ESTHER RAMALHO AFONSO

Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium

Pirassununga

2011

ESTHER RAMALHO AFONSO

Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium

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 Ciências

Departamento:
Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:
Nutrição e Produção Animal

Orientador:
Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti

Pirassununga
2011

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

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
23/3/11

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2434
FMVZ

Afonso, Esther Ramalho
Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium / Esther Ramalho Afonso. -- 2011.
107 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2011.

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

Orientador: Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti.

1. Probiótico. 2. Desafio. 3. *Salmonella* Typhimurium. 4. Leitões. 5. Histopatologia. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella typhimurium*", protocolado sob o nº 2023/2010, utilizando 144 (cento e quarenta e quatro) suínos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Anibal de Sant'Anna Moretti, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 27/10/2010.

We certify that the Research "Association of probiotics in lactation and nursery in piglets challenged with *Salmonella typhimurium*", protocol number 2023/2010, utilizing 144 (one hundred forty-four) pigs, under the responsibility Prof. Dr. Anibal de Sant'Anna Moretti, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/27/2010.

São Paulo, 28 de outubro de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

1934 | 2009 USP 75 FMVZ

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
http://www.fmvz.usp.br

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: AFONSO, Esther Ramalho

Título*:* Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium.

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 Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Aos meus pais, João e Marisa, minha irmã Rachel, minha Tia Rita e Kaya; sem vocês eu não estaria aqui

A minha avó Nicida (in memorian) e Ao primo, Marcos Afonso Scarone (in memorian), sempre olhando por mim.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo amor incondicional e incentivo nos momentos cruciais.

Minha Tia Rita pelas orações e palavras de conforto.

A Rachel por acreditar nas minhas escolhas.

A Kaya por ser My True Love.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti pelos ensinamentos constantes.

A CAPES pela bolsa concedida durante minha permanência no mestrado.

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

À Prof.ª Dr ª Andrea Micke Moreno pela co – orientação e colaboração científica.

À Prof.ª Dr ª Lilian Rose Marques de Sá por todos ensinamentos de patologia, pelas conversas intermináveis e desabafos.

A todos os professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal, em especial aos Prof. Francisco Palma Rennó, Prof. Alexandre Gobesso, Prof. Paulo Mazza Rodrigues, Prof.ª Maria de Fátima, Prof.ª Angélica Simone Cravo e Pereira, Prof. Augusto Hauber Gameiro e Prof. Lúcio Francelino Araújo por todos os ensinamentos e dedicação.

À Alessandra secretária da Graduação por toda ajuda e conversas.

Ao João Paulo secretário da Pós- Gradução por sempre me ajudar nos momentos cruciais.

A toda equipe do Laboratório de Pesquisa em Suínos, Simone Martins (Si), Larissa José Parazzi (Filhinha), Tácia Antunes Del Santo (PS), André (Simprão), Octávio Eckhardt (Tatá), Felipe Horta (Foca), Daniel Bruno Gonçalves (Emu), Cris e o nosso fiel escudeiro técnico de laboratório Fabio Zanquetin por toda dedição e aprendizado.

Aos alunos de gradução das turmas 74, 75 e 76 por terem sido minhas "cobaias" na arte e prazer de ensinar.

Aos meus colegas de pós- graduação por todos os momentos de alegria, tristeza, amizade: Lari, Ju Diniz, Ju Mega, Ju Pinheiro, Dani (da Juju), Paulinha, Henry (Sinixxtro), Dani (Café com leite), Bia (Bixuka), Mayara, Ana Paula (Bad Project), Maria Fernanda (Gumb´s), Rafael (Zangado), Babi, Marina, Tiago, Lenita (Kabi), Bisão, Jefferson (Fronfron), João (Pé de pano), Rinaldo, Ju Praia, Ériketa, Nara, Iaçanã, Michele, Mineirinho, Johnny, Claudinha, Teresa (Novilha), Tácia, Frodo e Xibungo.

A Carol Tobias por ter me ajudado durante esse período final de tese, por me escutar nos momentos de crise e me fazer dar risada nos momentos mais diversos. Muito obrigada por tudo.

A Larissa pela amizade, companherismo, cumplicidade em todos os momentos. Obrigada Amiga.

A Andreia, vulgo Deinha, pela grande amizade e parceria.

A Ju Diniz pela amizade, companherismo, bebedeira, festas e ajuda a qualquer momento.

Às meninas da Higilimp do VNP pelos cafezinhos na hora certa.

Aos cento quarenta e quatro leitões que tornaram este experimento possível.

RESUMO

AFONSO, E. R. **Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium.** [Association of probiotics in lactation and nursery in piglets challenged with *Salmonella* Typhimurium]. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

O experimento associando probióticos no aleitamento e creche utilizou 144 leitões do nascimento até aos 62 dias de idade no Laboratório de Pesquisa em Suínos (FMVZ USP). No aleitamento, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e na creche em blocos casualizados formando o esquema fatorial 2x3 com seis tratamentos. A unidade experimental no aleitamento foi a baia maternidade constituída de grade de parição e na creche gaiola suspensa com 3 animais cada, constituindo, 8 repetições por tratamento. Aos 35 dias de idade os animais da creche foram inoculados com cepa de *Salmonella* Typhimurium via oral. Na maternidade os tratamentos foram: Placebo (PLA), 1mL de água destilada e Probiótico A (ProbA), 5g em 15mL de água destilada. O ProbA foi aplicado em duas ocasiões, ao nascimento e 12 horas antes do desafio e os animais que não receberam ProbA, receberam PLA. Os tratamentos na creche foram: Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB) 30g/tonelada de ProbB na ração; Controle Probiótico B (CTL ProbB): 30g/tonelada de ProbB na ração; Probiótico A Probiótico A(ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES). As variáveis; peso, consumo, ganho de peso e conversão alimentar, foram analisadas em medidas repetidas no tempo com contrastes e o escore de fezes submetido à análise de variância pelo teste de Tukey. Foi utilizado o programa computacional Statistical Analysis System SAS. Na maternidade o peso médio do ProbA foi superior ao PLA, não observando-se diferenças no ganho de peso. Na creche o ProbA mostrou-se significativamente melhor em comparação aos demais tratamentos na conversão alimentar. No escore fezes, os animais desafiados apresentaram mais diarréia, e mais eliminação de *S*. Typhimurium, evidenciando o efeito positivo do desafio programado. A avaliação histológica aos 63 dias revelou aspecto similar nos diferentes grupos com e sem desafio. A eficiência econômica destacou o CTL ProbB.. O estudo indicou ação positiva dos probióticos quando aplicado logo ao nascimento, por influenciar diretamente na formação da microbiota intestinal, em fases mais adiantadas como na creche os efeitos são menos diretos.

Palavras-chave: Probiótico. Desafio. *Salmonella* Typhimurium. Leitões. Histopatologia.

ABSTRACT

AFONSO, E. R. **Association of probiotics in lactation and nursery in piglets challenged with *Salmonella* Typhimurium.** [Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium]. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

The experiment involving probiotics in lactation and nursery were used one hundred and forty four piglets were used from birth to 62 days of age at Swine Research Laboratory (USP FMVZ). In the lactation, the experimental design was randomized with two treatments and in the nursery were randomized blocks forming a 2x3 factorial, consisting of six treatments. The experimental unit considered was the pen with 3 animals, with 8 repetitions per treatment. At 35 days of age the nursery animals were inoculated with a Salmonella Typhimurium strain orally. The treatments in the maternity were: Placebo (PLA): 1mL of distilled water and Probiotic A (ProbA): 5g in 15ml of distilled water. The ProbA was applied twice, at birth and 12 hours before the challenge and the animals that received no ProbA, received PLA. At the nursery twelve hours before the challenge, the same group of piglets that received ProbA and PLA in the maternity, received reinforcement for ProbA and PLA. In the nursery: Probiotic A Probiotic B (ProbA ProbB): 30g/ton of diet; Control Probiotic B (ProbB CTL): 30g/ton of diet; Probiotic A probiotic A (ProbA probA) Control Control (CTL CTL) Probiotic Challenge (DES ProbA) Control Challenge (CTL DES).The variables analyzed were weight, consumption, weight gain and feed conversion. The variables were analyzed with repeated measures contrasts and fecal score variable was subjected to analysis of variance by Tukey test. We used the computer program Statistical Analysis System SAS. In maternity, ProbA was superior to PLA treatment and did not observe differences in weight gain. At nursery the ProbA ProbA was significantly better compared to the other treatments in feed conversion. In the feces score, challenged animals showed high scores and greater elimination of S. Typhimurium, showing the effects of the programmed challenge. Histological evaluation at 63 days showed similar appearance within different groups (challenged or not). Economic evaluation shows CTL ProbB. The study indicated positive action of probiotics applied shortly after birth, by directly influencing the formation of the intestinal tract and in nursery as the effects are less direct.

Keywords: Probiotic. Challenge. *Salmonella* Typhimurium. Piglets. Histopathology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição em quilogramas das rações experimentais administradas durante o período de creche 42

Tabela 2 - Esquema da análise de variância para delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 3 x 2 com medidas repetidas no tempo. A decomposição dos tratamentos foi realizada por meio de contrastes ortogonais 48

Tabela 3 - Valores médios e coeficientes de variação da variável peso médio (PM), em quilogramas (kg), em leitões nas diferentes idades, frente aos tratamentos Placebo e Probiótico A 50

Tabela 4 - Valores médios e coeficientes de variação, da variável ganho médio diário de peso (GMDP), em quilogramas/animal/dia, em leitões nas diferentes idades, frente aos tratamentos Placebo e Probiótico A 51

Tabela 5 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável peso médio (PM), em quilogramas, de leitões nas várias idades, e as probabilidades dos contrastes 52

Tabela 6 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável consumo médio diário de ração (CMDR), em quilogramas/animal/dia, de leitões nos vários períodos, e a probabilidade dos contrastes 55

Tabela 7 - Valores médios e Coeficientes de variação, da variável ganho médio diário de peso (GMDP), em quilogramas/animal/dia, de leitões nos vários períodos e as probabilidades dos contrastes 57

Tabela 8 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável conversão alimentar (CA) de leitões nos vários períodos e a probabilidade dos contrastes 59

Tabela 9 - Valores médios e desvio padrão do escore fecal de leitões em diferentes períodos 61

Tabela 10 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável cultura e identificação de *Samonella* Typhimurium nas fezes em percentagem (%) nos vários períodos e a probabilidade dos contrastes 63

Tabela 11 - Indicadores econômicos: custo total da dieta (CTD), receita total do lote (RT), relação CTD/RT, margem bruta do lote (MB), peso médio final do lote, margem bruta por quilo, participação custo do aditivo/custo dieta, participação custo do aditivo/ receita total, variação CTD (com controle), variação RT (com controle) e variação das margens por kg (com controle) 83

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Evolução dos tratamentos na maternidade 40
Figura 2 - Esquema desafio experimental programado aos 35 dias de idade 43
Figura 3 - Composição dos tratamentos e descrição dos contrastes ortogonais 48
Figura 4 - Interação do peso médio entre os Probiótico A e Probiótico B, aos 33 dias de idade 53
Figura 5 - Interação do peso médio entre os Probiótico A e Probiótico B, aos 54 dias de idade 53
Figura 6 - Interação do consumo médio diário entre os Probiótico A e Probiótico B, no período de 21 a 33 dias de idade 56
Figura 7 - Interação da conversão alimentar entre os Probiótico A e Probiótico B, no período de 55 a 62 dias de idade 60
Figura 8 - Evolução da eliminação de *S.* Typhimurium encontrada nas fezes nos tratamentos desafiados, Probiótico A e Controle Desafio..... 64
Figura 9 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do segmento do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 65
Figura 10 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno mostrando discreta enterite linfoplasmocítica com discreta hiperplasia de criptas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas sem alterações histológicas. HE, 40x 66
Figura 11 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo, sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 66
Figura 12 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial com bactérias aderidas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, sem alterações histológicas. HE, 40x 66
Figura 13 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x 67
Figura 14 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 68
Figura 15 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 68
Figura 16 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo apresentando discreta enterite linfoplasmocítica difusa com fusão de vilosidades (cabeça de seta). HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do

ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 69
Figura 17 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso apresentando discreta colite linfoplasmocítica. HE, 10x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial. Observe células cubóides. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, redução do número de células caliciformes. HE, 40x 69
Figura 18 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x 69
Figura 19 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do segmento do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 71
Figura 20 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno mostrando discreta enterite linfoplasmocítica com discreta hiperplasia de criptas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe da lâmina própria mostrando aumento discreto do infiltrado de linfócitos e plasmócitos. (D) Fotomicrografia em detalhe das criptas evidenciando discreta hiperplasia com células em mitose. HE, 40x 71
Figura 21 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo mostrando fusão de vilosidades (cabeça de seta) e sem alterações na intensidade de infiltrado inflamatório. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 72
Figura 22 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial com bactérias aderidas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, sem alterações histológicas. HE, 40x 72
Figura 23 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x 72
Figura 24 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 74
Figura 25 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A)Fotomicrografia do jejuno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 74
Figura 26 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 74
Figura 27 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 10x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial. Observe células cubóides. (C)

Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, redução do número de células caliciformes. HE, 40x 75
Figura 28 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x 75
Figura 29 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do segmento do duodeno apresentado discreta enterite linfoplasmocítica. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidades. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 76
Figura 30 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno dentro do padrão de normalidade. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas sem alterações histológicas. HE, 40x 77
Figura 31 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo, sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 77
Figura 32 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial com bactérias aderidas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, sem alterações histológicas. HE, 40x 78
Figura 33 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x 78
Figura 34 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do duodeno apresentando discreta enterite linfoplamocítica. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade mostrando aumento da intensidade de infiltrado de mononucleares. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas. HE, 40x 79
Figura 35 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 80
Figura 36 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x 80
Figura 37 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 10x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial. Observe células cubóides. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, redução do número de células caliciformes. HE, 40x 80
Figura 38 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x 81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Descrição dos tratamentos utilizados na maternidade..... 40
Quadro 2 - Distribuição dos tratamentos nas salas..... 41
Quadro 3 – Descrição dos tratamentos na creche 41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LPS	Laboratório de Pesquisa em Suínos
PLA	Placebo
ProbA	Probiótico A
ProbA ProbB	Probiótico A Probiótico B
CTL ProbB	Controle Probiótico B
ProbA ProbA	Probiótico A Probiótico A
CTL CTL	Controle Controle
ProbA DES	Probiótico A Desafio
CTL DES	Controle Desafio
PM	Peso médio
GPMD	Ganho médio diário de peso
CMDR	Consumo médio diário de ração
CA	Conversão alimentar
S. Typhimurium	*Salmonella* Typhimurium

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19
2 OBJETIVOS 22
2.1 OBJETIVO GERAL 22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 22
3 REVISÃO DE LITERATURA 24
3.1 HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DE ADTIVOS ALIMENTARES 24
3.2 MICROINGREDIENTES PROMOTORES DO CRESCIMENTO 25
3.3 PROBIÓTICO 27
3.3.1 Mecanismo de ação dos probióticos 29
3.4 MICROBIOTA INTESTINAL 32
3.5 FATORES ENVOLVIDOS NO DESMAME DE LEITÕES 34
3.6 *SALMONELLA* SP. 35
4 MATERIAL E MÉTODO 38
4.1 ANIMAIS 38
4.2 LOCAL E INSTALAÇÕES 38
4.3 ALIMENTAÇÃO 38
4.4 MANEJO DOS LEITÕES NA MATERNIDADE 39
4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS 39
4.5.1 Maternidade 39
4.5.2 Creche 40
4.6 DESAFIO EXPERIMENTAL 43
4.7 ANÁLISE DE DESEMPENHO 43
4.8 AVALIAÇÃO DO ESCORE FECAL 44
4.9 CULTURA E IDENTIFIÇÃO DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM NAS FEZES 44
4.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MUCOSA INTESTINAL 45
4.11 ANÁLISE ECONÔMICA 45
4.12 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA 46
5 RESULTADOS 50
5.1 DESEMPENHO DOS ANIMAIS 50
5.1.1 Maternidade 50
5.1.2 Creche 51

5.2 AVALIAÇÃO DO ESCORE FECAL 60
5.3 CULTURA E IDENTIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM NAS FEZES62
5.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MUCOSA INTESTINAL E LINFONODO..... 64
5.4.1 Tratamento Probiótico A Probiótico B 64
5.4.2 Tratamento Controle Probiótico B 67
5.4.3 Tratamento Probiótico A Probiótico A 70
5.4.4 Tratamento Controle Controle 73
5.4.5 Tratamento Probiótico A Desafio 75
5.4.6 Controle Desafio 78
5.5 ANÁLISE ECONÔMICA 81
6 DISCUSSÃO 85
7 CONCLUSÃO 93
REFERÊNCIAS 96

The long and winding road
That leads to your door
Will never disappear
I've seen that road before
It always leads me here
Lead me to your door

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

À medida que a população humana mundial cresce maior é a demanda por alimentos de origem animal, o que vem interferir na produção animal como um todo. Neste contexto, os aspectos sociais, ambientais e de segurança alimentar também devem ser considerados e abordados. Particularmente na produção de suínos, o comércio internacional movimenta um montante de 5,4 milhões de toneladas e gera uma receita anual de 11,9 bilhões de dólares, sendo os principais países importadores o Japão, Federação Russa, México, Coréia do Sul e Hong Kong (ABIPECS, 2009). Destaque seja feito na posição do Brasil neste mercado internacional, pois situa-se dentre os que mostram crescimento constante na produção e exportação de carne suína, havendo uma constante busca por novos mercados, como a União Européia.

Esse quadro proporciona grandes desafios nos diferentes segmentos da cadeia agroindustrial de alimentos brasileiros, os quais se deparam com barreiras econômicas, política e sanitária. Neste panorama, o aspecto sanitário ganha foco especial, principalmente pelas imposições da legislação européia, quanto ao uso de alimentos transgênicos, exigências quanto ao bem estar animal e banimento completo da adição de antibióticos como promotores do crescimento na alimentação animal.

A utilização indiscriminada de promotores do crescimento (antibióticos e quimioterápicos) empregados especificamente na suinocultura vem sendo questionada por proporcionar a possível seleção de cepas resistentes, toxidade ou alergias nos humanos (PALERMO, 2006). Apesar da comprovada capacidade de aumentar o desempenho, quando utilizados em doses subterapêuticas como microingredientes nas dietas, a adição de antibiótico, como promotor do crescimento nas rações, foi proibido pelos países da União Européia desde 2006 (BRUGALLI, 2003), apenas podendo ser utilizados de forma terapêutica, sob prescrição do médico veterinário. Estas proibições geraram conseqüências econômicas importantes, pois o prejuízo causado foi da ordem de US$ 1,103 bilhões na cadeia produtiva da carne suína (BUTOLO, 1999).

Considerando o desmame dos leitões como a fase mais crítica no sistema intensivo de produção, traduzida por situações estressantes proporcionadas principalmete pelas alterações ambientais, tem sido evidenciado, queda da resposta imune, desequilíbrios da microbiota intestinal e consequente maior susceptibilidade a agentes infecciosos (ALEXOPOULOS et

al., 2004). Nesta fase, com a proibição dos antibióticos, há maior o prejuízo pela possível queda no desempenho dos animais.

A produção animal, diante destas crescentes exigências, vem se adaptando e criando possibilidades de substituição dos antimicrobianos por outros aditivos alimentares como os prebióticos, probióticos, simbióticos, ácidos orgânicos e extratos vegetais. Esta linha de estudo tem recebido maior atenção por pesquisadores, havendo a necessidade de maiores esclarecimentos sobre os efeitos desses produtos alternativos sobre o custo e desempenho da produção.

Desse modo, é essencial viabilizar a utilização dos promotores do crescimento no nosso meio. Assim, o presente estudo propõe elucidar os efeitos e ações da associação de probióticos adicionados a dieta de leitões no aleitamento e creche, mantidos em granja experimental. Para tanto foram avaliados o custo da dieta, o desempenho, o escore fecal, a mucosa intestinal e aspectos sanitários frente ao desafio programado com *Salmonella* Typhimurium.

The wild and windy night
That the rain washed away
Has left a pool of tears
Crying for the day
Why leave me standing here
Let me know the way

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O estudo tem como propositura avaliar o efeito e a viabilidade da utilização da associação de probióticos distintos nas fases de aleitamento e de creche em leitões. Para tanto foi avaliado o desempenho associado aos aspectos clínico (escore fecal), sanitário (eliminação fecal do agente), histomorfológico da mucosa intestinal e aspectos econômicos frente ao desafio programado com *Salmonella* Typhimurium.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1- Avaliar o peso médio e ganho de peso dos leitões na fase de aleitamento os quais receberam Probiótico A ao nascimento e aos 21 dias.

2- Avaliar o desempenho dos animais na creche sob diferentes tratamentos experimentais com Probióticos A, B e a associação A e B.

3- Avaliar o desempenho dos animais na creche frente ao desafio programado com *Salmonella* Typhimurium realizado aos 35 dias de idade nos períodos de 35, 42 e 56 dias.

4- Avaliar o escore de fezes dos leitões na creche dos 21 aos 62 dias com e sem desafio programado com *Salmonella* Typhimurium em diferentes períodos.

5- Avaliar à eliminação de *Salmonella* Typhimurium aos 42 e 56 dias de vida dos leitões que receberam Probiótico A 12 horas antes do desafio programado.

6- Avaliar qualitativamente a histologia da mucosa intestinal dos leitões aos 63 dias de idade com e sem desafio programado com *Salmonella* Typhimurium.

7- Avaliar os indicadores econômicos do custo da inclusão de probióticos na dieta de leitões durante a fase de creche.

Many times I've been alone
And many times I've cried
Anyway you'll aways know
The many ways I've tried

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DE ADTIVOS ALIMENTARES

Mediante relato de Ghadban (2002) a "era dos antibióticos", iniciada pela descoberta da penicilina por Alexandre Fleming, em 1943, foi utilizada para prevenir mortes durante a Segunda Guerra Mundial.

A partir da década de 50, os antibióticos começaram a ser empregados na alimentação animal com objetivo de cura, prevenção de doenças, possuindo ainda, a capacidade de melhorar o desempenho dos animais, pelo mecanismo de exclusão de microorganismos no trato gastrointestinal (MACARI; FURLAN, 2005). Após estudos com com aves, foi observado nos animais que consumiram antibiótico maior taxa de crescimento em comparação ao grupo controle basal (PEDERSEN; EDQVIST, 2001). A prática de utilização de antibióticos em doses subterapêuticas foi rapidamente adotada e logo se tornou parte integrante nos modernos sistemas de produção animal, com maior ênfase nas criações de aves e suínos (WHO, 2003).

Já na década de 60, surgiram as primeiras críticas em relação ao uso indiscriminado dos antibióticos na alimentação animal, pois, o uso indiscriminado na alimentação, provocaria desequilibrio na flora intestinal, dada sua ação tanto nas bactérias patogênicas quanto benéficas, acarretando resistência bacteriana e consequente queda na eficiência do desempenho dos animais de produção (GHADBAN, 2002).

Nos anos 70, o FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos levantou dúvidas quanto à proteção ao consumidor perante a ração animal que continha antibiótico, pois, os resíduos de antimicrobianos poderiam ainda estar presentes na carne, ovos e leite, causando reações de hipersensibilidade nas pessoas ou até mesmo interferir no tratamento de infecções humanas devido ao aparecimento de cepas bacterianas resistentes (BIOTECNAL, 1999). Diante dessa preocupação, a União Européia na década de 80 proibiu o uso de penicilina, tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, estreptomicina, neomicina, higromicina, bacitracina de magnésio, espiramicina e avoparcina, pois, estas substâncias poderiam intervir de certo modo na terapêutica humana (UTIYAMA, 2004).

Várias pesquisas foram realizadas com o objetivo de comprovar a resistência bacteriana cruzada entre as reações em humanos e a utilização de antimicrobianos nas rações para animais. Pedersen (1999) salienta a resistência cruzada da tilosina e espiramicina à eritromicina, da virginiamicina à estreptogramina e da avilamicina à everninomicina, antibióticos estes, de uso humano. Já Aarestrup et al. (1996) mostraram resistência cruzada da vancomicina e avoparcina em isolados de *Enterococcus* de humanos e animais.

Embora a resistência a antibióticos seja alta, ainda não existe clara evidência do efeito desfavorável na saúde humana, que possa estar relacionado ao uso subterapêutico na ração de animais, porém independentemente dessa questão, as restrições quanto à utilização de antibiótico como promotor do crescimento continuam.

Desde então, novas proibições surgiram. No Brasil através da portaria nº159 de 1992 houve banimento do uso das tetraciclinas, cloranfenicol, sulfonamidas e penicilinas, como promotores do crescimento. Em 1998, foi vetado o uso de avoparcina (portaria 448) e em 2002, os nitrofuranos (Instrução normativa nº38) (SANTOS et al., 2003).

Na União Européia ainda eram liberadas, a utilização de flavomicina, avilamicina e monensina sódica até dezembro de 2008, porém, atualmente todos antimicrobianos estão proibidos para o uso como promotor do crescimento em rações animais (PALERMO, 2006).

