CAMILA MARIA DE FREITAS

**Efeito da administração de bactérias ácido-láticas sobre o
ganho de peso de leitões na maternidade**

Pirassununga

2008

CAMILA MARIA DE FREITAS

**Efeito da administração de bactérias ácido-láticas sobre o
ganho de peso de leitões na maternidade**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina
Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga

2008

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1998
FMVZ

Freitas, Camila Maria de
Efeito da administração de bactérias ácido-láticas sobre o
ganho de peso de leitões na maternidade / Camila Maria de
Freitas. – Pirassununga: C. M. Freitas, 2008.
47 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de
Nutrição e Produção Animal, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Leitões. 2. Maternidade. 3. Lactobacillus.
4. Bifidobacterium. 5. Desempenho. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito da combinação de probióticos na dieta de primíparas em terço final de gestação e lactação e na manutenção da integridade intestinal de leitões frente ao desafio por *Salmonella typhimurium*", protocolado sob o nº1078/2007, utilizando 30 (trinta) suínos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 23/05/07.

(We certify that the Research "Effects of combination of probiotics in pregnancy gilts diet and maintenance of intestinal integrity of piglets challenged by *Salmonella typhimurium*", utilizing 30 (thirty) swines, under the responsibility Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 05/23/2007).

São Paulo, 24 de maio de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: FREITAS, Camila Maria de

Título: Efeito da administração de bactérias ácido-láticas sobre o ganho de peso de leitões na maternidade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*E o Deus de toda a graça, que em Cristo Jesus vos chamou à sua
eterna glória, depois de haverdes padecido um pouco, ele mesmo
vos aperfeiçoará, confirmará, fortificará e fortalecerá;
A Ele seja a glória e o poderio para todo o sempre. Amém.*

1 Pedro 5:10-11

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, Deus de detalhes, Deus fiel que esteve comigo até o fim para a realização desta obra. Sou grata pela sua misericórdia, seu braço forte e por toda a sorte de bênçãos... Por não escolher os capacitados, mas por capacitar os escolhidos!

Ao meu pai, por todo o seu amor incondicional e incentivo, pelo apoio e confiança e à minha mãe, mulher de fé, pelas orações e palavras de consolo ao telefone, por estar comigo em oração em todos os momentos.

Ao meu orientador, Professor Ricardo de Albuquerque, pelo incentivo e amizade assim como sua confiança em mim depositada.

À aluna especial Larissa, pela essencial ajuda e dedicação durante o experimento, ao amigo e confidente Fabinho, pelos incansáveis momentos de descontração e pelo amor e cuidado para com as mães e leitõezinhos, ao Eduardo pelo empenho e dedicação exemplares na limpeza das baias e aos estagiários de Medicina Veterinária que participaram ativamente das atividades, pelo amor e torcida demonstrados durante os partos das mães porcas.

Aos professores Luís Felipe, Paulo Mazza, Messias, Francisco Rennó, Romualdo Fukushima e Marcos Veiga pelo excelente trabalho, dedicação e disposição ao ensinar Nutrição Animal.

Aos meus colegas da pós, em especial Andréia e amiga laçanã, pela amizade.

Aos funcionários do departamento de Nutrição e Produção Animal, em especial, Cris, Alessandra e Zequinha pela disposição em sempre atender nos incontáveis pedidos de ajuda na parte administrativa e Ogna pela amizade e momentos de descontração.

Ao Comércio e Indústria Uniquímica Ltda. pelo auxílio financeiro e oferecimento dos probióticos.

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

RESUMO

FREITAS, C. M. **Efeito da administração de bactérias ácido-láticas sobre o ganho de peso de leitões na maternidade.** [Effect of lactic acid bacteria administration on weight gain in suckling piglets]. 2008. 47 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

O experimento foi conduzido nas instalações de gestação e maternidade da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em Pirassununga, para avaliar o efeito da administração de bactérias probióticas ácido-láticas sobre o ganho de peso de um determinado grupo de leitões logo após o nascimento e antes da primeira mamada do colostro. Para efeito de comparação, criou-se outro grupo de leitões placebo que receberam água destilada em igual volume e manejo. Todos os animais foram pesados semanalmente desde o nascimento até o desmame ocorrido com 21 dias de idade. Os intervalos de ganho de peso médio diário também foram considerados. O probiótico testado não foi eficiente em alterar significativamente o ganho de peso dos animais ($P>0,05$), porém os leitões que o receberam, obtiveram numericamente maior ganho de peso médio diário, bastante evidente aos 7 e 14 dias de idade, podendo-se justificar a hipótese da existência de uma economia de nutrientes aproveitados pelo hospedeiro que possuía uma microbiota estável e saudável.

Palavras-chave: Leitões. Maternidade. Lactobacillus. Bifidobacterium. Desempenho.

ABSTRACT

FREITAS, C. M. **Effect of lactic acid bacteria administration on weight gain in suckling piglets.** [Efeito da administração de bactérias ácido-láticas sobre o ganho de peso de leitões na maternidade]. 2008. 47 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

The experiment was carried in the gestation and farrowing environment of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny at University of Sao Paulo, in Pirassununga, to evaluate the effect of lactic acid probiotic bacteria administration on weight gain of a specific group of piglets just after the birth and before first colostrum suckling. For a better comparison, we designed another group of piglets, placebo, which received distilled water in the same volume and manner as probiotic group. All the animals were weighed weekly since birth until weaning, occurred with 21 days old. The average daily weight gain ranges also were considered. The tested probiotic did not change efficiently the weight gain of the animals ($P>0,05$), however, probiotic treated animals had greater average daily weight gain counts, mainly obvious at 7 and 14 days old, being able to justify the hypothesis of the nutrients economy existence, used by the host, owner of a stable and healthy microbiota.

Keywords: Piglets. Farrowing. Lactobacillus. Bifidobacterium. Performance.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores mínimos e máximos dos pesos médios, em kg, nas diferentes idades frente aos tratamentos probiótico e placebo	33
Tabela 2 - Valores do ganho de peso médio diário, em kg, nas diferentes idades frente aos tratamentos probiótico e placebo	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Ganho de peso médio diário dos leitões, em kg, comparativo entre os dois tratamentos em função dos dias do experimento.....	35
-------------	---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DOS ADITIVOS ALIMENTARES	13
2.2	ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE SUÍNOS	15
2.2.1	Microingredientes antimicrobianos	15
2.2.2	Probióticos	17
2.2.2.1	Histórico	20
2.2.2.2	Mecanismo de ação dos probióticos	21
2.3	MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL DOS SUÍNOS	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	LOCAL E ANIMAIS	28
3.2	TRATAMENTOS	29
3.3	MANEJO ALIMENTAR DAS FÊMEAS	30
3.4	MANEJO DOS LEITÕES	31
3.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1	DESEMPENHO DOS LEITÕES.....	32
5	CONCLUSÕES	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos para atender as necessidades da população mundial requer produção intensiva levando também em consideração os aspectos sociais, ambientais e de segurança alimentar.

Tal quadro traz um grande desafio às cadeias agroindustriais de alimentos, em especial, à cadeia de carne suína, que atualmente atinge bons índices de produtividade, colocando o Brasil entre os sete maiores produtores mundiais, obviamente justificados por avanços significativos nas áreas de melhoramento genético, nutrição, ambiência e bem estar animal, reprodução dentre outros.

Devido a essa industrialização da criação de suína cada vez mais intensa, qualquer risco eminente de maior perda econômica relacionada à diminuição do desempenho dos animais, sejam por maiores preocupações com manejo e bem-estar, ou seja, até mesmo por proibições de uso indevido de promotores antimicrobianos torna-se primordial e a partir daí, investimentos em tecnologias têm sido gerados no sentido da melhoria da produção.

Nos últimos 40 anos, o uso de níveis subterapêuticos de antibióticos, como aditivos às rações, mostrou grandes benefícios, expressos por uma melhora no ganho de peso, conversão alimentar e viabilidade da produção em larga escala, mesmo em condições subótimas.

Apesar da capacidade comprovada de aumentar o desempenho de suínos, o uso de antimicrobianos, como promotores de crescimento, vem sendo fortemente restringido.

Estas proibições se devem à possibilidade do desenvolvimento de resistência bacteriana cruzada, já que contribuiria para a formação de um estoque de bactérias entéricas resistentes a drogas capazes de transferir a resistência para bactérias patogênicas, causando riscos à saúde pública além da exigência dos importadores por produtos livres de resíduos de antibióticos.

Por outro lado, tais medidas impõem condições unilaterais que podem inviabilizar economicamente a cadeia produtiva. Na suinocultura, grande parte do prejuízo gerado pela retirada dos microingredientes antimicrobianos resulta da queda de produtividade na fase de creche que corresponde ao período crítico pós-desmame. Sabe-se bem que a idade e o peso ao desmame estão intimamente

relacionados às taxas de crescimento pós-desmame (QUINIOU et al., 2002). Muitos estudos têm demonstrado que o peso ao desmame influencia o desempenho de crescimento pós-desmame e também influencia a fase seguinte de crescimento e terminação. Um aumento no peso do suíno ao desmame de 1 kg resultará em um animal que alcança o peso de abate pelo menos 10 dias antes (COLE et al., 2001). O uso de antibióticos promotores de crescimento em suínos resulta em um aumento de 4 a 6,5% de seu crescimento e eficiência alimentar (MUIRHEAD et al., 1997). Abe et al. (1995) relata uma melhora no ganho de peso e eficiência alimentar de leitões com a administração de probióticos contendo *Lactobacillus*.

