p. 189-201, 2004.

KEMP, B.; DA SILVA, C. L. A.; SOEDE, N. M. Recent advances in pig reproduction: Focus on impact of genetic selection for female fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, n. May, p. 28–36, 2018.

KIM, K. et al. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* influenced intestinal health of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *E. coli*. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2019.

KIM, S. W. Recent advances in sow nutrition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. suppl spe, p. 303–310, 2010.

KOBEK-KJELDAGER, C. et al. Effect of litter size, milk replacer and housing on production results of hyper-prolific sows. **Animal**, v. 14, n. 4, p. 824–833, 2020.

KONIECZKA, P, et al. Feeding *Bacillus*-based probiotics to gestating and lactating sows is an efficient method for improving immunity, gut functional status and biofilm formation by probiotic bacteria in piglets at weaning. **Animal Nutrition**, v.13, p. 361-372, 2023.

LASKOWSKA, E.; JAROSZ, Ł.; GRĄDZKI, Z. 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**, v. 11, n. 1, p. 220–232, 2019.

LI, C. L, et al. Intestinal morphologic and microbiota responses to dietary *Bacillus* spp. in a broiler chicken model. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 2019.

LI, Y, et al. Complete genome sequence and antimicrobial activity of *Bacillus velezensis* JT3-1, a microbial germicide isolated from yak feces. **3 Biotech**, v.10, 2020.

LI, H. H, et al. Effect of dietary *Bacillus subtilis* on growth performance and serum biochemical and immune indexes in weaned piglets. **Journal of Applied Animal Research**, v. 49, p. 83–88, 2021.

LIAO, S. F.; NYACHOTI, M. Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization. **Animal Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 331–343, 2017.

LIU, H. et al. Effects of dietary supplementation with *Pediococcus acidilactici* ZPA017 on reproductive performance, fecal microbial flora and serum indices in sows during late gestation and lactation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 120–126, 2020.

LUISE, D. et al. *Bacillus* sp. probiotic supplementation diminish the *Escherichia coli* F4ac infection in susceptible weaned pigs by influencing the intestinal immune response, intestinal microbiota and blood metabolomics. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 1–10, n. 1, p. 1–16, 2019.

LUISE, D et al. *Bacillus* spp. Probiotic Strains as a Potential Tool for Limiting the Use of Antibiotics, and Improving the Growth and Health of Pigs and Chickens. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 801-827, 2022.

LYNEGAARD, J., HANSEN, C., KRISTENSEN, A., & AMDI, C. Body composition and organ development of intra-uterine growth restricted pigs at weaning. **Animal**, v. 14, n. 2, p. 322-329, 2020.

MADSEN, J. G. and BEE, G. Compensatory growth feeding strategy does not overcome negative effects on growth and carcass composition of low birth weight pigs. **Animal**, v. 9, n. 3, p. 427–436, 2015.

MALAGO, J. J, and Koninkx, J. F Interações probiótico-patógeno e citoproteção entérica. Em: Malago, J., Koninkx, J., Marinsek-Logar, R. (eds) Probiotic Bacteria and Enteric Infections. **Springer**, Dordrecht, 2011.

MALLMANN, A. L. et al. Two different feeding levels during late gestation in gilts and sows under commercial conditions: Impact on piglet birth weight and female reproductive performance. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 10, p. 4209–4219, 2018.

MALLMANN, A. L. et al. Maternal nutrition during early and late gestation in gilts and sows under commercial conditions: impacts on maternal growth and litter traits¹. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 12, p. 4957–4964, 17 dez. 2019.

MENDES, M. F. S. A. Efeito da suplementação com L-arginina durante a lactação sobre a funcionalidade da glândula mamária e desempenho de fêmeas suínas de descarte. 2023. 106p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2023.

MENEGAT, M. B. et al. Effects of *Bacillus subtilis* C-3102 on sow and progeny performance, fecal consistency, and fecal microbes during gestation, lactation, and nursery periods^{1,2}. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 9, p. 3920–3937, 3 set. 2019.

MILLER, M. B., and Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. **Annual Review Microbiology**. 55, 165–199.

MINGMONGKOLCHAI, S., and Panbangred, W. *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. **Journal Applied Microbiology**, v. 124, p. 1334–1346, 2018.

MOHAMMED, Y. et al. Development of a two-step cultivation strategy for the production of vitamin B12 by *Bacillus megaterium*. **Microbial Cell Factories**, v. 13 n. 102, 2014.

MOREIRA, R. H. R. Arginina na nutrição de matrizes suínas hiperprolíficas. 2014. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

NISSEN, P. M. et al. Effects of sow nutrition on maternal and foetal serum growth factors and on foetal myogenesis. **Animal Science**, v. 80, n. 3, p. 299–306, 2005.

Official Methods of Analysis (17th Ed.) **Association of Official Analytical Chemists, Arlington**, (AOAC) VA, USA.

PENG, X, et al. Live yeast supplementation during late gestation and lactation affects reproductive performance, colostrum and milk composition, blood biochemical and immunological parameters of sows. **Animal Nutrition**, v.6, p. 288-292, 2020.

PEREIRA, W. A. et al. Beneficial effects of probiotics on the pig production cycle: an overview of clinical impacts and performance. **Veterinary Microbiology**, v. 269, n. March, p. 109431, 2022.

PINILLA, J. C. et al. Management strategies to maximize weaning weight. **American Association Of Swine Veterinarians**, p. 185–192, 2008.

RODRÍGUEZ, M. et al. Feeding patterns of lactating sows using modern genetics: characterization and effect of reproductive parameters. **Porcine Health Management**, n.6, p.1-9, 2023

ROSTAGNO, H. S. et al. **Brazilian tables for poultry and swine: composition of feedstuffs and nutritional requirements**. 4^a. ed. Viçosa: Departamento de Zootecnia UFV, 2017.

SALAGRIAS-GARCÍA, M, et al. Potential effect of two Bacillus probiotic strains on performance and fecal microbiota of breeding sows and their piglets. **Journal of Animal Science**, v.100, p. 1-19, 2022.

SEOANE, S. et al. Effect of increasing dietary aminoacid concentration in late gestation on body condition and reproductive performance of hyperprolific sows. **Animals**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2020.

SILVA, T. O. Arginina para matrizes suínas hiperprolíficas: Desempenho e função vascular. 2020. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2020.

SMIT, M. N. et al. Consequences of a low litter birth weight phenotype for postnatal lean growth performance and neonatal testicular morphology in the pig. **Animals**. n. 7, v. 10, p. 1681–1689, 2013.

SPRECHER, D. J. et al. Causes and controlo os swine stillborn. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. n. 8, v. 165, p. 698-701, 1974.

STRATHE, A. V.; BRUUN, T. S.; HANSEN, C. F. Sows with high milk production had both a high feed intake and high body mobilization. **Animal**, v. 11, n. 11, p. 1913-1921, 2017.

TAN, B. F.; LIM, T.; BOONTIAM, W. Effect of dietary supplementation with essential oils and a Bacillus probiotic on growth performance, diarrhoea and blood metabolites in weaned pigs. **Animal Production Science**, v. 61, n. 1, p. 64–71, 2020.

TANAKA, K. et al. A second-generation Bacillus cell factory for rare inositol production. **Bioengineered**, v.5, p. 331–334, 2014.

TSUKAHARA, T, et al. Probiotic supplementation improves reproductive performance of unvaccinated farmed sows infected with porcine epidemic diarrhea virus. **Animal Science Journal**, v. 89, p. 1144–1151, 2018.

TROTTIER, N. L. First lactation management. National Hog Farmer, 2015. Disponível em: [http// https://www.nationalhogfarmer.com/reproduction/first-lactation-management](https://www.nationalhogfarmer.com/reproduction/first-lactation-management). Acesso em: 23/07/2023.

UPADHAYA, D. S, et al. Preliminary assessment on potentials of probiotic *B. subtilis* RX7 and *B. methylotrophicus* C14 strains as an immune modulator in Salmonella-challenged weaned pigs. **Tropical Animal Health Production**, v.49, p.1065–1070, 2017.

VAN der PEET-SCHWERING, C. M. C. et al. Effects of a mixture of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* on the performance of growing-finishing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 261, n. May 2019, p. 1–6, 2020.

VAN DIJK, A. J. et al. Factors affecting duration of the expulsive stage of parturition and piglet birth intervals in sows with uncomplicated, spontaneous farrowings. **Theriogenology**, v. 64, n. 7, p. 1573–1590, 2005.

WANG, J. et al. Physiological alterations associated with intrauterine growth restriction in fetal pigs: Causes and insights for nutritional optimization. **Molecular Reproduction and Development**, v. 84, n. 9, p. 897–904, 2017.

WANG, F. et al. Histopathological Injuries, Ultrastructural Changes, and Depressed TLR Expression in the Small Intestine of Broiler Chickens with Aflatoxin B₁. **Toxins**, v. 131, n. 10, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance World Health Organization**. Geneva [s.n], 2015.

WU, G. et al. Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. **Journal of Animal Science** v.84, p. 2316–2337, 2006.

YANG, J, et al. Compound *Lactobacillus* sp. administration ameliorates stress and body growth through gut microbiota optimization on weaning piglets. **Applied Microbial and Cell Physiology**, v. 104, p.6749–6765, 2020.

XIONG, Y. et al. Effects of maternal supplementation with rare earth elements during late gestation and lactation on performances, health, and fecal microbiota of the sows and their offspring. **Animals**, v. 9, n. 10, p. 1–18, 2019.

XU, X. et al. Immunomodulatory effects of *Bacillus subtilis* (natto) B4 spores on murine macrophages. **Microbiology and Immunology**, v. 56, p. 817-824, 2012.

ZANELLA, E.; SILVEIRA, P.R.S.; SOBESTIANSKY. J. Natimorto, Mumificados e Natimortalidade. In: Sobestiansky J. & Barcellos D.E.S.N. (Eds). **Doenças de Suínos**. Goiânia: Cãnone Editorial, p.564-567, 2007.

ZHANG, Q. et al. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* PB6 improves sow reproductive performance and reduces piglet birth intervals. **Animal Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 278–287, 2020.

ZHAO, Y. et al. Dietary probiotic *Bacillus licheniformis* h2 enhanced growth performance, morphology of small intestine and liver, and antioxidant capacity of broiler chickens against

Clostridium perfringens–induced subclinical necrotic enteritis. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**. V. 12, p. 883–895, 2020.

ZHOU, L. et al. Serine Supplementation in the Diets of Late Gestating and Lactating Sows Improves Selenium Nutritional Status in Sows and Their Offspring. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 2, p. 609–614, 2022.

ZONG, X. et al. Effects of Clostridium butyricum or in combination with Bacillus licheniformis on the growth performance, blood indexes, and intestinal barrier function of weanling piglets. **Livesock Science**, v. 220, p. 137–142, 2019.

