

EDUARDA BUCK BERNARDES GUIMARÃES

“Efeito da inclusão de duas cepas de levedura no desempenho produtivo de leitões desafiados com *E. Coli* F4 na fase de creche”

**Pirassununga
2021**

EDUARDA BUCK BERNARDES GUIMARÃES

Efeito da inclusão de duas cepas de levedura no desempenho produtivo de leitões desafiados com *E. Coli* F4 na fase de creche

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 a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Cesar Augusto Pospissil Garbossa

Pirassununga

2021

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 4080 FMVZ	Guimarães, Eduarda Buck Bernardes Efeito da inclusão de duas cepas de levedura no desempenho produtivo de leitões desafiados com <i>E. Coli</i> F4 na fase de creche / Eduarda Buck Bernardes Guimarães. – 2021. 67 f. : il. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2021. Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal. Área de concentração: Nutrição e Produção Animal. Orientador: Prof. Dr. Cesar Augusto Pospissil Garbosa. 1. Diarreia. 2. Probiótico. 3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . 4. Saúde intestinal. I. Título.
-----------------	---

Certificado da Comissão de Ética



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da inclusão de uma cepa de levedura (Phileo Lesaffre Animal Care) na dieta de leitões de creche desafiados ou não com E. Coli k88+", protocolada sob o CEUA nº 3743220518 (00 005677), sob a responsabilidade de **Cesar Augusto Pospissil Garbossa** e equipe; *Fábio Daniel Zanquetin; Amanda de Oliveira Soares Pacheco; Bruno Braga Carnino* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 18/10/2018.

We certify that the proposal "Inclusion effect of one yeast strain (Phileo Lesaffre Animal Care) on the performance of nursery piglets challenged or not with E. coli k88+", utilizing 192 Swines (192 males), protocol number CEUA 3743220518 (00 005677), under the responsibility of **Cesar Augusto Pospissil Garbossa** and team; *Fábio Daniel Zanquetin; Amanda de Oliveira Soares Pacheco; Bruno Braga Carnino* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 10/18/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **07/2018** a **08/2018** Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Suínos**

sexo: **Machos**

idade: **21 a 23 dias**

N: **192**

Linhagem: **Ag PIC 337 X Cambrough 25**

Peso: **5 a 6 kg**

Local do experimento: Laboratório de Pesquisa em Suínos do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Comentário da CEUA: *O documento de autorização para o uso do laboratório foi apresentado pelo pesquisador, o qual se comprometeu em submeter o recibo de compra dos animais após o início das experimentos. Recomenda-se sua submissão em conjunto ao relatório de acompanhamento do projeto.*

São Paulo, 16 de março de 2021

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Certificado da Comissão de Ética



Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comissão de Ética no Uso de Animais



FMVZ USP

DECLARAÇÃO

Declaramos que, por motivos técnicos, o sistema eletrônico de avaliação de propostas à Plataforma Orion da CEUA da FMVZ/USP encontra-se fora do ar para manutenção, sem previsão definida de retorno.

Desta forma, esta CEUA/FMVZ fez uma pré-análise das solicitações enviadas pelo responsável Prof. Dr. Cesar Augusto Pospissil Garbossa no projeto CEUA 3743220518, previamente aprovado, intitulado "Efeito da inclusão de uma cepa de levedura (Phileo Lesaffre Animal Care) na dieta de leitões de creche desafiados ou não com E. Coli k88+". Não foram observados impedimentos para a alteração do título da proposta para **"Efeito da inclusão de duas cepas de levedura no desempenho produtivo de leitões desafiados com E. Coli F4 na fase de creche", bem como** a inclusão da aluna **EDUARDA BUCK BERNARDES GUIMARÃES** na equipe.

Ressaltamos que o projeto deverá ser inserido no sistema Orion (Plataforma online de submissão de projetos) assim que estiver reestabelecido seu funcionamento.

Esta declaração se faz necessária, em caráter excepcional, para que o aluno mencionado acima possa fazer o depósito da sua dissertação, junto à Comissão Pós-graduação desta FMVZ/USP.

São Paulo, 3 de maio de 2021.