É neste contexto que os probióticos têm merecido considerável atenção como uma possível alternativa ao uso dos tradicionais promotores de crescimento.

As pesquisas realizadas também demonstram o aspecto destes produtos em reduzirem os sintomas de estresse, agirem como promotores de crescimento e melhorarem a saúde geral do animal. E considera-se, assim como os antibióticos, que os probióticos atuem alterando a composição da microbiota do trato intestinal.

A utilização principalmente na fase inicial da vida dos leitões e anterior a períodos de estresse como o desmame, contribui para a manutenção da flora nativa do intestino delgado e por serem um suplemento alimentar composto de microorganismos vivos, os probióticos beneficiam o hospedeiro animal assegurando a integridade do epitélio intestinal e garantindo, portanto, uma maior absorção de nutrientes e melhor aproveitamento da ração caracterizado como eficiência alimentar.

Todas essas características positivas dos probióticos levantam a hipótese de que seu uso beneficia os leitões já desde a primeira fase de suas vidas, através da melhoria de seu desempenho e proporcionando uma maior homogeneização dos animais suplementados em comparação ao grupo de animais não suplementados. Assim, a pesquisa tem como objetivo, examinar se a administração de bactérias ácido-láticas por meio de um probiótico é eficaz em promover o crescimento saudável de leitões recém-nascidos através de parâmetros de desempenho zootécnico.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A literatura a respeito dos aditivos alimentares e suas possíveis influências benéficas sobre o organismo animal é ampla e tem sido bastante divulgada após normas e proibições a cerca da adição de promotores de crescimento antimicrobianos em rações animais. A seguir serão apresentadas informações obtidas através de revisão literária a respeito das características principais, mecanismos e modo de ação dos probióticos.

2.1 HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DOS ADITIVOS ALIMENTARES

Foi a partir da década de cinquenta que os antibióticos começaram a ser utilizados na alimentação animal visando à cura e prevenção de doenças, mas também se observou que estes compostos possuíam a capacidade de melhorar o desempenho de animais de produção através do fenômeno da exclusão de microorganismos competidores do alimento no trato gastrointestinal (MACARI; FURLAN, 2005). Resultados rápidos e utilização de pequenas doses fizeram com que os produtores passassem a utilizar estes compostos para crescimento rápido dos animais assim como também para a prevenção de doenças. Importante levarmos em consideração de que as condições de higiene daquela época eram bem deficientes quando comparadas as condições atuais fazendo, portanto com que os resultados obtidos fossem de tamanha expressividade (BIOTECNAL, 1999). Dependendo da droga e espécie animal, os antimicrobianos promotores podem melhorar o crescimento por volta de 4 a 8% e a conversão alimentar de 2 a 5%, e além destas vantagens aos produtores, há também evidencia de ganho aos consumidores, especialmente em relação a redução de custo dos produtos cárneos (MILLER et al., 2007). Estes promotores também são usados em alguns países para prevenir problemas de diarreia em suínos, a exemplo do olanquidox no combate à *Lawsonia intracellularis*.

Na década de sessenta surgiram as primeiras críticas em relação ao uso indiscriminado dos antibióticos na alimentação animal criando-se a hipótese de que

o uso diário e constante sem critérios provocaria tanto a destruição de bactérias patogênicas quanto das benéficas além do aparecimento de resistência bacteriana levando futuramente a uma queda na eficiência dos antibióticos (GHADBAN, 2002).

Já na década de setenta, órgãos de saúde internacionais como o *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos passaram a se preocupar com as rações animais que continham antibióticos em sua composição, surgindo a partir daí, as primeiras normas limitando o uso destes na alimentação animal. A maior preocupação era a de proteger o consumidor final, em relação a possíveis relações alérgicas advindas da presença de resíduos de antimicrobianos como a penicilina ou até mesmo na interferência no tratamento de infecções humanas devido ao aparecimento de cepas bacterianas resistentes (BIOTECNAL, 1999).

Aqueles que se opõem a ação européia de banir o uso de antibióticos justificam como sendo unicamente uma barreira de mercado sem base científica e alguns cientistas acabam por salientar uma preocupação do ponto de vista veterinário onde essa proibição pode resultar no reaparecimento de certos problemas de saúde animal; já aqueles que defendem banir a utilização de antibióticos sustentam suas hipóteses de que o uso subterapêutico prolongado pode reduzir a eficiência dos mesmos agentes em níveis terapêuticos quando usados em tratamentos de doenças, tanto humanas quanto animais (HOOGE, 1999).

Certamente, ao banir a utilização de antibióticos a nível subterapêutico, resultará em maior mortalidade, aumento gradual da utilização de antibióticos a nível terapêutico além da menor eficiência de produção, exemplos estes citados por Who (2003) com a redução de 2,6% na taxa de crescimento e aumento da mortalidade em 0,6% ao desmame na produção de suínos. Autores como Timmerman et al. (2006) ressaltam que o consumo de antimicrobianos varia consideravelmente quando em doses terapêuticas uma vez que o tratamento é baseado em um grupo de animais e utilizando-se de uma dose diária específica, sendo mais apropriada do que usar quantidades totais de antimicrobianos em toneladas por ano.

Com a proibição de muitos compostos como a penicilina, tetraciclina, oxitetraciclina, estreptomicina, neomicina dentre outros, pela Comunidade Européia na década de oitenta, muitos pesquisadores da área de nutrição animal começaram a buscar alternativas que pudessem substituir de forma similar os antibióticos. O interesse maior centralizou-se em um dos mecanismos de defesa natural dos animais, a população de bactérias benéficas presente no trato gastrointestinal, que

até então havia recebido pouca atenção, enquanto novas proibições e instruções normativas continuavam a surgir (GHADBAN, 2002; UTIYAMA, 2004).

2.2 ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE SUÍNOS

Pode-se definir como aditivo, uma substância adicionada à ração em pequenas quantidades que possui função pró-nutricional, condicionadora ou profilática, não sendo prejudicial ao animal e não deixando resíduos no produto de consumo. Porém foi adotada uma nova terminologia abandonando o termo “aditivo” por considerá-la de conotação não saudável para o consumidor e pouco esclarecedora. Assim, foi sugerida a adoção do termo microingrediente de alimentação, o qual se define como toda substancia ou mistura intencionalmente adicionada aos alimentos para animais com finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades desejáveis e suprimir as indesejáveis e que seja utilizado sob determinadas normas (LIMA, 1999).

São divididos em 3 classes de acordo com seu modo de ação específico ou característica funcional:

- Pró-nutrientes: indicando que o microingrediente pode favorecer a utilização dos nutrientes da dieta pelos animais melhorando a sua eficiência de utilização e proporcionando melhor desempenho; dentre estes, podemos destacar os probióticos.
- Coadjuvantes de elaboração;
- Profiláticos.

2.2.1 Microingredientes Antimicrobianos

Dentre os microingredientes, os agentes antimicrobianos são os promotores de crescimento mais utilizados nas criações animais com grandes vantagens quando utilizados em doses subterapêuticas nas rações. Dewey et al. (1999) apresentaram um relatório, no qual se estima que nos Estados Unidos, os

antimicrobianos para suínos são utilizados em 90% das dietas iniciais, em 75% das dietas de crescimento, em mais de 50% das dietas de terminação e em 20% das dietas de reprodutores.

Tais microingredientes agem sobre a microbiota, como bactericidas ou bacteriostáticos causando efeitos interativos com a fisiologia animal. Menten (1995) ao compilar diversos trabalhos que procuram estabelecer o efeito sobre a microbiota animal sugere que são capazes de induzir mudanças na proporção de populações bacterianas específicas, ou seja, promovem uma seleção de organismos adaptados ao ambiente modificado. Tais alterações na microbiota gerariam efeitos benéficos através de diversos mecanismos tais como: economia de nutrientes, proteção contra a produção de toxinas no trato gastrintestinal, controle de doenças subclínicas ou até mesmo efeito metabólico.

Contudo, apesar destes efeitos benéficos dos antibióticos, fortes restrições vêm sendo impostas em caráter mundial, além de pressões dos próprios consumidores.

O primeiro questionamento envolvendo antibióticos como aditivos alimentares surgiu na Grã-Bretanha ainda em 1969, devido ao aumento na ocorrência de amostras de *Salmonella thiphymurium* resistentes a vários antibióticos (SCHWARZ et al., 2001). Essa resistência ocorre quando as bactérias desenvolvem um mecanismo de sobrevivência ao uso do microingrediente, geralmente associado ao uso de dose subterapêuticas de forma continuada e por longos períodos de tempo. Edens (2003) descreve tal como decorrente do aumento da resistência à absorção do antibiótico pela parede celular, anulando total ou parcialmente o seu efeito, sua transformação em produto não lesivo às bactérias ou até mesmo pela transformação em metabólicos alternativos que permite aos microorganismos uma coexistência com a droga.