A evolução dos fatos tem levado a crescente busca de novas alternativas, as quais possam substituir de forma similar os antibióticos, tendo as pesquisas focadas nos mecanismos de defesa natural dos animais, ou seja, na busca da preservação da microbiota da mucosa do trato gastrointestinal, mantendo uma condição de saúde desejável. As alternativas visam utilizar os probióticos, prebióticos, simbióticos, extratos vegetais e ácidos orgânicos.

3.2 MICROINGREDIENTES PROMOTORES DO CRESCIMENTO

Microingrediente é uma substância ou mistura de substâncias adicionadas intencionalmente aos alimentos para animais, com o intuito de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades desejáveis e suprir as indesejáveis (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1998). Os promotores do crescimento são definidos como microingredientes e classificados com pró - nutriente (prebióticos, probióticos, antioxidante), usados oralmente em uma dieta animal (UTIYAMA, 2004).

Segundo Lima (1999), promotores do crescimento são compostos químicos, elementos inorgânicos simples ou compostos sintéticos orgânicos que, quando administrados em pequenas quantidades, tem a finalidade de melhorar a conversão alimentar e/ou taxa de crescimento.

Agentes antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos) são promotores do crescimento de maior uso na alimentação animal por proporcionar uma produtividade adequada aos animais criados em sistema intensivo de produção (MENTEN, 2001). O relatório apresentado por Dewey et al. (1999), estimou que nos Estados Unidos, os antimicrobianos eram utilizados em 90% das dietas de leitões em fase inicial, em 75 % das dietas dos animais em crescimento e ainda em 50% das dietas de animais em fase de terminação.

Os quimioterápicos são obtidos por síntese química, com ação semelhante aos dos antibióticos e os antibióticos são substâncias produzidas por leveduras, fungos ou bactérias (MENTEN, 2001). O modo de ação pode ser de dois tipos: morte do agente ou parada no seu crescimento e reprodução, sendo no primeiro caso, denominado de efeito bactericida ou fungicida (no caso de fungos), no segundo, de efeito bacteriostático ou fungiostático. Segundo Tavares (1990) e Mellor (2000), esses efeitos podem ser por interferência na síntese da parede celular, alteração na permeabilidade da membrana plasmática, na síntese protéica celular e interferências na replicação cromossômica.

Apesar dos vários estudos sobre os promotores do crescimento desde a década de 50, os quais objetivaram esclarecer o mecanismo de ação dos antimicrobianos sobre os microorganismos intestinais, ainda não foram totalmente elucidados, outros aspectos, portanto, merecem ser averiguados (GONZALES, 2004). O conceito unânime de ação dos antimicrobianos recai sobre a microbiota, funcionando como bacteriostático ou bactericida no trato gastrointestinal (JONG et al., 1985; MURAMATSU et al., 1994; BUTOLO, 2002).

Segundo Lima (1999), os efeitos do uso dos aditivos podem ser agrupados em quatro categorias: nutricional (alterações na população microbiana e redução da parede intestinal, promovendo uma maior disponibilidade de nutrientes), efeito metabólico (melhoria no desempenho por ter efeito direto sobre o metabolismo do animal) e controle de doenças (inibição de bactérias intestinais causadoras de doenças, permitindo que os animais expressem ao máximo o seu potencial genético), além disso, efeito de econômia de nutrientes, já que o efeito nutricional é caracterizado pela ação seletiva dos antimicrobianos, desfavorecendo o

crescimento de bactérias que apenas competem pelo alimento com o hospedeiro, favorecendo as bactérias que sintetizam vitaminas e aminoácidos essenciais para o suíno.

De acordo com estudo realizado por Corpet (2000), a adição de antimicrobianos, reduz a produção de ácidos graxos voláteis, principalmente no colon e ceco, fato que indica uma menor degradação desses. Outras observações relatam que algumas bactérias intestinais inativam enzimas pancreáticas que metabolizam a proteína produzindo, portanto aminas biogênicas e amônia, as quais são inibidas pelos antimicrobianos, resultando na melhoria da digestibilidade protéica.

A microbiota intestinal é composta por inúmeras bactérias, formando um sistema complexo, responsável por influenciar fatores, nutricionais, bioquímicos, imunológicos e microbiológicos no hospedeiro (TANNOCK et al., 1998). O uso de promotores do crescimento, pode provocar alterações na microbiota em decorrência da perda de fixação de certos microorganismos no epitélio da mucosa intestinal (KRAUSE, et al.,1997), como alteração no perfil e na quantidade de substâncias produzidas no lúmen (JIN et al., 1997), alterações nos níveis de ácidos graxos voláteis (BRUGALLI, 2003) , controle de doenças não diagnosticáveis, protegendo assim o epitélio intestinal (BUTOLO, 1999). Além disso, promove alterações como aumento da altura das vilosidades e redução da profundidade das criptas, pois podem interferir na secreção de enzimas e sucos gastrointestinais (BUTOLO, 1999; MILTEMBERG, 2000; BRUGALLI, 2003).

A eficácia dos antimicrobianos sobre o desempenho dos animais é maior para animais jovens em relação aos mais velhos e também podendo ser as melhores respostas em ambientes com maior contaminação (BAYNES; VARLEY, 2001). Se os animais fossem criados em um ambiente livre de patógenos, o uso destes antibióticos em dose subterapêutica não produziria ganhos zootécnicos (MENTEN; PEDROSO, 2005), portanto não exercem efeito em animais "germ-free", pois o seu funcionamento esta relacionado com a atividade microbiana na fisiologia do animal (MURAMATSU et al., 1994).

3.3 PROBIÓTICO

A palavra probiótico é derivada do grego Pro: a favor e bio: vida, portanto, a favor da vida (GHADBAN, 2002). Existem dezenas definições para probiótico, todas muito

semelhantes, Crawford (1979), definiu probiótico como uma cultura de microorganismos vivos específicos implantados no trato digestivo do animal através do alimento. Fuller (1989) definiu probiótico como um microingrediente a base de microorganismos vivos que afetam positivamente o animal hospedeiro, melhorando o balanço microbiano intestinal. Vanbelle et al.(1990), definiu como bactérias naturais do intestino que após uma ingestão em doses efetivas são capazes de estabelecer ou mesmo colonizar o trato digestivo, prevenindo a colonização de organismos patogênicos.

De acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), probióticos são cepas específicas de várias espécies de microorganismos que agem como auxiliares na recomposição da microbiota intestinal, diminuindo a ocorrência de microorganismos patógenos, podendo ser administrado oralmente aos leitões, tanto individualmente quanto através de ração farelada ou peletizada (BRUNO et al., 2006), ou produzidos em cápsulas, pasta, pó ou grânulos (FULLER, 1989).

Independentemente do conceito utilizado, os probióticos devem ter algumas características como: exercer efeito benéfico ao animal hospedeiro; não ser patogênico e/ou tóxico; ser capaz de sobreviver ao metabolismo digestivo intestinal; manter-se viável durante a estocagem e uso nas dietas; conter um grande número de células viáveis; ser isolado ou detectado em seu hospedeiro e ter boa palatabilidade ou não interferir nas propriedades sensoriais (COLLINS; GIBSON, 1999).

Bactérias e fungos podem ser utilizados como probióticos, as espécies de bactérias mais utilizadas são dos gêneros *Lactobacillus, Bacillus*, *Streptococcus* e de levedura a *Saccharomyces cerevisiae*, podendo conter apenas uma espécie de microorganismo ou mais que podem estar associadas (TURNER et al., 2001).

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

Os resultados de desempenho com o uso de probióticos ainda são inconsistentes, tanto em suínos quanto em aves (NRC, 1998). Segundo Dale (1992), o valor do probiótico ainda não esta comprovado, pois se a população de bactérias que compõe a microbiana do intestino é composta principalmente por *Escherichia coli,* e o probiótico conseguem competir e melhorar a digestão, por outro lado por exclusão competitiva, poderia não resistir à colonização da bactéria *Salmonella.*

Entretanto, alguns fatores podem interferir na possível ação do probiótico e, entre eles, a espécie de microorganismo utilizado, o "status" sanitário da granja e temperatura das instalações (WILLIAMS et al.,1997; NRC 1998). Ainda, fatores ligados a exposição do alimento ao calor e umidade excessiva durante a armazenagem, ou mesmo durante a fabricação de substâncias que inibem o probiótico, o processo de peletização da ração que podem diminuir o número de microorganismos viáveis no alimento.

Além disso, o probiótico pode não fazer parte da microbiota natural do hospedeiro ou pode estar presente em número insuficiente para que possa ser formada uma colônia no trato gastrointestinal e assim podendo estabelecer uma relação de simbiose com o animal hospedeiro (DALE, 1992; COLLINS; GIBSON, 1999).

É importante salientar que, quanto melhores forem as condições sanitárias e menor estresse o animal sofrer e mais equilibrada a flora intestinal, muito menor o efeito tanto dos antibióticos quanto dos probióticos (MACARI; FURLAN, 2005). Todas essas variáveis, podem explicar a inconsistência dos resultados quando utilizamos probióticos como um substituto dos antibióticos.

3.3.1 Mecanismo de ação dos probióticos

O mecanismo de ação dos probióticos ainda não foi totalmente esclarecido, pois, vários mecanismos podem atuar independentemente ou associados (COPPOLA; GIL TURNES, 2004). Um deles é a exclusão competitiva, que surgiu do conceito de "competição por sítios de ligação". Os microorganismos do probiótico passam a ocupar os sítios de ligação, estabelecendo certa prevalência na microbiota intestinal, aderindo-se assim ao epitélio e vindo conseqüentemente dificultar a adesão dos microorganismos patógenos, havendo nos casos, a exclusão por competição (OUWEHAND et al., 1999; ROTH, 2000). Além disso, também possuem uma melhor capacidade e facilidade de capturar e metabolizar nutrientes presentes no lúmen intestinal comparativamente aos microorganismos patógenos que não estão aderidos (ROTH, 2000). O melhor nível sanitário, com menor agressão da bactéria ao trato gastrointestinal poderia explicar a ineficiência de atuação dos probióticos, como foi anteriormente já referido.

Esse mecanismo de "competição por sítios de ligação" se aplica principalmente a probióticos a base de microorganismos dos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, pois são bactérias que colonizam o trato gastrointestinal, aderindo por meio de fímbrias ao epitélio (HUYGHEBAERT, 2003). As fímbrias são os elementos de aderência bacteriana e estas são compostas pelos polissacarídeos (moléculas de açúcar ramificado), que se projetam da parede externa da bactéria reconhecendo oligossacarídeos específicos dos sítios de ligação da parede intestinal. Algumas bactérias, somente se aderem à superfície superior dos enterócitos que possuem moléculas compostas de polissacarídeo denominadas glicocálix, enquanto outras se aderem nas criptas onde são produzidas novas células epiteliais que migram até as vilosidades (FURLAN; MACARI, 2005).

Segundo Furlan et al. (2004), os mecanismos que possam prevenir a aderência das bactérias, são eficazes na redução da colonização. Promovem também, a quebra das ações que sintetizam o glicocálix ou fímbria, pela inibição da polimerase bacteriana que estabelece elos dos açúcares nos polissacarídeos. Desenvolvem ao mesmo tempo, compostos que ocupam e bloqueiam o locus ativo de ação das moléculas de polissacarídeos, as quais se ligam ao glicocálix da bactéria com o glicocálix do enterócito, estabelecendo o bloqueio dos receptores nas células hospedeiras e, desta forma, evitam a ligação do glicocálix bacteriano com o glicocálix do enterócito.

Já os probióticos que contém *Bacillus* spp. e levedura (*Saccharomyces cerevisiae)* transitam pelo intestino juntamente com o conteúdo alimentar, sendo microorganismos não colonizadores por não se aderirem ao epitélio (HUYGHEBAERT, 2003).

Portanto, existem probióticos exclusivamente voltados para o mecanismo de exclusão competitiva, mas também podem exercer outros mecanismos (MENTEN, 2001), como efeito biológico, pois na medida em que promove um ambiente de baixa tensão de oxigênio, desfavorecem o crescimento de bactérias enteropatogênicas, principiante a *Salmonella* spp. (PETRI, 2000). Segundo Spencer e Chesson (1994), algumas espécies de *Lactobacillus*, principalmente as espécies de *L. fermentum* são capazes de aderir às células epiteliais colunares de suínos, pois produzem biosurfactantes que são definidos como uma mistura de complexo biológico capaz de inibir a adesão de patógenos urogenitais (*Enterococcus faecalis*).

Os probióticos podem ser aplicados na água ou por via oral para leitões recém-nascidos com o objetivo de colonizar trato gastrointestinal que estabiliza a microbiota evitando a instalação de patógenos como a *Salmonella* (HOOGE, 1999).

Outro mecanismo de ação do probiótico é de antagonismo direto que se dá pela produção de ácidos orgânicos, ou substâncias antibióticas como, bacteriocinas, nisina, acidofilina, peróxido de hidrogênio entre outros (VANBELLE et al., 1990). As bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são produtoras de ácido láctico e em seus produtos finais da fermentação dos carboidratos (SALMINEN et al., 2004). Patógenos como *Salmonella* spp. e *E. coli* se desenvolvem em pH mais elevado e as bactérias lácteas, reduzem o pH intestinal pela produção de ácido orgânicos, inibem assim, o crescimento dessa população de microorganismos, havendo ainda a produção de peróxido de hidrogênio , uma substância efetiva contra vírus e outras espécies de bactérias (ROTH, 2000).

As bactérias do gênero *Bifidobacterium*, produzem moléculas antimicrobianas, as bacteriocinas, caracterizadas como substâncias protéicas bactericidas, matam ou inibem o crescimento de bactérias específicas (SHIM, 2005; LEEDLE, 2000b). As bacteriocinas ligam-se a receptores celulares específicos e não são letais para as células que as produzem, diferindo-se dos antibióticos, por serem produzidas exclusivamente por bactérias (LEEDLE, 2000b). Não existem trabalhos que demonstrem de forma efetiva esta ação, *in vivo*, mas *in vitro* a capacidade bactericida das bacteriocinas já foi comprovada (BERG, 1998).

Os probióticos podem possuir ainda, ação de imunomodulação do hospedeiro, indicando estimulo específico e não específico no sistema imune (CHESSON, 1994). No entanto, o mecanismo ainda não está totalmente esclarecido, alguns probióticos podem atuar como adjuvantes por causa dos componentes da parede celular e assim melhorando o sistema imune humoral (KAILA et al., 1992).

Outro mecanismo dos probióticos seria o efeito nutricional, os microorganismos probióticos dificultam a fixação de patógenos por exclusão competitiva e assim haverá uma menor produção de amônia, toxinas e aminas pelos patógenos havendo a proteção do epitélio intestinal, pois evitam que os patógenos utilizem aminoácidos, carboidratos para fermentação, minerais e produção de toxinas (GUILOT, 2000). Além disso, outra ação dos probióticos é produzir enzimas, vitaminas (A, B12, D3) e minerais (Mn, Co, Zn) (CHIQUIERI, 2003), e até desconjugam sais biliares que facilitam a digestão (GUILLOT, 2000).

Menten (2001) revisou que alguns gêneros de bactérias intestinais como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estão relacionados com o aumento da resposta imune, proliferação de células T, ativação de macrófagos e produção de interferon. Porém este assunto ainda não tem nenhum tipo de constatação conclusiva na literatura.

Algumas bactérias são produtoras de ácido lático e reduzem o pH do conteúdo intestinal e assim ocorre a acidificação intestinal. Essa acidificação pode facilitar e aumentar o transporte de ácidos graxos voláteis através do epitélio intestinal, pois em pH abaixo de 6 apresentam na forma dissociada, sendo dez vezes mais absorvida (LEEDLE, 2000b). Quando esses ácidos graxos voláteis são absorvidos podem se transformar em energia para os enterócitos, melhorando o metabolismo celular e a absorção de nutrientes (UTYAMA, 2004). Portanto, através desse mecanismo ocorre manutenção da mucosa intestinal e melhora da digestão, o que interfere no desempenho dos animais (WISEMAN; GARNSWORTHY, 2001).

Muitos trabalhos que utilizaram probióticos em suínos obtiveram resultados controversos, possivelmente pela grande variação do "status" sanitário do sistema de produção, pois os promotores do crescimento só exercem seu efeito sob condições de desafio (SPINOSA et al., 2002). Os resultados dependeriam da maior ou menor pressão de infecção do local, podendo ser relacionado ao tipo de bactéria, programas de limpeza e desinfecção e manejo da programação do vazio sanitário.

No presente estudo, foi utilizado um desafio programado, com uma bactéria conhecida e inoculada, no caso a *Salmonella* Typhimurium, assim podendo causar nos animais uma leve inflamação, não gerando um quadro de doença, apenas sinais subclínicos, levando certa morbidade e baixa mortalidade que poderiam demonstrar os reflexos na saúde do animal.

3.4 MICROBIOTA INTESTINAL

Ao nascimento, a microbiota intestinal do leitão é considerada estéril, porém após três horas do nascimento já é possível detectar uma pequena população microbiana no trato gastrointestinal (DUCLUZEAU, 1983), inicialmente há a exposição logo no canal do parto, já que no trato vaginal da fêmea contêm uma flora diversificada, incluindo, gêneros de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, e posteriormente em contato com o meio ambiente e contato com as fezes da mãe. Neste período, ocorrem desenvolvimento e crescimento acelerado, permitido pelo rápido progresso na ontogenicidade, a fim de suprir o neonato com nutrientes e proteção através dos processos de digestão e absorção, afetando significativamente o crescimento e produtividade nas fases subseqüentes

(CRANWELL, 1995). Desta forma, há um grande ganho de peso intestinal, atribuído principalmente pelo desenvolvimento da mucosa intestinal.

Este aumento de peso, também pode ser decorrente da hipertrofia das células, devido à endocitose não seletiva de imunoglobulinas colostrais e outras macromoléculas como hormônio do crescimento, originando aumento da síntese protéica e hiperplasia das células da cripta, sendo o tamanho e o número de enterócitos muito variável (XU et al., 1992).Os enterócitos juntamente com as células caliciformes e enteroendócrinas, caracterizam o revestimento epitelial da camada de vilos que revestem a parede intestinal ,sendo responsáveis pela absorção dos nutrientes (CRANWELL, 1995).

O desenvolvimento da mucosa intestinal ocorre a partir de dois eventos citológicos associados: renovação, onde ocorre à proliferação e diferenciação das células localizadas na cripta e ao longo dos vilos, e; perda celular, extrusão que ocorre no ápice dos vilos. Estes eventos garantem a manutenção dos vilos, assim, quando o intestino responde a algum agente, ocorre um desequilíbrio que altera a altura dos vilos (MAIORKA, 2001).

De acordo com Barnes (1986), os microorganismos que colonizam inicialmente são: *Escherichia coli* não patogênica, espécies de clostrídios e estreptococos, *Lactobacillus spp* em menor quantidade já que não há secreção de ácido clorídrico nas primeiras horas de vida, porém com a ingestão continua de leite na lactação, contendo lactose, o pH estomacal reduz gradativamente proporcionando condições para o crescimento de microorganismos anaeróbios benéficos (SANCHES, 2004). Posteriormente as bactérias facultativas removem o oxigênio e as bactérias anaeróbias se tornam dominantes no intestino delgado e no intestino grosso, correspondendo a uma população de 90% de bactérias Gram positiva de Bacteróides, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Fusibacterium*, *Propionibacterium* e *Clostridium* (SALANITRO et al., 1977).

Fuller (1989) menciona que a acidificação estomocal é mediada pelos ácidos clorídrico e lático. Como os leitões não atingem a capacidade adulta de acidificação estomacal até os dois meses e meio de vida, o alto pH do estômago, por causa da insuficiente produção de ácido clorídrico acaba por favorecer a proliferação de bactérias patogênicas. O ceco dos suínos possui uma diversa população bacteriana anaeróbia. Robinson et al. (1981), observaram que 35% dos isolados de ceco foram *Bacteróides ruminicola* e 21 % de *Selemonas rumination* . Já em relação às bactérias Gram positivas observaram *Lactobacillus acidophilus* com cerca de 8 %, além de *Escherichia coli*.

Para que essas bactérias se fixem no epitélio intestinal, existem dois tipos de população bacteriana que podem se estabelecer, sendo o primeiro que consiste em associação de células epiteliais, como os *Lactobacillus acidophilus* e a *E.coli*, e, em segundo bactérias como a *Streptococcus faecium* que ocorrem livremente no lúmen intestinal e que se multiplicam a taxas rápidas, para não serem eliminadas pelo peristaltismo (KROGFELT, 1991; MILES 1993).

Um estudo realizado por Rozas et al. (2003), analisando cada um dos ramos do trato digestivo com características anatomo-fisiológicas diferentes, comprovaram que a complexidade da microbiota aumentava no sentido do estômago para o intestino delgado e finalmente para o intestino grosso .

3.5 FATORES ENVOLVIDOS NO DESMAME DE LEITÕES

O desmame, no período entre 21º e 28º dias de idade dos leitões é, um grande desafio. Normalmente neste período, há uma queda de desempenho dos animais, pois estão sujeitos a inúmeros fatores estressantes, tais como: perda de contato com a porca, adaptação a dieta sólida, mudança de ambiente, mistura com outras leitegadas, maior desafio imunológico, entre outros. A queda da imunidade pode causar desequilíbrio intestinal, tornando os animais mais susceptíveis a agentes patogênicos entéricos, principalmente *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e *Clostridium* (MORES et al., 1998; ALEXOPOULOS et al., 2004).

Durante este período de transição, da maternidade para creche, é observada uma diminuição no crescimento dos animais, por não conseguirem suprir suas exigências, pois o seu consumo de ração é baixo (MCCRACKEN et al., 1999; SMINCK, 2003). No trato digestivo imaturo, ocorre secreção ineficiente de enzimas digestivas secretadas ao longo do trato gastrointestinal e a secreção de ácido clorídrico, bicarbonato e muco não permitem uma digestão e absorção de nutrientes (GEARY et al., 1999).

O ácido clorídrico tem a função de estabelecer uma barreira bacteriana para proteger o intestino delgado contra a entrada de microorganismos patogênicos, mas quando o pH está acima do nível ideal, a pepsina não é ativada e as proteínas não são digeridas adequadamente.

Na desmama ocorre uma queda na produção de ácido clorídrico no estômago, devido à ausência da lactose que serve de substrato para o *Lactobacillus,* como conseqüência, ocorre à

digestão incompleta e o quimo alimentar inadequadamente acidificado, geralmente pela presença do farelo de soja (alergênico) na ração pós desmame, leva a alterações na estrutura do epitélio intestinal (LINDEMAN, 1986; CAMPABADAL et al., 1995; MOLLY, 2001). Além disso, a digestão incompleta proporciona um meio ideal para bactérias patogênicas as quais contribuem para ocorrência de diarréia pós-desmame.

Após 24 horas do desmame já é possível observar uma atrofia das vilosidades e aumento da profundidade das criptas, devido à maior descamação dos enterócitos, esta atrofia origina perdas na atividade de algumas enzimas, como, sacarase, lactase e isomaltase, as quais acabam interferindo na absorção de nutrientes dada à digestão incompleta de carboidratos e proteínas (MILLER et al., 1984; PLUSKE et al.,1997; HEDEMANN et al., 2003).

A fisiologia do sistema digestório de leitões recém - desmamados é extremamente complexa, tornando assim sua alimentação um grande desafio. Portanto, para auxiliar e amenizar todos esses eventos tem sido utilizado aditivo na ração. Um deles, o probiótico vem amenizar o estresse pós-desmama, contribuindo para a manutenção das condições adequadas do trato gastrointestinal e conseqüentemente melhora no desempenho do animal.

3.6 *SALMONELLA* SP.

A Salmonelose é uma doença relevante mundialmente, sendo uma zoonose de extrema importância na saúde pública. No entenato, a prevalência, morbidade e mortalidade variam. A infecção por *Salmonella* em suínos é motivo de preocupação por duas razões, a primeira por ser uma doença clínica que gera mais custos para o produtor e a segunda, é que os suínos podem ser infectados por uma ampla gama de sorotipos de Salmonella e podem tornar-se fonte de infecção na carne suína e derivado (GRIFFIN et al., 2006).

A Salmonella pode estar na microbiota intestinal, sem causar a enfermidade, porém alguns sorotipos são capazes de causar a doença clínica quando outro animal além de seu hospedeiro adaptado vier a se infectar (CALLAWAY et al., 2008).

S. Typhimurium é o sorotipo mais isolado em suínos doentes, e geralmente esta associado à enterocolite, o sorotipo tem distribuição mundial e freqüência relacionada com os sistemas de produção intensivo de suínos pela alta pressão de infecção do local, sendo o contágio fecal-oral (GRIFFIN et al., 2006), porém existem evidências que ocorra participação

da via aerógena na transmissão de *Samonella* em suínos criados em sistemas intensivos (HERD; LINTON, 1966). Estudo realizado por Oliveira et al.(2004) confirmaram a transmissão aerógena de *Salmonella* entérica na espécie suína. A *Samonella* Typhimurium ainda pode ser transmitida pelo contato nasonasal, pelas secreções orofaríngeas de animais infectados, sendo assim o contato direto entre animais possibilita transmissão (OLIVEIRA et al., 2007).