Marcelo Bahia Labruna
Coordenador

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GUIMARÃES, Eduarda Buck Bernardes

Título: **Efeito da inclusão de duas cepas de levedura no desempenho produtivo de leitões desafiados com *E. Coli* F4 na fase de creche**

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: _____

Julgamento: _____

Prof.

Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof.

Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Silvana e José Eduardo,

Pelo amor, paciência, ensinamentos de vida e espelho profissional.

Ao meu irmão Victor e minha sobrinha Maya,

Pelo amor e exemplos de coragem, doçura e paz.

Ao meu companheiro Danilo,

Pelo amor, paciência, companheirismo e por compartilhar a vida comigo.

Aos meus avós Juracy, Hércio e Maria Estela (in memoriam),

Pela base familiar, pelos exemplos de vida e profissionais, pelo amor incondicional.

Com muito amor e gratidão,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela sabedoria que me foi concedida e pelas bênçãos sem medidas.

Aos meus pais, José Eduardo e Silvana, e irmão Victor, por todo apoio desde minha saída de casa. Agradeço pelo carinho e confiança, mesmo à distância, e por sonharem com meu sucesso. Vocês tornaram possível cada conquista em minha vida.

Ao meu namorado e companheiro de vida, Danilo, por todo amor, apoio, incentivo, ajuda e paciência dado nesse novo período da minha vida.

Aos meus amigos do coração, por toda amizade, ajuda e conselhos durante esses anos de pós-graduação e pela presença nesse processo de mudança.

Ao meu orientador Cesar Augusto Pospissil Garbossa pela orientação, confiança e por todas as oportunidades e conhecimentos proporcionados durante esse período que me permitiram alcançar objetivos por mim jamais imaginados.

Aos meus amigos, colegas, estagiários, bolsistas e funcionários do Laboratório de Pesquisa em Suínos (LPS), pois sem a ajuda e apoio deles, nada seria possível.

Agradeço a Universidade de São Paulo por todos esses anos que me proporcionaram uma educação de excelente qualidade, dando todo o suporte na graduação e pós-graduação para que minha formação fosse completa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Por fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho;

Muito obrigada!

RESUMO

GUIMARÃES, EBB. **Efeito da inclusão de duas cepas de levedura no desempenho produtivo de leitões desafiados com *E. Coli* F4 na fase de creche.** 2021. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Objetivou-se com esse estudo avaliar duas cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, em relação ao desempenho produtivo e aos parâmetros da saúde intestinal de leitões desafiados com *E. coli* F4. O experimento foi realizado utilizando delineamento em blocos casualizados (peso inicial e sexo) com 12 repetições e quatro tratamentos, assim distribuídos: controle sem desafio (CS), cepa de levedura 1 com desafio (LY1), cepa de levedura 2 com desafio (LY2) e controle desafiado (CD). Foram utilizados 192 leitões (machos castrados e fêmeas) de linhagem genética *Choice Genetics*, desmamados aos 24 dias de idade, alojados durante a fase de creche, por 42 dias experimentais, divididos em três períodos de acordo com as trocas de ração. As leveduras foram incluídas na dieta em substituição ao material inerte (caulim) durante todo o experimento. No oitavo e nono dia de experimento, os animais desafiados receberam 1 ml de *E. coli* F4 a uma concentração de 10^6 UFC. Já no décimo sétimo dia, foram 2 ml a uma concentração de 10^9 UFC. Os animais do tratamento sem desafio receberam a respectiva quantidade de solução salina. Os leitões do tratamento LY1 apresentaram ($P < 0,05$) peso vivo superior em 7%, ganho de peso diário 13% maior, melhor eficiência alimentar em 9,5% e maior consumo de ração diário em 12% nos primeiros 28 dias pós-desmame, quando comparado aos animais CD. No entanto, não houve efeito das cepas de levedura na ocorrência de diarreia pós-desmame, nos parâmetros morfológicos intestinais, no perfil sanguíneo, na composição da microbiota cecal e nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo cecal. Com isso, a inclusão da cepa 1 foi capaz de minimizar os efeitos deletérios associados ao desafio provenientes à inoculação da *E. coli* nas primeiras semanas de creche.