CAPÍTULO II

ARTIGO

*Artigo formatado de acordo com as normas da Probiotics and Antimicrobial Proteins
(versão preliminar)*

DESEMPENHO E PARÂMETROS DE SAÚDE DE MATRIZES SUÍNAS E DE SUAS
LEITEGADAS COM O USO DE PROBIÓTICO COMPOSTO DE *Bacillus subtilis*-541 E
Bacillus amyloliquefaciens-516

Aline Maria Silva Barbosa^{a*}, Vinícius de Souza Cantarelli^a

^aFaculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, 37.200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil

*Autor de correspondência:

Endereço de e-mail: barbosaa243@gmail.com (A.M.S Barbosa)

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do probiótico na alimentação de 584 porcas, com 292 repetições, durante um ciclo reprodutivo, sobre o desempenho e parâmetros fisiológicos das porcas e suas leitegadas. Foi conduzido em uma granja comercial em Oliveira-MG, Brasil. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com dois tratamentos dietéticos: tratamento controle, dieta basal sem probiótico e tratamento probiótico, dieta basal suplementada com 400g/tonelada do probiótico composto por *Bacillus subtilis*-541 e *Bacillus amyloliquefaciens*-516, fornecido de forma *on top*. O consumo de ração foi avaliado durante todo o período experimental. O peso e espessura de toucinho das porcas foram mensurados na entrada e saída de cada fase. Os leitões foram pesados individualmente ao nascimento e ao desmame. Foram analisadas variáveis de desempenho e os parâmetros fisiológicos: cortisol, imunoglobulinas do colostro e do sangue, contagem bacteriana fecal, proteínas C-reativa, citocinas inflamatórias e histomorfometria ileal. Como principais resultados, as porcas do tratamento probiótico tiveram maior produção de leite ($p=0,05$), maior perda corporal ($p<0,05$), menores níveis de cortisol pós-parto ($p<0,001$). Os leitões do tratamento probiótico apresentaram maior peso ao desmame ($p<0,001$), menos mortes por esmagamento ($p<0,05$), receberam menos medicamentos ($p<0,001$), menor expressão de bactérias patogênicas ($p<0,05$) e menor expressão de *Lactobacillus* sp. fecal ($p<0,05$), maior expressão de MPO fecal ($p<0,05$) próximo ao desmame e maiores valores para medidas histomorfométricas ileal. A ração suplementada com 400g/tonelada de probiótico durante a gestação e lactação melhora o desempenho e atua positivamente sobre parâmetros de saúde das porcas e dos leitões.

Palavras-chave: Aditivo alimentar, nutrição funcional, saúde intestinal, suinocultura.

Introdução

Na suinocultura, a nutrição desempenha um papel fundamental para o desenvolvimento saudável dos animais, aumento da produtividade e rentabilidade para manter o sistema de produção. O desempenho reprodutivo de porcas de alto rendimento e o desempenho de crescimento dos leitões são os dois aspectos mais importantes que influenciam a eficiência econômica da moderna indústria de criação de suínos.

Atualmente existem ferramentas nutricionais que visam o melhor aproveitamento dos nutrientes e que impactam diretamente no melhor desempenho de suínos. Dentre essas ferramentas, o uso de probióticos é uma alternativa interessante a ser aplicada na nutrição de suínos. O termo “probiótico” refere-se a microorganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem um efeito fisiológico benéfico ao hospedeiro, segundo Food and Agriculture Organization e World Health Organization (FAO/WHO, 2002).

Os probióticos ajudam a manter o equilíbrio da microbiota intestinal. A microbiota e seus produtos são indispensáveis para o desenvolvimento intestinal, mas também para moldar o sistema imunológico inato do hospedeiro, exercendo assim impactos multifacetados na saúde intestinal (LIN e ZHANG, 2017). Nesse aspecto, a saúde intestinal desempenha importante papel ao conferir imunidade e maior resistência às infecções patogênicas. Quando a saúde intestinal está comprometida, a digestão e a absorção de nutrientes são afetadas, reduzindo o desempenho produtivo, levando a perdas econômicas e à maior susceptibilidade a doenças (ROSELLI et al., 2005).

Bactérias do gênero *Bacillus* têm sido utilizadas como ferramenta nutricional para as diferentes fases do sistema de produção de suínos. O uso de *Bacillus subtilis* pode melhorar o bem-estar do hospedeiro e a saúde intestinal de diferentes maneiras, como prevenir a proliferação de patógenos, diminuir o pH intestinal por meio da fermentação ácida e estimular o sistema imunológico associado ao intestino (GUO et al., 2018; JACQUIER et al., 2019; WHELAN et al., 2019; CHEN et al., 2020). A utilização de *Bacillus amyloliquefaciens* tem capacidade de produzir enzimas extracelulares, incluindo celulase, α -amilases, proteases e metaloproteases, que ajudam a aumentar a eficiência da digestão e absorção dos nutrientes (LEE et al., 2008 e TANG et al., 2017).

Portanto, esse trabalho foi conduzido para avaliar a eficácia zootécnica do probiótico à base de *Bacillus subtilis*-541 e *Bacillus amyloliquefaciens*-516 suplementado nas rações das porcas em gestação e lactação, durante um ciclo reprodutivo, visando os efeitos sobre o desempenho e parâmetros de saúde das fêmeas e leitões lactentes.

Material e métodos

Local e comitê de ética

O experimento foi conduzido na Fazenda São Paulo, uma granja comercial localizada no município de Oliveira, Minas Gerais, Brasil. Todos os procedimentos usados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Animalnutri Ciência e Tecnologia, Patos de Minas, Minas Gerais, Brasil (protocolo nº 013/22).

Animais

Na fase de gestação foram utilizadas no total 584 fêmeas suínas nulíparas e múltiparas, até a oitava ordem de parto, divididas em três lotes constituídos de 186, 198 e 200 fêmeas, respectivamente. O intervalo entre o primeiro e o segundo lote foi de dois meses e entre o segundo e o terceiro lote foi de um mês. As fêmeas eram de linhagem comercial híbrida, da genética DB (fêmeas DB 90 x machos LQ 1250) e Agroceres PIC (fêmeas Camborough x machos AGPIC 337). Foram avaliadas 508 fêmeas durante a fase de lactação, sendo 162 fêmeas no lote um, 167 fêmeas do lote dois e 179 fêmeas no lote três.

Delineamento experimental

As fêmeas de cada lote foram distribuídas em dois tratamentos. A distribuição das fêmeas nos dois tratamentos foi em delineamento em blocos casualizados, considerando-se como blocos a ordem de parto, peso, genética e espessura de toucinho. Considerando os três lotes acompanhados, foram avaliadas 292 fêmeas por tratamento, sendo cada fêmea considerada uma repetição (unidade experimental).

Instalações

As fêmeas gestantes foram alojadas em galpões constituídos de gaiolas individuais (2,25 x 0,65 m) equipadas com bebedouro semiautomático do tipo chupeta e dosador de ração semiautomático, onde permaneceram até os 110 dias de gestação quando, então, foram transferidas para as instalações de maternidade. Vinte e uma salas de maternidade foram utilizadas no total, sendo sete para cada lote. As salas continham cortinas semiautomáticas e gaiolas de parição (2,25 x 1,80 m) equipadas com bebedouro semiautomático do tipo chupeta, dosador de ração semiautomático e escamoteador com lâmpada para aquecer os leitões. Após o desmame, as fêmeas retornaram às instalações da fase de gestação, onde foram acompanhadas até o momento da inseminação artificial.

Procedimentos experimentais

A gestação nas fêmeas suínas foi estabelecida via inseminação artificial. Para cada lote, as fêmeas foram acompanhadas durante um ciclo reprodutivo completo e suas progênes durante a fase de lactação, correspondendo a um período experimental de aproximadamente 144 dias. As fêmeas do tratamento controle receberam dieta basal sem adição de probiótico, seguindo a formulação nutricional utilizada pela granja. As fêmeas do tratamento probiótico receberam a dieta basal suplementada com 400g de probiótico/tonelada de ração. O probiótico comercial avaliado é composto por *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516, com concentração mínima de $2,75 \times 10^9$ UFC/g, segundo o fabricante. O excipiente do probiótico é o carbonato de cálcio.

O programa alimentar das fêmeas foi constituído de três rações: gestação 1, gestação 2 e lactação fornecidas, respectivamente, nos períodos de 1 a 28, 29 a 90 e 91 a 115 dias de gestação (Tabela 1). A dieta basal das porcas e leitões foi formulada para atender ou exceder as concentrações de nutrientes recomendadas pelo *National Research Council* (NRC, 2012). Cada fêmea recebeu diariamente 2,0 kg da ração de gestação 1, 1,8 kg da ração de gestação 2 e 2,4 kg da ração de pré-parto. As rações de ambos os tratamentos experimentais foram armazenadas em silos e disponibilizadas em linhas de alimentação separadas, uma para o tratamento controle e outra linha para o tratamento probiótico, com dosador individual para cada cocho. O arraçãoamento foi feito uma vez ao dia, no período da manhã. As fêmeas tiveram livre acesso à água durante todo o período experimental.

Tabela 1 – Ingredientes e composição nutricional das dietas basais para fêmeas suínas na fase de gestação e lactação.

Ingredientes	Gestação 1 (%)	Gestação 2 (%)	Lactação (%)
Milho (7,8% PB)	653,972	638,639	539,861
Casca de soja	177,778	177,778	-
Farelo de soja (46%)	117,778	135,000	300,000
Açúcar	-	-	50,000
Óleo de soja	-	-	40,000
Farinha de carne (45% PB)	26,111	22,778	40,000
Calcário	6,111	6,111	7,222
Sal	5,000	5,000	5,000
L-Lysina 78,8%	0,944	1,111	2,111
DL-Metionina 99%	0,778	1,000	1,889
L-Treonina 98%	0,778	0,944	2,000
L-Triptofano 98%	-	-	0,167
L-Valina 96%	-	-	1,000
Adsorvente de micotoxina	2,000	2,000	2,000

Availa®Sow ^a	0,750	0,750	0,750
Premix mineral e vitamínico ^b	8,000	8,889	8,000
Total	1000,000	1000,000	1000,000
Níveis calculados	Gestação 1	Gestação 2	Lactação
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3012,000	3028,000	3424,000
Matéria seca (%)	88,463	88,464	89,651
Extrato etéreo (%)	3,488	3,419	7,089
Proteína	14,238	14,823	20,178
Fibra bruta (%)	8,024	8,089	2,600
FDA (%)	9,262	9,343	2,912
FDN (%)	15,908	15,966	6,798
Cinzas (%)	4,825	4,854	5,643
Cálcio disponível (%)	0,902	0,902	1,098
Fósforo disponível (%)	0,412	0,398	0,547
Lisina total (%)	0,757	0,774	1,240
Lisina disgestível (%)	0,608	0,629	1,102
Metionina + cisteína digestível (%)	0,465	0,495	0,677
Treonina disgestível (%)	0,486	0,517	0,841
Triptofano disgestível (%)	0,114	0,119	0,208
Níveis analisados - controle	Gestação 1	Gestação 2	Lactação
Extrato etéreo (%)	3,883	3,707	7,387
Proteína bruta (%)	15,070	15,383	20,197
Cinzas (%)	4,443	4,283	5,137
Níveis analisados - probiótico	Gestação 1	Gestação 2	Lactação
Extrato etéreo (%)	3,683	3,417	6,827
Proteína bruta (%)	14,030	14,513	19,303
Cinzas (%)	4,607	4,727	5,377

^aIngrediente nutricional para suínos, contém zinco orgânico, manganês e cobre.