Segundo Fraser et al. (2007), as patologias entéricas, como no caso da *Salmonella*, causam redução da taxa de crescimento dos animais devido aos distúrbios gastrointestinais que acarretam.

Como dito anteriormente, os aditivos demonstram efeito diversos associado à variabilidade da pressão de infecção do ambiente. Assim modelos experimentais com probióticos, prebióticos, extratos vegetais, entre outros tem sido desenvolvidas empregando-se como desafio a inoculação da bactéria *Salmonella* Typhimurium em suínos (FRASER, et al., 1997; BRUNO, 2008; HORTA, 2009; PARAZZI, 2010).

But still they lead me back
To the long winding road
You left me waiting here

MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 144 leitões híbridos provenientes do Laboratório de Pesquisa em Suínos (LPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP em Pirassununga – SP (FMVZ-USP).

4.2 LOCAL E INSTALAÇÕES

Na fase de aleitamento na maternidade (do nascimento aos 21 dias) e na fase pós-desmame na creche (dos 21 aos 62 dias), os animais foram alojados nas unidades do LPS.

A unidade de maternidade possui gaiolas de parição dotadas de comedouros individuais, bebedouros do tipo vaso comunicante e escamoteadores com piso aquecido para aquecimento dos leitões.

A unidade de creche constituída de três salas possui 16 gaiolas suspensas cada sala, tendo capacidade para alojar quatro leitões/gaiola. O piso é aquecido e parcialmente ripado, contendo bebedouros tipo chupeta e comedouros semi-automáticos.

4.3 ALIMENTAÇÃO

Na fase de aleitamento, os leitões não receberam nenhum tipo de ração até os 21 dias de idade.

Na fase pós-desmame na creche, a água e a ração foram fornecidas *ad libitum* aos leitões. As formulações obedeceram às empregadas comercialmente nas criações, sendo fornecidas pela empresa A/C Agroindustrial Ltda (Bauru, SP) havendo somente a adição do probiótico de acordo com o tratamento

As rações estabelecidas na fase de creche foram: pré-inicial (dos 21 aos 33 dias de idade); inicial 1 (dos 34 aos 54 dias de idade), inicial 2 (dos 55 aos 62 dias de idade). As análises bromatológicas foram realizadas pelo Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal VNP - FMVZ-USP, campus de Pirassununga-SP.

4.4 MANEJO DOS LEITÕES NA MATERNIDADE

Logo após o nascimento, os leitões foram limpos e secos, as vias áreas foram desobstruídas, foi realizada a cura do cordão umbilical com iodo a 5%, receberam identificação individual com brincos e pesagem individual. Seqüencialmente foram administrados os tratamentos aos animais, sendo Probiótico A (ProbA) e água destilada para os que não receberam o tratamento (PLA). Após esses procedimentos os leitões foram posicionados para mamar o colostro e aquecidos no escamoteador. Ao 3º dia de vida, aplicou-se ferro dextrano via intramuscular e ao 7º, realizou-se corte da cauda e castração dos leitões machos.

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

4.5.1 Maternidade

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado composto por dois tratamentos (Quadro 1). A distribuição dos tratamentos foi intercalada dentro de cada sala de maternidade, onde a cada fêmea seria administrado o probiótico (Probiótico A) aos seus leitões como a leitegada a sua frente conforme a disposição das grades de parição emparelhada. O mesmo procedimento foi feito com o Placebo (PLA), intercalando-se assim com o tratamento com o probiótico. Esta adequação teve como objetivo uniformizar os tratamentos na sala de maternidade.

Tratamentos	Descrição dos Tratamentos
Placebo (PLA)	72 leitões ao nascimento receberam 1mL de água destilada oral, antes da ingestão do colostro, o mesmo procedimento foi realizado aos 21 dias de idade
Probiótico A (ProbA)	72 leitões ao nascimento receberam 1mL de Probiótico A , antes da ingestão de colostro, o mesmo procedimento foi realizado aos 21 dias de idade

Quadro 1 - Descrição dos tratamentos utilizados na maternidade

Aos 21 dias idade, os leitões receberam reforço, sendo a mesma dose para os dois tratamentos, ProbA e PLA (Figura 1).

O probiótico (Probiótico A) utilizado foi um produto comercial em pó, composto por *Lactobacillus reuteri* ($1{,}5x10^9$ UFC/g) e *Bifidobacterium pseudolongum* ($1{,}5x10^9$ UFC/g). A dose dos probióticos foi previamente preparada quando iniciado parto, misturando-se o conteúdo do envelope do probiótico de 5g em 15mL de água destilada.

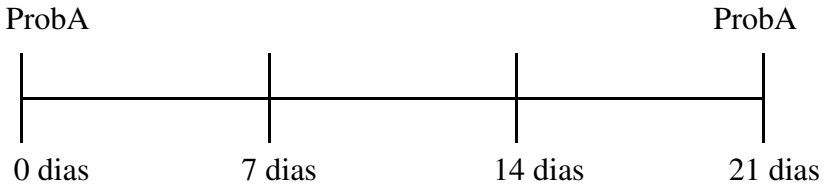

Figura 1 - Evolução dos tratamentos na maternidade

4.5.2 Creche

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em função do peso, sendo animais pesados 8 – 9 kg, animais médio 6 – 7,9 kg e animais leves 5,9 a 6 kg. A unidade experimental considerada foi à baia com três animais, havendo, portanto 8 repetições por tratamento.

Os 144 leitões foram distribuídos em três salas: 1; 2 e 3(Quadro 2 e 3).

O probiótico (Probiótico B) utilizado foi um produto comercial, composto por *Bacillus subtilis* na concentração de $1x10^{10}$ UFC/g, e utilizado na quantidade de 30g/ tonelada de ração.

Salas	**Descrição dos Tratamentos**
Sala 1	48 leitões receberam Probiótico B na ração, sendo 24 leitões, dos quais haviam recebido probiótico A na maternidade e 24 que não haviam recebido
Sala 2	48 leitões, sendo 24 que haviam recebido Probiótico A na maternidade e 24 que não receberam, constituindo o Controle (CTL)
Sala 3	48 leitões, sendo24 que receberam Probiótico A na maternidade e 24 que não receberam, sendo todos desafiados com *Salmonella* Typhimurium

Quadro 2 - Distribuição dos tratamentos nas salas

Sala 1		**Sala 2**		**Sala 3**	
ProbA ProbB	CTL ProbB	ProbA ProbA	CTL CTL	ProbA DES	CTL DES
24 leitões que receberam ProbA na maternidade	24 leitões que não receberam ProbA na maternidade	24 leitões que receberam ProbA na maternidade	24 leitões que não receberam ProbA na maternidade	24 leitões que receberam ProbA na maternidade	24 leitões que não receberam ProbA na maternidade

Quadro 3 – Descrição dos tratamentos na creche

Os animais experimentais não receberam promotor do crescimento durante toda fase experimental.

A tabela 1 apresenta as formulações das rações experimentais, bem como as análises bromatológicas das rações pré – inicial, inicial I e inicial II, em quilogramas durante o período de creche.

Tabela 1 - Composição em quilogramas das rações experimentais administradas durante o período de creche

Ingredientes (kg)	**Rações Experimentais**		
	Pré-inicial	**Inicial I**	**Inicial II**
Farelo de soja	333,32	333,8	328,0
Farelo de bolacha	120,0	60,0	-
Milho moído	-		598,0
Milho fubá	428,64	533,52	-
Soro de leite	40,0	10,0	-
Fosfato bicálcico	16,0	15,0	18,5
Calcáreo calcítico	-	5,4	7,0
Lactose	12,0	4,0	-
Açúcar	30,0	30,0	40,0
Cloreto de sódio	3,2	2,6	6,0
Lisina	2,8	1,4	
Metionina	3,6	1,0	-
Fitase	0,12	0,06	-
Colina	0,32	0,22	-
Palatabilizante	8,0	1,0	-
Premix Vitamínico	2,0	1,0	1,0
Premix Mineral	-	1,0	1,5
Batida Total (kg)	1000	1000	1000
	Níveis Nutricionais		
Matéria seca (%)	89,66	89,62	90,21
Energia bruta (cal/g)	4341	4303	4282
Proteína bruta (%)	21,62	22,46	21,94
Fibra bruta (%)	3,55	3,38	5,07
Matéria mineral (%)	5,26	6,19	7,41
Cálcio (%)	0,58	0,93	0,94
Fósforo (%)	0,52	0,67	0,62
Extrato Etéreo (%)	2,68	2,68	3,13

* inclusão PROBIÓTICO: 30 g/tonelada de ração

** suplementação vitamínica para cada 1,5 kg do produto (Rovimix®, DSM): selênio 300 mg/kg; vit A 10.000 UI/g; vit D_3 2.000 UI/g; Vit E 50.000 mg/kg; Vit K_3 2.000 mg/kg; Vit B_1 2.000 mg/kg; Vit B_2 6.000 mg/kg; Vit B_6 3.000 mg/kg; Vit B_{12} 30.000 mg/kg; niacina 30.000 mg/kg; ácido pantotênico 15.000 mg/kg; ácido fólico 3.000 mg/kg; biotina 200.000 mcg/kg

*** suplementação mineral para cada 1 kg do produto (Roligomix®, DSM): ferro 100.000 mg/kg; cobre 20.000 mg/kg; zinco 100.000 mg/kg; manganês 40.000 mg/kg; iodo 1.500 mg/kg.

4.6 DESAFIO EXPERIMENTAL

Doze horas antes do desafio, os mesmos leitões do grupo ProbA na maternidade (Figura 2) receberam novamente (via oral) ProbA e os animais que receberam Placebo (PLA) na maternidade da mesma forma receberam água destilada na mesma concentração que na fase de aleitamento. O desafio programado foi realizado aos 35 dias de idade, através da inoculação com amostras de *Salmonella* Typhimurium (LSS90/05). Os animais foram inoculados por via oral com uma concentração de $1X10^6$ UFC (unidades formadoras de colônia) da cepa de *Salmonella* Typhimurium, adquiridas do Laboratório de Sanidade Suína da FMVZ-USP em São Paulo-SP. A sala de creche na qual os leitões foram inoculados (sala 3) permaneceu isolada das demais salas, sala 2 e sala 1, para evitar risco de contaminação cruzada. As rações de cada sala foram separadas evitando o contato entre si, bem como, todos os objetos que por ventura fossem usados no dia-a-dia do experimento.

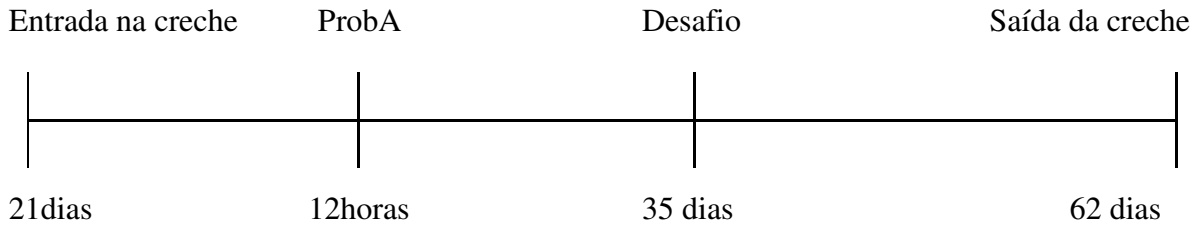

Figura 2 - Esquema desafio experimental programado aos 35 dias de idade

4.7 ANÁLISE DE DESEMPENHO

Na fase de aleitamento os leitões foram pesados ao nascimento, 7, 14, 21 dias de idade, individualmente.

Na fase de creche, os 144 animais foram pesados aos 21 dias de idade (ao ingressarem na creche), seguindo-se as pesagens e peso médio (PM) aos 34 (Período 1), 47 (Período 2), 54 (Período 3), e 62 (Período 4) dias de idade. As faixas de consumo de ração médio diário (CRMD) em kg/animal/dia, ganho de peso médio diário (GPMD) em kg/animal/dia e conversão alimentar (CA) consideradas foram: dos 21 aos 33 dias (Período 1), 34 aos 47 dias (Período 2), 48 aos 54dias (Período 3), 55 aos 62 dias(Período 4) e durante o período total.

4.8 AVALIAÇÃO DO ESCORE FECAL

Diariamente, durante o período experimental realizou-se a observação do escore fecal, que foi classificado em: 1=fezes sólidas – *normal*; 2 =fezes cremosas – *diarréia moderada* e 3= fezes líquidas – *diarréia severa*. Os períodos analisados foram: 34°, 36°, 38° dia, Semana 2 (dos 39 aos 48 dias), Semana 3 (dos 49 aos 55 dias), Semana 4 (dos 56 aos 62 dias).

4.9 CULTURA E IDENTIFIÇÃO DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM NAS FEZES

A coleta de material fecal foi realizada em três períodos através de suabes retais: D0: dia da inoculação de *Salmonella* Typhimurium (35 dias); D7: 7 dias após a inoculação (42 dias) e D14: 14 dias após a inoculação (56 dias), para isolamento de *Salmonella* spp. Foram colhidas amostras de fezes de dois leitões por tratamento, escolhidos ao acaso. A análise foi realizada no Laboratório de Sanidade Suína da FMVZ-USP, em São Paulo-SP. As amostras coletadas foram submetidas ao protocolo de isolamento previamente descrito (HOLT et al., 1994). Os suabes retais foram semeados, em 9 mL de caldo tetrationato com iodo e mantidos a 37ºC por 24 horas. A partir do tubo de enriquecimento seletivo as amostras foram semeadas em Agar Xilose Lisina Tergitol-4 (XLT4) e agár MacConkey. Os meios foram incubados por 24 horas a 37ºC. As colônias lactose negativas em agár MacConckey e as que apresentarem precipitação de H_2S em meio XLT4 foram submetidas às provas bioquímicas para identificação inicial segundo descrito por Quinn et al. (1994). As colônias que apresentassem resultado bioquímico sugestivo de Salmonella spp. foram submetidas a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) segundo descrito por Stone et al. (1994). As amostras foram caracterizadas como positivas ou negativas para o agente inoculado.

4.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MUCOSA INTESTINAL

Os fragmentos de duodeno, jejuno, íleo, cólon e linfonodo mesentérico foram colhidos de dois leitões por tratamento escolhidos aleatoriamente, sendo quatro por sala, totalizando material de 12 animais que foram abatidos aos 63 dias de idade.

Os segmentos de intestino e linfonodo foram fixados em formalina 10% e processados rotineiramente para exame microscópico. Após inclusão em parafina os segmentos foram seccionados em cortes de 4 μm de espessura e corados por hematoxilina e eosina. As análises histológicas dos fragmentos foram realizadas no Laboratório de Gastroenterologia Experimental e Comparada - FMVZ - USP, em São Paulo, SP.

O exame microscópico foi realizado por um patologista sem acesso a qualquer informação sobre a identificação e as características clínicas e laboratoriais de cada animal usado no experimento. O exame histológico das lâminas foi realizado em microscopia de luz, utilizando microscópio Zeiss, modelo Primo Star acoplado a câmara digital PowerShot G10, Canon e *software* zoomBrowser EX 6.2 para documentação fotográfica das imagens. As análises foram conduzidas nos aumentos de 40x, 100x e 400x.

As seguintes variáveis foram avaliadas qualitativamente na mucosa intestinal: a relação vilo: cripta, morfologia das vilosidades, intensidade de hiperplasia da cripta, dilatação da cripta, características do epitélio superficial, intensidade e tipo celular do infiltrado inflamatório na lâmina própria, número de linfócitos intraepiteliais, presença das células caliciformes, presença de erosão, ulceração, edema, fibrose e atrofia das criptas e vilosidades. O linfonodo mesentérico foi avaliado qualitativamente quanto à arquitetura histológica, presença de alterações circulatórias e inflamatórias.

Os resultados foram apresentados na forma descritiva e com documentação fotográfica por de tratamento.

4.11 ANÁLISE ECONÔMICA

A análise econômica foi baseada no consumo de ração de cada tratamento, bem como o quanto foi gasto com probiótico nas na fase de creche.

Os preços foram obtidos junto ao Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA-ESALQ/USP) para o mês de dezembro de 2010. Os preços das rações foram obtidos por meio de cotações junto a empresas fornecedoras, também referentes ao mês de dezembro de 2010.

As fórmulas utilizadas para os cálculos de cada tratamento são apresentadas a seguir:

- Receita total (RT) = [(peso vivo médio x número de animais/tratamento) x preço kg vivo].

- Custo total da dieta (CTD) = (custo ração + custo do aditivo).

Com esses valores obtidos, é possível calcular:

- Margem bruta do lote (MB): RT – CTD;

- Relação custo dieta/receita total (Re): CTD / RT;

- Participação do custo do aditivo sobre o custo total da dieta (PAD): custo do aditivo/ custo da dieta; e

- Participação do custo do aditivo sobre a receita total (PAR): custo do aditivo/receita total.

Foram realizadas comparações entre o controle versus os outros demais tratamentos. Para essas comparações, calculou-se a variação percentual do tratamento em relação ao controle para o custo total da dieta (CTD), a variação percentual da receita total (RT) e a variação das margens por quilo, utilizando as seguintes fórmulas:

- (CTDa – CTDb) / CTDb;

- (RTa – RTb) / RTb e

- (MBa – MBb) / MBb.

Sendo "a "referente ao tratamento e "b" referente ao controle.

4.12 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados por meio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2008), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE). Os dados (variável dependente) que não atenderam a estas premissas foram submetidos à transformação logarítmica [Log (X+1)] ou pela raiz quadrada [RQ (X+1/2)]. Os dados originais ou transformados, quando este último

procedimento foi necessário, foram submetidos à análise de variância que separou como fontes de variação o efeito de bloco e o efeito de tratamentos, sendo adicionado ainda o fator medidas repetidas no tempo, referentes aos diferentes períodos de desenvolvimento dos animais (Tabela 2). Tal análise foi realizada utilizando-se o procedimento MIXED do SAS. A análise por tempo somente foi realizada quando as interações entre efeito de tempo e efeito de tratamentos foram significativas. Independentemente se os dados foram estudados dentro de cada tempo ou não, os tratamentos foram decompostos pelo uso de contrastes ortogonais. Os cinco contrastes ortogonais utilizados estão descritos abaixo e suas representações estão apresentadas na figura 3. Foi utilizado um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

A variável escore de fezes foi submetida à análise de variância pelo PROC GLM teste de Tukey. Foi utilizado o programa computacional SAS e o nível de significância foi de 5%.

Contraste 1 (C1) – efeito da administração do ProbA versus a não administração do Prob A.

Contraste 2 (C2) – efeito da adição do ProbB na ração versus a não administração do ProbB na ração.

Contraste 3 (C3) – efeito do Desafio (DES) versus Controle (CTL).

Contraste 4 (C4) – interação da administração do probiótico ProbA com a adição do ProbB na ração.

Contraste 5 (C5) – interação da administração do ProbA com o Desafio

Tabela 2 - Esquema da análise de variância para delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 2 x 3 com medidas repetidas no tempo. A decomposição dos tratamentos foi realizada por meio de contrastes ortogonais

Causas de variação	**Graus de liberdade**
Tratamentos	5
C1 – Probiótico A	[1]
C2 – Protocolo Probiótico B	[1]
C3 – Protocolo Desafio	[1]
C4 – Interação Probiótico A*Probiótico B	[1]
C5 – Interação Probiótico A *Desafio	[1]
Blocos	2
Resíduo A	40
Parcelas	47
Tempo	3
Tempo*Tratamento	15
Tempo*Bloco	6
Resíduo B	120
Sub-parcelas	191

	Trat 1	**Trat 2**	**Trat 3**	**Trat 4**	**Trat 5**	**Trat 6**
	ProbA ProbB	**CTL ProbB**	**ProbA ProbA**	**CTL CTL**	**ProbA DES**	**CTL DES**
Probiótico A	S	N	S	N	S	N
Probiótico B	S	S	N	N	N	N
Desafio	N	N	N	N	S	S
Contrastes						
C1 – ProbA x sem ProbA	-1	1	-1	1	-1	1
C2 – ProbB x sem ProbB	-1	-1	1	1	0	0
C3 –Desafio x Controle	0	0	-1	-1	1	1
C4 – Interação ProbA*ProbB	1	-1	-1	1	0	0
C5 – Interação ProbA*Desafio	0	0	1	-1	-1	1

Figura 3 - Composição dos tratamentos e descrição dos contrastes ortogonais

A long long time ago
Don't keep me standing here
Lead me to your door

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 DESEMPENHO DOS ANIMAIS

5.1.1 Maternidade

5.1.1.1 Peso Médio e Ganho de Peso Médio Diário

Na tabela 3 são apresentados os valores do peso médio (PM) nos períodos ao nascimento, 7, 14, 21 dias de idade. Não houve diferença significativa entre os tratamentos, Placebo (PLA) e Probiótico A (ProbA), nos diferentes períodos para o peso médio (p=0,1675). Observou-se diferença em favor do ProbA aos 14 dias de idade dos leitões, com valor próximo a significância (p=0,0626).

Na tabela 4 são apresentados os valores do ganho de peso médio diário nos períodos de 0 a 7 dias, 8 a 14 dias e 15 a 21 dias de idade.

No período de 0 a 7 dias de idade constatou-se efeito significativo (p=0,0318), nos leitões que receberam o tratamento ProbA em relação ao tratamento Placebo. Nos demais períodos não foi observado efeito significativo.

Tabela 3 - Valores médios e coeficientes de variação da variável peso médio (PM), em quilogramas (kg), em leitões nas diferentes idades, frente aos tratamentos Placebo e Probiótico A

Período (dias)	**Tratamentos***		**Média**	**CV****	**P*****
	PLA	**ProbA**			
0	1,42	1,42	1,42	9,20	1,0000
7	2,53	2,64	2,58	13,04	0,1262
14	4,12	4,36	4,24	15,59	0,0626
21	5,71	5,85	5,78	21,18	0,3748

* Tratamentos: PLA (Placebo) e ProbA (Probiótico A).
** CV: Coeficiente de variação.
*** P: Probabilidade.

Tabela 4 - Valores médios e coeficientes de variação, da variável ganho médio diário de peso (GMDP), em quilogramas/animal/dia, em leitões nas diferentes idades, frente aos tratamentos Placebo e Probiótico A

Período (dias)	Tratamentos*		Média	CV**	P***
	PLA	ProbA			
0-7	0,159	0,175	0,167	22,76	0,0318
8-14	0,229	0,247	0,238	22,16	0,0818
15-21	0,225	0,213	0,219	46,62	0,4254
(0 -21)	0,204	0,212	0,208	36,37	0,2278

* Tratamentos: PLA (Placebo) e ProbA (Probiótico A).
** CV: Coeficiente de variação.
*** P: Probabilidade.

5.1.2 Creche

5.1.2.1 Peso Médio

Na tabela 5 são apresentados os valores de peso médio (PM) aos 33, 47, 54 e 62 dias de idade. Desta forma, os dados são apresentados ao longo do período experimental.

Foi observado efeito significativo da interação entre tempo e tratamento (p=0,0203).

Aos 33 dias, observou-se efeito significativo no contraste C4 (p=0,0203). No grupo que recebeu Probiótico A (ProbA) associado com Probiótico B (ProbB), o peso médio foi mais elevado em comparação ao grupo que não recebeu ProbA mais que foi oferecido ProbB. A figura 4 ilustra a evolução do peso médio, onde evidenciou-se interação no contraste C4 quanto a administração ou não do ProbA e da adição ou não do ProbB.

Aos 54 dias, observou-se que o ProbB apresentou peso médio inferior em relação aos demais tratamentos caracterizando um diferencial para o contraste C2 (p=0,0484). No C4 (p=0,0210), observamos interação entre os tratamentos, caracterizado pela administração ou não do ProbA e adição ou não do ProbB, havendo no peso médio significância para ambos. A figura 5 ilustra os resultados do contraste C4 quanto à evolução do peso médio na interação Probiótico A e Probiótico B.

Aos 62 dias, houve significância no contraste C2 (p=0,0049), evidenciando que o grupo ProbB apresentou um menor valor em relação aos demais tratamentos

Tabela 5 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável peso médio (PM), em quilogramas, de leitões nas várias idades, e as probabilidades dos contrastes

Período (dias)	Tratamentos*						Média	CV**	Contrastes***				
	ProbA ProbB	CTL ProbB	ProbA ProbA	CTL CTL	ProbA DES	CTL DES			1	2	3	4	5
33	9,50	8,88	8,87	9,43	8,99	9,76	9,24	18,17	0,2381	0,8843	0,3659	0,0203	0,6684
47	14,38	12,78	14,95	14,30	13,60	14,80	14,14	18,22	0,4675	0,0820	0,4706	0,4211	0,1221
54	18,57	16,47	18,29	19,78	18,48	18,80	18,40	17,43	0,8812	0,0484	0,5966	0,0210	0,4392
62	22,59	20,78	23,92	23,64	23,47	23,63	23,01	14,54	0,2676	0,0049	0,7491	0,2820	0,7531

Probabilidade interação tempo e tratamento (p=0,0203).