Menten (2002) relata que os mais recentes eventos envolvendo os promotores de crescimento foram a suspensão pela União Européia do uso de avoparcina a partir de 1997 e a partir de 1999, a proibição de bacitracina de zinco, espiramicina, virginamicina e tilosina além dos quimioterápicos carbadox e olanquidox. Como ilustração, tem-se que o aumento das infecções hospitalares por bactérias resistentes à vancomicina foi associado ao uso de avoparcina como promotor de crescimento, por serem estruturalmente semelhantes.

Já em 2006, todos os antibióticos foram proibidos como aditivos em rações animais na União Européia e este indeferimento tende a ser seguido em outros países.

Com a total remoção dos antibióticos na produção animal, algumas implicações serão acarretadas tais como dificuldade de controle de doenças até então sob controle além do aumento nos custos de produção (SANTOS, 2002).

Algumas estratégias estão sendo adotadas para contornar os malefícios advindos da retirada dos antibióticos das rações animais, umas mais em caráter emergencial como novos suplementos alimentares passíveis de substituição aos antibióticos de forma similar como probióticos, prebióticos, enzimas e ácidos orgânicos e outras estratégias mais futuras como a seleção genética de animais resistentes a doenças e vacinações (CHAIRMAN et al., 2004).

2.2.2 Probióticos

A palavra probiótico é derivada do grego Pro: a favor e bio: vida, ou seja, a favor da vida. Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), probióticos são cepas específicas de várias espécies de microrganismos que agem como auxiliares na recomposição da microbiota intestinal dos animais, diminuindo a concorrência dos microrganismos patogênicos ou indesejáveis; por outro autor, definido como sendo um microingrediente à base de microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro, melhorando o balanço microbiano intestinal (FULLER, 1989), os quais, após uma ingestão em doses efetivas são capazes de se estabelecer ou mesmo colonizar o trato digestivo e manter ou aumentar a microbiota natural assegurando até mesmo, a melhor utilização dos alimentos pelo hospedeiro animal (VANBELLE et al., 1990).

Um bom probiótico deve sobreviver às condições adversas do trato gastrointestinal tais como ação dos sucos gástrico, pancreático incluindo a bile, visto que a media diária do fluxo biliar no suíno é muito alta, ao redor de dois litros para cada 40kg de suíno, e os sais biliares apresentam uma função semelhante ao detergente que auxilia na absorção e digestão de gorduras, sendo extremamente crítico para os microorganismos, pois suas membranas celulares são compostas de

lipídios e ácidos graxos. Todavia, alguns microorganismos são capazes de diminuir o efeito detergente, por diminuição da solubilidade através da habilidade de hidrolisar os sais de bile pela enzima hidrolase de sais de bile; além disso, o probiótico não deve ser tóxico nem patogênico para o homem e animais; estável durante estocagem e permanecer viável por longos períodos de tempo nas condições normais de estocagem além de promover efeitos comprovadamente benéficos ao hospedeiro. Deve ser também tolerante a fenol, uma vez que fenóis podem ser formados no intestino por bactérias que desaminam alguns aminoácidos aromáticos provenientes da dieta ou produzidos por proteínas endógenas. Alguns autores citam que a concentração de 0,4% de fenol já causa ação bacteriostática para alguns microorganismos. Espécies de *Lactobacillus acidophilus* e *L. reuteri* mostraram alta tolerância para com o fenol (0,4-0,5%).

Importante salientar também que o probiótico deve ser um habitante normal do trato intestinal do hospedeiro com a capacidade de sobreviver, crescer e se fixar no intestino salvo a exceção de alguns microorganismos não dotados de mesma capacidade como exemplo dos *Bacillus*, que acaba por atingir o interior do intestino com um maior número de microorganismos viáveis se comparado ao *Lactobacillus*, pelo fato principal de estar na forma esporulada e conseqüentemente, não ser destruído durante o processamento da ração (GIBSON; ROBERFROID, 1995; GONZALES, 2004).

Complementando estas definições, Close (2001) sugere que um probiótico eficaz ainda deve ser atuante em pequenas dosagens, com espectro de ação reduzido e não ser absorvido pelas células intestinais; não apresentar resistência cruzada com outros macroingredientes da ração; ter boa palatabilidade ou não interferir nas propriedades sensoriais; não ser mutagênico ou carcinogênico e ainda poder ser isolado ou detectado em seu hospedeiro.

Os probióticos possuem algumas desvantagens em comparação com outros moduladores da microbiota entérica, uma vez que poucas espécies de microorganismos podem ser consideradas para uso em produtos probióticos devido ao limitado conhecimento acerca de condições necessárias para aplicação e armazenamento, ou situações de extrema anaerobiose além de possuírem uma vida útil curta e a maioria ser lábil a calor excessivo e pressão durante os processos de fabricação. Alguns microorganismos probióticos podem ser reduzidos ou eliminados pelo baixo pH intestinal, porém estão surgindo tecnologias de revestimento e

proteção desses microorganismos ainda recentes que esperam por mais comprovações científicas (FOOKS et al., 1999; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Não se conhece ainda nem a composição total, nem a perfeita combinação entre as que melhor estimulam as propriedades probióticas “in vivo”. A eficácia do produto é estritamente dependente da quantidade e características das cepas do microorganismo utilizado em sua elaboração (LODDI, 2001).

O modo de administração dos probióticos é bem variado, podendo-se utilizar em curtos períodos ou continuamente, de acordo com sua finalidade.

Tem-se relatado que a administração precoce de probióticos para neonatos diminuiu o índice de mortalidade e no caso de aves jovens, melhoraram o seu desempenho (EDENS et al., 1997).

Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), os produtos registrados como probióticos possuem os microorganismos *Bacillus toyoi*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*, podendo conter apenas uma espécie de microorganismo ou estar em associação. Internacionalmente é estipulado que os produtos devem ter indicado no rótulo o número de microorganismos viáveis por grama, nome científico completo dos microorganismos que os compõem assim como sua vida útil. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), vinculada ao Ministério da Saúde, regulamentou os alimentos funcionais e novos alimentos através das resoluções ANVS/MS nº16/99, 17/99, 18/99 e 19/99. Trata-se de regulamentos técnicos sobre procedimentos para registros de alimentos e/ou novos ingredientes e para alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem. A resolução RDC nº2 de 07/01/2002 (Anexo A), da ANVISA, por sua vez, aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde.

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

A espécie de microrganismo utilizada no probiótico, o histórico de doenças, o “status” sanitário do rebanho e até mesmo a temperatura das instalações podem interferir na ação dos promotores de crescimento, inclusive dos probióticos (NRC, 1998). E ainda existem alguns fatores que podem interferir na possível ação do probiótico tais como exposição do alimento ao calor e umidade excessiva durante a armazenagem ou até mesmo durante a fabricação, a presença de alguns tipos de antibióticos na ração ou o processo de peletização comumente empregado na fabricação de rações que pode diminuir o número de microorganismos viáveis ou estes mesmos estarem presentes em numero insuficiente para que possa ser formada uma colônia no trato intestinal e estabelecer-se uma relação simbiótica com o animal hospedeiro (DALE, 1992).

Importante salientar também de que quanto melhores forem as condições sanitárias e menos estresse o animal sofrer e mais equilibrada a flora intestinal for, menor será o efeito dos antibióticos e probióticos. Mas sabe-se o quanto é difícil nas criações, manter um animal que não sofra de estresse e um ambiente livre de microorganismos patogênicos (MACARI; FURLAN, 2005).

2.2.2.1 Histórico

A história dos probióticos na forma de leite fermentado teve inicio há centenas de anos, quando médicos do Oriente Médio prescreviam iogurte e outros leites fermentados para cura de desarranjos estomacais e intestinais. Em 1907, um pesquisador russo demonstrou que a ingestão regular de leites fermentados melhorava a saúde e atribuiu a longevidade de povos búlgaros ao grande consumo de leite fermentado por bactérias produtoras de ácido láctico. Esse mesmo pesquisador especulou a possibilidade de bactérias patogênicas expelirem substâncias nocivas ao hospedeiro e através da ingestão de elementos benéficos, no caso o iogurte, poderia de alguma forma melhorar o ambiente intestinal, atualmente conhecida como manipulação da população microbiana, sugerindo que a ingestão constante de microorganismos benéficos deveria colonizar o trato gastrointestinal, eliminando conseqüentemente os microorganismos indesejáveis e

fortalecendo, portanto, a saúde do hospedeiro (TOURNUT, 1998; BIOTECNAL, 1999).

Segundo Ghadban (2002), o *Lactobacillus acidophilus* foi o primeiro microorganismo a ser isolado do intestino e este foi usado para fim de produção animal na década de setenta, culminando com a preocupação por parte das autoridades e órgãos de saúde animal internacionais com as rações animais contendo antibióticos.

Desde então, os probióticos têm merecido uma atenção especial, no que diz respeito a avanços tecnológicos, como alternativa ao uso dos tradicionais promotores de crescimento.