^bNitrogênio 15,23g; fitase 70000,00U; carnitina 6250,00mg; nitrato de cálcio 96,28g; ácido fólico 500,00mg; ácido pantotênico 3562,50mg; biotina 56,25mg; cobre 1875,00mg; colina 70,81g; cromo 50,00mg; ferro 15,00g; iodo 125,00mg; manganês 6250,00mg; niacina 5000,00mg; selênio 56,25mg; vitamina A 1250000,00UI; vitamina B1 237,50mg; vitamina B12 4375,00mg; vitamina B2 2500,00 mg; vitamina B6 437,50mg; vitamina D3 250000UI; vitamina E 6875,00UI; vitamina K3 475,00; zinco 16,25g.

No 110º dia de gestação, as fêmeas foram transferidas para as instalações da maternidade, onde permaneceram até o desmame dos leitões, tratamento controle = 20 ± 1,843 e tratamento probiótico = 20 ± 1,737 dias. Durante todo o período de lactação, as rações foram fornecidas à vontade, sendo o arraçoamento feito quatro vezes ao dia conforme o manejo empregado pela granja. Para esta fase, a ração era ensacada e fornecida manualmente com o uso de conchas. A cada arraçoamento era analisado o estado da ração do cocho, sendo consideradas como sobras rações com alterações de cheiro e cor, por exemplo. Rações

encontradas fora dos comedouros também eram consideradas como sobras sendo, portanto, pesadas para a devida correção do consumo de ração.

Logo após o parto, os leitões foram identificados através de brincos numerados. Durante os três primeiros dias de vida, os leitões foram homogeneizados conforme necessário e exclusivamente entre leitegadas provenientes de fêmeas do mesmo tratamento, foi mantido tratamento controle = $14 \pm 2,235$ e tratamento probiótico = $14 \pm 2,592$ por fêmea. Os leitões foram equalizados de acordo com seu tamanho para formar uma leitegada homogênea. Os leitões receberam *creepfeeding* a partir dos 10 dias de vida até o momento do desmame. Uma única ração (Tabela - 2) foi fornecida para todos os leitões provenientes das fêmeas dos dois tratamentos avaliados. As fêmeas e os leitões tiveram livre acesso à água durante todo o período experimental. A condição de saúde das fêmeas e dos leitões foi acompanhada diariamente e toda medicação fornecida foi registrada, com a data, medicamento, quantidade e o motivo. Os motivos de retirada das porcas foi devido à claudicação, metrite, aborto, prolapso, parto distócico, retenção de leitões durante o parto, perde excessiva de peso devido a problemas de saúde.

Tabela 2 – Ingredientes e composição nutricional da dieta basal de leitões lactentes.

Ingredientes	Quantidade (%)
Milho (7,8% PB)	44,913
Farelo de soja (46% PB)	15,700
Plasma desidratado	5,000
Leite desidratado	9,000
Soro desidratado	20,000
Óleo de soja	3,000
Vitaminas ^a	0,050
Microminerais ^b	0,100
Fitase 10.000 UFT	0,010
Antioxidante ^c	0,020
Flavorizante ^d	0,050
Fosfato bicálcico (18,5% P)	0,428
Calcário	0,658
L-Lisina HCl 78,8%	0,444
DL-Metionina 99%	0,239
L-Treonina 98%	0,244
L-Triptofano 98%	0,059
L-Valina 96%	0,085
Total	100
Níveis calculados	Quantidade
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3459,520

Extrato etéreo (%)	5,649
Lisina digestível (%)	1,520
Metionina digestível (%)	0,520
Metionina + cisteína digestível (%)	0,850
Treonina digestível (%)	1,020
Triptofano digestível (%)	0,290
Arginina digestível (%)	1,010
Valina digestível (%)	1,050
Isoleucina digestível (%)	0,780
Leucina digestível (%)	1,680
Histidinha digestível (%)	0,520
Fenilalanina digestível (%)	0,890
Fibra bruta (%)	1,530
FDA (%)	2,737
FDN (%)	8,705
Cinzas (%)	3,006
Lactose (%)	17,600
Cálcio total (%)	0,880
Fósforo disponível (%)	0,550

Níveis analisados	Quantidade
Extrato etéreo (%)	4,890
Proteína bruta (%)	20,970
Cinzas (%)	7,270

^aVitamina A 25000,00UI; vitamina B1 4,50mg; vitamina B12 75,00mg; vitamina B2 12,50mg; vitamina B6 7,50mg; vitamina D3 5000UI; vitamina E 75,00UI; vitamina K3 7,50mg.

^bCobre 500,00mg; ferro 250,00mg; iodo 3,00mg; sódio 7500mg; manganês 150,00mg; zinco 7.500mg; selênio 0,88mg.

^cHidróxido de tolueno butilado (B.H.T) 375,00mg.

^dExtratos herbais (canela, limão, cravo, laranja, uva).

Todas as análises na saliva, soro, colostro, mucosa ileal e fragmento ileal foram realizadas, via prestação de serviço especializado, pelo Laboratório Imunova Análises Biológicas LTDA (Curitiba, Paraná, Brasil). As análises de fezes foram realizadas pela empresa CEDISA, Centro de Diagnósticos de Sanidade Animal (Concórdia, Santa Catarina, Brasil). As análises das rações foram realizadas pela empresa CBO Análises Laboratoriais (Valinhos, São Paulo, Brasil).

Parâmetros avaliados

Todas as fêmeas e seus respectivos leitões foram considerados para determinar os parâmetros de desempenho. Cada leitegada foi considerada uma unidade experimental na análise de escore fecal. Dez fêmeas de cada tratamento avaliado no segundo lote foram

selecionadas para a coleta da saliva, considerando-se sua ordem de parto, peso, genética e espessura de toucinho. Tais fêmeas selecionadas para a análise de cortisol salivar não foram utilizadas para a coleta das demais amostras biológicas avaliadas. Portanto, outras dez fêmeas de cada tratamento avaliado no segundo lote foram selecionadas para a coleta de sangue, colostro e fezes, considerando-se sua ordem de parto, peso, genética e espessura de toucinho. Além disso, um leitão (fêmea) oriundo de cada uma destas porcas também foi selecionado para a coleta de amostras de sangue, mucosa ileal e fragmento de íleo, totalizando dez animais por tratamento. O critério de seleção foi o leitão (fêmea) com peso mais próximo ao peso médio da leitegada. Para a contagem microbiana e mieloperoxidase nas fezes dos leitões, as fezes analisadas foram provenientes de *pools* de fezes de todos os leitões da mesma unidade experimental.

Desempenho das fêmeas suínas e de suas leitegadas

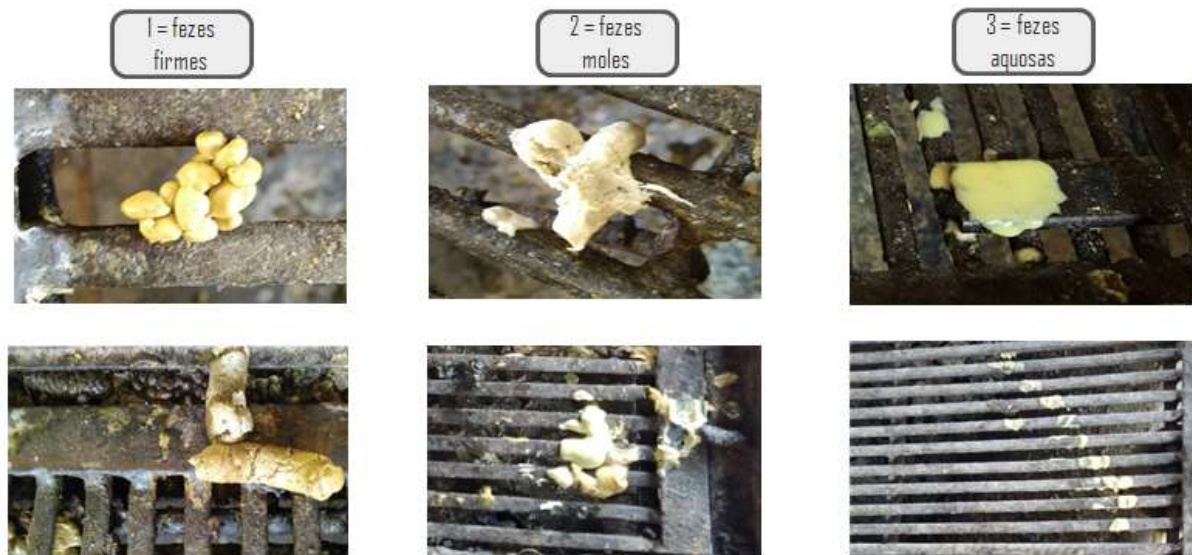
O consumo de ração das fêmeas suínas foi determinado ao final de cada fase, considerando-se a quantidade de ração fornecida e as sobras no período. Cada fêmea foi pesada individualmente (balança Weightech[®], modelo NT – 3000 pro) no início e saída da gestação, assim como na saída da maternidade para os cálculos do ganho de peso na gestação e do ganho ou perda de peso na lactação. Nestes mesmos momentos, a espessura de toucinho foi mensurada no ponto P2 (região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar) a 6,0 cm da altura da costela (Bridi e Silva, 2007), utilizando-se aparelho de ultrassonografia (Xuzhou Kaixin[®], modelo KX 5600). Todos os leitões foram pesados individualmente ao nascimento (balança PLP Mania[®], modelo PC34) e no desmame (balança Weightech[®], modelo NT – 1000 LED). O ganho de peso diário dos leitões foi calculado. Durante o parto de cada fêmea foram registrados: o peso de cada leitão, horário de nascimento, sexo dos leitões, além do número de leitões nascidos vivos, natimortos, morto ao nascer e mumificados. As mortes de leitões no decorrer da lactação foram registradas com seu respectivo motivo aparente. Para quantificação de produção de leite das matrizes, foi utilizada a fórmula de Noblet e Etienne (1989): Produção de leite (g dia^{-1}) = $[(0,718 \times \text{ganho de peso diário do leitão (g)} - 4,9) \times \text{número de leitões}] / 0,19$.

Escore de fezes dos leitões durante o período de lactação

Uma vez ao dia, durante todo o período de lactação, as fezes dos leitões foram observadas visualmente e classificadas em firmes (escore 1), moles (escore 2) ou aquosas

(escore 3), segundo metodologia descrita por Casey et al., (2007) e conforme ilustrado na figura 1.

Figura 1 – Classificação do escore de fezes dos leitões lactentes.



Fonte: Do autor (2023)

Cortisol salivar nas fêmeas suínas

As coletas foram feitas em dois momentos. A primeira coleta foi feita na data prevista do parto, que para o tratamento controle aconteceu 2,2 dias da data real do parto e para o tratamento probiótico as coletas foram de 1,3 dias antes da data real do parto. A segunda coleta foi feita seis dias após o parto. As amostras de saliva foram coletadas por meio de algodão em forma de bastonete, preso por um barbante, inserido manualmente na bochecha das fêmeas suínas. O algodão permanecia na boca da fêmea até obter-se aproximadamente 2,0 ml de saliva. Quando encharcados, os algodões eram inseridos em seringas hipodérmicas (Descarpac[®]) de 5,0 ml e o êmbolo era pressionado para a extração da saliva, a qual era imediatamente acondicionada em microtubos e armazenadas em freezer a -20°C. A concentração de cortisol salivar foi determinada usando técnica de quimioluminescência (Roche Diagnostics, Laval, Quebec), de acordo com a metodologia de Chiu et al. 2003.