* Tratamentos: Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB); Controle Probiótico B (CTL ProbB); Probiótico A Probiótico A (ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES).

**Coeficiente de variação.

*** C1: efeito da administração do ProbA versus a não administração do ProbA; C2: efeito da adição do ProbB na ração versus a não administração do ProbB na ração; C3: efeito do Desafio (DES) versus Controle (CTL);C4: interação da administração do probiótico ProbA com a adição do ProbB na ração; C5: interação da administração do ProbA com o Desafio (DES).

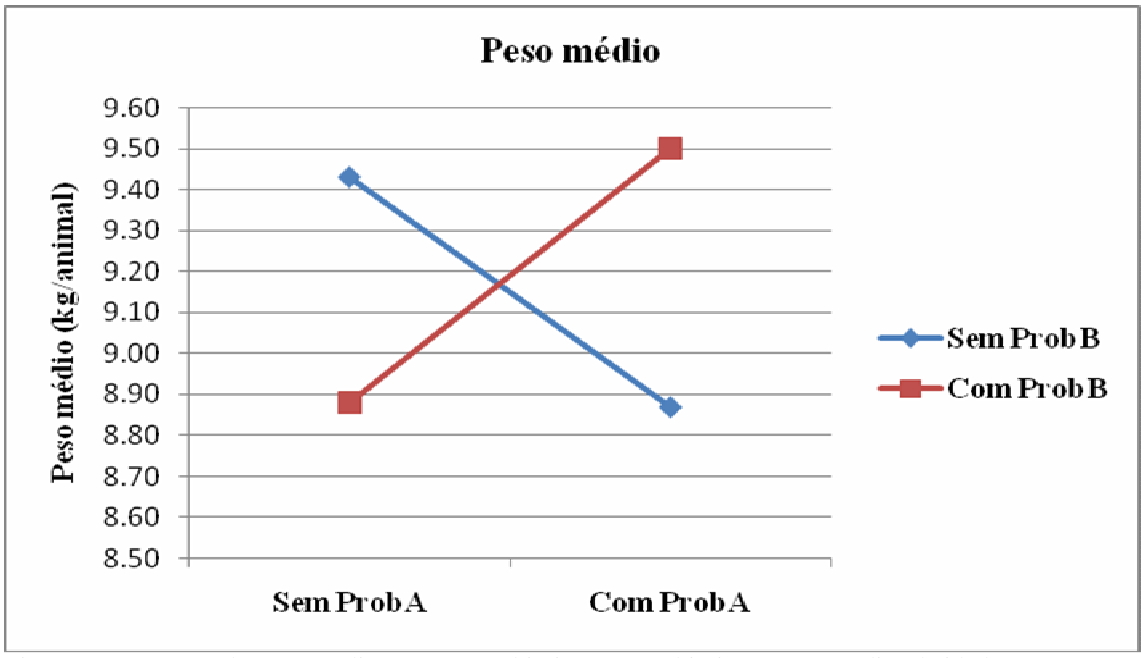

Figura 4 - Interação do peso médio entre os Probiótico A e Probiótico B, aos 33 dias de idade

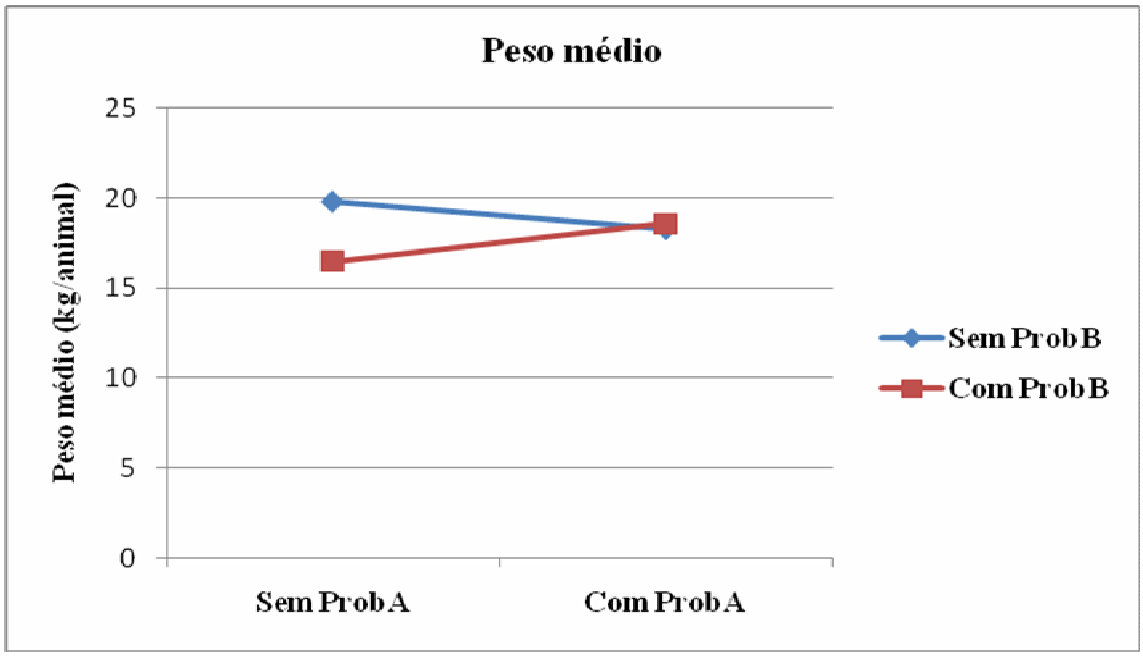

Figura 5 - Interação do peso médio entre os Probiótico A e Probiótico B, aos 54 dias de idade

5.1.2.2 Consumo médio diário de ração

Na tabela 6 são apresentados os valores de consumo médio diário de ração (CMDR), nos período de 21 a 33, 34 a 47, 48 a 54, 55 a 62 dias de idade. Desta forma, os dados são apresentados ao longo do período experimental.

Foi observado efeito significativo da interação entre tempo e tratamento (p=0,0098).

No período de 21 a 33 dias, observou-se efeito significativo no contraste C4 (p=0,0281), sendo que o tratamento Probiótico B associado com Probiótico A obteve maior consumo de ração em relação aos demais tratamento (Figura 6).

Ao analisar o período de 48 a 54 dias, foi observado efeito significativo para os contrastes, C1 (p=0,0152) e C3 (p<,0001). O grupo de animais que recebeu ProbA obteve maior consumo em relação aos tratamentos que não receberam ProbA. Os tratamentos Desafiados obtiveram maior consumo em relação ao grupo Controle.

Houve significância nos contrastes C1 e C2, no período de 55 a 62 dias, evidenciando nos tratamentos que receberam Probiótico A um maior consumo em relação aos tratamentos que não receberam Probiótico A (p=0,0345). Já no contraste C2 observamos que os tratamentos que receberam ProbB obtiveram um menor consumo em comparação ao Controle (p=0,0113).

No período total de 21 a 62 dias de idade, observou-se efeito significativo para os contrastes, C1 (P=0, 0276) e C3 (p<0, 001). O grupo de animais que recebeu ProbA obteve um maior consumo em relação aos demais tratamentos. Os tratamentos que receberam Desafio consumiram mais em relação aos demais tratamentos.

Tabela 6 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável consumo médio diário de ração (CMDR), em quilogramas/animal/dia, de leitões nos vários períodos, e a probabilidade dos contrastes

Período (dias)	Tratamentos*						Média	CV**	Contrastes***				
	ProbA ProbB	CTL ProbB	ProbA ProbA	CTL CTL	ProbA DES	CTL DES			1	2	3	4	5
1 (21-33)	0,435	0,361	0,360	0,372	0,369	0,401	0,38	17,87	0,5387	0,1000	0,3279	0,0281	0,6002
2 (34-47)	0,655	0,601	0,674	0,642	0,635	0,688	0,65	13,02	0,5767	0,2105	0,8952	0,6358	0,0833
3 (48-54)	0,882	0,658	0,701	0,640	1,296	1,245	0,90	35,68	0,0152	0,0749	<,0001	0,1398	0,9272
4 (55-62)	1,119	1,058	1,305	1,175	1,295	1,251	1,20	14,84	0,0345	0,0113	0,4542	0,4375	0,3311
(21-62)	0,773	0,669	0,760	0,708	0,899	0,896	0,78	45,80	0,0276	0,6571	<0,001	0,3734	0,3822

Probabilidade interação tempo e tratamento (p=0,0098).

* Tratamentos: Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB); Controle Probiótico B (CTL ProbB); Probiótico A Probiótico A (ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES).

**Coeficiente de variação.

*** C1: efeito da administração do ProbA versus a não administração do ProbA; C2: efeito da adição do ProbB na ração versus a não administração do ProbB na ração; C3: efeito do Desafio (DES) versus Controle (CTL);C4: interação da administração do probiótico ProbA com a adição do ProbB na ração; C5: interação da administração do ProbA com o Desafio (DES).

.

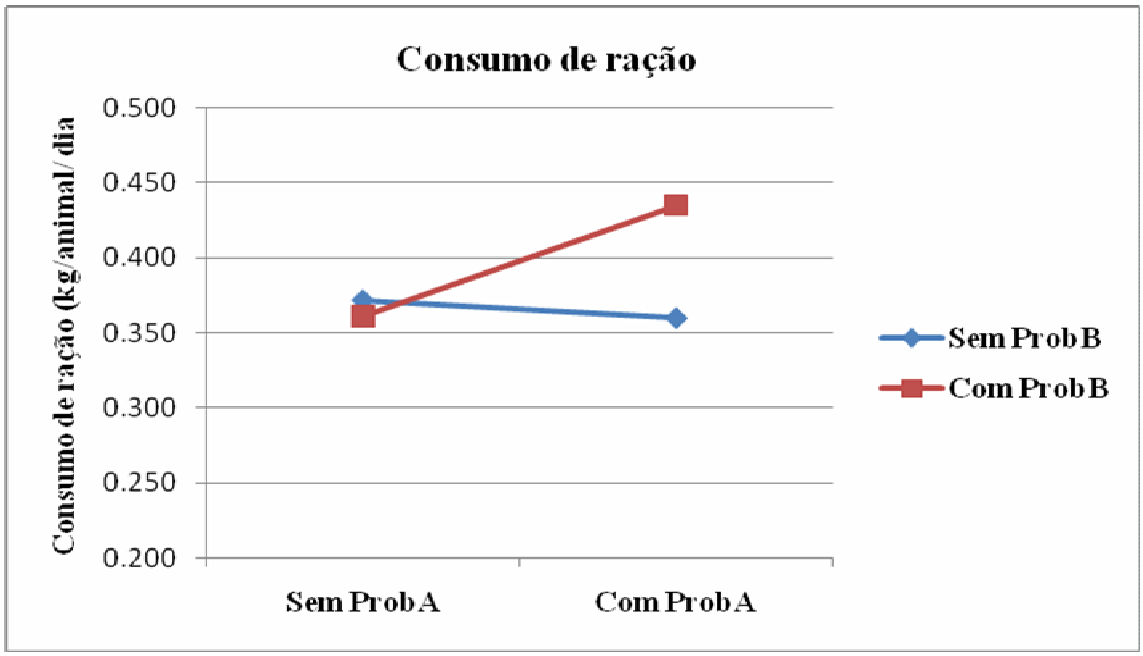

Figura 6 - Interação do consumo médio diário entre os Probiótico A e Probiótico B, no período de 21 a 33 dias de idade

5.1.2.3 Ganho médio diário de peso

Na tabela 7 são apresentados os valores de ganho médio diário de peso (GMPD), nos período de 21 a 33, 34 a 47, 48 a 54, 55 a 62 dias de idade.

Foi observado efeito significativo da interação entre tempo e tratamento (p=0,0014).

No período de 34 a 47 dias, observou-se efeito significativo no contraste C2 (p=0,0206), o Probiótico B obteve um menor ganho de peso em relação aos demais tratamentos.

Houve significância no contraste C2, no período de 55 a 62 dias, evidenciando menor ganho médio diário de peso para o grupo ProbB em relação aos demais tratamentos (p=0,0072). Observou-se valor próximo a significancia no contraste C4 (p=0,072), indicando menor ganho para o tratamento ProbA ProbB em relação aos demais tratamentos.

Ao analisar o período total de 21 a 62 dias, observamos efeito significativo no contraste C2, evidenciando menor ganho médio de peso diário para o grupo ProbB em relação aos demais tratamentos (p=0,0081). No mesmo período observamos diferenças numéricas em favor do ProbA, um valor próximo a significância (p=0,0598).

Tabela 7 - Valores médios e Coeficientes de variação, da variável ganho médio diário de peso (GMDP), em quilogramas/animal/dia, de leitões nos vários períodos e as probabilidades dos contrastes

Período (dias)	Tratamentos*						Média	CV**	Contrastes***				
	ProbA ProbB	CTL ProbB	ProbA ProbA	CTL CTL	ProbA DES	CTL DES			1	2	3	4	5
1 (21-33)	0,296	0,294	0,274	0,285	0,282	0,298	0,288	18,49	0,5153	0,2964	0,4761	0,6441	0,8996
2 (34-47)	0,376	0,299	0,469	0,375	0,354	0,389	0,377	29,10	0,1197	0,0206	0,1557	0,8175	0,0732
3 (48-54)	0,699	0,618	0,661	0,729	0,812	0,667	0,698	22,84	0,2684	0,5441	0,4250	0,1910	0,0654
4 (55-62)	0,575	0,616	0,804	0,656	0,715	0,690	0,676	23,02	0,3069	0,0072	0,5211	0,0720	0,2488
(21-62)	0,487	0,457	0,548	0,499	0,541	0,511	0,507	43,37	0,0598	0,0081	0,7523	0,7662	0,7716

Probabilidade interação tempo e tratamento (p=0,0014).

* Tratamentos: Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB); Controle Probiótico B (CTL ProbB); Probiótico A Probiótico A (ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES).

**Coeficiente de variação.

*** C1: efeito da administração do ProbA versus a não administração do ProbA; C2: efeito da adição do ProbB na ração versus a não administração do ProbB na ração; C3: efeito do Desafio (DES) versus Controle (CTL);C4: interação da administração do probiótico ProbA com a adição do ProbB na ração; C5: interação da administração do ProbA com o Desafio (DES).

.

5.1.2.4 Conversão alimentar

Na tabela 8 são apresentados os valores da conversão alimentar (CA), nos período de 21 a 33, 34 a 47, 48 a 54, 55 a 62 dias de idade.

Foi observado efeito significativo da interação entre tempo e tratamento (p<,0001).

Houve significância no C2 (p=0,0356), no período de 34 a 47 dias, o ProbB obteve maior conversão alimentar em relação aos demais tratamentos. Já no período de 48 a 54 dias, no contraste C3, o grupo Desafiado evidenciou maior conversão alimentar (p<,0001). Neste mesmo período, o contraste C2 mostrou valor perto da significância (p=0,06), indicando maior valor para adição de Probiótico B.

No período de 55 a 62 dias, observou-se efeito significativo no contraste C4 (p=0,0012), sendo o tratamento Probiótico A (ProbA) não associado com Probiótico B (ProbB) obteve melhor conversão alimentar em relação aos demais tratamentos (Figura 7).

Ao analisar o período total de 21 a 62 dias, observamos efeito significativo nos contrastes C2 e C3, evidenciando nos tratamentos que receberam ProbB maior conversão alimentar em relação aos tratamentos que não receberam (p=0,0003). Já no C3 observamos que os tratamentos Desafiados obtiveram maior conversão alimentar em relação aos tratamentos Controle (p<,0001).

Tabela 8 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável conversão alimentar (CA) de leitões nos vários períodos e a probabilidade dos contrastes

Período (dias)	Tratamentos*						Média	CV**	Contrastes***				
	ProbA ProbB	CTL ProbB	ProbA ProbA	CTL CTL	ProbA DES	CTL DES			1	2	3	4	5
1 (21-33)	1,37	1,24	1,32	1,32	1,30	1,36	1,32	8,40	0,4529	0,6992	0,7806	0,1001	0,4428
2 (34-47)	1,77	2,06	1,51	1,76	1,85	1,68	1,77	20,69	0,2572	0,0356	0,3079	0,9216	0,1129
3 (48-54)	1,33	1,07	1,11	0,83	1,74	1,87	1,33	37,83	0,1932	0,0621	<,0001	0,9967	0,1173
4 (55-62)	2,00	1,66	1,51	1,84	1,82	1,82	1,78	15,86	0,9221	0,0972	0,1073	0,0012	0,0893
(21-62)	1,63	1,48	1,37	1,42	1,68	1,68	1,54	26,62	0,8109	0,0003	<,0001	0,0273	0,3836

Probabilidade interação tempo e tratamento (p<,0001).

* Tratamentos: Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB); Controle Probiótico B (CTL ProbB); Probiótico A Probiótico A (ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES).

**Coeficiente de variação.

*** C1: efeito da administração do ProbA versus a não administração do ProbA; C2: efeito da adição do ProbB na ração versus a não administração do ProbB na ração; C3: efeito do Desafio (DES) versus Controle (CTL);C4: interação da administração do probiótico ProbA com a adição do ProbB na ração; C5: interação da administração do ProbA com o Desafio (DES).

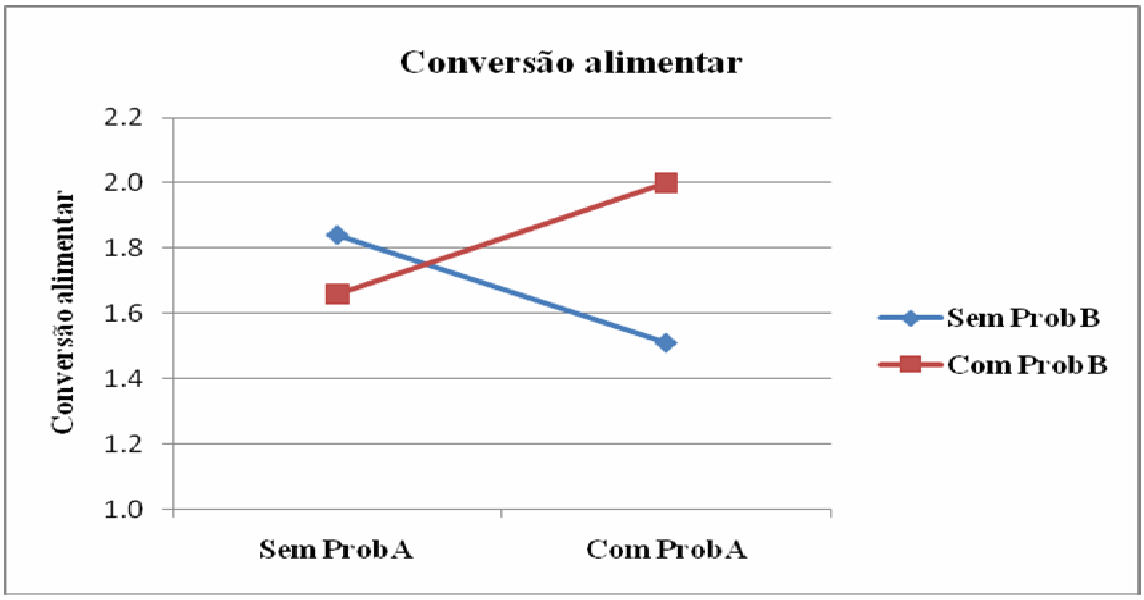

Figura 7 - Interação da conversão alimentar entre os Probiótico A e Probiótico B, no período de 55 a 62 dias de idade

5.2 AVALIAÇÃO DO ESCORE FECAL

Na tabela 9 são apresentados os valores médios e desvio padrão do escore fecal ao 34°, 36°, 38°dias e em diferentes semanas, 39 a 48 (Semana 2), 49 a 55 (Semana 3) e 56 a 62 dias de idade (Semana 4).

Foi constatado no 34° e 36° dia que os animais apresentaram fezes normais. Ao 38°dia, sendo 48 horas após a inoculação com *Salmonella* Typhimurium, não houve interação, portanto entre aditivo e sala, porém, foi observado efeito do desafio (p=0,0172), com escore elevado.

Em relação à Semana 2, os animais da Sala 1 e Sala 3 apresentaram escores mais elevado que a Sala 2 (p<,0001).

Na Semana 3 o escore de fezes para a Sala 3 se manteve elevada, e os animais da Sala1 e Sala 2 não diferiram entre si.

Na Semana 4, não houve interação entre aditivo e sala, porém observamos que o escore de fezes para a Sala 3 (p= 0,0011) que foi Desafiada obteve escore mais elevado do que os animais da Sala 1 e Sala2, o mesmo ocorreu na Semana 3.

Em todos os períodos analisados observamos que não houve interação entre aditivo e sala.

Tabela 9 - Valores médios e desvio padrão do escore fecal de leitões em diferentes períodos

Período (dias)	Sala 1		Sala 2		Sala 3		P***		
	ProbA* ProbB	CTL* ProbB	ProbA* ProbA	CTL* CTL	ProbA* DES	CTL* DES	Sala	Aditivo	Aditivo*Sala
34°	2,50 ± 0,71	1,00 ± 0	1,00 ± 0	1,00 ± 0	1,13 ± 0,35	1,13 ± 0,35	0,5209	0,4203	0,5209
Média [1]	NS**		NS**		NS**				
36°	2,00 ± 0,76	2,13 ± 0,99	2,13 ± 0,83	2,25 ± 0,89	1,88 ± 0,83	2,38 ± 0,74	0,9190	0,3195	0,7769
Média [1]	NS**		NS**		NS**				
38°	1,75 ± 1,04	2,5 ± 0,93	1,75 ± 0,46	1,50 ± 0,53	2,38 ± 0,74	2,38 ± 0,74	0,0172	0,4272	0,1368
Média[1]	2,125[ab]		1,625[b]		2,375[a]				
Semana 2(39-48)	2,43 ± 0,34	2,53 ± 0,34	2,00 ±0,31	1,98 ± 0,57	2,78 ± 0,21	2,77 ± 0,24	<0,0001	0,8375	0,8780
Média [1]	2,484 [a]		1,992 [b]		2,773 [a]				
Semana3(49-55)	2,34 ± 0,35	2,48 ±0,27	2,22 ± 0,41	2,23 ± 0,60	2,81 ± 0,29	2,92 ± 0,13	<0,0001	0,4109	0,8835
Média [1]	2,414[b]		2,226 [b]		2,867 [a]				
Semana 4(56-62)	1,66 ± 0,41	1,70 ± 0,28	1,55 ± 0,30	1,38 ± 0,42	2,07 ± 0,56	2,02 ± 0,39	0,0011	0,5837	0,7610
Média [1]	1,678 [b]		1,464 [b]		2,044[a]				

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
Média[1]: médias obtidas pelos diferentes aditivos.
*Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB); Controle Probiótico B (CTL ProbB); Probiótico A Probiótico A (ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES).
NS**: não significativo.
P***: probabilidades

5.3 CULTURA E IDENTIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM NAS FEZES

Na tabela 10 são apresentadas as freqüências da presença de *Salmonella* Typhimurium encontrada nas fezes em 3 (três) coletas, acompanhados das probabilidades dos contrastes. Não foi observado efeito significativo entre tempo e tratamento (p=0,1012).

Aos 42 e 56 dias, foi constatada diferença significativa no contraste C3 (p=0,0003 e p=0,0069, respectivamente), evidenciando nos tratamentos que receberam o desafio programado com *Salmonella* Typhimurium uma maior freqüência da presença da bactéria em relação aos demais tratamentos.

A constatação do efeito do desafio pode ser melhor visualizado no figura 8, em que é possível observar que aos 42 dias os animais desafiados dos tratamentos ProbA DES e CTL CTL, possuíam 46% e 76%, respectivamente, e aos 56 dias, os tratamentos desafiados ainda possuíam uma alta freqüência de *S.* Typhimurium.

Tabela 10 - Valores médios e Coeficientes de variação da variável cultura e identificação de *Samonella* Typhimurium nas fezes em percentagem (%) nos vários períodos e a probabilidade dos contrastes

Idade (dias)	Tratamentos*						Média	CV**	Contrastes***				
	ProbA ProbB	CTL ProbB	ProbA ProbA	CTL CTL	ProbA DES	CTL DES			1	2	3	4	5
35	0	2	2	0	0	1	0,09	0	.	.	.	.	.
42	18	28	19	9	46	76	0,33	150,3	0,3447	0,4763	0,0003	0,5254	0,1281
56	32	34	26	25	63	65	0,41	121,2	0,9643	0,6389	0,0069	0,9900	0,9475

Probabilidade interação tempo e tratamento (p=0,1012).

* Tratamentos: Probiótico A Probiótico B (ProbA ProbB); Controle Probiótico B (CTL ProbB); Probiótico A Probiótico A (ProbA ProbA); Controle Controle (CTL CTL); Probiótico A Desafio (ProbA DES); Controle Desafio (CTL DES).