De acordo com Hasler (1998), o mercado de probióticos é mais desenvolvido na Europa, onde existe um número muito grande de produtos já disponíveis, gerando uma renda anual estimada em 2 milhões de dólares. Já nos Estados Unidos, a curiosidade sobre a bactéria probiótica ocasionou um rápido crescimento de cerca de 22% em torno do mercado desses produtos.

2.2.2.2 Mecanismo de ação dos probióticos

O que alicerça o conceito da utilização de probióticos é a manipulação da microbiota intestinal que influencia beneficemente a saúde do hospedeiro e com isso, mantém a probiose do animal, que é justamente a capacidade dos microorganismos normais do trato intestinal de resistir ao crescimento exagerado de cepas normais e ao estabelecimento de cepas invasoras (GHADBAN, 2002).

Quando adicionados à ração ou água, os microrganismos probióticos podem proteger o intestino contra microrganismos patógenos e trazer benefícios por diferentes mecanismos, estes, ainda não bem esclarecidos, mas algumas teorias têm sido propostas e consideram que os microrganismos presentes nos probióticos sejam capazes de produzir substâncias antibióticas e ácidos orgânicos; propagar-se no tubo digestivo e colonizá-lo; estimular o sistema imunológico; neutralizar toxinas produzidas por bactérias patogênicas; reduzir a produção de aminas tóxicas; sintetizar vitaminas e estimular a atividade de enzimas digestivas (VANBELLE et al., 1990).

O papel de um probiótico no intestino e seu mecanismo de ação pode ser contrastado com o de antibióticos. Existe pouca evidência para sugerir que um probiótico possa influenciar na digestibilidade e absorção de nutrientes, entretanto, poderia afetar a ligação de um organismo patogênico à parede intestinal e sua conseqüente produção de enterotoxinas por logo passar a prevalecer na microbiota e aderir-se ao epitélio intestinal (RUTZ; LIMA, 2001).

Isto sugere que um modo de prevenir a colonização deste ambiente por patógenos é saturar os receptores de adesão do epitélio por organismos que não sejam deletérios e, desta forma, prevenir a adesão por microrganismos patogênicos (FOX, 1988).

Este princípio é atualmente chamado de “exclusão competitiva”, teoria esta que surgiu a partir do conceito de “competição por sítios de ligação”, para designar a inabilidade de uma população de microorganismos em se estabelecer no intestino devido à presença de uma outra população, e se aplica a probióticos à base de microrganismos do gênero *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, pois são bactérias que, como os principais patógenos, colonizam o trato intestinal aderindo-se por meio de fímbrias ao epitélio intestinal.

De acordo com Loddi (2001), as fímbrias são os elementos de aderência bacteriana mais conhecidos e estudados. São compostas por lecitinas que reconhecem oligossacarídeos específicos dos sítios de ligação da parede intestinal cuja colonização varia de acordo com o tipo de bactéria e o tipo de hospedeiro. Algumas bactérias somente se aderem à superfície superior (glicocálix) dos enterócitos, enquanto outras residem somente nas criptas onde são produzidas as novas células epiteliais que migram até as vilosidades.

Spencer e Chesson (1994) demonstraram que algumas espécies de *Lactobacillus*, em particular espécies de *L. fermentum*, eram capazes de aderir fortemente às células epiteliais colunares de suínos. Tais lactobacilos produzem biosurfactantes que são definidos como uma mistura de complexo biológico capaz de inibir a adesão de patógenos urogenitais (*Enterococcus faecalis*). Esta ocupação física dos sítios intestinais pela microbiota normal e em especial pelo *Lactobacillus spp* é vista por alguns autores como o mais importante dos outros fatores relacionados.

Estes probióticos são indicados normalmente a animais recém-nascidos com o objetivo da colonização do trato e a estabilização da microbiota evitando a instalação de patógenos como a *Salmonella* (MENTEN, 2001).

Além do efeito físico de barreira contra bactérias patogênicas, Petri (2000) também sugere que as bactérias probióticas exercem um efeito biológico, já que promovem um ambiente de baixa tensão de oxigênio, desfavorecendo o crescimento de bactérias enteropatogênicas, principalmente as salmonelas, assim como favorecem também um efeito químico, pois as bactérias probióticas produzem ácidos orgânicos como láctico e propiônico, os quais levam a uma redução do pH do ambiente intestinal, com uma conseqüente inibição de bactérias patogênicas.

Outro princípio existente é o efeito de “antagonismo direto” dos probióticos que se dá pela produção de ácidos orgânicos ou substâncias antibióticas tais como bacteriocinas, nisina, acidofilina, peróxido de hidrogênio, etc. As bacteriocinas são substâncias protéicas e antibióticas de ação local, que inibem o crescimento de patógenos intestinais e que possuem ausência de letalidade para as células produtoras.

LIAO et al. (1994) citam que algumas bactérias como o *Lactobacillus acidophilus* são capazes de produzir uma substância denominada Lacidin A, que possui ação inibitória e bactericida contra *Staphylococcus aureus*, e esta mesma substância é usada como defensivo natural em produtos alimentares.

As bactérias lácteas, por exemplo, reduzem o pH intestinal pela produção principalmente de ácido láctico exercendo um efeito supressor no crescimento de microrganismos patogênicos gram-negativos. Patógenos como a *Salmonella* spp se desenvolvem em pH mais elevado, havendo, portanto inibição do crescimento dessas populações. As bactérias intestinais ao utilizar prebióticos, ingredientes alimentares não absorvidos integralmente pelo hospedeiro, produzem alguns ácidos orgânicos, como o propiônico, acético, butírico e o láctico, além do peróxido de hidrogênio, substância efetiva contra vírus e outras espécies de bactérias (FURLAN et al., 2004). Aparentemente, a ação bacteriostática dos ácidos graxos é dependente do pH, onde quanto maior a redução deste, maior a quantidade de ácido e mais intenso efeito antibacteriano.

Outro mecanismo de ação atribuído aos probióticos seria também a da própria competição por nutrientes no lúmen intestinal, uma vez que a competição também ocorre entre as bactérias intestinais por seus nutrientes específicos além da

própria competição por nutrientes entre o animal e a bactéria. A escassez destes nutrientes disponíveis na luz intestinal que possam ser aproveitados pelas bactérias patogênicas é um fator limitante de manutenção das mesmas neste ambiente (PETRI; SILVA; ALVES FILHO, 2000). Embora possa parecer incoerente tal supressão do crescimento de alguma espécie bacteriana intestinal justamente pela carência nutricional, tem sido demonstrado que este fato é verdadeiro, chegando muitas vezes a reduzir drasticamente algumas espécies da microbiota intestinal (SILVA, 2000). Fox (1988) e Jin et al. (1997) explicam que no intestino, os microorganismos do probiótico realizam uma rápida metabolização de substratos como açúcares, aminoácidos e proteínas, tornando-os indisponíveis aos patógenos que por consequência ficam impedidos de proliferarem-se.

O mais recente mecanismo de ação atribuído aos probióticos é a imunestimulação através de componentes específicos da parede celular de alguns probióticos atuando como adjuvantes e melhorando a resposta do sistema imune humoral, porém esse mecanismo ainda não se encontra totalmente esclarecido.

Menten (2001) verificou que as respostas de aumento na produção de anticorpos (IgA), ativação de macrófagos, proliferação de células T e produção de interferon estão relacionadas à utilização de probióticos à base de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* embora também os *Bacillus* possam aumentar a ativação de macrófagos e células T e induzir também o aumento dos níveis séricos de alfa-interferon.

Outros autores, porém defendem a tese de que os probióticos, na verdade, podem não estimular, mas apenas propiciar ao sistema imune, condições das quais necessita para atuar normalmente.

Portanto podemos considerar que com o estabelecimento dos microorganismos probióticos no trato intestinal evita-se que haja a fixação de patógenos tanto por exclusão competitiva quanto por antagonismo direto. Assim haverá menor produção de amônia, toxinas e aminas pelos patógenos, contribuindo para a integridade do epitélio intestinal. Podemos afirmar ainda que Indiretamente, os probióticos proporcionam maior eficiência na digestão pela secreção de enzimas e na absorção de nutrientes pela integridade dos enterócitos. Além dessa proteção do epitélio, os probióticos evitam que os patógenos utilizem aminoácidos, minerais e carboidratos para fermentação e produção de toxinas. Dessa maneira, o animal

acaba por melhorar sua eficiência alimentar e conseqüentemente seu desempenho zootécnico (ROTH, 2000).

Diante das variações recentemente observadas sobre a eficiência dos probióticos, é que muitas expectativas se lançam para avaliar sua efetiva melhoria na saúde do animal, garantindo efeitos similares ou melhorados quando comparados aos promotores de crescimento tradicionais, tornando-se, portanto, candidatos preferenciais na substituição dos antimicrobianos como aditivos alimentares.