Imunoglobulinas no sangue e colostro

Um dia após o parto e após a homogeneização da leitegada, as fêmeas selecionadas foram contidas com cachimbo e, por meio de punção da veia jugular com agulha hipodérmica

descartável (Injex[®] 40 x 12 mm), o sangue foi colhido em tubos contendo ativador de coágulo. Já as colheitas de sangue dos leitões foram feitas no 4º e 18º dias de vida. Após contenção manual dos leitões, as alíquotas de sangue foram coletadas em tubos contendo ativador de coágulo, via punção da veia jugular com agulha hipodérmica descartável (DB[®] 13 x 0,3 mm). O sangue das fêmeas e dos leitões foram centrifugados a 2.000xg durante 15 minutos (centrífuga Daiki[®], modelo 80-2B) e o soro foi armazenado em microtubos a -20°C até a realização das análises.

Uma hora após o parto, aproximadamente 25 mL de colostro foram obtidos por ordenha manual. Os tetos das fêmeas foram limpos com lenços umedecidos e com álcool 70%. Tetos torácicos, abdominais e inguinais foram ordenhados obtendo-se, portanto, um *pool* amostral de todos os tetos. As alíquotas de colostro foram armazenadas em tubos Falcon (KASVI[®]) a -20°C até a realização das análises.

As concentrações de IgA, IgM e IgG no soro sanguíneo das fêmeas e dos leitões e no colostro foram determinadas por técnicas de imunoensaio em membrana, *Western Blot* e *Dot Blot*, respectivamente, de acordo com metodologia de Stott, D.I., 1989.

O teor de proteína C-reativa no soro dos leitões foi determinado por método imunoturbidimétrico, seguindo a metodologia de Pesce, A. J. e Kaplan, L. A., 1987.

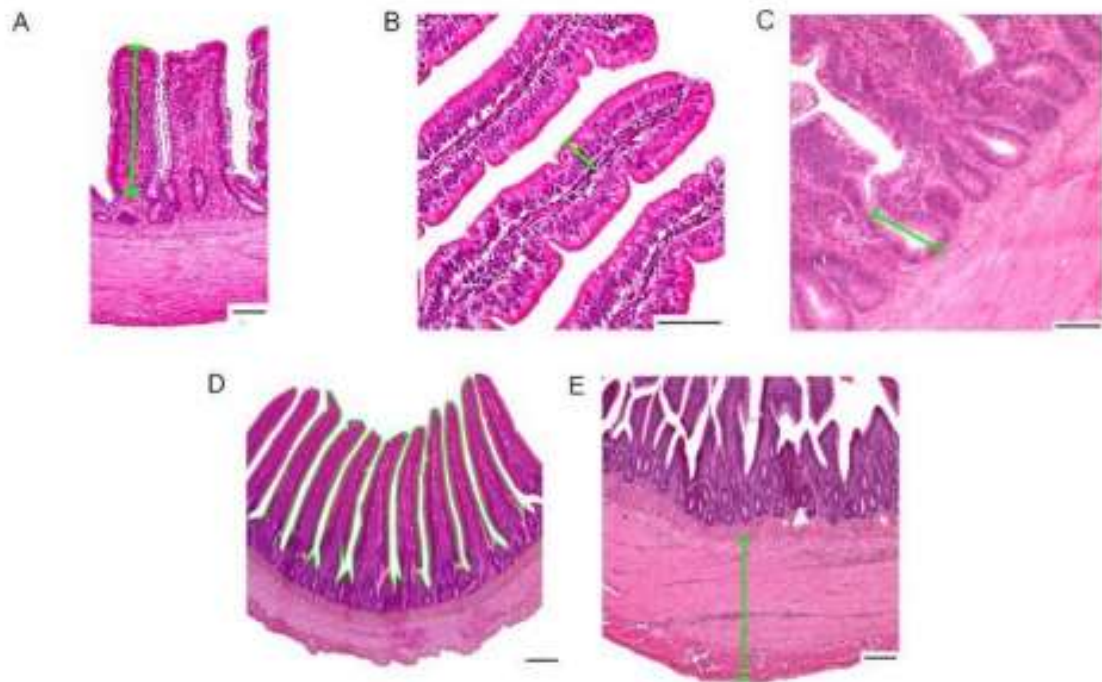
Marcadores inflamatórios de mucosa ileal e histomorfometria do íleo dos leitões

Aos 18 dias de idade, os 10 leitões (fêmeas) de cada tratamento foram insensibilizados por eletronarose seguido de exsanguinação por meio da secção da artéria cervical e da veia cava cranial. Foi feita a abertura abdominal do leitão para a exposição do íleo. Foi feita raspagem da mucosa ileal, na região de superfície luminal, a fim de se quantificar as concentrações das interleucinas: IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12/23p40, Interferon Alfa (INF- α), Interferon Gama (INF- γ) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α). A raspagem foi feita utilizando-se lâminas microscópicas de vidro (Precision[®]). O conteúdo de raspado foi armazenado em microtubos estéreis e armazenados a -20°C. As amostras foram processadas seguindo-se as orientações do kit comercial (Invitrogen[™], EPX090-60829-901) que aplica a técnica LuminexMAP para a determinação das concentrações das interleucinas avaliadas.

Fragmentos ileais de aproximadamente 4,0 cm foram coletados a 10 cm anteriores à junção íleo-cecal para análise de histomorfometria ileal. O fragmento foi lavado com solução fisiológica a 0,9% e fixado em solução de formaldeído a 10% durante 48 horas. Após esse período foi feita lavagem com dois banhos de álcool 70%, solução na qual os fragmentos

ficaram armazenados até serem histologicamente processados. As amostras foram então submetidas a processamento histológico padrão, sendo as lâminas coradas com hematoxilina e eosina. Foram mensurados os seguintes parâmetros: altura dos vilos, altura epitelial, profundidade de cripta, superfície de mucosa intestinal e espessura da túnica muscular, como demonstrado na figura 2. Foi realizada inicialmente uma imagem panorâmica de todo o corte histológico e, em seguida, foram feitas três imagens em maior aumento desse tecido. Em cada imagem foram identificados três pontos diferentes para a medição dos parâmetros anteriormente descritos.

Figura 2 - Efeito da adição do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes na histomorfometria ileal de leitões aos 18 dias de vida.



Medidas morfométricas. (A) altura das vilosidades, (B) altura epitelial, (C) profundidade de cripta, (D) fator de alargamento da superfície mucosa a linha contínua é a superfície mucosa do comprimento das vilosidades, (E) espessura da túnica muscular. Barra: 100 μ m para A, B, C, D e E. Aumento de 40x. Adaptado de Alshamy (2018).

Contagem bacteriana e atividade da mieloperoxidase nas fezes

Um dia após o parto, aproximadamente 5,0 g de fezes de cada fêmea foi coletada por meio de estímulo retal e armazenadas em tubo Falcon a 4°C, por um período máximo de dois dias. Em seguida, foram encaminhadas para o laboratório onde procedeu-se com a contagem

total de esporos de *Bacillus*, bactérias ácido lácticas; *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*.

A contagem de *E. coli* e *Bacillus* foi feita empregando-se a técnica de plaqueamento em superfície (*spread plate*). Para coliformes, foi semeado 1,0 mL das diluições em duplicata de cada amostra (placas de Petri - 90 x 150 mm) e colocado 20 mL de ágar Chromocult (Merck), encubados a 37°C em aerobiose por 24 horas e realizada a contagem da diluição que continha entre 25 e 250 colônias (colônias rosas = coliformes não *E. coli* e as colônias violetas = *E. coli*). Já para as bactérias lácticas foi semeado 10µL das diluições em duplicata de cada amostra (microplacas de 12 poços com 2,0 mL de ágar Rogosa em cada poço), incubado a 37°C em jarra de anaerobiose com 5 a 10% de CO₂ por 72 horas e realizada a contagem da diluição que continham entre 10 e 100 colônias. Para *C. perfringens* foi utilizado o plaqueamento em profundidade (*pour plate*) conforme procedimento descrito por DOWARAH, R et al., (2017). A contagem bacteriana foi realizada com o auxílio de um contador de colônias, sendo os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

A coleta de fezes dos leitões foi feita em dois períodos, aos sete e 17 dias de idade. Para a extração das fezes, foi feito um estímulo retal com cotonetes em todos os leitões da baia. Todas as fezes foram armazenadas em sacos plásticos esterilizados e, em seguida, as fezes foram homogeneizadas manualmente, tendo um *pool* de fezes da leitegada. Foram retiradas duas amostras: uma para análise de contagem bacteriana (as mesmas mencionadas anteriormente, com as fêmeas) e outra para análise de mieloperoxidase (MPO).

Para a avaliação de MPO, as fezes foram armazenadas em microtubos de 1,5 ml e congeladas a -20°C. Para essa análise foi utilizado o método de reagente tetrametilbenzidina (TMB) como substrato na presença de solução de peróxido de hidrogênio, que estimula a liberação de MPO. A reação foi detectada no comprimento de onda de 620 nm (SUZUKI et al., 1983).

Análises da ração

Amostras de ração foram coletadas na fábrica de rações, a cada batida, para ambos os tratamentos, para análise de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas conforme a metodologia do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, Métodos Analíticos, 2017. Foi feita uma média dos resultados para cada análise, de cada fase, para os três lotes.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas usando o software Rstudio versão 4.2.1 (R Core Team, Vienna, Austria). Todos os dados foram testados quanto à normalidade com o teste de Shapiro-Wilk e Barlett, respectivamente. Variáveis que não seguiram distribuição normal ou homocedasticidade foram transformadas (Box-Cox/Ordernorm). Os efeitos do tratamento foram analisados por modelos mistos usando o procedimento Imer (R Code Team, Viena, Áustria). O lote, sala de parto, ordem genética e paridade foram incluídos no modelo como efeito aleatório em todas as análises.

Para leitões, peso da leitegada e ganho médio diário, os dias de lactação foram incluídos como efeito fixo. Para a análise de cortisol pré-parto, os dias anteriores ao parto foram incluídos como efeito fixo. A taxa de prenhez, a medicação e a causa de morte dos leitões foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado, usando o pacote estatístico do Rstudio. A incidência de diarreia foi analisada usando o procedimento Imer (R Core Team, Viena, Áustria) e os dados foram ajustados por distribuição binomial.

Todos os dados foram descritos como LSMEANS e o maior erro padrão (EPM) para cada variável foi apresentado. A diferença entre os valores médios foi considerada estatisticamente significativa quando p -valor $< 0,050$ e tendência quando p -valor ficou entre $0,050$ e $0,100$.

Resultados

As porcas pertencentes ao tratamento probiótico apresentaram maior (p valor $< 0,05$) perda de peso e maior produção de leite. Ambos os tratamentos apresentaram resultados semelhantes (p valor $> 0,05$) para espessura de toucinho, consumo de ração diário, intervalo desmame cio, taxa de parição e duração de parto. Quando analisada a interferência dos tratamentos sobre número e peso dos leitões no momento do nascimento (p valor $> 0,05$), não foram encontradas diferenças significativas (tabela 3).

Tabela 3 – Desempenho das porcas alimentadas com probiótico durante a gestação e lactação.