**Coeficiente de variação.

*** C1: efeito da administração do ProbA versus a não administração do ProbA; C2: efeito da adição do ProbB na ração versus a não administração do ProbB na ração; C3: efeito do Desafio (DES) versus Controle (CTL);C4: interação da administração do probiótico ProbA com a adição do ProbB na ração; C5: interação da administração do ProbA com o Desafio (DES).

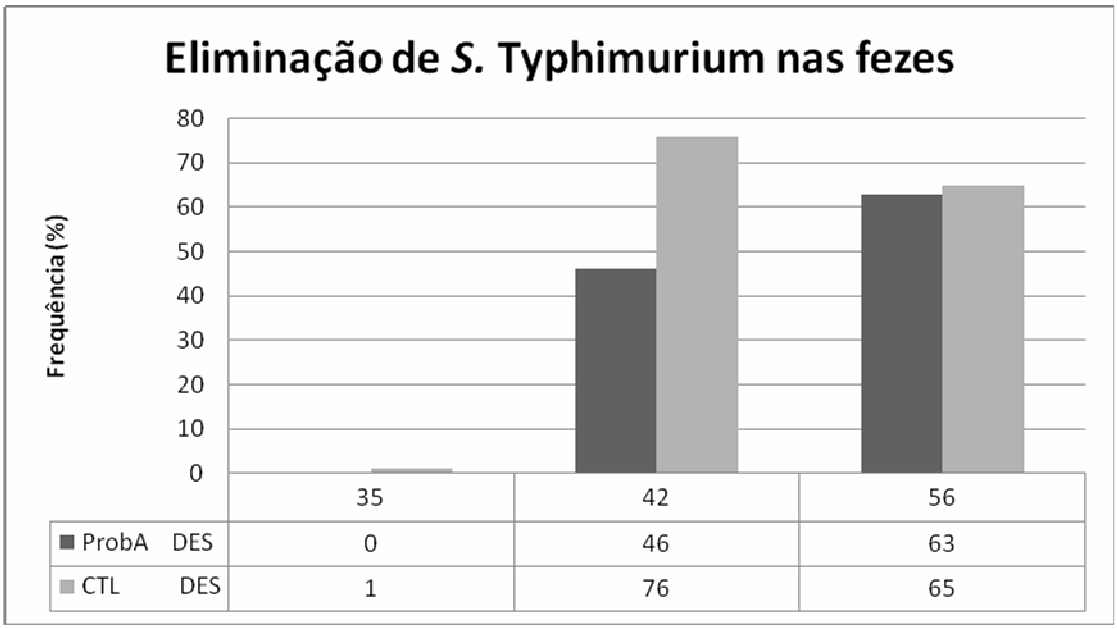

Figura 8 - Evolução da eliminação de *S.* Typhimurium encontrada nas fezes nos tratamentos desafiados, Probiótico A e Controle Desafio

5.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MUCOSA INTESTINAL E LINFONODO

As características histológicas observadas nos cortes transversais da mucosa do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso, e do linfonodo mesentérico de cada grupo analisado foram apresentadas na forma descritiva e documentadas das figura 9 a 38.

5.4.1 Tratamento Probiótico A Probiótico B

Duodeno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 9 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 9 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 9 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado como dentro do padrão de normalidade.

Jejuno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 10 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 10 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 10 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado dentro do padrão de normalidade.

Íleo: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1 com vilosidades adelgaçadas e cujo ápice estava na forma de lança (Figura 11 – Ae B). As criptas estavam preservadas (Figura 11 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos, plasmócitos na lâmina própria (Figura 11 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro correspondeu à histologia dentro do padrão de normalidade.

Intestino grosso: a avaliação histológica revelou superfície epitelial íntegra com predomínio de células cubóides e reduzido número de células caliciformes na superfície epitelial (Figura 12 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 12 – C). O quadro correspondeu à histologia dentro do padrão de normalidade.

Linfonodo mesentérico: a avaliação microscópica revelou linfonodo dentro do padrão de histologia normal (Figura 13).

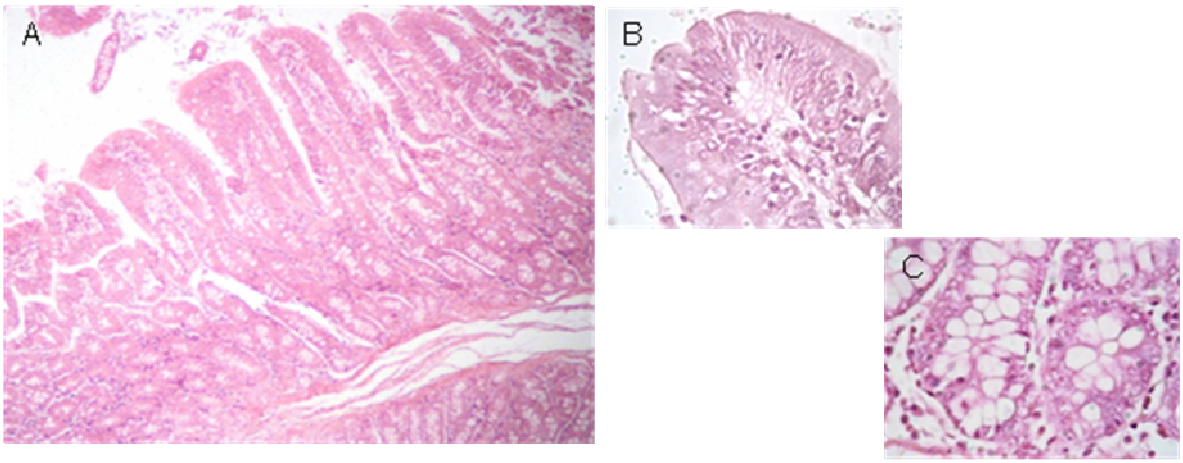

Figura 9 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do segmento do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

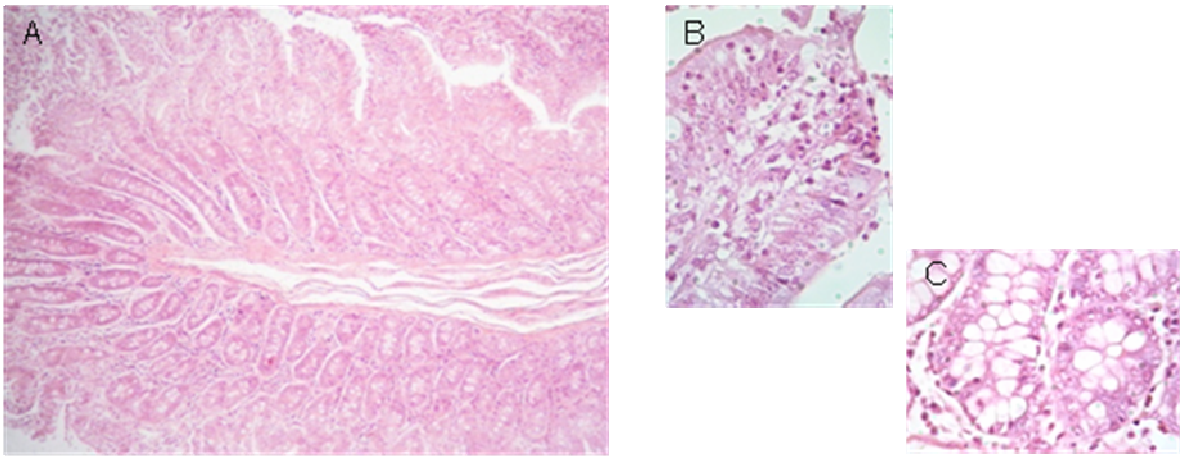

Figura 10 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno mostrando discreta enterite linfoplasmocítica com discreta hiperplasia de criptas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas sem alterações histológicas. HE, 40x

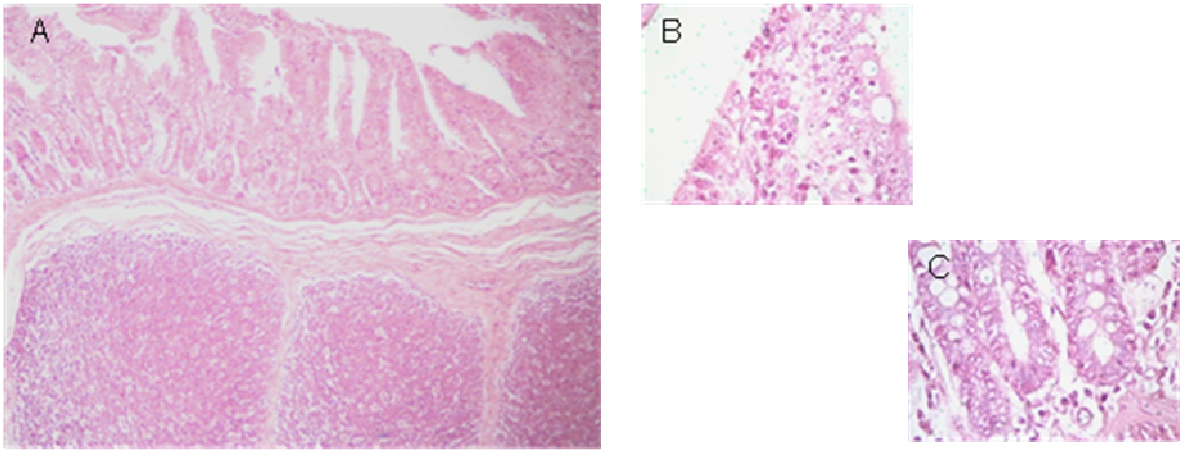

Figura 11 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo, sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

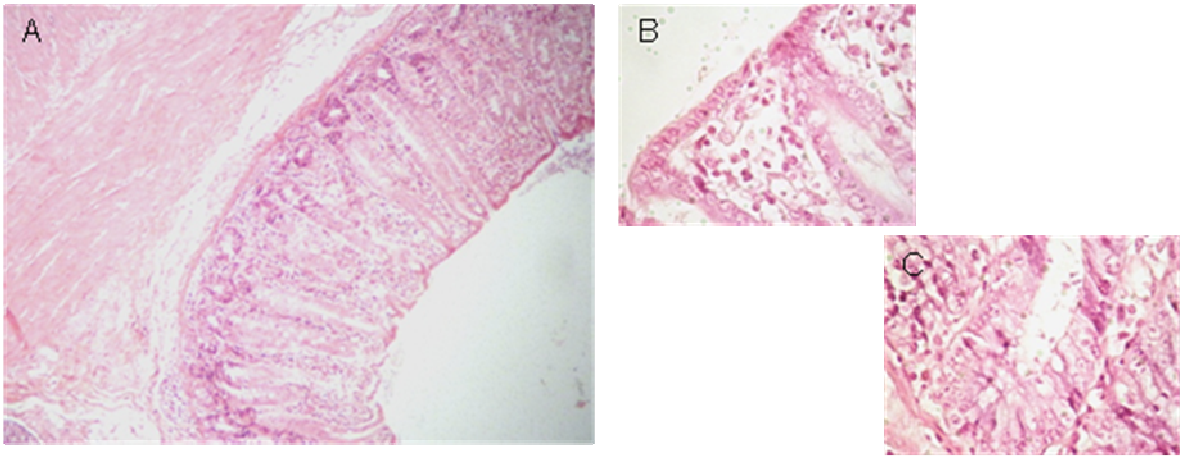

Figura 12 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial com bactérias aderidas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, sem alterações histológicas. HE, 40x

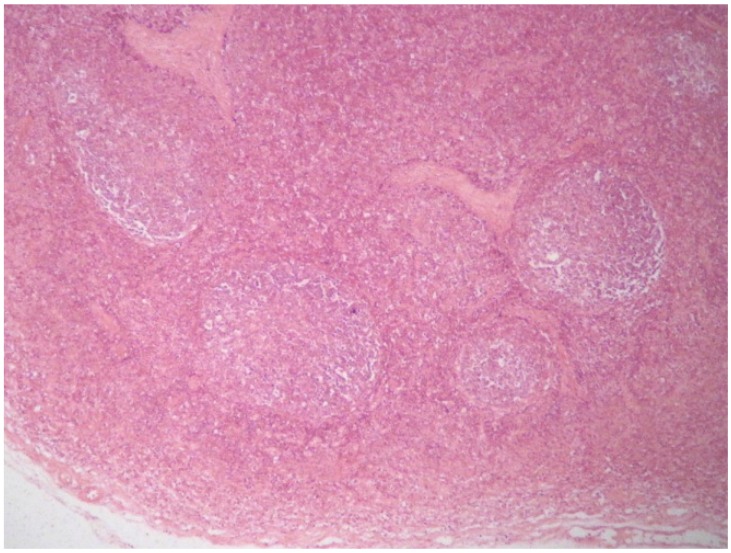

Figura 13 - Probiótico A Probiótico B, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x

5.4.2 Tratamento Controle Probiótico B

Duodeno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas na maioria dos campos com o ápice na forma de lança ou discretamente arredondado (Figura 14 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 14 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 14 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 8 a 12 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado dentro do padrão de normalidade.

Jejuno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 15 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 15 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 15 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado dentro do padrão de normalidade.

Íleo: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 2:1 ou 1:1, por vezes com fusão de vilosidades ou vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança ou discretamente arredondado (Figura 16 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 16 – C) e observou-se discreto aumento do infiltrado de linfócitos, plasmócitos na

lâmina própria (Figura 16 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 8 a 12 para cada 100 enterócitos. O quadro correspondeu à discreta enterite linfoplasmocítica com fusão de vilosidades.

Intestino grosso: a avaliação histológica revelou superfície epitelial íntegra com predomínio de células cubóides e reduzido número de células caliciformes na superfície epitelial (Figura 17 – A e B). As criptas estavam por vezes tortuosas e com predomínio de células basofílicas (Figura 17 – C). Bactérias foram observadas aderidas na superfície epitelial de um caso. O quadro correspondeu à discreta colite linfoplasmocítica.

Linfonodo mesentérico: a avaliação microscópica revelou linfonodo dentro do padrão de histologia normal (Figura 18).

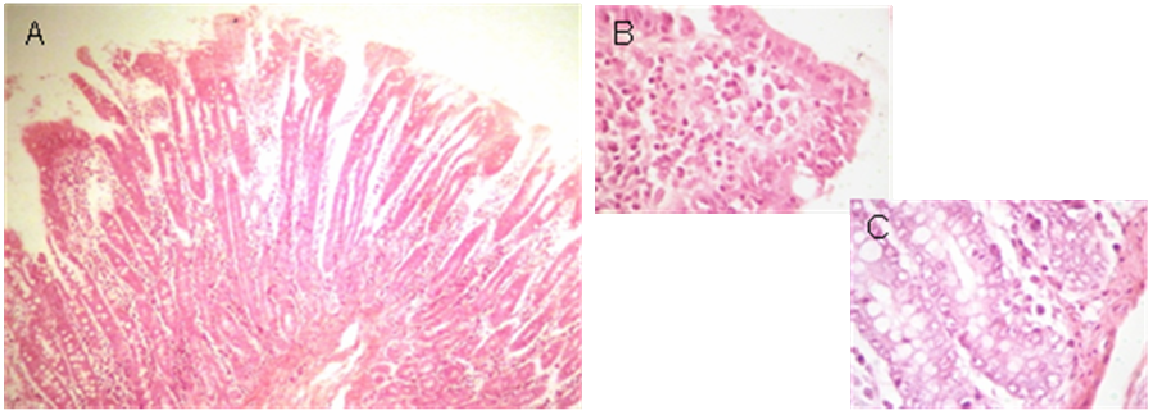

Figura 14 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

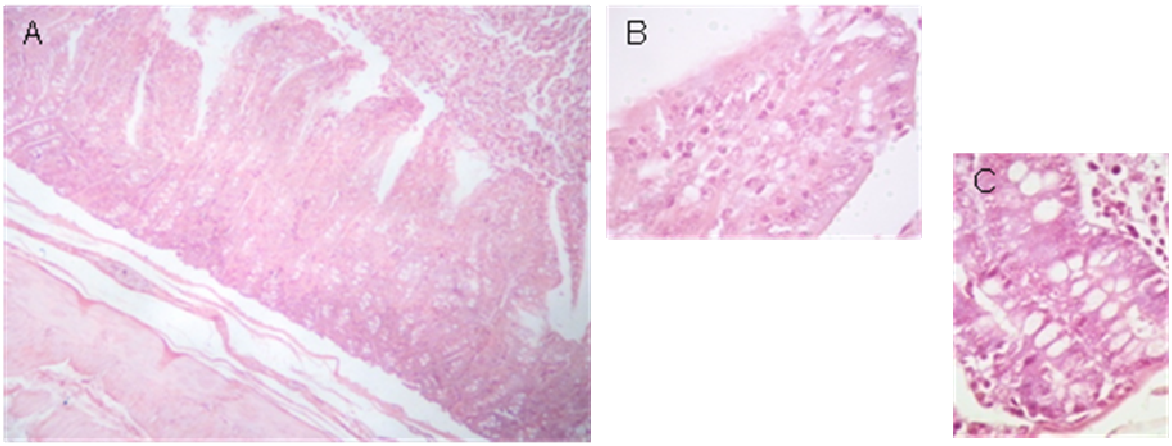

Figura 15 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

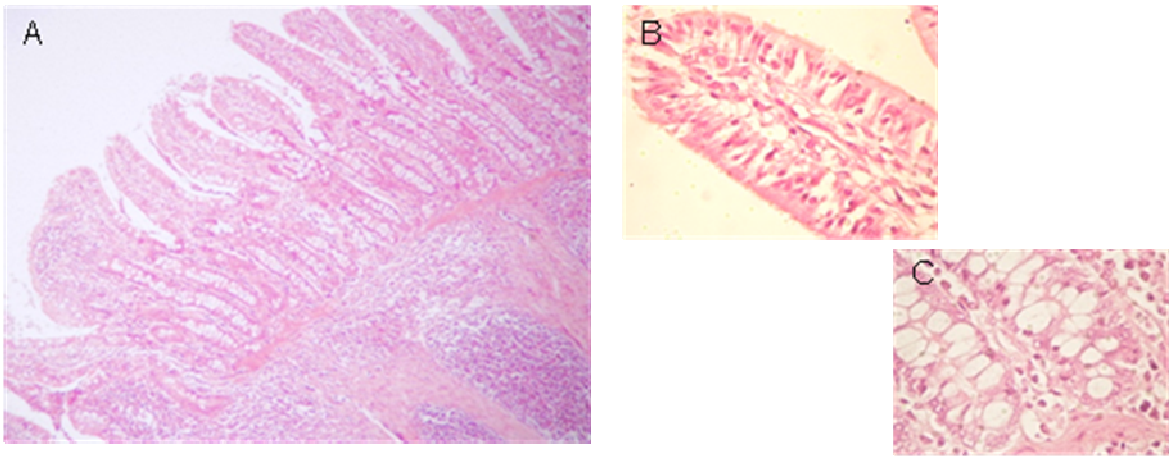

Figura 16 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo apresentando discreta enterite linfoplasmocítica difusa com fusão de vilosidades (cabeça de seta). HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

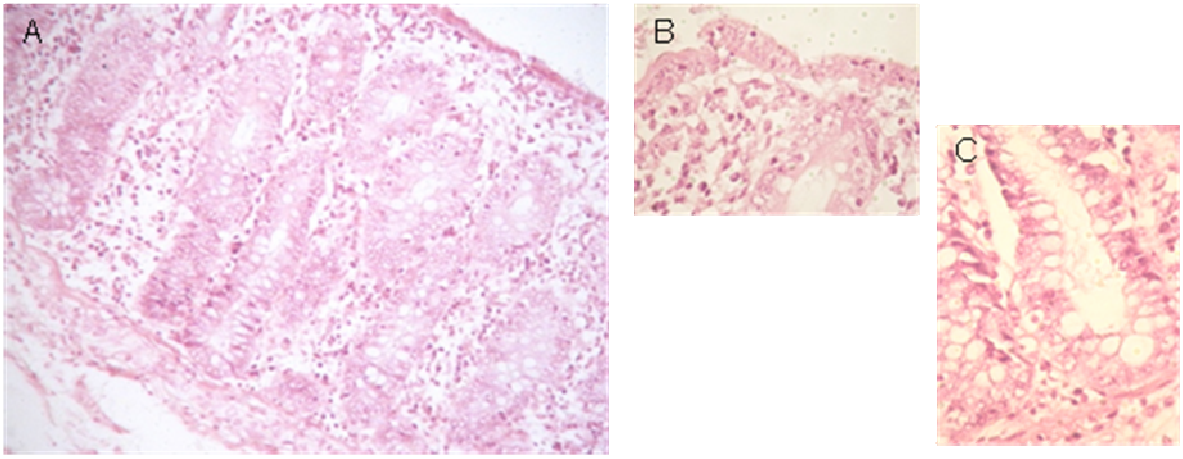

Figura 17 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso apresentando discreta colite linfoplasmocítica. HE, 10x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial. Observe células cubóides. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, redução do número de células caliciformes. HE, 40x

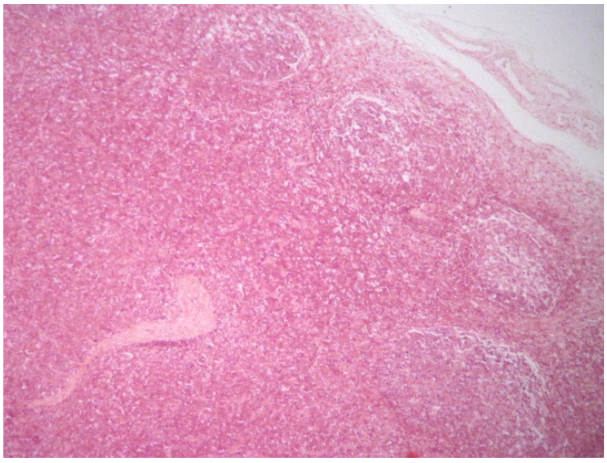

Figura 18 - Controle Probiótico B, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x

5.4.3 Tratamento Probiótico A Probiótico A

Duodeno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 19 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 19 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 19 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi tido como dentro do padrão de normalidade.

Jejuno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades discretamente alargadas com o ápice arredondado (Figura 20 – A e B). As criptas estavam discretamente hiperplasiadas em um dos casos (Figura 20 – D) e observou-se discreto aumento do infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 20 – C). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 10 a 15 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado como discreta enterite linfoplasmocítica com discreta hiperplasia de criptas.

Íleo: na análise histológica dos fragmentos de apenas um dos casos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança com fusão de algumas vilosidades (Figura 21 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 21 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos, plasmócitos na lâmina própria (Figura 21 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro correspondeu à histologia dentro do padrão de normalidade.

Intestino grosso: a avaliação histológica revela superfície epitelial íntegra com predomínio de células cubóides e reduzido número de células caliciformes na superfície epitelial (Figura 22 – A e B). Bactérias foram observadas aderidas ao epitélio superficial (Figura 22 – B). As criptas exibiam predomínio de células basofílicas (Figura 22 – C). Na lâmina própria foi evidenciado discreto aumento do infiltrado de linfócitos e plasmócitos em um dos casos, e neste o quadro foi considerado como discreta colite linfoplasmocítica e no outr, sem aumento do infiltrado, correspondeu a histologia dentro do padrão de normalidade.

Linfonodo mesentérico: a avaliação microscópica revela linfonodo dentro do padrão de histologia normal (Figura 23).