2.3 MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL DOS SUÍNOS

Ao nascimento, o trato gastrintestinal do leitão é considerado estéril, porém, dentro de poucas horas após exposição ao meio ambiente e contato com as fezes da porca, abundante população microbiana se desenvolve rapidamente no trato intestinal. Inicialmente cepas anaeróbicas facultativas tais como *Escherichia coli* e espécies de estreptococos e clostrídios proliferam, com baixo desenvolvimento de *Lactobacillus*, uma vez que não há secreção de ácido clorídrico nas primeiras horas de vida. A mudança progressiva na população da microbiota está relacionada com a diminuição da predominância de *Escherichia coli*, juntamente com a colonização predominante da população de outros microorganismos anaeróbios facultativos no intestino delgado – *Lactobacillus* e *Streptococcus*, estes correspondendo a 90% da microbiota normal de um suíno em aleitamento, e de uma população de anaeróbios estritos no intestino grosso – Bacteróides, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Fusibacterium* e *Clostridium*); As espécies predominantes estão presentes a uma densidade de 10^7 - 10^9 UFC/g de mucosa. As *Bifidobacterium* estão presentes ao longo do trato gastrintestinal do leitão a uma densidade populacional de 10^4 - 10^6 UFC/g de mucosa estomacal e 10^8 UFC/g de mucosa de porção distal do intestino delgado (RADESCKI; YOKOYAMA, 1991; JONSSON; CONWAY, 1992).

Em leitões, a acidificação estomacal é mediada principalmente pelos ácidos clorídrico e láctico. A produção de ácido clorídrico aumenta gradualmente com o avanço da idade, porém, como os leitões não alcançam a capacidade adulta de acidificação estomacal até os 75 dias de vida, o alto pH do estômago, devido a

insuficiente produção de ácido clorídrico acaba por favorecer a proliferação de bactérias patogênicas (FULLER, 1989).

O ceco de suínos abriga larga e diversa população de bactérias predominantemente anaeróbias. Robinson et al. (1981) verificaram que 35% dos isolados de ceco foram de *Bacteroides ruminicola* e 21%, *Selemonas rumination*. Dentre as gram-positivas, *Lactobacillus acidophilus* era a predominante com cerca de 8% do total além de quantidades variáveis de *Escherichia coli*.

Dentre os fatores que influenciam a colonização e a diversidade da população bacteriana podemos citar dieta, taxa de passagem, auto-regulação da microbiota e agentes microbianos endógenos e exógenos. Parte da seleção da microbiota no intestino é química, devido a agentes inibitórios como ácidos graxos voláteis, ácido clorídrico, bile, lisozimas, lisolecitinas e imunoglobulinas. Quando as bactérias conseguem vencer estas barreiras, ainda devem “lutar” contra o fluxo constante do peristaltismo (BERTECHINI; HOSSAIN, 1993).

Em relação à fixação das bactérias, existem dois tipos de populações bacterianas que podem se estabelecer no trato digestivo: o primeiro grupo seriam as bactérias que se associam às células epiteliais, como o *Lactobacillus acidophilus* e *Escherichia coli*. O segundo grupo ocorre livremente no lúmen intestinal e multiplica-se em taxas rápidas para não serem eliminados pelo peristaltismo. Um exemplo seria o *Streptococcus faecium*. As bactérias que se aderem, praticamente todas as espécies de bactérias gram-negativas e algumas gram-positivas, apresentam um ou mais tipos de fímbrias possuidoras de propriedades adesivas, envolvidas exatamente no mecanismo de aderência das células bacterianas ao tecido hospedeiro, importante fator no que diz respeito à colonização da população bacteriana (KROGFELT, 1991; MILES, 1993). A fimbria ou também chamada de glicocálix possui importantes funções, uma delas sendo a manutenção da camada aquosa próxima à mucosa intestinal, em pH neutro, que permite a ação de enzimas de membrana. A aderência das bactérias mediadas pelo glicocálix é que determina a localização das mesmas nos diferentes ambientes e é o maior determinante do início do processo de progressão das doenças bacterianas (FURLAN et al., 2004).

A aderência à mucosa intestinal parece ser o mecanismo chave da colonização das bactérias patogênicas e seus efeitos nocivos sobre a saúde intestinal, portanto, processos que possam intervir na aderência bacteriana são eficazes em reduzir a colonização do trato intestinal por patógenos.

Diversos fatores podem afetar a estabilidade da população microbiana do trato gastrointestinal, dentre eles, a diversidade de microorganismos que em um animal adulto apresenta-se mais variado do que em um recém-nascido e justamente devido a esta baixa diversidade de microorganismos intestinais, os animais jovens são mais suscetíveis a distúrbios entéricos uma vez que com o pequeno número de espécies bacterianas, existe uma menor capacidade da própria microbiota se opor a pequenas mudanças (LODDI, 2001).

Após o desmame, há uma grande queda na população de bactérias lácticas e um aumento na população de *Escherichia coli* e outros microorganismos patógenos. Estas bactérias patogênicas se aderem ao epitélio intestinal por meio de fímbrias, se multiplicam e com isso podem desequilibrar a microbiota do leitão causando as diarreias pós-desmame e até morte. Essa proliferação acarreta também um espessamento da parede intestinal com a redução do tamanho das vilosidades, com conseqüente prejuízo na eficiência absorptiva intestinal resultando em pioras tanto na conversão alimentar quanto no ganho de peso dos animais (VARLEY, 1995; FURLAN et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo desta linha de pesquisa destinou-se a comprovar a hipótese do benefício ao hospedeiro animal quando na utilização de probióticos, principalmente a leitões na fase de maternidade, com avaliação de sua economia de nutrientes assim como integridade do epitélio intestinal, através de parâmetros zootécnicos a seguir elucidados.

3.1 LOCAL E ANIMAIS

O experimento foi realizado nas instalações de gestação e maternidade do Laboratório de Pesquisa em Suínos (LPS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, da Universidade de São Paulo – USP, campus Pirassununga. Inicialmente foram empregadas 30 marrãs de linhagem comercial Naima da empresa de genética Pen Ar Lan, situada em Espírito Santo do Pinhal/SP. As fêmeas foram alojadas em gaiolas individuais de gestação e ao dia seguinte, aproveitando-se do estresse do transporte, foi empregada a combinação hormonal eCG (gonadotrofina coriônica eqüina – Novormon 5000[®] – Syntex S.A.) na dose de 3 mL por fêmea e 72 horas após, a aplicação de 1 mL de LH (hormônio luteinizante Lutropin-V[®] – Broniche Animal Health, Canadá), para a indução e sincronização do estro à puberdade, ainda auxiliado pelo manejo reprodutivo para diagnóstico de estro, através do contato do cachaço 2 vezes ao dia (manhã e fim de tarde). As fêmeas foram acompanhadas a cada estro fazendo-se uma previsão de estro a cada 21 dias.

Devido ao fato das fêmeas serem muito jovens e ainda pequenas, esperou-se até o quinto estro para a inseminação artificial. Como estratégia visando grupos de parição nas salas de parto, utilizou-se progestágeno (Regumate[®] – Pfizer) via oral uma vez ao dia pela manhã juntamente com o primeiro arraçoamento a um número de fêmeas específico, no caso as fêmeas caracterizadas como tardias ou precoces em aparecimento do cio seguinte, para agrupá-las ao grupo principal das fêmeas que apresentavam cio conforme a previsão de manifestação do mesmo. A

inseminação artificial foi feita logo na primeira manifestação de reflexo de tolerância positivo, na presença do macho, totalizando a aplicação de 4 doses inseminantes com intervalo de 12 horas cada. As doses foram obtidas de uma central de inseminação e após 72 horas eram descartadas caso não fossem utilizadas.

Trinta dias após a inseminação, exames ultrassonográficos e contato com o macho foram realizados para o diagnóstico e confirmação de prenhez. Cinco dias antes da primeira data prevista de parto, considerando-se como 114 dias o período de gestação, 22 fêmeas foram transferidas para as 3 salas de parto da maternidade do Laboratório de Pesquisa em Suínos, formando-se assim os grupos de parto específicos seqüencial a começar pela sala 1.

Não existiu a sincronização de parto através de prostaglandina $F2\alpha$, e estes ocorreram em sua grande maioria no período da madrugada com a ajuda de voluntários e estagiários do curso de Medicina Veterinária.

A homogeneização da leitegada apenas ocorreu em situações específicas tais como excesso de leitões e/ou pouco número de tetos funcionais ou substituição de leitões mortos devido a esmagamento, por animais pertencentes a leitegadas grandes, sendo tal procedimento feito em até 3 dias de vida para evitar a recusa dos leitões pela porca e também tomando o cuidado de homogeneizar apenas leitões de mesmo tratamento.

3.2 TRATAMENTOS

A distribuição dos tratamentos foi intercalada dentro de cada sala de maternidade, onde uma fêmea teria administração de probiótico a sua leitegada e a outra logo a frente e adjacente a ambos os lados, de placebo, fazendo com que a distribuição dos tratamentos fosse equilibrada e uniforme em toda a sala. O tratamento probiótico foi caracterizado com o símbolo de positivo e seus leitões correspondentes receberiam o brinco de cor vermelha; no caso do placebo, negativo com o brinco na cor azul.