Variáveis	Tratamento		EPM	CV (%)	p valor
	Controle	Probiótico			
Peso corporal inicial (kg)	231,482	232,658	12,264	17,595	0,506
Peso pré-parto (kg)	272,182	272,421	7,143	11,112	0,912
Peso ao desmame (kg)	254,106	251,978	9,402	14,538	0,365
Perda de peso na lactação (kg)	18,712	22,720	5,474	94,325	0,032
ET inicial (mm)	13,761	13,830	1,075	23,093	0,906

ET pré-parto (mm)	14,681	14,262	0,845	22,305	0,164
ET no desmame (mm)	14,063	13,975	1,123	22,531	0,685
CRD lactação (kg)	6,854	6,821	0,429	19,639	0,705
Produção de leite (kg/d)	7,736	8,388	0,345	30,897	0,005
IDC (d)	5,072	4,781	0,660	53,831	0,764
Taxa de parição (%)	85,190	87,250	-	-	0,533
Duração do parto (h)	3,793	3,794	0,185	34,055	0,301
Nascidos totais (n)	17,621	17,919	0,263	15,802	0,240
Natimortos (%)	5,970	6,320	0,300	106,984	0,509
Mumificados (%)	2,377	2,318	0,280	173,978	0,811
Nascidos vivos (n)	15,895	16,120	0,318	19,354	0,426
Peso ao nascimento (kg)	1,269	1,281	0,024	16,059	0,570
Peso mumificados (kg)	0,180	0,222	0,021	81,138	0,219
Peso natimorto (kg)	1,003	1,024	0,031	36,783	0,597
Peso nascidos vivos (kg)	1,317	1,317	0,025	15,416	0,988
SD	0,317	0,303	0,009	28,930	0,097
CV%	24,189	24,603	0,738	32,020	0,399

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo $2,75 \times 10^9$ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

ET espessura de toucinho, CRD consumo de ração diário, IDC intervalo desmame cio

As médias foram separadas pelo teste F

Os leitões provenientes do tratamento probiótico ficaram um período maior em lactação (p valor $< 0,001$) e apresentaram maior peso ao desmame (p valor $< 0,001$). No entanto, quando feito o ajuste dessas variáveis, ainda assim, apresentaram maior (p valor $< 0,05$) ganho de peso diário. Para eliminar o efeito de dias a mais na lactação, o peso ao desmame foi ajustado para 21 dias, e foi utilizado o GPD para fazer tal ajuste, eliminando o efeito de dias a mais de lactação no peso ao desmame (tabela 4).

Tabela 4 – Impacto da dieta probiótica nas fases de gestação e lactação sobre o desempenho dos leitões.

Variáveis	Tratamento		EPM	CV (%)	p valor
	Controle	Probiótico			
Leitegada inicial (n)	14,489	14,651	0,277	14,982	0,398
SD leitegada inicial	0,226	0,236	0,009	32,737	0,088
CV leitegada inicial (%)	17,175	17,962	0,621	34,416	0,137
Leitegada final (n)	12,199	12,441	0,238	14,299	0,101
SD leitegada final	0,993	1,068	0,038	32,214	0,025
CV leitegada final (%)	21,254	20,930	0,759	28,744	0,643
PL homogeneizados (kg)	1,328	1,333	18,074	18,074	0,801
Dias de lactação (n)	20,046	20,567	0,491	9,242	<0,001
Peso ao desmame (kg)	4,812	5,143	0,123	21,474	<0,001

PD – 21d ajustado (kg)	5,032	5,290	0,145	20,734	0,008
GPD - 21d ajustado	0,176	0,188	0,006	25,672	0,007
GPD (covariável)	0,174	0,186	0,006	25,668	0,007
Mortalidade e remoção (%)	14,250	14,936	0,943	75,676	0,724

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo $2,75 \times 10^9$ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

PL peso dos leitões, PD peso ao desmame, GPD ganho de peso diário, d dias

As médias foram separadas pelo teste F

O tratamento probiótico teve menor número de mortes por esmagamento (p valor $< 0,05$), contudo, teve maior número de leitões removidos do experimento (p valor $< 0,05$). Por outro lado, os leitões do probiótico receberam menos medicamentos (p valor $< 0,001$) e tiveram menor incidência de artrite (p valor $< 0,05$). Os tratamentos dietéticos não tiveram influência (p valor $> 0,05$) sobre os escores e incidência de diarreia de porcas e leitões (tabela 5).

Tabela 5 - Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre a mortalidade, remoção, medicamento e diarreia dos leitões e porcas.

Tratamento	Controle	Probiótico	SEM	p valor
Mortalidade e remoção				
Mortes totais (n)	556	561	-	0,832
Diarreia (%)	11,331	10,388	-	0,528
Esmagados (%)	23,741	18,000	-	0,018
Debitados ^a (%)	5,755	4,278	-	0,258
Removidos ^b (%)	59,172	67,380	-	0,004
Medicamentos^c (motivo)				
Medicação total (n)	6381	6004	-	<0,001
Diarreia (%)	23,460	24,017	-	0,467
Artrite (%)	2,805	2,081	-	0,009
AP para diarreia (%)	73,734	73,901	-	0,833
Diarreia nos leitões				
Escore 1 (%)	48,038	47,996	3,672	0,967
Escore 2 (%)	35,920	35,767	3,006	0,877
Escore 3 (%)	14,089	14,278	4,496	0,788
Média do escore	1,676	1,679	0,105	0,922
Dias com diarreia (%)	51,962	52,004	3,676	0,967
Diarreia nas fêmeas				
Dias com diarreia (%)	6,844	7,400	9,698	0,536

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo $2,75 \times 10^9$ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

AP antibiótico profilático (Colistina[®]; Gentamox[®])

^aproblemas locomotores e/ou machucados
^bleitões desunimorfes em relação à leitegada
^cColistina[®]; Excenel[®]; Gentamox[®]; Pencivet[®]
 As médias foram separadas pelo teste F

As porcas do tratamento controle apresentaram menor nível de cortisol salivar no período pré-parto em relação às porcas do probiótico (p valor $< 0,05$). Já no período pós-parto, aconteceu o inverso, as porcas do tratamento probiótico apresentaram menor (p valor $< 0,001$) nível em relação às do controle (tabela 6).

Tabela 6 – Níveis de cortisol salivar em porcas alimentadas com probiótico durante as fases de gestação e lactação.

Variáveis	Tratamentos		EPM	CV (%)	p valor
	Controle	Probiótico			
Cortisol salivar pré-parto ($\mu\text{g/dL}$)	0,408	0,577	0,247	92,233	0,001
Cortisol salivar pós-parto ($\mu\text{g/dL}$)	1,110	0,600	0,502	136,666	<0,001

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo $2,75 \times 10^9$ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

As médias foram separadas pelo teste F

Os tratamentos dietéticos não influenciaram (p valor $> 0,05$) as concentrações de imunoglobulinas A, M e G presentes no colostro, da mesma forma, quando analisadas no soro sanguíneo das porcas, um dia após o parto. Ambos os tratamentos não tiveram efeito (p valor $> 0,05$) sobre a concentração de IgG, IgM e proteína C-reativa no soro sanguíneo dos leitões, em nenhum momento de coleta, dias 4 e 18. As concentrações de IgA no d4 foram semelhantes (p valor $> 0,05$) entre o tratamento controle e o probiótico, no entanto, no d18, houve maior concentração (p valor $< 0,05$) de IgA no soro dos leitões oriundos da dieta controle (tabela 7).

Tabela 7 – Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre as concentrações de imunoglobulinas e proteína C-Reativa de leitões.

Variáveis	Tratamentos		EPM	CV (%)	p valor
	Controle	Probiótico			
Imunoglobulinas das porcas					
IgA no colostro	0,999	0,816	0,101	27,157	0,099
IgM no colostro	0,911	0,943	0,102	24,309	0,773
IgG no colostro	1,000	0,912	0,134	29,465	0,620
IgA no soro - 1d após o parto	0,986	0,830	1,153	35,638	0,267

IgM no soro - 1d após o parto	0,998	0,780	0,171	44,802	0,253
IgG no soro - 1d após o parto	1,000	0,922	0,170	28,102	0,664
Imunoglobulinas dos leitões					
IgA no soro - 4d	1,058	0,988	0,159	29,660	0,652
IgM no soro - 4d	0,936	1,278	0,211	40,254	0,081
IgG no soro - 4d	1,022	1,135	0,192	30,972	0,437
Proteína C-reativa (mg/L) - 4d	2,350	2,520	0,969	80,358	0,893
IgA no soro - 18d	1,010	0,703	0,128	36,731	0,003
IgM no soro - 18d	0,995	1,108	0,116	22,427	0,262
IgG no soro - 18d	1,030	0,969	0,093	21,904	0,416
Proteína C-reativa (mg/L) - 18d	1,349	1,428	0,311	45,470	0,802

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo $2,75 \times 10^9$ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

As médias foram separadas pelo teste F

A contagem bacteriana fecal das porcas, um dia após o parto, apresentou resultados semelhantes (p valor $> 0,05$) entre os tratamentos, para contagem de coliformes não *E. coli*, coliformes *E. coli*, coliformes totais, *Lactobacillus* sp. e *Clostridium perfringens*. As porcas alimentadas com o probiótico apresentaram maior expressão fecal de *Bacillus* sp. No d7, os leitões tratamento probiótico apresentaram maior quantidade (p valor $< 0,05$) de *Bacillus* sp. nas fezes. Nesse mesmo período, não houve influência dos tratamentos para contagem de coliformes, *Lactobacillus* sp., *Clostridium perfringens* e concentração de MPO. Na coleta do d17 o tratamento controle apresentou maiores valores (p valor $< 0,05$) de coliformes, *Lactobacillus* sp. e *Clostridium perfringens*, enquanto o tratamento probiótico apresentou valores mais elevados (p valor $< 0,05$) de *Bacillus* sp. e MPO (tabela 8).

Tabela 8 – Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre a contagem bactéria e MPO nas fezes de leitões.