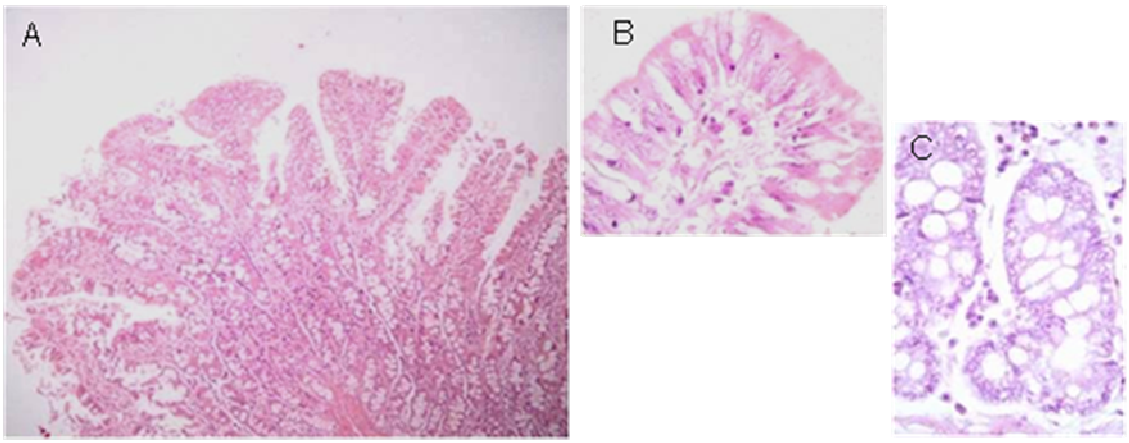

Figura 19 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do segmento do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

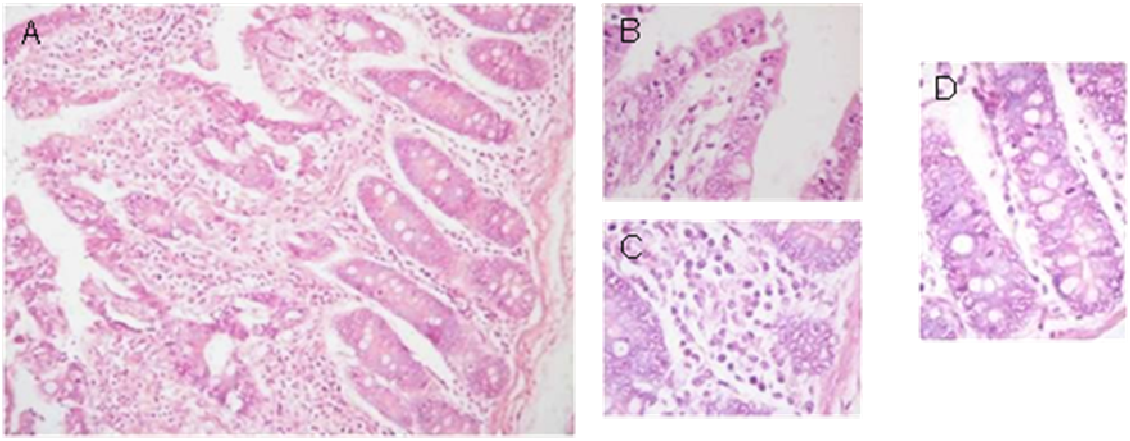

Figura 20 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno mostrando discreta enterite linfoplasmocítica com discreta hiperplasia de criptas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe da lâmina própria mostrando aumento discreto do infiltrado de linfócitos e plasmócitos. (D) Fotomicrografia em detalhe das criptas evidenciando discreta hiperplasia com células em mitose. HE, 40x

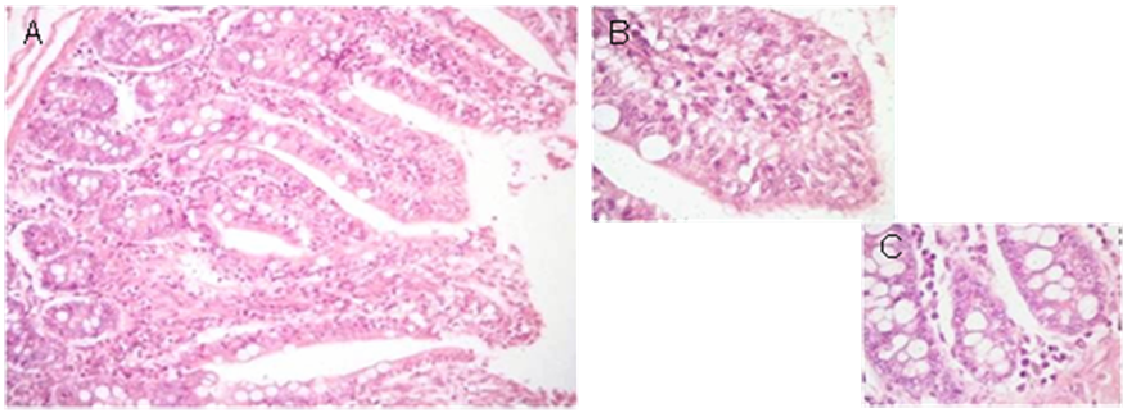

Figura 21 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo mostrando fusão de vilosidades (cabeça de seta) e sem alterações na intensidade de infiltrado inflamatório. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

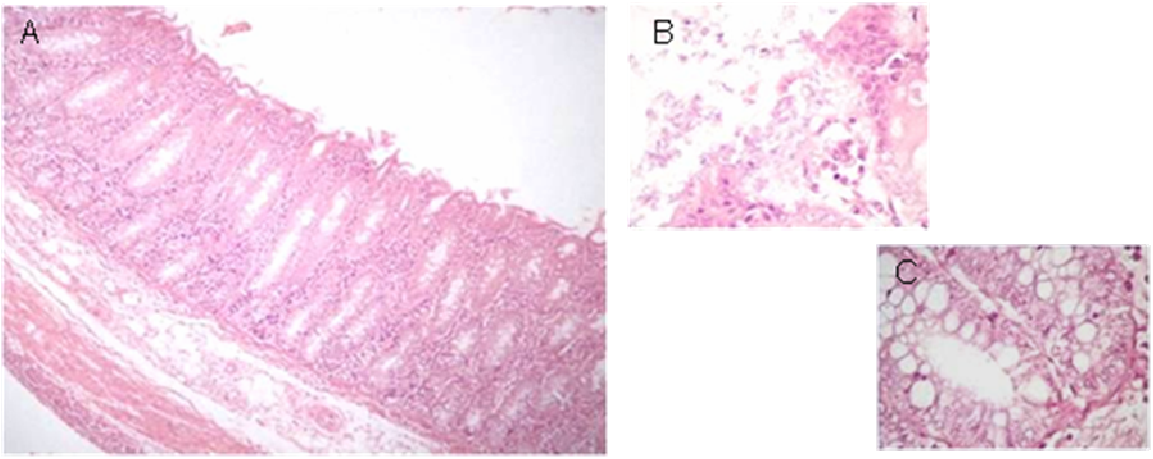

Figura 22 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial com bactérias aderidas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, sem alterações histológicas. HE, 40x

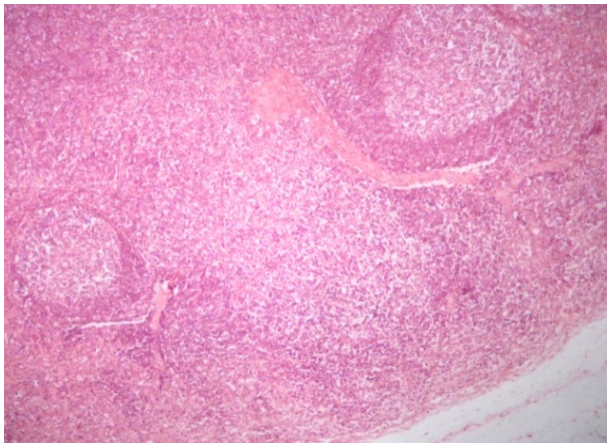

Figura 23 - Probiótico A Probiótico A, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x

5.4.4 Tratamento Controle Controle

Duodeno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 24 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 24 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 24 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi tido como dentro do padrão de normalidade.

Jejuno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 25 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 25 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 25 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado dentro do padrão de normalidade.

Íleo: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 26 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 26 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos, plasmócitos na lâmina própria (Figura 26 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro correspondeu à histologia dentro do padrão de normalidade.

Intestino grosso: a avaliação histológica revela superfície epitelial íntegra com predomínio de células cubóides e reduzido número de células caliciformes na superfície epitelial (Figura 27 – A e B). As criptas exibiam predomínio de células basofílicas (Figura 27 – C). Observaram-se bactérias aderidas na superfície epitelial de ambos os casos. O quadro correspondeu à discreta colite linfoplasmocítica em um caso.

Linfonodo mesentérico: a avaliação microscópica revela linfonodo dentro do padrão de histologia normal (Figura 28).

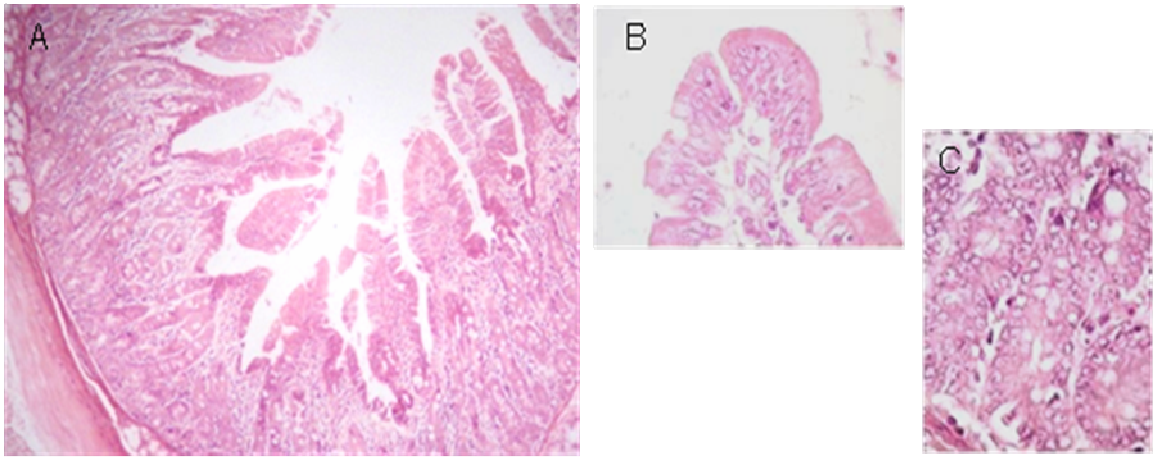

Figura 24 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do duodeno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

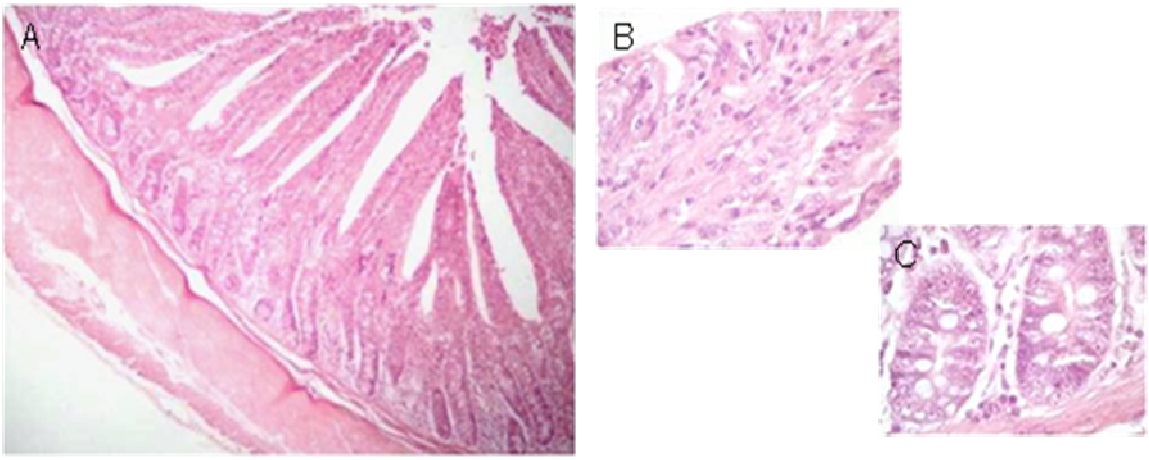

Figura 25 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A)Fotomicrografia do jejuno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

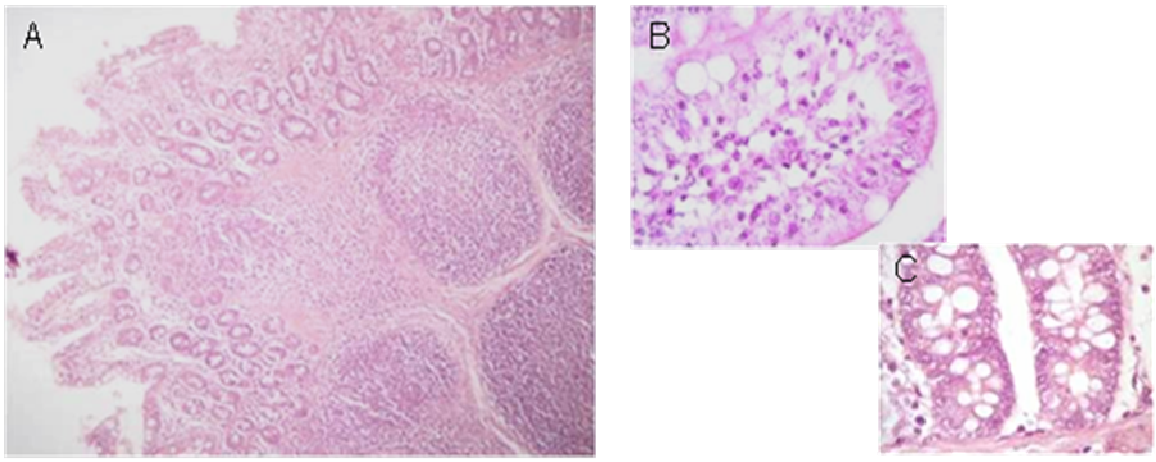

Figura 26 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

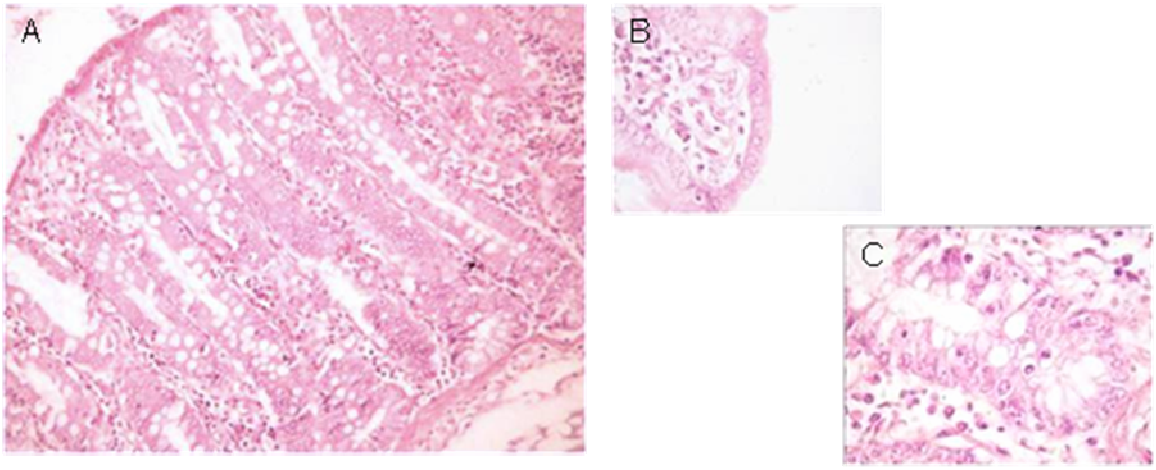

Figura 27 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 10x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial. Observe células cubóides. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, redução do número de células caliciformes. HE, 40x

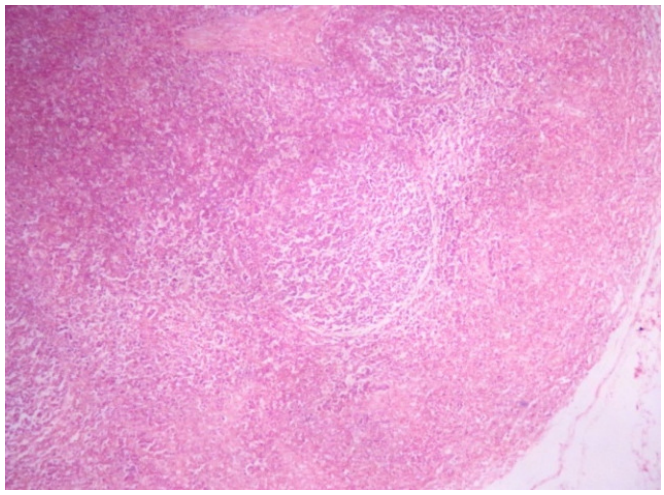

Figura 28 - Controle Controle, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x

5.4.5 Tratamento Probiótico A Desafio

Duodeno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades estão discretamente alargadas devido ao aumento de infiltrado de mononucleares na lâmina própria (Figura 29 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 29 - C. O número de linfócitos intraepiteliais variou de 10 a 15 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi tido como discreta enterite linfoplasmocítica.

Jejuno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 2:1 com ápice discretamente arredondado (Figura 30 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 30 – C) e observou-se discreto aumento do infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria de um dos casos e no outro foi tido como dentro do normal (Figura 30 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 8 a 12 para cada 100 enterócitos em um dos casos. O quadro histológico foi considerado como discreta enterite linfoplasmocítica em um dos casos.

Íleo: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 2:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 31 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 31 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos, plasmócitos na lâmina própria (Figura 31 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro correspondeu à histologia dentro do padrão de normalidade.

Intestino grosso: a avaliação histológica revelou superfície epitelial íntegra com predomínio de células cubóides e reduzido número de células caliciformes na superfície epitelial (Figura 32 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 32 – C). O quadro foi tido com dentro do padrão de histologia.

Linfonodo mesentérico: a avaliação microscópica revelou linfonodo dentro do padrão de histologia normal (Figura 33).

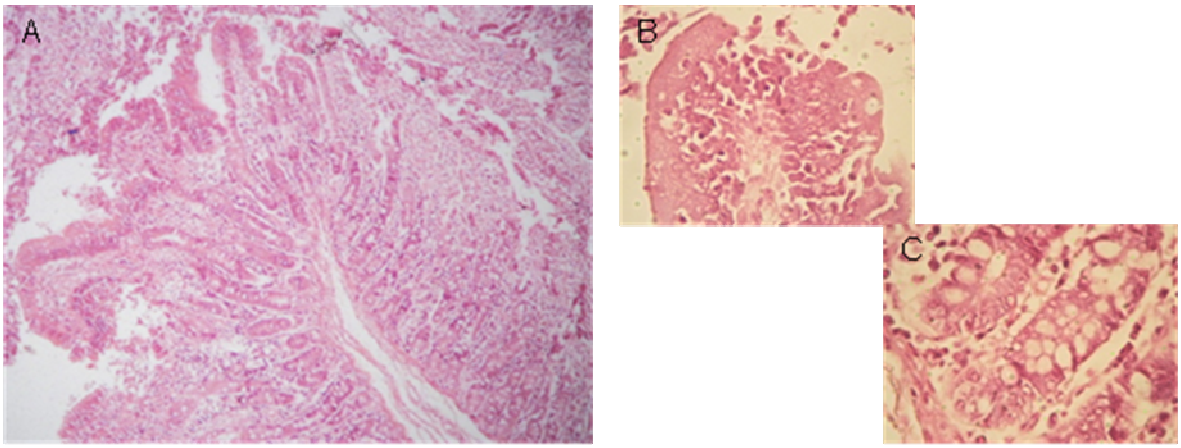

Figura 29 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do segmento do duodeno apresentado discreta enterite linfoplasmocítica. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidades. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

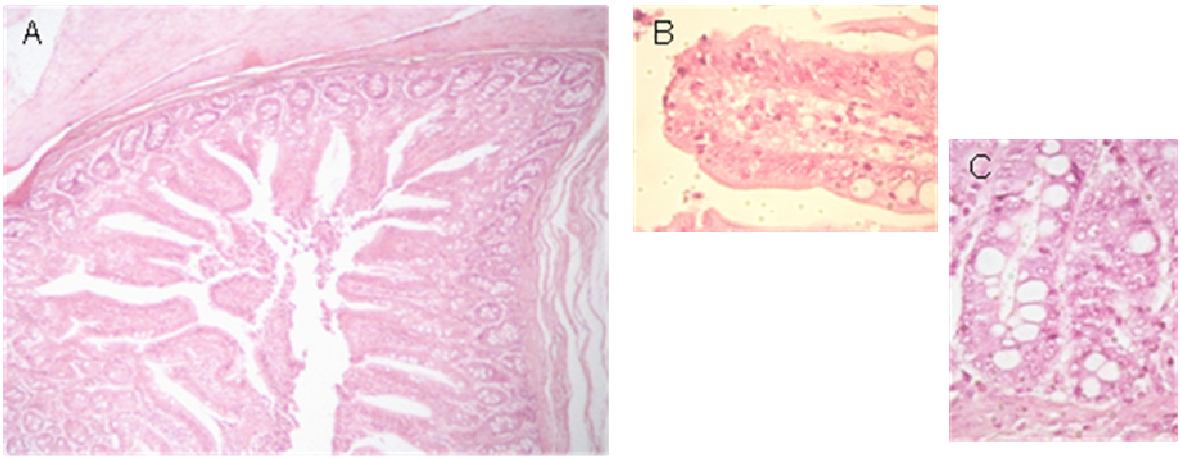

Figura 30 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno dentro do padrão de normalidade. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas sem alterações histológicas. HE, 40x

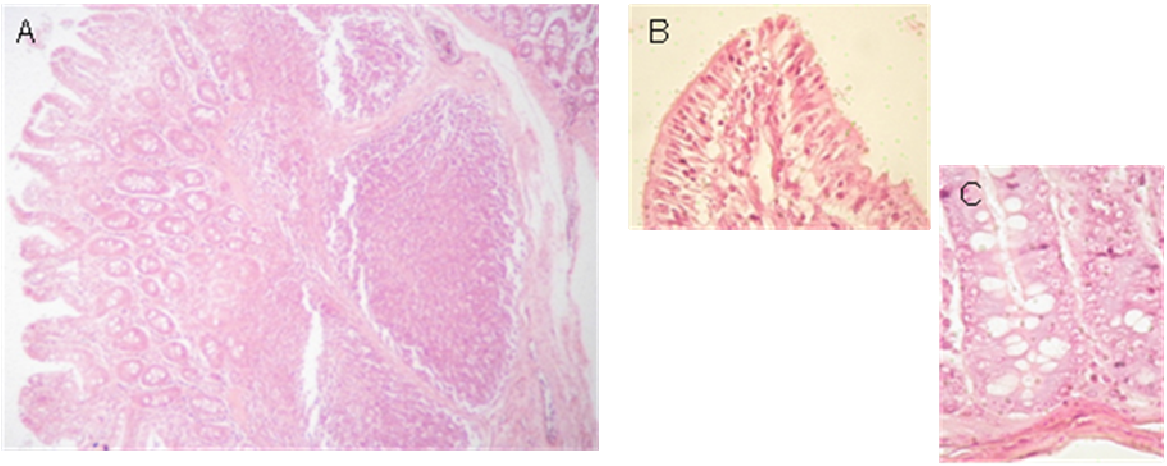

Figura 31 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo, sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

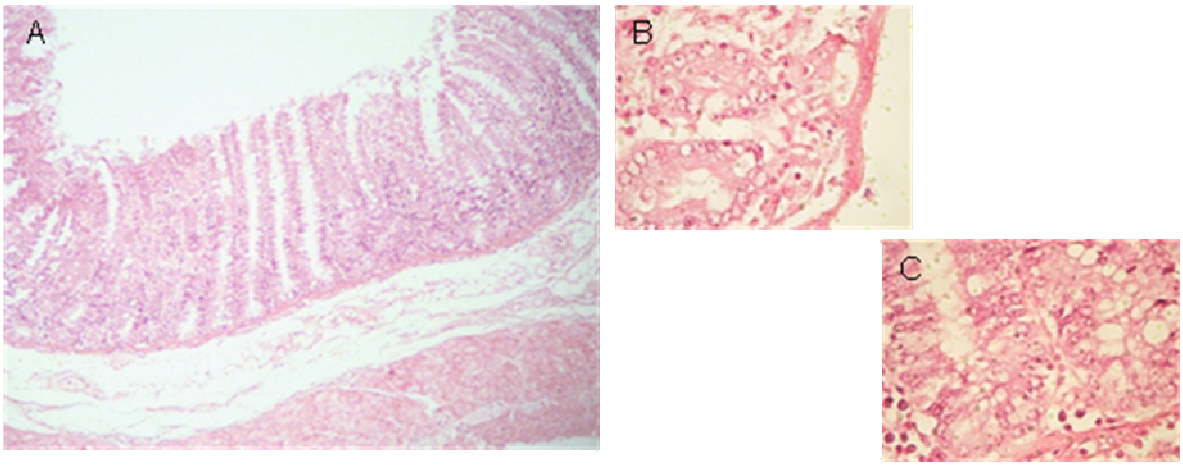

Figura 32 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial com bactérias aderidas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, sem alterações histológicas. HE, 40x

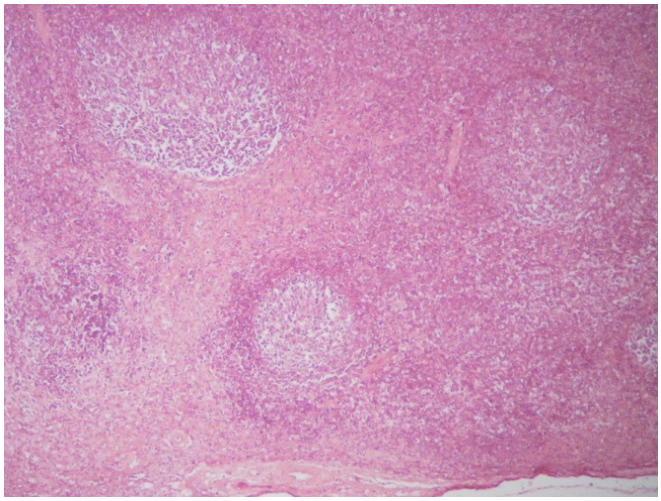

Figura 33 - Probiótico A Desafio, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x

5.4.6 Controle Desafio

Duodeno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 34 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 34 – C) e observou-se discreto aumento do infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 34 – B). O número de linfócitos

intraepiteliais variou de 10 a 15 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi tido como discreta enterite linfoplasmocítica.