O produto microbiano era composto por bactérias lácticas ácidas, *Bifidobacterium pseudolongum*, na concentração de $1,5 \times 10^9$ UFC/g e *Lactobacillus reuteri*, também na concentração de $1,5 \times 10^9$ UFC/g, ambas as bactérias isoladas de

intestinos de leitões saudáveis disposto em envelopes aluminizados de cinco gramas, cada. Em relação ao grupo placebo, este teria como administração, água destilada para mesmo efeito de manejo do leitão.

A dose administrada foi de 1 mL por leitão através de “pig doser”, tanto do probiótico quanto do placebo, assim que o leitãozinho fosse retirado do canal vaginal da fêmea e posterior a limpeza de boca e narinas e corte e tratamento do cordão umbilical com iodo a 5%. As doses do probiótico foram previamente preparadas quando iniciado o trabalho de parto, misturando-se o conteúdo do envelope do probiótico de 5 gramas em 15 mL de água destilada para utilização única na leitegada específica.

3.3 MANEJO ALIMENTAR DAS FÊMEAS

As rações oferecidas obedeceram às exigências nutricionais e foram concordantes com a fase de reposição (período de 140 dias de idade até inseminação artificial), onde foram oferecidos 3,5kg/animal/dia, divididos em 2 períodos (manhã e tarde); fase de gestação, caracterizada desde a inseminação artificial até os 90 dias de gestação, sendo oferecidos 2,5kg de ração/animal/dia, também divididos em 2 períodos, manhã e tarde e 2 kg de ração de pré-lactação/animal/dia (divididos em manhã e tarde) até um dia antes da data prevista do parto. No dia previsto do parto não foi oferecida ração, e um dia após o parto foi oferecido 2 kg de ração de lactação/animal/dia, quantidade esta aumentada gradativamente até o quinto dia após o parto, sendo posteriormente oferecidos 6 a 7 kg de ração de lactação/animal/dia, divididos em três a quatro períodos. Não existiu a necessidade de pesagem das sobras de ração das fêmeas, pois o manejo alimentar era baseado no total de ração a ser consumido pela fêmea, oferecido em poucas quantidades durante todo o dia.

3.4 MANEJO DOS LEITÕES

Os leitões logo após o nascimento eram limpos e massageados, com cuidado especial com boca e narinas além da cura do cordão umbilical com iodo a 5% e colocação de brinco com cor e numeração específica de cada tratamento (vermelho para probiótico e azul para placebo). Imediatamente antes da mamada do colostro, aplicava-se 1 mL de probiótico ou de água destilada, dependendo do grupo de tratamento o qual o leitão pertencia. Com 3 dias de vida, aplicou-se 2 mL de ferro dextrano por via intramuscular além do corte de cauda e com 8 dias de vida, todos os leitões machos eram castrados.

Os animais foram pesados logo ao nascimento, aos 7, 14 e 21 dias de idade assim como também considerado as faixas de ganho de peso médio diário: do nascimento aos 7 dias de idade (GPMDI), dos 7 aos 14 dias de idade (GPMDII), dos 14 aos 21 dias de idade (GPMDIII) e do nascimento aos 21 dias de idade (GPMDIV).

O desmame foi realizado com idade média de 21 dias com todos os leitões sendo transferidos para a unidade de creche e recebendo novamente uma dose reforço de 1 mL de probiótico para os leitões pertencentes às leitegadas das porcas do grupo probiótico ou 1 mL de placebo, no caso, água destilada para aqueles leitões pertencentes às leitegadas das porcas do grupo placebo.

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises referentes a peso e ganho de peso dos leitões foram realizadas através do programa computacional *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc, 2004). Os dados foram submetidos à análise de variância que separou como causa de variação o efeito de tratamento. Estas análises foram realizadas utilizando-se o procedimento *General Linear Model* (PROC GLM do SAS), com a adoção do nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi possível observar e avaliar o desempenho de leitões no que se refere a parâmetros de crescimento e ganho de peso quando na comparação entre grupos placebo e probiótico. A importância deste trabalho reside particularmente em suprir a escassez de pesquisas brasileiras no que diz respeito à administração de microorganismos probióticos já nos primeiros dias de vida dos leitões ainda na fase de maternidade. Sabe-se que a idade e o peso ao desmame são intimamente relacionados às taxas de crescimento pós-desmame e muitos estudos demonstram também sua influência no desempenho posterior nas fases de crescimento e terminação. Resultados obtidos na presente pesquisa são a seguir, ilustrados e interpretados.

4.1 DESEMPENHO DOS LEITÕES

Os resultados de valores mínimos e máximos dos pesos médios e ganho de peso médio diário nas diferentes idades são apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 – Valores mínimos e máximos dos pesos médios, em kg, nas diferentes idades frente aos tratamentos probiótico e placebo

	Peso médio nas diferentes idades ¹			
	P0	P7	P14	P21
Probiótico	1.08 – 1.67	1.63 – 3.15	2.90 – 5.45	4.12 – 8.75
Placebo	1.13 – 1.75	1.58 – 3.12	2.75 – 5.28	3.77 – 8.97
CV _{pr} % ²	11.70	15.47	16.80	20.73
CV _{pl} % ³	11.29	15.10	16.12	21.54
P ⁴	0.4394	0.2378	0.1382	0.9376

¹ P0 – Peso médio ao nascimento; P7 – Peso médio aos 7 dias de idade; P14 – Peso médio aos 14 dias de idade e P21 – Peso médio aos 21 dias de idade.

² Coeficiente de variação relativo ao tratamento probiótico.

³ Coeficiente de variação relativo ao tratamento placebo.

⁴ Probabilidade.

Tabela 2 – Valores do ganho de peso médio diário, em kg, nas diferentes idades frente aos tratamentos probiótico e placebo

	Ganho de peso médio diário nas diferentes idades ¹			
	GPMDI	GPMDII	GPMDIII	GPMDIV
Probiótico	0.07 – 0.25	0.12 – 0.33	0.10 – 0.50	0.06 – 0.28
Placebo	0.06 – 0.24	0.06 – 0.31	0 – 0.50	0.06 – 0.29
CV _{pr} % ²	26.04	23.58	35.62	34.85
CV _{pl} % ³	23.53	24.84	47.19	37.99
P ⁴	0.2711	0.2715	0.2562	0.8770

¹ GPMDI – Ganho de peso médio diário do nascimento aos 7 dias de idade; GPMDII – Ganho de peso médio diário dos 7 aos 14 dias de idade; GPMDIII – Ganho de peso médio diário dos 14 aos 21 dias de idade; GPMDIV – Ganho de peso médio diário do nascimento aos 21 dias de idade.

² Coeficiente de variação relativo ao tratamento probiótico;

³ Coeficiente de variação relativo ao tratamento placebo;

⁴ Probabilidade.

Não houve significância estatística entre os tratamentos ($P > 0,05$) nas diferentes idades, tanto em relação aos pesos médios quanto aos ganhos de peso médio diários. A resposta dos leitões a administração oral de produtos probióticos tem sido bem variável. Muralidhara et al. (1977) e Sarra et al. (1983) mostraram que a administração oral de culturas microbianas nos primeiros dias de vida determinou

um efeito positivo no crescimento dos leitões. Outros pesquisadores, todavia, não encontraram efeitos significativos no ganho de peso corpóreo. Em um experimento de Tortuero et al. (1995), os resultados obtidos foram bem variáveis. Em seu primeiro experimento, um aumento significativo no peso corpóreo foi obtido ao se administrar bactérias ácido-láticas. Já no segundo, a administração oral de uma cultura mista contendo *Streptococcus faecium* M74 juntamente com *Lactobacillus casei* spp não gerou efeitos significativos. Os autores tentam justificar que o peso inicial dos leitões ou o uso de leitões de diferentes leitegadas podem ter contribuído para as diferenças encontradas no experimento.

Na presente pesquisa, podemos notar que os leitões do tratamento probiótico aleatoriamente encontravam-se mais leves (P0: 1.08 – 1.67) em comparação com o tratamento placebo (P0: 1.13 – 1.75), porém com o avanço dos dias existiu um maior ganho de peso diário proporcional ainda que gradativo por parte do grupo probiótico bastante evidenciados no GPMDII e GPMDIII da tabela 2, ou seja, um aumento de peso médio linear compensatório, também bastante evidenciado no gráfico 1, podendo-se justificar a hipótese de que existiu uma melhor economia de nutrientes que foram aproveitados pelo hospedeiro que possuía uma microbiota intestinal estável e saudável. Sabe-se que o índice de ganho de peso diário assim como eficiência alimentar depende de uma variedade de fatores, incluindo genética, nutrição e saúde animal, esta última provavelmente sendo o fator mais importante porque quase todas as doenças inevitavelmente resultam de um grau de ineficiência metabólica. Em concordância com Fox (1988) podemos considerar probióticos não como “promotores de crescimento” e sim como, “permissores do crescimento”, uma vez que ele deixa o hospedeiro expressar melhor o seu potencial genético.

Gráfico 1 – Ganho de peso médio diário dos leitões, em kg, comparativo entre os dois tratamentos em função dos dias do experimento

Ainda com relação ao gráfico 1, no caso do tratamento placebo, podemos observar que os leitões aleatoriamente iniciaram a pesquisa mais pesados, mas que essa vantagem não se perpetuou durante o avanço do experimento, com certa “estagnação” de crescimento principalmente observado no período correspondente de 14 a 21 dias de vida.