Variáveis	Tratamentos		EPM	CV (%)	p valor
	Controle	Probiótico			
Porcas - 1 dia após o parto					
Coliformes não <i>E. coli</i>	1.67×10^8	2.59×10^8	6.11×10^7	69,995	0,127
Coliformes <i>E. coli</i>	2.40×10^7	3.37×10^7	8.92×10^6	72,112	0,294
Coliformes totais	1.98×10^8	2.33×10^8	7.17×10^7	80,233	0,806
<i>Bacillus</i> sp.	1.58×10^4	7.83×10^6	6.90×10^6	418,577	<0,001
<i>Lactobacillus</i> sp.	1.60×10^8	1.70×10^8	6.12×10^7	86,203	0,954
<i>Clostridium perfringens</i>	5.80×10^5	4.80×10^6	2.14×10^6	196,397	0,173
Leitões - 7 dias de vida					
Coliformes não <i>E. coli</i>	3.07×10^7	2.93×10^7	1.19×10^7	94,713	0,935
Coliformes <i>E. coli</i>	1.50×10^8	1.60×10^8	3.56×10^7	55,657	0,750

Coliformes totais	1.76 x 10 ⁸	2.14 x 10 ⁸	5.86 x 10 ⁷	70,852	0,810
<i>Bacillus</i> sp.	4.44 x 10 ²	1.10 x 10 ⁴	4.75 x 10 ³	215,295	< 0,001
<i>Lactobacillus</i> sp.	2.61 x 10 ⁸	2.30 x 10 ⁸	6.61 x 10 ⁷	60,144	0,540
<i>Clostridium perfringens</i>	2.35 x 10 ⁸	2.92 x 10 ⁸	1.63 x 10 ⁸	148,544	0,363
MPO (min. g tecido ⁻¹)	38,181	31,777	5,452	43,186	0,357
Leitões - 17 dias de vida					
Coliformes não <i>E. coli</i>	9.7 x 10 ⁹	1.9 x 10 ⁹	4.4 x 10 ⁹	69,995	0,003
Coliformes <i>E. coli</i>	1.9 x 10 ⁹	5.2 x 10 ⁸	4.7 x 10 ⁸	105,904	0,003
Coliformes totais	2.8 x 10 ⁹	7.3 x 10 ⁸	8.6 x 10 ⁸	112,288	0,005
<i>Bacillus</i> sp.	1.3 x 10 ³	8.1 x 10 ⁴	2.5 x 10 ⁵	176,293	< 0,001
<i>Lactobacillus</i> sp.	2.6 x 10 ⁸	1.3 x 10 ⁸	6.9 x 10 ⁷	78,097	0,003
<i>Clostridium perfringens</i>	2.0 x 10 ⁷	5.1 x 10 ⁶	2.5 x 10 ⁷	336,759	0,040
MPO (min. g tecido ⁻¹)	33,576	61,273	12,544	51,391	0,006

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo 2,75 x 10⁹ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

As médias foram separadas pelo teste F

A concentração de citocinas anti-inflamatórias na mucosa ileal, IL-4 e IL-10, foi semelhante (p valor > 0,05) entre os tratamentos. A IL-6 apresentou maior concentração (p valor < 0,05) nos animais do tratamento controle, para as demais citocinas pró-inflamatórias analisadas, IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-8, TNF- α e IL-12, não houve (p valor > 0,05) influência dos tratamentos. As dietas também não influenciaram (p valor > 0,05) a altura de vilosidade, túnica muscular, células caliciformes e relação vilo/cripta no segmento ileal. Já, para medidas de superfície de mucosa, profundidade de cripta, e altura epitelial houve influencia (p valor < 0,05) da dieta probiótica, que apresentaram maiores valores (tabela 9).

Tabela 9 - Influência do probiótico nas dietas de porcas gestantes e lactantes sobre as citocinas de superfície de mucosa ileal e histomorfometria ileal de leitões aos 18 dias de vida.

Variáveis	Tratamentos		EPM	CV (%)	p valor
	Controle	Probiótico			
Citocinas de superfície de mucosa ileal					
IFN- α (pg/mg)	1,749	1,756	0,176	13,681	0,753
IFN- γ (pg/mg)	19,107	14,863	5,554	69,052	0,520
IL-10 (pg/mg)	87,467	82,909	20,835	34,173	0,760
IL-1 β (pg/mg)	574,725	390,456	119,946	50,782	0,101
IL-4 (pg/mg)	5,264	6,696	1,386	40,105	0,151
IL-6 (pg/mg)	87,740	34,027	28,043	70,792	0,025
IL-8 (CXCL8) (pg/mg)	3831,93	4982,340	983,068	53,675	0,288
TNF- α (pg/mg)	29,521	34,353	6,567	44,382	0,379
IL-12/IL-23p40 (pg/mg)	150,341	154,619	10,851	15,124	0,715

	Histomorfometria ileal				
Superfície de mucosa (μm)	65.326,6	91.202,0	4.574,85	21,913	< 0,001
Altura de vilosidade (μm)	287,131	296,815	23,212	15,959	0,605
Profundidade de cripta (μm)	57,435	65,502	5,100	20,024	0,036
Túnica muscular (μm)	313,878	283,103	36,065	28,760	0,422
Células caliciformes (célula/vilo)	19,563	17,834	1,895	17,639	0,197
Altura epitelial (μm)	20,898	25,200	1,389	14,718	< 0,001
Relação vilo:cripta	5,110	4,660	0,434	22,083	0,237

Tratamento controle - dieta basal, sem probiótico

Tratamento probiótico - dieta basal suplementada com probiótico contendo $2,75 \times 10^9$ UFC/g *Bacillus subtilis*-541 e *B. amyloliquefaciens*-516

As médias foram separadas pelo teste F

Discussão

Aditivos adicionados à dieta são amplamente utilizados na pecuária a fim de melhorar a eficiência da produção, via alimentação. A suplementação dietética de probióticos para porcas pode melhorar a saúde da prole ao influenciar a microbiota intestinal (MA et al., 2022). No presente estudo, as fêmeas tratadas com probiótico apresentaram maior perda corporal na lactação e maior produção de leite. Essa maior mobilização de reserva corporal pode ter sido direcionada à produção de leite (tabela 4). Acreditamos que a maior atividade de enzimas digestivas, devido ao uso do probiótico, fez com que as fêmeas aproveitassem melhor os nutrientes. Com isso, tiveram menor desafio e, conseqüentemente, menos processo inflamatório.

Além disso, Hasan et al., (2018) ressaltam que, como os probióticos são associados à microbiota benéfica, contribuem para o aumento de AGCC, que reflete em maior disponibilidade de energia para a produção de leite. Nosso trabalho vai de encontro ao de Domingos et al., (2021) em que as porcas tratadas com probiótico apresentaram maior produção de leite. Entretanto, diferem das pesquisas de Kritas et al., (2015) e Konieczka et al., (2023) que relataram menor perda de peso das porcas no período de lactação, alimentadas com *B.subtilis* C-3102 e *B.subtilis*-541 + *B. amyloliquefaciens*-516, respectivamente. Já, nos estudos desenvolvidos por Jeong et al., (2015) e Hu et al., (2021) não foram encontradas diferenças no peso das porcas que receberam dietas suplementadas com probiótico à base de *B.subtilis* + *Lact. acidophilus* e *B.subtilis* + *B.licheniformis*, respectivamente.

A suplementação do probiótico para as porcas nas fases de gestação e lactação implicou em maior peso ao desmame dos leitões e, conseqüentemente, maior GPD. O melhor desempenho dos leitões está vinculado à capacidade que os probióticos têm de proteger o

epitélio intestinal, através da competição com bactérias patogênicas, por nutrientes e locais de absorção. O que resultou em maior crescimento intestinal, como pudemos comprovar nossas análises histomorfométricas (tabela 9). E, com isso, tiveram melhor aproveitamento dos nutrientes, uma vez que tinham maior área de absorção.

Nossos resultados foram semelhantes aos de Hu et al., (2021) em que o peso corporal e GPD dos leitões lactentes aumentou com a suplementação de *B.subtilis* e *B.licheniformis* na dieta das porcas. Da mesma forma, Jiang et al., (2023) observaram maior peso ao desmame em leitões suplementados com *B.amyloliquefaciens*. Está bem estabelecido que o aumento da produção de leite das porcas e do consumo de leite dos leitões estão altamente correlacionados com o GPD dos leitões (Strathe et al., 2017), confirmando os dados do nosso estudo.

Em nosso estudo, os leitões tratados com probiótico apresentaram uma redução de 24% na mortalidade por esmagamento. Acreditamos que essa redução está relacionada ao fato das fêmeas desse tratamento terem apresentado menores níveis de cortisol, e conseqüentemente, estavam mais calmas. Em contrapartida, foi observada uma taxa de 12% a mais de remoção por motivo de fraqueza. Contudo, não acompanhamos o desenvolvimento desses leitões ao longo do período experimental, foram retirados do experimento, mas permaneceram na fazenda onde foi conduzido o experimento. Nesse contexto, nosso estudo difere de Jang et al., (2013) em que mortes por esmagamento foi semelhante entre tratamento probiótico e controle.

Quando analisado o número de medicamentos, os leitões tratados com probiótico foram menos medicados e apresentaram menos artrite do que os leitões do tratamento controle. Com esses dados, percebemos o impacto positivo que os probióticos exercem sobre a saúde das porcas e leitões. Os probióticos participam na regulação da saúde do hospedeiro de várias maneiras, melhorando a digestão e absorção de nutrientes, resposta imune, aumentando o conteúdo de microorganismos benéficos intestinais e inibindo bactérias patogênicas atuando na regulação de doenças intestinais (DING et al., 2021)

O bem-estar animal pode ser avaliado mediante mudanças fisiológicas que ocorrem durante situações estressantes, como aumento do cortisol sérico. Quando há diminuição do cortisol indica alívio do estresse (LIU et al., 2016). O resultado para as fêmeas do tratamento controle apresentaram menores níveis do cortisol salivar no período pré-parto. Contudo, esse resultado possivelmente está associado ao momento de coleta. A primeira coleta foi feita na data previsto de parto. As fêmeas não tratadas com probiótico demoraram mais a parir em

relação às fêmeas tratadas com probiótico, 2,2 dias. Em contrapartida, as fêmeas alimentadas com probiótico pariram mais próximas à data prevista, 1,3 dias. No segundo momento de coleta, seis dias após o parto, as fêmeas que consumiram probiótico apresentaram menores níveis de cortisol salivar, indicando efeito positivo do probiótico na condição fisiológica das fêmeas, diminuindo os níveis de cortisol.

O aumento geral do cortisol no período pós-parto inicial pode sugerir que o parto em si tem aspectos indutores de estresse (LAWRENCE et al., 1994). Um estudo feito por Zhang et al., (2020) demonstrou que leitões lactentes, oriundos de fêmeas de tratamento probiótico, *B. subtilis* PB6, apresentaram menores níveis de cortisol (d14 e d21) indicando alívio do estresse, que os leitões enfrentam durante o período de amamentação. Os autores associaram esse resultado à colonização *Bacillus* à mucosa intestinal e consequente diminuição de patógenos, implicando em uma diminuição da inflamação, que diminuiu o estresse.

Variações dos índices bioquímicos séricos são resultados de alterações na permeabilidade das células teciduais que podem modificar a função do metabolismo (COMA et al., 1995). Os probióticos podem melhorar a imunidade do hospedeiro modulando o sistema imunológico (Kuebutornye et al., 2020). No atual estudo, os leitões tratados com probiótico apresentaram menor concentração de IgA aos 18d no soro sanguíneo. Esse menor valor de IgA sistêmica, próximo ao desmame, provavelmente é devido à tendência de menor concentração dessa imunoglobulina presente no colostro (tabela 7), onde os leitões desse tratamento tiveram menor ingestão dessa proteína ao nascimento.

Durante a amamentação, os leitões ingerem o leite da porca que contém IgA. Essa proteína é absorvida pelo muco que cobre as superfícies vilosas e que impede a *E.coli* e outros organismos de se prenderem às vilosidades (ZHANG et al., 2019). A relação entre IgA materna e o nível de IgA do leitão é causal, portanto, os níveis diminuem rapidamente após o desmame e as bactérias danificam as vilosidades (ZHANG et al., 2019). Oposto ao nosso resultado, Jang et al., (2013) encontraram maiores valores de IgA plasmático em leitões que receberam probiótico no desmame. Da mesma forma, Li et al., (2021) acharam maiores concentrações de IgA plasmática em leitões desmamados suplementados com *B. subtilis*.

No presente estudo, a contagem de *Bacillus* nas fezes das porcas tratadas com probiótico foi maior, como era esperado, uma vez que as porcas desse tratamento receberam a suplementação do probiótico. A microbiota fecal de suínos sofre mudanças notavelmente rápidas após o nascimento, tornando-se mais diversificado com a idade (GAIRE et al., 2023). Aos 7 dias de vida dos leitões, já foram detectadas as cepas probióticas de *Bacillus* nas fezes,

embora o probiótico não tenha sido consumido diretamente pela progênie. Isso demonstra a transferência vertical, da porca para os leitões. E, assim, evidenciando que a suplementação materna é um meio eficaz de administração de probióticos no início da vida dos leitões.