Jejuno: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 35 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 35 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos na lâmina própria (Figura 35 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro histológico foi considerado dentro do padrão de normalidade.

Íleo: na análise histológica dos fragmentos foi observada relação vilo: cripta de 3:1, vilosidades adelgaçadas com o ápice na forma de lança (Figura 36 – A e B). As criptas estavam preservadas (Figura 36 – C) e observou-se discreto infiltrado de linfócitos, plasmócitos na lâmina própria (Figura 36 – B). O número de linfócitos intraepiteliais variou de 6 a 10 para cada 100 enterócitos. O quadro correspondeu a histologia dentro do padrão de normalidade.

Intestino grosso: a avaliação histológica revelou superfície epitelial íntegra com predomínio de células cubóides e reduzido número de células caliciformes na superfície epitelial (Figura 37 – A e B). As criptas estavam paralelas e perpendiculares a muscular da mucosa (Figura 37 – C). O quadro foi tido como dentro do padrão de histologia.

Linfonodo mesentérico: a avaliação microscópica revelou linfonodo dentro do padrão de histologia normal (Figura 38).

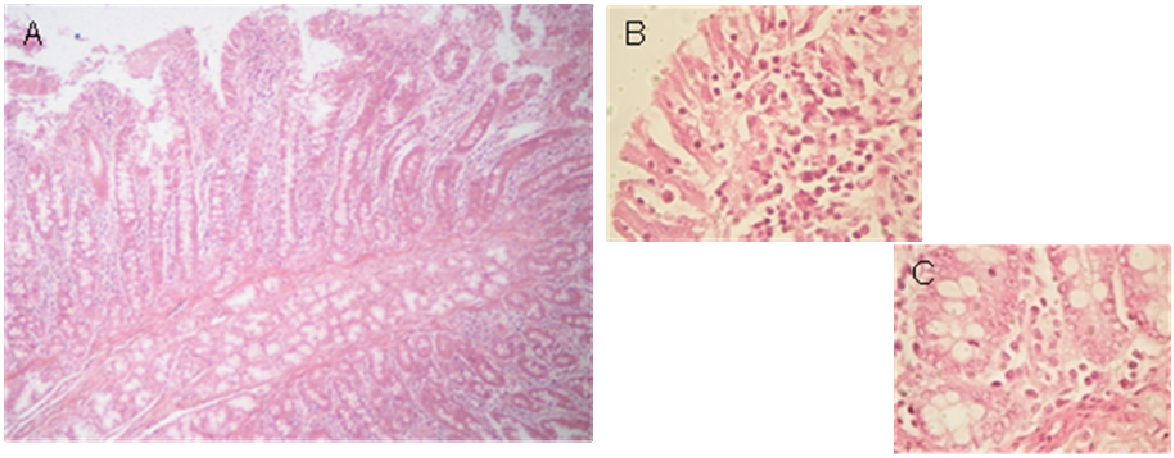

Figura 34 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do duodeno apresentando discreta enterite linfoplamocítica. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade mostrando aumento da intensidade de infiltrado de mononucleares. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas. HE, 40x

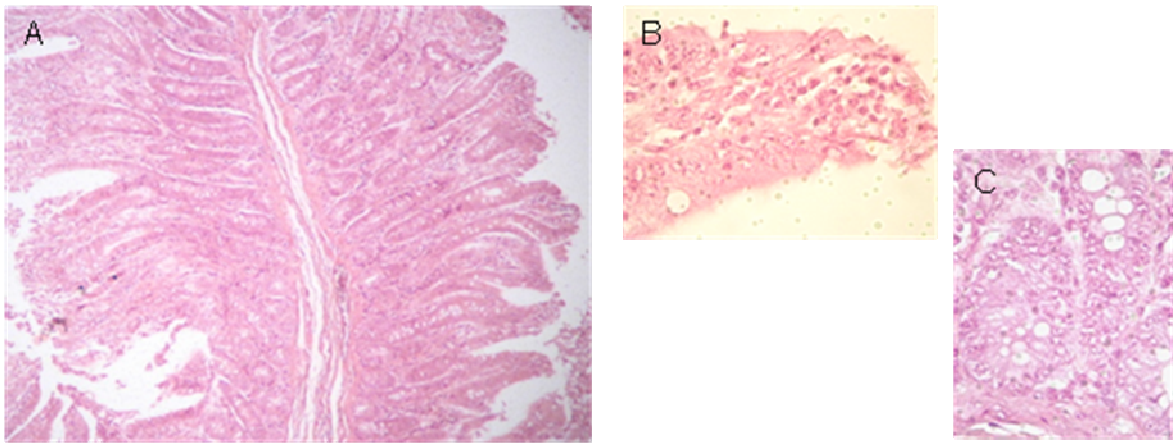

Figura 35 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do jejuno sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

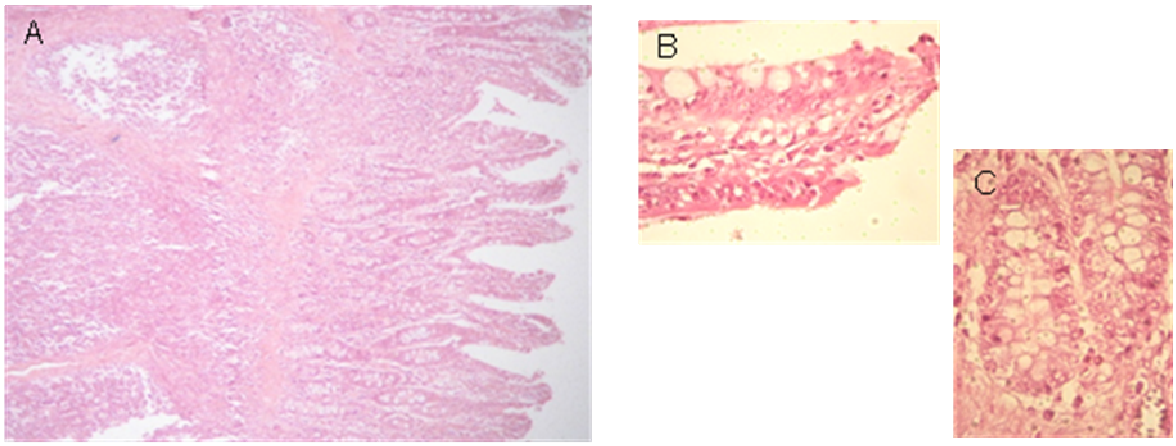

Figura 36 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do íleo sem alterações histológicas. HE, 4x. (B) Fotomicrografia em detalhe do ápice de vilosidade, sem alterações histológicas. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas, sem alterações histológicas. HE, 40x

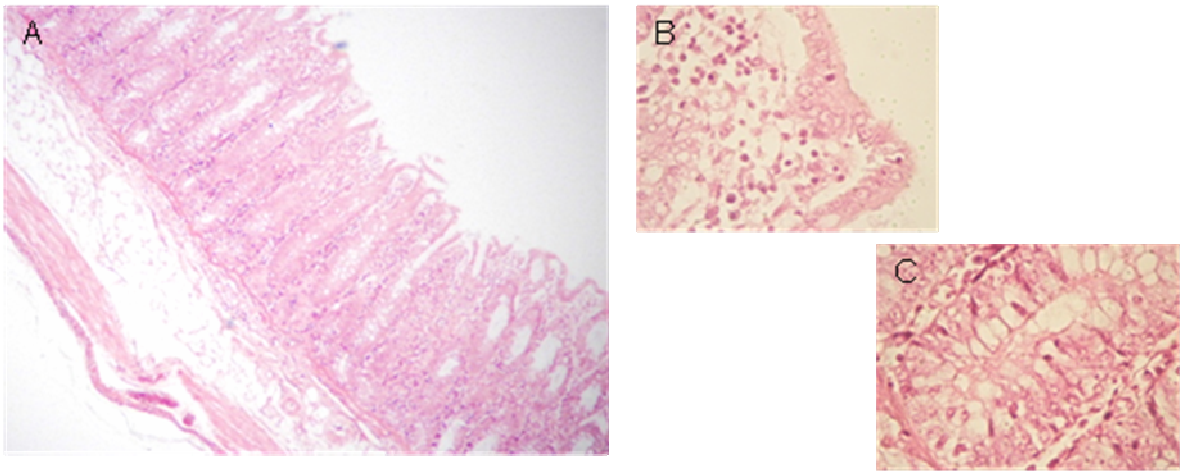

Figura 37 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. (A) Fotomicrografia do intestino grosso sem alterações histológicas. HE, 10x. (B) Fotomicrografia em detalhe do epitélio superficial. Observe células cubóides. (C) Fotomicrografia em detalhe das criptas colônicas, redução do número de células caliciformes. HE, 40x

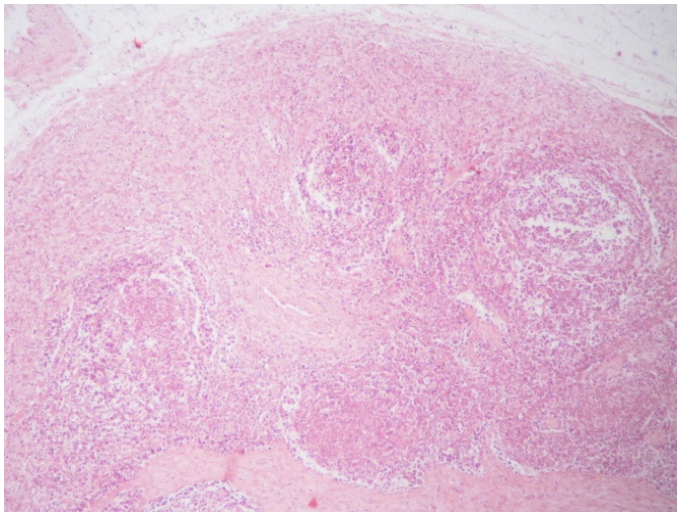

Figura 38 - Controle Desafio, leitão aos 63 dias. Fotomicrografia do linfonodo mesentérico sem alterações histológicas. HE, 4x

5.5 ANÁLISE ECONÔMICA

Na tabela 11 são apresentados os indicadores econômicos: custo total da dieta (CTD), receita total com a venda dos animais (RT), relação CTD/RT, margem bruta do lote (MB = RT - CTD), peso médio final do lote, margem bruta média por quilo, participação do custo do aditivo no custo da dieta, participação do custo do aditivo na receita total, variação do CTD (com o controle), variação da RT (com o controle) e as variações das margens por kg (com o controle).

Analisando o custo total da dieta, o Controle foi o tratamento que apresentou um valor mais baixo, seguido dos tratamentos CTL ProbB e ProbA ProbA. Os demais tratamentos apresentaram custos intermediários, verificando que o tratamento ProbA DES apresentou custo mais elevado.

Quanto à receita total do lote, o tratamento ProbA ProbA revelou maior valor, seguido dos tratamentos CTL e DES. Contudo a menor relação CTD/ RT foi os tratamentos CTL e ProbB.

Quanto à participação do custo do aditivo sobre o custo da dieta e da receita total, o Controle e o DES não apresentam valores, pois, não foi adicionado aditivo nesses tratamentos. O tratamento CTL ProbB se aproxima mais do Controle, enquanto que o tratamento ProbA ProbB apresenta 12,07% do custo do aditivo em relação ao custo da dieta e

10,91% em relação a receita total, caracterizando o tratamento em que o aditivo tem maior valor sobre o custo da dieta e da receita.

Analisando as comparações a respeito da viabilidade econômica de cada tratamento, a elevação no custo da dieta – esperada devido ao acréscimo do custo do aditivo – precisaria ser compensada por uma elevação maior do que o proporcional na receita total, de cada tratamento em relação ao Controle. No caso, apresentou uma maior variação negativa para o tratamento ProbA DES, segundo, com valores negativos decrescentes para, ProbA ProbB, CTL DES, ProbA ProbA e, por fim igual a zero para Controle Controle.

Tabela 11 - Indicadores econômicos: custo total da dieta (CTD), receita total do lote (RT), relação CTD/RT, margem bruta do lote (MB), peso médio final do lote, margem bruta por quilo, participação custo do aditivo/custo dieta, participação custo do aditivo/ receita total, variação CTD (com controle), variação RT (com controle) e variação das margens por kg (com controle)

Indicador econômico		**ProbA ProbB**	**CTL ProbB**	**ProbA ProbA**	**CTL CTL**	**ProbA DES**	**CTL DES**
Custo total da dieta (CTD)	R$	1.175,94	904,75	1.103,46	909,45	1.241,36	1.156,44
Receita total do lote (RT)	R$	1.301,18	1.351,87	1.377,79	1.361,66	1.351,87	1.361,08
Relação CTD/RT	%	0,90	0,67	0,80	0,67	0,92	0,85
Margem bruta do lote (MB)	R$	125,24	447,12	274,33	452,21	110,51	204,64
Peso médio do lote	kg	22,59	23,47	23,92	23,64	23,47	23,63
Margem bruta por quilo*	R$/kg	0,23	0,79	0,48	0,80	0,20	0,36
Participação custo do aditivo/custo da dieta	%	12,07	2,40	10,90	0,00	9,69	0,00
Participação custo do aditivo/receita total	%	10,91	1,61	8,73	0,00	8,89	0,00
Variação CTD (com controle)	%	29,30	-0,52	21,33	0,00	36,50	27,16
Variação RT (com controle)	%	-4,44	-0,72	1,18	0,00	-0,72	-0,04
Variação das margens por kg (com controle)	**%**	-71,02	-0,41	-40,05	0,00	-75,39	-54,73

But still they lead me back
To the long winding road
You left me waiting here
A long long time ago

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Dentro da metodologia proposta pelo Laboratório de Pesquisa em Suínos a utilização de probióticos, iniciou-se no pós-parto, de modo a observar a influência no estabelecimento da microbiota intestinal e possível ação na integridade da mucosa, associado à análise do desempenho dos animais, do período de aleitamento ao da creche.

Verificou-se que a resposta dos leitões nessa primeira fase foi, de certo modo, positiva. Foi possível detectar efeito significativo no ganho de peso médio diário, favorecendo o probiótico, com reflexos no peso médio aos 14 dias (p=0,0626).

Desta maneira, os resultados revelaram-se interessantes nas condições em que foi desenvolvida a metodologia experimental. Corrêa (2008) realizou experimento desenvolvido em granja comercial, administrando *Lactobacillus reuteri* ($1,5x10^9$ UFC/g) e *Bifidobacterium pseudolongum* ($1,5x10^9$ UFC/g) via oral antes da ingestão do colostro, não sendo observado efeito significativo para as variáveis; peso médio e ganho de peso médio diário. O autor comenta que estes resultados ocorreram possivelmente, devido ao "status" sanitário da granja em que foi desenvolvido o estudo. Já Abe et al. (1995), ao utilizarem colônias de *Bifidobacterium pseudolongum* e *Lactobacillus acidophilus* como probióticos em leitões na fase de aleitamento e creche, evidenciaram, maior ganho de peso na fase de aleitamento. Constatações semelhantes foram ainda identificadas por Sarra et al. (1983), mostrando que a administração de *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus faecium* na primeira semana de vida determinou um melhor desenvolvimento dos leitões.

Estes resultados são sugestivos de que a administração de probióticos, logo após o nascimento pode ser eficaz, uma vez que ao nascimento o intestino pode já estar sendo colonizado e a bactéria probiótica agiria evitando que as patogênicas atapetem a mucosa intestinal e o resultado dessa ação é refletido numa melhor absorção de nutrientes e imunoglobulinas do colostro, possibilitando uma maior viabilidade do leitão, havendo em contrapartida menor perda dos leitões, particularmente nos seus primeiros dias de vida (ABRAHÃO et al., 2004).

Por sua vez, Tortuero et al. (1995), administraram oralmente uma cultura mista contendo *Streptococcus faecium* juntamente com *Lactobacillus casei spp* e não verificaram diferenças no ganho de peso dos animais. Da mesma forma, Santos et al. (2002),

administraram diariamente *Lactobacillus spp* nos leitões durante a fase de aleitamento e também não obtiveram resultados positivos no ganho de peso.

As respostas positivas e negativas estão relacionadas a vários fatores, incluindo primeiramente o ambiente no seu aspecto asséptico, pois quanto menos desinfectado, maior a carga bacteriana, e menor são as chances dos leitões não sofrerem. Além disso, une-se a própria saúde da porca que necessita também estar devidamente preparada do ponto de vista asséptico no momento do parto, inclusive com o devido acompanhamento da mesma. Levando em consideração a sincronização de grupos semanais de partos, este manejo, quanto mais preciso, maiores facilidades são encontradas para o ajuste do vazio sanitário, tornando o ambiente como foi citado mais asséptico. Outros fatores também podem influenciar no resultado, mas estes são os mais importantes.

Seguindo a linha de investigação associativa, para o período de creche, observamos aos 33 dias, interação do peso médio entre o Probiótico A e Probiótico B, em que a associação entre os dois acarretou resultado positivo, porém aos 54 dias e nos demais, não foi observado interação, sugerindo que nesse primeiro momento as bactérias que compunham os probióticos apresentaram uma complementação positiva na microbiota que pode ter sido influenciada, havendo posteriormente um quadro simbiótico que não interferiu no peso.

Poderíamos enquadrar nessas considerações, com o que ocorreu com o consumo na primeira semana de 21 a 34 dias, novamente a interação foi identificada para ProbA com o ProbB, em que a associação dos dois probióticos obtiveram um maior consumo, porém sem detectar efeito significativo indireto no ganho de peso médio diário. Quanto à conversão alimentar a interação da associação mostrou-se com resultado desfavorável. Estes achados são contrários aos verificados por Budiño et al. (2006), em que os animais que receberam o tratamento probiótico contendo *Bacillus licheniformis* e principalmente *Bacillus subtillis*, obtiveram um menor consumo médio diário de ração em relação ao tratamento controle com dieta basal, sendo a conversão alimentar não influenciada.

No período final da creche, 55 a 62 dias, detectou-se melhor conversão alimentar favorável ao Probiótico A, devido ao consumo e ganho, mesmo que os valores do ganho de peso médio diário tenham sido numéricos mas não deixando de ser indicativo (p=0,0720) de positividade para o desempenho diferencial pela associação de A e B. Estes resultados sugerem que os animais que receberam o ProbA na maternidade e 12 horas antes do desafio programado estavam em um estado favorável com a microbiota já estabelecida e estável. Silva et al. (2006) ao utilizarem probiótico composto por *Pediococcus acidilactici* associado

ou não ao *Bacillus subtilis,* também encontraram melhor conversão alimentar comparado ao grupo controle, mas não encontraram diferenças quanto ao peso final, ganho diário de peso e consumo diário de ração.

Apesar dos resultados com probióticos serem muito variáveis, Steward e Chesson (1993) reuniram trabalhos da literatura utilizando diversos tipos de probióticos, concluindo que na média, ocorre um aumento de 4,8% no ganho de peso médio diário de leitões na fase inicial. Em um estudo realizado por Utiyama et al. (2006), utilizando *Bacillus subtillis* e *Bacillus licheniformis*, os autores observaram consumo médio diário e ganho de peso médio inferiores em todos os períodos da experimentação. Neste mesmo estudo, os autores relatam que a conversão alimentar não foi afetada pelos tratamentos, controle e probiótico. Já Abe et al. (1995), encontraram maior ganho de peso em leitões que receberam probióticos contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium pseudolongum* em relação ao tratamento controle e melhor conversão alimentar com o gênero *Bifidobacterium*.

Estudos realizados por Bruno (2008) e Parazzi (2010) concluíram que o desempenho dos animais tratados com extrato vegetal e probióticos, respectivamente, no período de creche foram inferiores ao tratamento contendo antimicrobiano, mas o mesmo não ocorreu para o período de crescimento e terminação, onde os tratamentos se igualaram. Portanto, é possível afirmar que os probióticos acabam tendo ação a médio e longo prazo no desempenho comparado aos antimicrobianos. Os estudos citados têm levado a admitir, na linha de pesquisa empregada no Laboratório de Pesquisa em Suínos, que as averiguações com probiótico, quando avaliado o desempenho associado ou não com outros parâmetros, devem se estender para o período de crescimento e terminação para mostrar o potencial desses aditivos a serem empregados no mercado.

Quanto aos efeitos do desafio programado verificou-se que o consumo médio diário foi influenciado, pois o consumo dos animais desafiados foi maior na semana subseqüente ao desafio e esses tratamentos mostraram conversão alimentar desfavoráveis comparativamente aos não desafiados. Alguns autores relatam que existe uma redução de consumo concentrada nos três primeiros dias pós – desafio (LOUGHMILLER et al., 2007), seguida de um acréscimo gradual que tenta compensar os valores. O estudo realizou averiguações de consumo semanal, diferentemente de Balaji et al. (2000) e Turner et al. (2002) que realizaram diariamente pós – desafio, e este fato poderia ter revelado a diminuição de consumo após o desafio. Resultados contrários encontrados por Bruno (2008) e Parazzi (2010), evidenciaram a não influência do desafio no consumo, podendo tal fato ser devido à dose de *Salmonella*

Typhimurium ($1X10^5$ UFC), concentração mais baixa de inoculação que a empregada no presente estudo, podendo ser um fator que possa desfavorecer a detecção de possíveis diferenças.

Associando – se os resultados de desempenho com aspectos clínico (escore de fezes) e sanitário (eliminação de *Salmonella* Typhimurium), pode-se inferir que nos tratamento desafiados ProbA DES e CTL DES, o peso foi influenciado pela maior freqüência de fezes pastosas e líquidas em relação aos demais tratamentos. Esse maior escore de fezes pastosas e líquidas levam a um grau de desidratação e conseqüências negativas, tais como perda de peso e diminuição da imunidade dos leitões. Propicia de certo modo a ação de agentes patogênicos, que provocam diferentes graus de inflamação da mucosa intestinal o que poderia levar a uma menor absorção de nutrientes que retardariam o crescimento e desenvolvimentos dos leitões.

Outros estudos, nesse aspecto associativo, verificaram que os animais após a inoculação com *Salmonella* Typhimurium apresentaram além de diarréia, modificações da temperatura retal (HORTA, 2009; PARAZZI, 2010).

Os tratamentos desafiados apesar de apresentarem um maior escore de dias com diarréia mostraram desempenho equivalente aos demais, até mesmo o tratamento Controle Desafio. Estes resultados sugerem que alguns fatores podem ter contribuído para melhora de desempenho como, menor dose do agente inoculado; alto "status" sanitário da granja, por esta ser uma granja experimental, e menor grau de inflamação da mucosa intestinal pós – desafio.

Vale à pena ressaltar que na metodologia experimental proposta procurou-se aplicar o desafio programado com *Salmonella* Typhimurium no 14º dia após o desmame, após a adaptação dos animais as novas condições como: mudança de alimentação; ausência da mãe, estabelecimento de uma nova hierarquia, as quais poderiam influenciar os tratamentos. Na primeira semana pós – desmame ocorre secreção ineficiente de enzimas digestivas secretadas ao longo do trato gastrointestinal e a secreção de ácido clorídrico, bicarbonato e muco que não permitem uma digestão e absorção de nutrientes adequada (GEARY et al., 1999). Além de íons como sódio, potássio e cloreto, que aumentariam a osmolaridade do conteúdo intestinal que dificultaria o processo de reabsorção de água e o afluxo da mesma para a luz intestinal, desencadearia a diarréia (ETHERIDGE et al., 1984; NABUURS et al., 1993).

Kyriakis et al. (1999), trabalhando com as bactérias *Bacillus licheniformis* e *Bacillus toyoi* observaram menor incidência de diarréia. Da mesma forma, Huyanate et al. (2006) verificaram que os animais que receberam tratamento com bactérias e leveduras probióticas em altas doses também obtiveram menor incidência de diarréia.

Por outro lado, outros autores não encontraram as mesmas respostas. Budiño et al. (2006), no caso não observaram diferenças na incidência de diarréia em leitões que receberam *B. licheniformis* e *B subtillis*, do mesmo modo que Santos et al.(1998), não observaram diferenças na incidência de diarréia quando administraram *Lactobacillus sp*.

Portanto, os resultados na literatura são controversos em relação a essa variável, sugerindo que as diferenças encontradas podem estar relacionadas aos diferentes tipos de bactérias probióticas, a dosagem das mesmas, a quantidade de espórulos viáveis, além da condição sanitária.

Quanto à eliminação de *Salmonella* Typhimurium observamos que a sala desafiada aos 35 dias de idade evidenciou uma maior freqüência da presença da bactéria aos 42 dias e este resultado permaneceu com alta freqüência até aos 56 dias de idade

Entretanto, em pesquisas com nível de inclusão diferente que o utilizado no estudo, Szabó et al.(2009) verificaram que os leitões desmamados que receberam probiótico contendo *Enterococcus faecium* apresentaram maior eliminação fecal de *Salmonella* em relação ao tratamento controle basal. Os animais foram desafiados com o mesmo agente, mas em uma concentração alta (10^9 UFC).