Por somente evidenciar uma tendência de diferença numérica entre os tratamentos, a presente pesquisa está de acordo com Estrada (2001), o qual constatou que a administração de *Bifidobacterium bifidum* não provocou efeito significativo no crescimento animal. Reyes (2000) obteve resultados similares com bactérias ácido-láticas. Santos et al. (2002) ao administrar diariamente *Lactobacillus* sp aos leitões durante a fase de aleitamento e creche não encontraram diferenças significativas no ganho de peso dos leitões durante a fase de aleitamento. Resultados conflitantes com o de Abe et al. (1995) que ao utilizarem probiótico contendo *Bifidobacterium* e outro com *Lactobacillus* verificaram maior ganho de peso na fase de aleitamento em relação a fase de creche, sugerindo que esses probióticos deveriam ser administrados logo que possível após o nascimento para ser mais eficazes, uma vez que ao nascimento, o intestino ainda encontra-se estéril e a administração oral de probióticos nesse momento seria mais eficaz ao promover a colonização intestinal. Uma das justificativas para o bom resultado da pesquisa foi que as bactérias patogênicas não eram capazes de colonizar a superfície intestinal

do hospedeiro porque a bactéria probiótica já havia sido prontamente administrada e acabou por colonizar toda a superfície. E estes mesmos autores afirmam que para a administração de probióticos ter efeito no ganho de peso ou escore de fezes, os probióticos devem ser selecionados pelas suas habilidades de colonização intestinal e de ativação efetiva da imunidade do hospedeiro.

Na literatura são encontrados diversos resultados controversos sobre o uso de probióticos, possivelmente devido a vários fatores como a cepa utilizada na pesquisa, assim como a quantidade de microorganismos e condições de manejo e estresse além das formas de fabricação e armazenamento do produto (MENTEN; PEDROSO, 2005).

Mahdavi et al. (2005) confirma que nem sempre são observados resultados benéficos com o uso de probióticos, pois para tanto depende de fatores como idade do animal, assim como o tipo de bactérias a ser utilizada, sua viabilidade no momento de serem agregados às rações, a própria qualidade dos microorganismos além da duração da administração do produto.

Lactobacillus acidophilus é caracterizado por modificar a população microbiana do intestino, sugerindo a capacidade de controle do crescimento bacteriano intestinal (GAON et al., 2002). A estrutura normal do intestino e sua função é resultado de interações complexas entre o animal hospedeiro e os colonizadores microbianos (MASSI et al., 2006).

Rao (2007) reforça a hipótese de que a suplementação com probióticos com lactobacilos pode prevenir o encurtamento das vilosidades no intestino delgado de leitões em aleitamento. Este efeito positivo da suplementação sobre a altura do vilo pode melhorar a captação de nutrientes do intestino, que conseqüentemente resulta em melhor desempenho animal.

A suplementação dietética com ácido láctico produzido pelas bactérias geralmente resultam em um decréscimo do pH intestinal resultando em populações bacterianas do intestino alteradas. Tal hipótese é sustentada por estudos que indicam que a suplementação dietética com bactérias produtoras de ácido láctico leva a uma redução do pH fecal. Autores ainda sugerem que esse decréscimo no pH fecal devido ao ácido láctico produzido através dos probióticos pode matar ou prevenir populações de microorganismos (SHAH, 2001; CROSS et al., 2002; FOO et al., 2003).

Entretanto, os resultados dos diferentes estudos tem sido conflitantes. Alguns relatos mostram que bactérias ácido-láticas melhoram o desempenho do animal no que se refere ao crescimento tanto em leitões em aleitamento (ABE et al., 1995), leitões desmamados (JASEK et al., 1992), leitões em fase de crescimento (BAIRD, 1977) e terminação (HONG et al., 2002).

Apgar et al. (1993) relata pequenas melhorias no ganho médio diário para leitões onde ofereceu-se *Bifidobacterium globosum* A. Já Pollmann et al. (1980) reportou que a adição de *Lactobacillus* a dietas iniciais melhoraram o ganho médio diário em 9.7% e a eficiência alimentar em 4.4%. Lessard e Brissom (1987) observaram aumento ganho de peso em 9% e consumo de ração em 16.7% para suínos alimentados com lactobacilos, porém sem afetar a conversão alimentar diferentemente de Kornegay (1986) que não observou efeito no desempenho de suínos desmamados.

Santos et al. (2003) verificaram que o probiótico contendo um “pool” de *Lactobacillus sp* de origem suína não alterou significativamente a microbiota dos leitões aos 7, 28 e 49 dias de idade, entretanto, os animais que receberam diariamente o leite fermentado obtiveram numericamente menor contagem de *Clostridium* e coliformes e proporcionalmente maior número de *Lactobacillus* em relação aos animais dos demais tratamentos, constatando, portanto o mecanismo da exclusão competitiva.

Importante ressaltar novamente que a eficácia dos probióticos sobre as mais diferentes condições pode ser devido à própria preparação do probiótico ou baixa taxa de sobrevivência das cepas assim como sua estabilidade, dosagem ou frequência de administração, interações com outros medicamentos e até mesmo o “status” sanitário ou nutricional do animal (BOMBA et al., 2002).

Pedersen e Tannock (1989) afirmam que a associação epitelial parece ser um importante fator na colonização do trato digestivo do leitão, uma vez que as cepas de lactobacilos usadas na pesquisa continuavam a povoar o trato gastrintestinal enquanto ainda havia associação com o epitélio. A maioria das cepas por eles usadas como inóculo, continuava a coabitar o trato digestivo com outros tipos de lactobacilos por pelo menos 7 dias e ainda no mesmo experimento mostraram que uma única dose de uma cepa específica de *Lactobacillus* administrada a leitões recém-nascidos resultou em uma extensa colonização das superfícies dos tecidos e

lúmen do trato digestivo e que gradualmente foram suplantadas por outros tipos de lactobacilos do ambiente.

Pesquisas apontam ao fato dos probióticos serem mais eficazes em animais durante o desenvolvimento de sua microbiota ou quando a sua estabilidade é prejudicada. E também já é confirmado que os efeitos dos probióticos parecem ser mais consistentes e positivos em leitões do que em suínos em fase de crescimento-terminação (STAVRIC et al., 1995; WILLIAM, 2000).

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido o presente experimento, não se observou resultado estatístico significativo do probiótico sobre o desempenho dos leitões. Contudo, a maior parte dos relatos científicos envolvendo os possíveis substitutos aos antibióticos considera que estes aditivos serão aceitos pela indústria mesmo com toda a controvérsia observada em seus resultados experimentais.

REFERÊNCIAS

ABE, F.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of Bifidobacteria and Lactic Acid Bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 12, p. 2838-2846, 1995.

APGAR, G. A.; KORNEGAY, E. T.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M. The effect of feeding various levels of *Bifidobacterium globosum* A on the performance, gastrointestinal measurements and immunity of weanling pigs and on the performance and carcass measurements of growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 2173-2179, 1993.

BAIRD, D. M. Probiotics help boost feed efficiency. **Feedstuffs**, v. 49, p. 11-12, 1977.

BERTECHINI, A. G.; HOSSAIN, S. M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frango de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1993, p. 1.

BIOTECNAL. **O fantástico mundo dos probióticos**. Manual da equipe técnica da Biotecnal. Lavras: Nova, 1999.

BOMBA, A.; NEMCOVA, R. S.; GANCARCIKOVA, S.; HERICH, R.; GUBA, P.; MUDRONOVA, D. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 95-99, 2002, supplement, 1.

CHAIRMAN, C. N.; WEBB, K. E.; MCELROY, A. **Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets**. 2004. 80 f. Dissertação (Mestrado). Faculty of the Virginia Polytechnic Institute, Virginia, 2004.

CLOSE, W. H. Usage of antimicrobials and growth promoters in pig production: an European perspective. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2001, p. 1-7.

COLE, D. J. A.; COLE, W. H. The modern pig setting performance targets. **Animal Talk**, v. 8, p. 31-35, 2001.

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

CROSS, M. L.; STEVENSON, L. M.; GILL, H. S. Anti-allergy properties of fermented foods: an important immunoregulatory mechanism of lactic acid bacteria? **International Immunopharmacology**, v. 1, p. 891-901, 2002.

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

DEWEY, C. E.; COX, B. D.; STRAW, B. E.; BUSH, E. J.; HURD, S. Use of antimicrobials in swine feed in the United States. **Swine Health Production**, v. 7, p. 19-25, 1999.

EDENS, F. W. An alternative for antibiotic use in poultry: Probiotics. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 75-97, 2003.

EDENS, F. W.; PARKHURST, C. R.; CASA, I. A.; DOBROGOSZ, W. J. Principles of *ex ovo* competitive exclusion and *in ovo* administration of *Lactobacillus reuteri*. **Poultry Science**, v. 76, p. 179-196, 1997.

ESTRADA, A. Administration *Bifidobacterium bifidum* to chicken broilers reduces the number of carcass condemnations for cellulitis at the abattoir. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 10, n. 4, p. 329-334, 2001.