Além disso, nosso estudo mostrou um aumento na concentração das cepas de *Bacillus*, encontradas nas fezes dos leitões aos 17 dias, que está associado ao tempo necessário para colonizar o intestino. Notamos que, além do leite materno, os leitões tinham vias alternativas de colonização, sendo elas, contato com fezes maternas e acesso ao cocho de ração da porca, observações semelhantes foram feitas por Taras et al., (2005); Chen et al., (2018) e Rattigan et al., (2023). Acreditamos que o maior número de *Bacillus* aos 17 dias encontrado nas fezes dos leitões, explica a diminuição de contagem de coliformes não *E. coli*, coliformes *E. coli*, coliformes totais, e *Cl. perfringens*. Isso devido aos mecanismos de ação do probiótico, como competição por sítios de ligação, modulação das populações bacterianas intestinais e aumento da função de barreira, que podem prejudicar a adesão das bactérias patogênicas (ROSELLI et al., 2007). Curiosamente, no nosso estudo foi encontrado maior quantidade de *Lact. sp.* no tratamento controle. Nosso resultado diverge dos estudos de Deng et al., (2020) e Upadhaya et al., (2017), em que foram encontrados maiores valores de *Lact. sp.* nas fezes de leitões tratados com *B.subtilis e B.subtilis + B. methylotrophicus*, respectivamente.

Na análise de MPO fecal, os leitões tratados com probiótico apresentaram maior expressão da enzima nas fezes, próximo ao desmame. O aumento na atividade de MPO é devido à atividade *killling* dos neutrófilos, frente à produção de espécies reativas de oxigênio, originando a degranulação enzimática, onde há liberação da MPO (KETTLE et al., 2023). Portanto, a atividade de MPO é caracterizada como um marcador de inflamação, pois apresenta atividade oxidativa e inflamatória (KANSAGRA et al., 2003). Acreditamos que o nível mais elevado de MPO é devido à competência imunológica melhor, quando comparado ao tratamento sem probiótico, frente ao desafio natural da granja, diarreia. Os leitões de ambos os tratamentos foram acometidos com diarreia em mais de 50% do período lactacional (tabela 5).

Com isso, consideramos que os leitões tratados com probiótico, responderam imunologicamente primeiro, uma vez que ambos os tratamentos apresentaram diarreia em iguais níveis. Essa expressão da MPO foi necessária, uma vez que os leitões tinham a clínica, diarreia. Logo, a MPO está associada com a diarreia no período de lactação. A MPO está envolvida em várias doenças, especialmente aquelas relacionadas à inflamação mediada por neutrófilos, dentre elas, doença inflamatória do intestino (GUILPAIN et al., 2008). Nestas

doenças se observa o aumento significativo da atividade desta enzima (ARNHOLD e FLEMMIG, 2010). Associamos essa resposta imunológica ao melhor desempenho zootécnico e melhor integridade de mucosa dos leitões do tratamento probiótico.

Os probióticos podem manter o equilíbrio da microbiota, aumentar a capacidade digestiva, melhorar a imunidade da mucosa e inibir a proliferação de patógenos no intestino (CALLAWAY et al., 2008). Os probióticos podem proteger o intestino competindo com os patógenos pela fixação, fortalecendo as junções firmes entre os enterócitos e aumentando a resposta imune da mucosa aos patógenos. A interação entre microorganismos e células epiteliais é o início da resposta imune do hospedeiro, que pode eliminar microorganismos patogênicos potenciais. (LU e WALKER, 2001).

Nosso estudo demonstrou que os leitões do tratamento probiótico apresentaram menor expressão da citocina pró-inflamatória IL-6 no íleo. A IL-6 desempenha um papel importante na regulação da resposta imune intestinal, aumento da resistência da barreira intestinal, ativação de neutrófilos e IgA de células B, que são componentes importantes na defesa contra infecções entéricas (GOODRICH e MCGEE, 1999). A IL-6 é produzida imediata e transitoriamente em resposta a infecções e lesões teciduais, contribui para a defesa do hospedeiro por meio da estimulação de fase aguda, hematopoiese e reações imunes (TANAKA, NARAZAKI e KISHIMOTO, 2014).

MA et al., (2022) também encontraram menores níveis de IL-6 plasmática em leitões pertencentes a tratamento probiótico à base de *Lactobacillus plantanun* B90 e *Saccaromyce cerevisiae* P11. De forma semelhante, Cao et al., (2020) encontraram IL-6 reduzida na mucosa ileal em cevados tratados com *B. amyloliquefaciens*. Estudos anteriores apresentaram resultados diferentes quanto à mesma citocina, Daudelin et al., (2011) encontraram maior expressão de IL-6 ileal em leitões suplementados com probióticos à base *Ped. acidilactici* e *Saccharomyce cerevisiae boulardii*. Já, Jiang et al., (2023) não observaram diferença na concentração de IL-6 sérica entre leitões suplementados ou não com *B. amyloliquefaciens*.

A barreira intestinal e a microbiota coevoluem no início da vida e se relacionam reciprocamente, resultando no estabelecimento de um ecossistema intestinal maduro. A suplementação probiótica materna pode ajudar a manter a integridade da barreira intestinal da prole no início da vida (CUINAT et al., 2022). No presente estudo, a suplementação probiótica das porcas durante a gestação e lactação implicou em melhor saúde intestinal dos leitões. Houve aumento da superfície de mucosa, profundidade de cripta e altura epitelial no segmento ileal, indicando assim, maior área de absorção. Tais alterações na mucosa ileal

implicam em melhores condições de digerir nutrientes. Esses resultados coincidem com o melhor desempenho da leitegada ao desmame, como maior peso corporal.

Nossos resultados são apoiados por Konieczka et al., (2023) que avaliaram o mesmo probiótico e observaram a mucosa ileal mais espessa dos leitões do tratamento probiótico. Resultados semelhantes foram relatados por Hayakawa et al., 2016 utilizando probiótico à base de *B. mesentericus* e *Clostridium butyricum*. De forma similar, Crespo-Piazuelo et al., (2021) relataram uma tendência em maior altura de vilosidade e profundidade de cripta ileal em leitões de tratamento probiótico à base de *B. altitudinis*. Os probióticos têm capacidade de modificar a histologia da mucosa intestinal. A estrutura da mucosa intestinal é um fator crucial para a função digestiva e absorptiva, que está intimamente ligada ao crescimento (ANNE et al., 2021).

Conclusão

Em conclusão, porcas suplementadas com probiótico tiveram maior produção de leite, maior perda de peso corporal e menores níveis de cortisol pós-parto, indicando alívio do estresse. Os leitões do tratamento probiótico apresentaram melhores dados de desempenho e de saúde intestinal, com redução de citocinas inflamatórias e maior superfície de mucosa intestinal, tornando-os mais preparados para os desafios do desmame.

Referências

- Anne IJ, Alam S, Begum RA, Shahjahan RM, Khandaker AM (2021) The role of probiotics on animal health and nutrition. *J Bas App Zoology* 82:52. <https://doi.org/10.101186/s41936-021-00250-x>
- Arnhold J e Flemming J (2010) Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 500(1):92–106. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.04.008>
- Barba-Vidal E, Martín-Orúe SM, Castillejos L (2019) Practical aspects of the use of probiotics in pig production: A review. *Livestock Science* 223:84-96. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.02.017>
- Callaway TR, Edrington TS , Anderson RC , Harvey RB, Genovese KJ , Kennedy CN , Venn DW, Nisbet DJ (2008) Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. *Ani Health Research Reviews* 9(2):217–225. <https://doi.org/10.1017/S1466252308001540>
- Cao X, Tang L, Zeng Z, Wang B, Zhou Y, Wang Q, Zou P, Li W (2020) Effects of Probiotics BaSC06 on Intestinal Digestion and Absorption, Antioxidant Capacity, Microbiota Composition, and Macrophage Polarization in Pigs for Fattening. *Front Vet Science* 7:570593. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.570593>
- Casey PG, Gardiner GE, Casey G, Bradshaw B, Lawlor PG, Lynch PB, Leonard FC, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF, Hill C (2007) A Five-Strain Probiotic Combination Reduces Pathogen Shedding and Alleviates Disease Signs in Pigs Challenged with *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl and Environ Microbiol* 73(6):1858–1863. <https://doi.org/10.1128/AEM.01840-06>
- Chen X, Xu J, Ren E, Su Y, Zhu W (2018) Co-occurrence of early gut colonization in neonatal piglets with microbiota in the maternal and surrounding delivery environments. *Anaerobe* 49:30-40. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.12.002>
- Chen JF, Xu MMK, Kang L, Tang SG, He CQ, Qu XY, Guo SC (2020) The effects and combinational effects of *Bacillus subtilis* and montmorillonite on the intestinal health status in laying hens. *Poultry Science* 99:1311–1319 <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.016>
- Chiu SK, Collier CP, Clark AF, Wynn-Eduards KE (2003) Salivary cortisol on ROCHE Elecsys immunoassay system: pilot biological variation studies. *Clinical Biochemistry* 36(3):211-214. [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(02\)00471-X](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(02)00471-X)
- Cuinat C, Stinson SE, Ward WE, Comelli EM (2022) Maternal Intake of Probiotics to Program Offspring Health. *Current Nutri Reports* 11:537–562 <https://doi.org/10.1007/s13668-022-00429-w>
- Crespo-Piazuelo D, Gardiner GE, Ranjitkar S, Bouwhuis MA, Ham R, Phelan JP, Marsh A, Lawlor PG (2022) Maternal supplementation with *Bacillus altitudinis* spores improves porcine offspring growth performance and carcass weight. *Brit J Nutrition* 127:403–420. <https://doi.org/10.1017/S0007114521001203>

Coma J, Carniça D, Zimmerman D (1995) Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs. *J Anim Sci* 73(2):472-81 <https://doi.org/10.2527/1995.732472x>

Daudelin JF, Lessard M, Beaudoin F, Nadeau E, Bissonnette N, Boutin Y, Brousseau JP, Lauzon K, Fairbrother JM (2011) Administration of probiotics influences F4 (K88)-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* attachment and intestinal cytokine expression in weaned pigs. *Veterinary Research* 42:69. <http://www.veterinaryresearch.org/content/42/1/69>

Deng B, Wu J, Li X, Zhang C, Men X, Xu Z (2020) Effects of *Bacillus subtilis* on growth performance, serum parameters, digestive enzyme, intestinal morphology, and colonic microbiota in piglets. *AMB Expr* 10:2012. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01150-z>

Domingos RL, Silva BAN, Bravo FL, Araujo WAG, Gonçalves MF, Rebordoes FIG, Evangelista RP et al (2021) *Saccharomyces Cerevisiae* var. *Boulardii* CNCM I-1079 during late gestation and lactation improves voluntary feed intake, milk production and litter performance of mixed-parity sows in a tropical humid climate. *Ani Feed Sci and Technology* 272: 0377-8401. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114785>

Dowarah R, Verma AK, Agarwal N, Patel BHM, Singh P (2017) Effect of swine based probiotic on performance, diarrhoea scores, intestinal microbiota and gut health of grower-finisher crossbred pigs. *Livestock Science* 195:74-79. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.006>

FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Ontario, Canada.