Quanto à análise histológica da mucosa intestinal verificou-se que aos 63 dias de idade a mucosa não diferiu do ponto de vista qualitativo entre os tratamentos que receberam ou não probiótico, desafiados ou não. Estes resultados nos sugerem que no abate e coleta do material aos 63 dias de idade a microbiota e a mucosa já estavam estabelecidas não evidenciando diferenças significativas entre os tratamentos, apesar de haver algumas alterações.

No tratamento ProbA Prob B observou-se discreto infiltrado de linfócitos e plasmócitos no duodeno. No tratamento CTL ProbB o íleo apresentou discreta enterite linfoplasmocítica, aderência de bactérias no intestino grosso que também revelou discreta colite linfoplasmocítica. No tratamento ProbA ProbA, no jejuno observou-se discreta hiperplasia das criptas, no intestino grosso, bactérias aderidas e discreta colite linfoplasmocítica. No tratamento CTL CTL, no intestino grosso discreta colite linfoplasmocítica. No tratamento ProbA DES observou-se infiltrado mononuclear no duodeno, discreta enterite linfoplasmocítica e havendo neste tratamentodiscreto aumento do infiltrado de linfócitos e plasmócitos no jejuno. No tratamento CTL DES, no duodeno observou-se discreta enterite linfoplasmocítica.

Diante deste quadro de resposta histológica, o exame considerou o quadro dentro dos padrões de normalidade apesar de haver o presente relato para os diferentes tratamentos, não

havendo diferenciações mais acentuadas apenas pequenas diferenças, principalmente envolvendo o CTL ProbB com fusão das vilosidades e ProbA DES com infiltrado mononuclear e maior infiltrado de linfócitos e plasmócitos.

Na literatura, encontram-se pesquisas relacionadas à histologia da mucosa intestinal, porém tem - se dado maior atenção as fases críticas do leitão, como o desmame caracterizado pela transformação de uma densa população de vilos semelhantes a dedos para uma superfície em formato de língua (NABBURS, 1995). No período de 7 a 14 dias pós – desmame a área de superfície do vilo do intestino delgado é alterado, com encurtamento da área de superfície do vilo, predispondo aprecimento de desidratação, má absorção de alimentos e complexo diarréia (JUNQUEIRA et al., 2008).

Budiño et al (2005) utilizaram diversos tratamentos, sendo um deles probiótico contendo *Bacillus lichenformis* e *Bacillus subtilis*, os animais foram abatidos no desmame, 7 dias e 14 dias pós –desmame. Os resultados mostraram que os probióticos causaram um aumento na densidade dos vilos duodenais, e aos 14 dias os animais suplementados com probiótico apresentaram melhor densidade de microvilosidades em relação aos demais tratamentos. Estes resultados nos sugerem que através de abates com uma periodicidade determinada poderíamos ter observado alguma mudança na análise histológica, já que no final de período de creche a mucosa e microbiota já estão estabelecidas.

Outro aspecto abordado neste estudo foi o custo da utilização de probióticos como promotores do crescimento na dieta de leitões tentando refletir de uma maneira prática o uso dos probióticos nas granjas. A partir da análise econômica foi observado que o desempenho econômico do tratamento Controle Controle era esperado, pois neste tratamento não foi adicionado nenhum aditivo a dieta, reduzindo assim o seu custo, portanto o tratamento mais eficiente economicamente. Na seqüência de economicidade verificou-se que o tratamento CTL ProbB foi o mais viável, seguido do ProbA ProbA e CTL Des, mesmo que o tratamento CTL ProbB tendo apresentado um peso final inferior e na realidade desempenho inferior comparativamente aos outros tratamentos.

Os preços dos probióticos refletem os custos dos mesmos. O preço de ProbA (U$$ 300,00/100g) caixa com 250g foi mais elevado que o custo do ProbB (U$$ 65,00/kg). A análise econômica sugere que o CTL ProbB foi o mais viável, pois as variações das margens brutas para seus tratamentos em relação ao tratamento controle foram superiores. Também podemos observar que o tratamento ProbA ProbA obteve o maior custo que o CTL ProbB, porém o desempenho do ProbA ProbA foi comparativamente diferente e positivo, alcançndo

na variação das margens CTL ProbA um segundo valor, após o CTL ProbB que como foi já comentado, o desempenho foi pior. Quando analisamos o tratamento Probiótico A Desafio observamos que o custo é mais elevado, podendo ser justificado pelo desafio, pois estes animais apresentaram um consumo alto em relação aos demais tratamentos.

Já para no tratamento Probiótico A Probiótico B não houve um interesse econômico viável, pois a variação da margem bruta por quilo de peso foi muito pequena em relação ao Controle Controle, e também em relação ao desempenho. Este tratamento não foi o mais eficiente.

Estes resultados e observações associativas refletem a mutifatoriedade de situações e de complexa interpretação comparativa, pois havendo ambientes distintos que retratam o "status" sanitário da granja dá origem a diferentes respostas pela distinta pressão de infecção, tanto do aspecto quantitativo como também qualitativo. Além disso, também devemos levar em consideração outros fatores como a cepa utilizada no probiótico, à quantidade de inclusão de microorganismos, duração de administração, interação com outros medicamentos, fabricação e armazenamento dos produtos, como foi bem ponderado por Menten e Pedroso (2005). O probiótico administrado pode não fazer parte da microbiota natural do hospedeiro ou pode estar presente em número insuficiente para que possa ser formada uma colônia no trato gastrointestinal e assim podendo estabelecer uma relação de simbiose com o animal hospedeiro como observaram Dale (1992) e Collins e Gibson (1999).

Tal situação encontra, portanto aspectos que necessitam de maiores investigações para serem devidamente esclarecidas às ações dos probióticos, pois estas sugerem a capacidade desses produtos de melhorar o desempenho dos animais através de modificações e estabilização na microbiota intestinal em um determinado período de tempo. E nesse aspecto a ação longo prazo tem sido mais evidente do que aquela imediata exercida pelos antimicrobianos, encontrando-se resultados favoráveis no desempenho dos animais nas fases posteriores às da creche no crescimento e terminação (BRUNO, 2009; PARAZZI, 2010).

Don't leave me standing here
Lead me to your door

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

O estudo que abrangeu em sua metodologia a dinâmica multidisciplinar da criação de suínos utilizando a associação de probióticos como alternativa como promotor do crescimento nas fases de aleitamento e creche permitem concluir que:

1. Na fase de aleitamento, o tratamento com Probiótico A apresentou uma alternativa viável de utilização de probióticos pelo ganho diferencial obtido principalmente na primeira semana de vida dos leitões.
2. O desempenho dos animais que receberam o probiótico A na creche foi significativamente melhor em comparação aos demais tratamentos, o que indica esse probiótico poderia ser uma alternativa satisfatória de utilização
3. O desempenho dos animais na creche foi influenciado frente ao desafio programado, com *Salmonella* Typhimurium realizado aos 35 dias de idade, pois os dados mostram valores inferiores de desempenho dos animais em comparação grupo do controle não desafiadonas idades e períodos correspondentes de 35, 42 e 56 dias. O desafio programado reproduziu a condição distinta daquela existente no ambiente experimentação, trazendo assim um aspecto positivo do modelo experimental.
4. Os leitões não desafiados que apresentaram escore fecal sem diferença significativa entre os tratamentos utilizados, diferente os animais desafiados que apresentaram aumento significativo de fezes líquidas e pastosas.
5. O grupo Probiótico A desafiado apresentou menor eliminação de *Salmonella* Typhimurium aos 42 dias e elevação aos 56, diferindo significativamente do controle desafiado, indicando que o uso de Probiótico A as condições do estudo apresentou efeito benéfico na eliminação do agente bacteriano.
6. A avaliação histológica dos segmentos da mucosa intestinal aos 63 dias revelou aspecto similar nos diferentes grupos com e sem desafio com *Salmonella* Typhimurium com apresentação de discretas alterações que mostram de certa forma constantes nos tratamentos.
7. O tratamento Controle Probiótico B apresentou menor custo e pode representar uma alternativa satisfatória como inclusão na dieta do ponto de vista dos indicadores econômicos avaliados.

Maiores estudos precisam ser realizados principalmente na administração do probiótico no aleitamento, no momento do parto associado ao período de creche. A administração do probiótico na creche mostrou sua eficácia, porém deve-se ressaltar a dependência do custo, "status" sanitário e bactéria probiótica utilizada.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F. M.; P. AHRENS; M. MADSEN; L. V. PALLESEN; R. L. POULSEN; H. WESTH. Glycopeptide Susceptibility Among Danish Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis Isolates and Human Origin and PCR Identification of Genes within the VanA Cluster. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, n. 8, p. 1938-1940, 1996.

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.

ABIPES. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. **Relatório Anual 2009**. 2009. Disponível em: <http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2009_pt.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2010.

ABRAHÃO, A. A. F.; VIANNA, W. L.; CARVALHO, L. F. O. S.; MORETTI, A. S. Causas de mortalidade de leitões neonatos em sistema intensivo de produção de suínos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 86-91, 2004.

ALEXOPOULOS, C.; GEORGOULAKIS, I.E.; TZIVARA, A.; KYRIAKIS, C.S.; GOVARIS, A.; KYRIAKIS S.C. Field evaluation of the effect of a probiotic containing Bacillus licheniformis and Bacillus subtilis spores on the health "status", performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 51 p.306-392, 2004.

BALAJI, R.; WRIGHT, K. J.; HILL, C. M.; DRITZ, S. S.; KNOPPEL, E. L.; MINTON, J. E. Acute phase responses of pigs challenged orally with Salmonella typhimurium. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1885-1891, 2000.

BARNES, E. Anaerobic bacteria of normal intestinal microflora of animals. In: BARNES, E.M.; MEAD, G.C., (Ed.). **Anaerobic bacteria in habitats other than man**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1986. p. 225-238.

BERG, R. D. Probiotics, prebiotics or `conbiotics´? **Trends in Microbiology**, v. 6, p. 89-91, 1998.

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

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2003. p. 167-182.

BRUNO, D. G.; MARTINS, S. M. M. K.; FALLEIROS, F. T.; ALMEIDA, E.; MORETTI, A. S. Uso de probióticos em leitões na fase de creche. **Revista Pork World**, v. 23, n. 3, p. 30-33, 2006.

BRUNO, D. G. **Efeito de um fito composto no desempenho de leitões submetidos ao desafio experimental com *Salmonella typhimurium*.** 2008.137f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 2008.

BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; HUAYNATE, R. A. R.; NADAI, A.; CORREIA, R. C. Efeito da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre o desempenho, incidência de diarréia e contagem de coliformes totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, p. 59-67, 2006.

BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; NAKAGHI, L. S. O.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; HUAYNATE, R. A. R. Effect of probiotic inclusion in weaned piglets diets on structure an ultra-structure of small intestine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 921-929, 2005.

BUTOLO, J. E. Uso de aditivos na alimentação de aves: frangos de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1999. p. 85-98.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: OESP., 2002. p. 350-370.

BAYNES, P.; VARLEY, M. Gut health: practical considerations. In: VARLEY, M. A.; WISEMAN, J. (Ed.). **The weaning pig**: nutrition and management. Nothingham: CABI Publishing, 2001. cap.12, p. 249-257.

CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R. C.; BYRD, J. A.; NISBET, D. J. Gastrintestinal microbial ecology and the safety of our food supply as related to *Salmonella*. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. E163-E172, 2008.

CAMPABADAL, C.; VARGAS, E.; FONSECA, M. Evaluación de los ácidos orgánicos en La alimentación de lechones. I. Uso del ácido cítrico. **Agronomía** Costarricense, v.19, p.47-51, 1995.

CHESSON, A. Probiotics and other intestinal mediators. In: COLE, D. J. A.; WISEMAN, J.; VARLEY, M. A. (Ed.) **Principles of pig science**. Nottingham: University Press, 1994. p. 197-214.

CHIQUIERI, J. **Probiótico e prebiótico na alimentação de suínos em crescimento e terminação**. 2003, 59 f. Dissertação (Mestre em Produção Animal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes (RJ), 2003.

COLLINS, M. D.; GIBSON, G. R. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 1052S, 1999. Suplemment, 1.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Microingredientes:** microingredientes de alimentação animal. Brasília: CARC, MA; CBNA; SINDIRAÇÕES, ANFAL, 1998. 45 p.

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

CORPET, D. E. Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed. **Review of Medicine Veterinary**, v. 151, p. 99-104, 2000.

CORRÊA, V. S. **Probiótico líquido para leitões lactentes em diferentes idades.** Dissertação (Mestre em Ciência Animal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade do Mato Grosso, Cuiabá – MT, 2008.

CRANWELL, P. D. Development of the neonatal gut and enzyme systems. In: VARLEY, M. A. (Ed.). **The neonatal pig**: development and survival. Wallingford: CAB International, 1995. p. 99–154.

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

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 feeds in the United States. **Swine Health Production**, v. 7, p. 19–25, 1999.

DUCLUZEAU, R. Implantation and development of the gut flora in the newborn animal. **Annales de Recherches Veterinaires**, 14, p. 354-359, 1983.

ETHERIDGE, R. D.; SEERLEY, R. W.; WYATT, R. D. The effect of diet on performance, digestibility, blood composition and intestinal micro flora of weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1396-1402. 1984.

FRASER, J. N.; DAVIS, B. L.; SKJOLAAS, K. A.; BURKEY, T. E.; DRITZ, S. S.; JOHNSON, B. J.; MINTON, J. E. Effects of feeding *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* or serovar *Choleraesuis* on growth performance and circulating insulin-like growth factor-I, tumor necrosis factor-α, and interleukin-1β in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1161-1167, 2007.

FULLER, R. A. Review: Probiotics in Man and Animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.

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.

GEARY, T.M.; BROOKS, P.H.; BEAL, J.D.; CAMPBELL,A. Effect on weaner pig performance and diet microbiology of feeding a liquid diet acidified to pH 4 with either lactic or through fermentation with *Pediococcus acidilactici.* **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p. 633-640, 1999.

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

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: FCAV/UNESP, 2004.

GRIFFITH, R. W.; SCHWARTZ, K. J.; MEYERHOLZ, D. K. Salmonella. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. (Ed.).**Disease of Swine**. 9 th ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006. p. 739-754.

GUILLOT, J. F. The pros and cons of probiotics – make probiotics work for poultry. **Feed Mix**, v. 23, n. 8, p. 28-30, 2000. Número especial.

HEDEMANN, M. S.; HOJSGAARD, S.; JENSEN, B. B. Small intestinal morphology and activity of intestinal peptidases in piglets around weaning. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,** v. 87, p. 32-41, 2003.

HEARD, T. W.; LINTON, H.A. An epidemiologic study of *Salmonella* in a closed pig herd. **The Journal of Hygiene***,* v. 64, p. 411-417, 1966.

HOOGE, D. M. *Bacillus* spores may enhance broiler performance. **Feedstuffs**, v. 75, p. 28-32, 2003.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H.; STANLEY, J. T. **Bergey´s manual of determinative bacteriology.** 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p.175-189.

HORTA, F. C. **Avaliação do desempenho de suínos alimentados com mananoligossacarídeos (MOS).** 2009. 75 f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

HUAYNATE, R. A. R.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J. BUDIÑO, F. E. L. Uso de probiótico em dietas de suínos: incidência de diarréia, desempenho zootécnico e digestibilidade de rações. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 664-673, 2006.

HUYGHEBAERT, G. Replacement of antibiotics in poultry. In: EASTERN NUTRITION CONFERENCE, 2003, Quebec City. **Anais...** Quebec City: UON, 2003. p. 1-23.

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

JONG, E. U.; LEBOUTE, E. M.; CIOCCA, M. L. Uso de avoparcina e virginiamicina como promotores de crescimento em rações de frangos de corte. 2. Efeito sobre a flora intestinal e estrutura física do intestino. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 14, p. 536-542, 1985.

JUNQUEIRA, O. M.; SILZ, L. Z.; ARAÚJO, L. F.; PEREIRA, A. A.; LAURENTI, A. C.; FILARDI, R. S. Avaliação de níveis e fontes de proteína na alimentação de leitões na fase inicial de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 9, p. 1622-1627, 2008.

KAILA, M.; ISOLAURI, E.; SOPPI, E.; VIRTANEN, E.; LAINE, S.; AVILOMMI, H. Enhancement of circulating antibody secreting cell response in humen dianhea by human *Lactobacillus* strain. **Pediatric Research**, v. 32, p. 141-144, 1992.

KRAUSE, D. O.; WHITE, B. A.; MACKIE, R. I. Ribotyping of adherent *Lactobacillus* from weaning pigs: a basis for probiotic selection based on diet and gut compartment. **Anaerobe**, v. 3, n. 5, p. 317-325, 1997.

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.

KYRIAKIS, S. C.; TSILOYIANNIS, V. K.; VLEMMAS, J.; SARRIS, K.; TSINAS, A. C.; ALEXOPOULOS, C.; JANSEGERS, L. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. **Research Veterinay Science**, v. 67, n. 3, p. 223-228, 1999.

LEEDLE, J. Probiotics and DFM´s – Mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000b. p. 25-40.

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.

LINDEMANN, M. D. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1298-1307, 1986.

LOUGHMILLER, J. A.; DRITZ, S. S.; NELSSEN, J. L.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; MOSER, S. A.; DE LA LLATA, M. Effects of Salmonella typhimurium Challenge on swine Growth, Nitrogen Balance, Insulin-like growth factor-I and Acute phase proteins. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 2, n. 1, p. 11-22, 2007.

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.

MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA – Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola, 2001. v. 2.

MCCRAKEN, B. A.; SPURLOCK, M. E.; ROOS, M. A. ZUCKERMANN, F.A.; GASKINS, H.R. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. **Journal of Animal Nutrition**, v. 129, p. 613-619, 1999.

MELLOR, S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, v. 16, p. 18-21, 2000.

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

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 ANNUAL SYMPOSIUM: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 9., 1993, Florida. **Proceedings…** Nicholasvile Techinical, 1993. p. 133-150.

MILLER, B. G.; NEWBY, T. J.; STOKES, C. R. BOURNE, F. J. Influence of diet o postweaning malabsorption and diarrhea in the pig. **Research Veterinary Science**, v. 36, p. 187-193, 1984.

MILTEMBERG, G. Extratos herbais como substitutos de antimicrobianos na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2000. p. 87-100.

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

MORES, N.; SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; MORENO, A. M. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P. R. S.; SESTI, L. A. C. (Ed.). **Suinocultura intensiva**. Concórdia: EMBRAPA, 1998. cap.7, p. 135-162.

MURAMATSU, T.; NAKAJIMA, S.; OKUMURA, J. Modification of the energy metabolism by preence of the gut microflora in the chiken. **British Journal of Nutrition**, v. 71, p. 709-717, 1994.

NABUURS, M. J.; HOOGENDOORN, A.; VAN DER MOLEN, E. J.; VAN OSTA, A. L. *Villus* height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. **Research Veterinary Science**, v. 55, p. 78-84. 1993.

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

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

OLIVEIRA, C.J.B.; GARCIA, T.B.; CARVALHO, L.F.O.S. Experimental aerogenic-transmission of Salmonella Agona in weaned pigs. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 18, 2004, Hamburgo, Alemanha. **Proceedings...** Hamburgo, 2004. p. 653.

OLIVEIRA, C.J.B.; GARCIA, T.B.; CARVALHO, L.F.O.S.; GIVISIEZ, P.E.N. Nose-to-nose transmission of *Salmonella* Typhimurium between weaned pigs. **Veterinary Microbiology**, v.125, p.355-361, 2007.

OUWEHAND, A. C.; KIRJAVAINEN, P. V.; SHORTT, C.; SALMINEN, S. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 43-52, 1999.

PALERMO, J. N. Uso de medicamentos veterinários: Impactos na moderna avicultura. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, Chapecó. **Anais...** Chapecó, 2006. p. 70-78.

PARAZZI, L. J. **Efeito da combinação de probióticos na dieta de leitões desafiados com *Salmonella* Typhimurium.** 2010. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

PEDERSEN, K. B.; EDQVIST, L. E. Antimimicrobials as growth promoters: resistance to common sense. Late lessons from early warnings: the precautionary principle. 2009. Disponível em: <http://reports.eea.eu.int/environmentalissue-report-2001-22/en/issue-22-09.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2010.

PEDERSEN, K. B. Some growth promoters in animals do confer antimicrobial resistance in humans. **Brazilian Medical Journal**, v. 318, p. 1076. 1999.

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.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, J. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, p. 215-236, 1997.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. K.; CARTER, G. R. **Clinical veterinary microbiology.** London: Wolfe Publishing, 1994. 648 p.

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.

ROZAS, A. M. P. de. ROCA, M.; CARABAÑO, R. de; BLAS, C.; FRANCESCH, M.; BRUFAU, J.; MARTÍN-ORÚE, S.; GASA, J.; CAMPOY, S.; BARBÉ, J.; BADIOLA, I. **El estudio de la diversidade intestinal por RFLP**. Curso de Especialización, 19. Avances em nutrición y alimentación animal. Madrid: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), 2003.p. 31-45.

SAS. STATISTICAL ANALISYS SYSTEM. **SAS User's Guide**. Version 9.2 Edition. Cary: SAS Institute, Inc., 2008.

SALMINEN, S.; WRIGHT, A. V.; OUWEHAND, A. C. **Latic acid bacteria**: microbiology and functional aspects. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 2004. 656 p.

SANCHES, A. L**. Probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame**. 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras – MG, 2004.

SANTOS, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C. Avaliação da administração de Lactobacillus sp. No desempenho de leitões na fase de aleitamento e creche. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. CD-ROM.

SANTOS, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C.; ELISA 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.

SHIM, S. B. **Effects of prebiotics, probiotics and synbiotics in the diet of young pigs**. 2005. 179 p. PH.D. Thesis, Animal Nutrition Group, Wageningen Institute of Animal Sciences. Wageningen, The Netherlands: Wageningen University and Research Centre, 2005.

SALANITRO, J. P.; BLACKE, I. G.; MUIRHEAD, P. A. Isolation and Identification of fecal bacteria from adult swine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, p. 79-84, 1977.

SILVA, C. A.; HOSHI, E. H.; PACHECO, G. D.; BRIGANÓ, M. V. Avaliação de probióticos (*Pediococcus acidilactici* e *Bacillus subtilis*) após o desmame e efeitos no desempenho dos leitões, **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 27, n. 1, p. 133-140, 2006.

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

SMINK, W. Oregano oil boost. **Pig Progress**, v. 19, n. 3, p. 24-26, 2003.

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.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara-koogan, 2002. 768 p.

STEWART, C. S.; CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Veterinary Journal**, v. 31, p. 11-33, 1993.

STONE, G. G.; OBERST, R. D.; HAYS, M. P.; MCVEY, S.; CHENGAPPA, M. M. Detection of Salmonella serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure, **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 1742-1749, 1994.

SZABÓ, I.; WIELER, L.H.; TEDIN, K.; SCHAREK-TEDIN, L.; TARAS, D.; HENSEL, A.; APPEL, B.; NO¨CKLER, K. Influence of a Probiotic Strain of *nterococcus faecium* on *Salmonella enteric* Serovar Typhimurium DT104 Infection in a Porcine Animal Infection Model. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 9, p. 2621–2628, 2009.

TANNOCK, G. W.; TILSALA-TIMISJARVI, A.; RODTONG, S. Isolates from the gastrointestinal tract, silage and yogurt by 16S-23S rRNA geneintergenic spacer region sequence comparations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 4264-4267, 1998.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfecciosos**. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1990. 515 p.

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.

TURNER, J. L.; DRITZ, P. S. S.; MINTON, J. E. Review: Alternatives to conventional antimicrobials in swine diets. **The Professional Animal Scientist**, v. 17, p. 217-226, 2001.

TURNER, J. L.; DRITZ, S. S.; HIGGINS, J. J.; HERKELMAN, K. L.; MINTON, J. E. Effects of a *Quillaja saponaria* extract on growth performance and immune function of weanling pigs challenged with Salmonella typhimurium. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 939–1946, 2002.

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

UTIYAMA, C. E.; OETTING, L. L.; GIANI, P. A.; SANTOS RUIZ, U.; MIYADA, V. S. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a freqüência de diarréia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2359-2367, 2006

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

XU, R. J.; MELLOR, D. J.; TUNGTHANATHANICH, P.; BIRTLES, M. J.; REYNOLDS, G. W.; SIMPSON, H. V. Growth and morphological changes in the small intestine and the large intestine in piglets during the first three days after birth. **Journal of the Development of Physiology**, v. 18, p. 161-172, 1992.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 kg. **Journal of Animal Science,** v. 75, p. 2481-2496, 1997b.

WISEMAN, J.; GARNSWORTHY, P. C. **Recent developments in pig nutrition 3**. Nottingham University Press: Nottingham. 2001. 501 p.

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