FOO, H. L.; LOH, T. C.; LAI, P. W.; LIM, Y. Z.; KUFLI, C. N.; RUSUL, G. Effects of adding *Lactobacillus plantarum* I-UL4 metabolites in drinking water of rats. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, n. 5, p. 283-288, 2003.

FOOKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 53-61, 1999.

FOX, S. M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Veterinary Medicine**, v. 83, n. 8, p. 806-830, 1988.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365, 1989.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2004, p. 6-28.

GAON, D.; GARMENDIA, C.; MURRIELO, N. O.; GAMES, A. C.; CERCHIO, A.; QUINTAS, R.; GONZALEZ, S. N.; OLIVER, G. Effect of *Lactobacillus* strains (*L. casei* and *L. acidophilus*) on bacterial overgrowth-related chronic diarrhea. **Medicina**, v. 62, n. 2, p. 56-60, 2002.

GHADBAN, G. S. Probiotics in broiler production – a review. **Archiv für Geflügelkunde**, v. 66, n. 2, p. 49-58, 2002.

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

GONZALES, E. **Ação pró-nutritiva dos aditivos alimentares**. Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Jaboticabal:UNESP, 2004.

HASLER, C. M. Prebiotics and probiotics, where are we today? **British Journal of Nutrition**, v. 80, p.S195-S233, 1998. Supplement, 2.

HONG, J. W.; KIM, I. H.; KWON, O. S.; KIM, J. H.; MIN, B. J.; LEE, W. B. Effects of dietary probiotics supplementation on growth performance and fecal gas emission in nursing and finishing pigs. **Journal of Animal Science & Technology**, v. 44, p. 305-314, 2002.

HOOGE, D. M. Antibiotic and their alternatives for poultry examined. **Feedstuffs**, v. 71, p. 59-61, 1999.

JASEK, S.; KALINOWSKA, R.; KNETCH, D.; PAWIAK, R. Effect of Biogen probiotic addition on reproduction results and physiological indices in pigs. **Roczniki Naukowe Zootechniki**, v. 31, p. 229, 1992.

JIN, L. Z.; HO, Y. W.; ABDULLAH, N. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v. 53, p. 351-368, 1997.

JONSSON, E.; CONWAY, P. Probiotics for pigs. In: FULLER, R. (Ed.). Probiotics: the scientific basis. London: Chapman & Hall, 1992, p. 260-316.

KORNEGAY, E. T. Effect of dosing or feeding *Lactobacillus acidophilus* on blood cholesterol levels and growth rate of weanling and growing pigs. **Animal Science Research Report**, v. 5, p. 14-19, 1986.

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

LESSARD, M.; BRISSON, G. J. Effect of a *Lactobacillus* fermentation product on growth, immune response and fecal enzyme activity in weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 67, p. 509-516, 1987.

LIAO, C.; YOUSEF, A. E.; CHISM, G. W.; RICHTER, E. R. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in buffer, culture media and food by lacidin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Food Safety**, v. 14, p. 87-101, 1994.

LIMA, G. J. M. M. Uso de aditivos na produção de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1999. p. 51-68.

LODDI, M. M. Probióticos e prebióticos na nutrição de aves. **Revista CFMV – Suplemento técnico**, n. 23, 2001.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2005, p. 53-68.

MAHDAVI, A. H.; RAHMANI, H. R.; POURREZA, J. Probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 7, p. 488-492, 2005.

MASSI, M.; IOAN, P.; BUDRIESI, R.; CHIARINI, A.; VITALI, B.; LAMMERS, K. M.; GIONCHETTI, P.; CAMPIERI, M.; LEMBO, A.; BRIGIDI, P. Effects of probiotic bacteria on gastrointestinal motility in guinea-pig isolated tissue. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, p. 5987-5994, 2006.

MENTEN, J. F. M. **Eficácia, efeito sinérgico e modo de ação de agentes antimicrobianos como promotores de crescimento de suínos**. 1995. 106 p. Tese (Livre Docência). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", ESALQ, Piracicaba, 1995.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2001, p. 141-157.

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

MENTEN, J. F. M.; PEDROSO, A. A. Fatores que interferem na eficácia de probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2005, p. 41-53.

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

MILLER, H. M.; CARROLL, S. M.; REYNOLDS, F. H.; SLADE, R. D.; TOPLIS, P. Both outdoor and indoor reared piglets respond to antimicrobial supplementation in post weaning diets regardless of weaning age. In: BRITISH SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE **Proceedings...**, 2007, p. 75

MUIRHEAD, M. R.; ALEXANDER, T. J. L. **Managing pig health and treatment of disease**. London: 5M enterprises Ltd, 1997, p. 126-127.

MURALIDHARA, K. S.; SHEGGEY, G. G.; ELLIKER, P. R.; ENGLAND, D. C.; SANDINE, W. E. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. **Journal of Food Protection**, v. 40, p. 288, 1977.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Subcommittee on Swine Nutrition. Committee on Animal Nutrition. **Nutrient Requirements of Swine**. 10. ed. Washington: National Academy Press, 1998. 189 p.

PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v. 82, p. 627-631, 2003.

PEDERSEN, K.; TANNOCK, G. W. Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli. **Applied and environmental microbiology**, v. 55, n. 2, p. 279-283, 1989.

PETRI, R. Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2., 2000, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2000.

POLLMANN, D. S.; DANIELSON, D. M.; PEO JR., E. R. Effect of *Lactobacillus acidophilus* on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 638, 1980.

QUINIOU, N.; DAGORN, J.; GAUDRÉ, D. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. **Livestock Production Science**, v. 78, p. 63-70, 2002.

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

RAO, S. O. **Effects of dietary supplementation of Lactobacillus-based probiotics on growth and gut environment of nursery pigs**. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Texas Tech University, Lubbock, 2007.

REYES, H. S. R. Efectos de la aplicación de bacterias lácticas y ácido láctico en la ganancia de peso y mortalidad en pollos. **Revista Científica**. Facultad de Ciencias Veterinarias, Zulia, v. 10, n. 4, p. 310-314, 2000.

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

ROTH, L. The battle of the bugs – the direct fed microbial concept. **Pig Progress**, v. 16, p. 12-15, 2000.

RUTZ, F.; LIMA, G. J. M. M. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS

ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2001, p. 1-10.

SANTOS, M. S.; FERREIRA, C. L.L. F.; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C. Administração de *Lactobacillus sp.* Em leitões nas fases de aleitamento e creche. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 1, p. 165-173, 2002.

SANTOS, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C.; TESHIMA, E. Influência do fornecimento de probiótico à base de *Lactobacillus sp.* sobre a microbiota intestinal de leitões. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1395-1400, 2003.

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

SARRA, P.G.; CABRAS, M.; MORO, N.; BOTTAZZI, V. Effetti della somministrazione di *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus faecium* sulla crescita di giovani suini. **Suinocultura**, v.10, p. 41-47, 1983.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide**. Release 6.12 edition. Cary: SAS Institute, 2004.

SCHWARZ, S.; KEHRENBURG, C.; WALSH, T. R. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. **International Antimicrobial Agents**, v. 17, p. 431-437, 2001.

SHAH, N. P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v. 55, p. 46-52, 2001.

SILVA, E. N. Antibióticos intestinais naturais: bacteriocinas. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2000, p. 15-24.

SILVA, E. N.; ALVES FILHO, R. L. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2., 2000, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2000.

SPENCER, R. J.; CHESSON, A. The effect of *Lactobacillus spp.* on the attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to isolated porcine enterocytes. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 77, n. 2, p. 215-220, 1994.

STAVRIC, S.; KORNEGAY, E. T. Microbial probiotic for pigs and poultry. In: WALLACE, R. J.; CHESSON, A. (Ed.). **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. Weinheim, 1995, p. 205-231.

TIMMERMAN, T.; DEWULF, J.; CATRY, B.; DUCHATEAU, L.; OPRIMER, G.; DE KRUIF, A., MAES, D. Tetracycline-resistance in lactose-positive enteric coliforms originating from Belgian fattening pigs. In: ISVEE CONGRESS, 11, 2006, Australia. **Proceedings...** Australia: ISVEE, 2006.

TORTUERO, F.; RIOPEREZ, J.; FERNANDEZ, E.; RODRIGUEZ, M.L. Response of piglets to oral administration of lactic acid bacteria. **Journal of Food Protection**, v. 58, p. 1369-1374, 1995.

TOURNUT, J. R. Probiotics. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998, p. 179-199.

UTIYAMA, C. E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados**. 2004. 94 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ, Piracicaba, 2004.

VANBELLE, M.; TELLER, E.; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review. **Archives of Animal Nutrition**, v. 40, p. 543-567, 1990.

VARLEY, M. A. **The neonatal pig**: development and survival. Wallingford, UK: CABI Publishing, 1995.

WILLIAM, H. C. Producing pigs without antibiotic growth promoters. **Advances in Pork Production**, v. 11, p. 47-56, 2000.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. International review panel evaluation of the termination of the use of antimicrobial growth promoters in Denmark. Geneva: WHO Press, 2003.