Gaire TN, Scott HM, Noyes NR, Ericsson AC, Tokach MD, Menegat MB, Vinasco J, Roenne B, Ray T, Nagaraja TG, Volkova VV (2023) Age influences the temporal dynamics of microbiome and antimicrobial resistance genes among fecal bacteria in a cohort of production pigs. *Animal Microbiome* 5:2. <https://doi.org/10.1186/s42523-022-00222-8>

Goodrich ME, McGee DW (1999) Effect of intestinal epithelial cell cytokines on mucosal B-cell IgA secretion: enhancing effect of epithelial-derived IL-6 but not TGF- β on IgA⁺ B cells. *Immunology Letters* 67:11–14. [https://doi.org/10.1016/S0165-2478\(98\)00112-6](https://doi.org/10.1016/S0165-2478(98)00112-6)

Guilpain P, Servettaz A, Batteux F, Guillevin L, Mouthon L (2008) Natural and disease associated anti-myeloperoxidase (MPO) autoantibodies *Autoimmunity Reviews* 7(8):421–425. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2008.03.009>

Guo JR, Dong XF, Liu S, Tong JM (2018) High-throughput sequencing reveals the effect of *Bacillus subtilis* CGMCC 1.921 on the cecal microbiota and gene expression in ileum mucosa of laying hens. *Poltry Science* 97:2543–2556. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey112>

Hasan S, Junnikkala S, Peltoniemi O, Paulin L, Lyyski A, Vuorenmaa J, Oliviero C (2018) Dietary supplementation with yeast hydrolysate in pregnancy influences colostrum yield and gut microbiota of sows and piglets after birth. *Plos One* 13:1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197586>

Hayakawa T, Masuda T, Kurosawa D, Tsukahara T (2016) Dietary administration of probiotics to sows and/or their neonates improves the reproductive performance, incidence of post-weaning diarrhea and histopathological parameters in the intestine of weaned piglets. *Ani Sci Journal* 87:1501–1510. <https://doi.org/10.1111/asj.12565>

Hu S, Kim YH, Kim HI (2021) Effects of two bacillus strains probiotic supplement on reproduction performance, nutrient digestibility, blood profile, fecal score, excreta odor contents and fecal microflora in lactation sows, and growth performance in sucking piglets. *Livestock Science* 244: 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104293>

Jacquier V, Nelson A, Jlali M, Rhayat L, Brinch KS, E. Devillard (2019) *Bacillus subtilis* 29784 induces a shift in broiler gut microbiome toward butyrate-producing bacteria and improves intestinal histomorphology and animal performance. *Poultry Science* 98:2548–2554. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey602>

Jang YD, Kang KW, Piao LG, Jeong TS, Auclair E, Jonvel S, D’Inca R, Kim YY (2013) Effects of live yeast supplementation to gestation and lactation diets on reproductive performance, immunological parameters and milk composition in sows. *Livestock Science* 152:167-172. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.022>

Jeong J, Kim J, Lee S, Kim I (2015) Evaluation of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* probiotic supplementation on reproductive performance and noxious gas emission in sows. *Ann. Anim. Science* 15: 699–709. <http://dx.doi.org/10.1515/aoas-2015-0018>

Jiang Z, Su W, Li W, Wen C, Du S, He H, Zhang Y, Gong T, Wang X, Wang Y, Jin M, Lu Z (2023) *Bacillus amyloliquefaciens* 40 regulates piglet performance, antioxidant capacity, immune status and gut microbiota. *Animal Nutrition* 12:116-127. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.09.006>

Lawrence A, Petherick J, McLean K, Deans L, Chirnside J, Gaughan A, Clutton E, Terlow E (1994) The effect of environment on behaviour, plasma cortisol and prolactin in parturient sows. *Appl Animal Behaviour Science* 39:313-330. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(94\)90165-1](https://doi.org/10.1016/0168-1591(94)90165-1)

Lee YJ, Kim BK, Lee BH, Jo KI, Lee NK, Chung CH, Lee YC, Lee JW (2008) Purification and characterization of cellulase produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DL-3 utilizing rice hull. *Bioresource Technology* 99:378–386. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.013>

Li HH, Jiang XR, Qiao JY (2021) Effect of dietary *Bacillus subtilis* on growth performance and serum biochemical and immune indexes in weaned piglets. *J Appl Animal Research* 49:1,83-88. <https://doi.org/10.1080/09712119.2021.1877717>

Liu H, Li K, Mingbin L, Zhao J, Xiong B (2016) Effects of chestnut tannins on the meat quality, welfare, and antioxidant status of heat-stressed lambs. *Meat Science* 116:236-242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.024>

Lin L, Zhang Y (2017) Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunology* 18:3-25. <https://doi.org/10.1186/s12865-016-0187-3>

Lu L, Walker WA (2001) Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. *T A J Clinic Nutrition* 73: 1124–1130. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.6.1124S>

Khan S e Iqbal J (2016) Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. *Journal of Appl Animal Research* 44:359–369 <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2015.1079527>

Kansagra K, Stoll B, Rognerud C, Niinikoski H, Ou CN, Harvey R, Burrin D (2003) Total parenteral nutrition adversely affects gut barrier function in neonatal piglets. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 285:1162–1170. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00243.2003>

Kritas SK, Marubashi T, Filioussis G, Petridou E, Christodoulopoulos G, Burriel AR, Tzivara A, Theodoridis A, Piskoriková M (2015) Reproductive performance of sows was improved by administration of a sporing bacillary probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102). *J Anim Science* 93:405-413. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7651>

Kettle AJ, Ashby LV, Winterbourn CC, Dickerhof N (2023) Superoxide: The enigmatic chemical chameleon in neutrophil biology. *Immunological Reviews* 314: 181–196. <https://doi.org/10.1111/imr.13183>

Konieczka P, Ferenc K, Jørgensen N, Hansen L, Zabielski R, Olszewski J, Gajewski Z, Mazur-Ku M, Szkopek D, Szyrynska N, Lipinski K (2023) Feeding *Bacillus*-based probiotics to gestating and lactating sows is an efficient method for improving immunity, gut functional status and biofilm formation by probiotic bacteria in piglets at weaning. *Animal Nutrition* 13:361-372. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.03.003>

Kuebutornye FKA, Abarike ED, Lu Y, Hlordzi V, Sakyi ME, Afriyie G, Wang Z, Li Y, Xi CX (2020) Mechanisms and the role of probiotic *Bacillus* in mitigating fish pathogens in aquaculture. *Fish Physiol Biochem* 46:819-841. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00754-y>

Ma C, Azad MDAK, Tang W, Zhu Q, Wang W, Gao Q, Kong X (2022) Maternal probiotics supplementation improves immune and antioxidant function in suckling piglets via modifying gut microbiota. *J Appl Microbiol* 133:515–528. <https://doi.org/10.1111/jam.15572>

Noblet J, Etienne M (1989) Estimation of Sow Milk Nutrient Output *Journal of Animal Science* 67:3352–3359. <https://doi.org/10.2527/jas1989.67123352x>

Nguyen D, Lee K, Mohammadigheisar M, Kim I (2018) Evaluation of the blend of organic acids and medium-chain fatty acids in matrix coating as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microflora, and carcass quality in broilers. *Poultry Science* 97:4351–4358 <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey339>

NRC, 2012. *Nutrient Requirements of Swine*. 11th Rev. Ed. National Academy Press. Washington DC. USA.

Pesce AJ e Kaplan LA (1987) *Methods in Clinical Chemistry*, O CV Mosby-Company, St. Louis Washington. DC Toronto – 10:574-581.

Peng X, Yan C, Hu L, Huang Y, Fang Z, Lin Y, Xu S, Feng Z, Li J, Zhuo Y, Wu D, Che L (2020) Live yeast supplementation during late gestation and lactation affects reproductive performance, colostrum and milk composition, blood biochemical and immunological parameters of sows. *Animal Nutrition*, 6:288-292.

Rattigan R, Lawlor PG, Cormican P, Crespo-Piazuel D, Cullen J, Phelan JP, Ranjitkar S, Crispie F, Gardiner GE (2023) Maternal and/or post-weaning supplementation with *Bacillus altitudinis* spores modulates the microbial composition of colostrum, digesta and faeces in pigs. *Scientific Reports* 13:8900. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33175-2>

Roselli M, Finamore A, Britti MS, Bosi P, Oswald I, Mengheri E (2005) Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results. *Animal Research* 54:203-218. <https://doi.org/10.1051/animres:2005012>

Roselli M, Finamore A, Britti MS, Konstantinov SR, Smidt H, Vos WM, Mengheri E (2007) The Novel Porcine *Lactobacillus sobrius* Strain Protects Intestinal Cells from Enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 Infection and Prevents Membrane Barrier Damage. *J Nutrition* 137:2709–2716. <https://doi.org/10.1093/jn/137.12.2709>

Strathe AV, Bruun TS, Hansen CF (2017) Sows with high milk production had both a high feed intake and high body mobilization. *Animal* 11:1913–1921. <https://doi.org/10.1017/S1751731117000155>

Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T (2014) IL-6 in Inflammation, Immunity. *Disease Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:016295 <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295>

Tang RY, Wu ZL, Wang GZ, Liu WG (2018) The effect of *Bacillus amyloliquefaciens* on productive performance of laying hens. *Italian Journal of Animal Science* 17:436-441. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1394169>

Taras D, Vahjen W, Macha M, Simon O (2005) Resposta das características de desempenho e consistência fecal à suplementação dietética de longa duração com a cepa probiótica *Bacillus cereus* var. *toyoi* para porcas e leitões, *Archives of Animal Nutrition*, 59(6):405-417. <https://doi.org/10.1080/17450390500353168>

Upadhaya S, Shanmugam S, Kang D, Kim I (2017) Preliminary assessment on potentials of probiotic *B. subtilis* RX7 and *B. methylotrophicus* C14 strains as an immune modulator in *Salmonella*-challenged weaned pigs. *Trop Anim Health Prod* 49:1065–1070. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1278-8>

Zhang L, Jin P, Qin S, Liu J, Yang Z, Zhao H, Sheng Q (2019) Effects of dietary supplementation with *S. platensis* and probiotics on the growth performance, immune response and the fecal *Lactobacillus* spp. and *E. coli* contents of weaned piglets. *Livestock Science* 225:32-38. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.04.013>

Zhang Q, Li J, Cao M, Li Y, Zhuo Y, Fang Z, Che L, Xu S, Feng B, Lin Y (2020) Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* PB6 improves sow reproductive performance and reduces piglet birth intervals. *Animal Nutrition* 6:278-287. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.04.002>

You C, Xu Q, Chen J, Xu Y, Pang J, Peng X, Tang Z, Sun W, Sun Z (2023) Effects of Different Combinations of Sodium Butyrate, Medium-Chain Fatty Acids and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on the Reproductive Performance of Sows and Biochemical Parameters, Oxidative Status and Intestinal Health of Their Offspring. *Animals* 13:2-20. <https://doi.org/10.3390/ani13061093>

Whelan RA, Doranalli K, Rinttil T, Vienola K, Jurgens G, Apajalahti J (2019) The impact of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the pathology, performance, and intestinal microbiome of broiler chickens in a necrotic enteritis challenge. *Poultry Science* 98:3450–3463. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey500>