Palavras-chave: diarreia; probiótico; *Saccharomyces cerevisiae*; saúde intestinal;

ABSTRACT

GUIMARÃES, EBB. “**Effect of two yeast strains inclusion on the productive performance of piglets challenged with *E. coli* F4 in the nursery phase**” 2021. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

The objective of the present study was to evaluate two strains of *Saccharomyces cerevisiae* yeast, in relation to the productive performance and the intestinal health parameter of piglets challenged with *E. coli* F4. The experiment was performed using a randomized block design (initial weight and gender) with 12 replicates and four treatments, distributed as follows: unchallenged control (CS), live yeast strain 1 challenged (LY1), live yeast strain 2 challenged (LY2) and control challenged. 192 piglets (barrows and gilts) of Choice Genetics genetic lineage, weaned at 24 days of age, were evaluated during the nursery phase, for 42 experimental days, it was divided into three periods according to the feed changes. Yeasts were included in the diet as a substitute of the inert material (kaolin) during all the experiment period. On the eighth and ninth day of the experiment, the challenged animals received 1 ml of *E. coli* F4 at a concentration of 10^6 CFU. On the seventeenth day, it was 2 ml at a concentration of 10^9 CFU. The animals of the unchallenged treatment received the same amount of saline solution. LY1 treatment piglets showed ($P < 0.05$) 7% higher live weight, 13% higher average daily gain, 9.5% better gain-to-feed ratio and 12% higher average daily feed intake in the first 28 days after weaning, when compared to animals CD. However, there was no effect of live yeast strains on the occurrence of post-weaning diarrhea, intestinal morphological parameters, blood profile, cecal microbiota composition, and short chain fatty acid concentrations in the cecal content. Thus, the inclusion of strain 1 was able to minimize the deleterious effects associated with the challenge arising from the inoculation of *E. coli* in the first weeks of nursery.

Keywords: diarrhea; intestinal health; probiotic; *Saccharomyces cerevisiae*;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama Procedimentos experimentais	35
Figura 2. Escore Fecal	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados de trabalhos que utilizaram <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como probióticos na fase de creche.....	27
Tabela 2. Composição centesimal e valores nutricionais calculados das dietas utilizadas nas diferentes fases do experimento.....	33
Tabela 3. Desempenho de suínos na fase de creche desafiados com <i>E. Coli</i> F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.	40
Tabela 4. Escore fecal* de suínos na fase de creche desafiados com <i>E. Coli</i> F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.	42
Tabela 5. Hemograma completo de suínos na fase de creche desafiados com <i>E. Coli</i> F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.....	43
Tabela 6. Análise histológica de amostras de jejuno de leitões desmamados, alimentados com dietas contendo leveduras e desafiados com <i>E. coli</i> F4.....	44
Tabela 7. Microbiologia no conteúdo cecal do jejuno de suínos na fase de creche desafiados com <i>E. Coli</i> F4 recebendo dietas suplementadas com levedura. ..	45
Tabela 8. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal de suínos na fase de creche desafiados com <i>E. coli</i> F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.....	46
Tabela 9. Análise econômica de suínos na fase de creche desafiados com <i>E. coli</i> F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.....	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 MICROBIOTA INTESTINAL DOS LEITÕES	14
2.2 DIARREIA PÓS DESMAME	17
2.2.1 <i>Diarreia causada pela Escherichia coli em leitões</i>	19
2.3 PROBIÓTICOS.....	21
2.4 SACCHAROMICES CEREVISAE	23
3. HIPÓTESE	27
4. OBJETIVOS.....	29
4.1 OBJETIVO GERAL	29
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
5. EFEITO DA INCLUSÃO DE DUAS CEPAS DE LEVEDURA NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE LEITÕES DESAFIADOS COM <i>E. COLI</i> F4 NA FASE DE CRECHE	30
5.1. INTRODUÇÃO.....	31
5.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
5.2.1 <i>Animais e instalações</i>	32
5.2.3 <i>Delineamento experimental</i>	32
5.2.4 <i>Procedimentos experimentais</i>	34
5.2.5 <i>Avaliação do desempenho</i>	35
5.2.6 <i>Ocorrência de diarreia</i>	35
5.2.7 <i>Hemograma</i>	36
5.2.8 <i>Morfometria</i>	36
5.2.9 <i>Microbiologia</i>	37
5.2.10 <i>Composição de ácidos graxos voláteis</i>	38
5.2.11 <i>Análise econômica</i>	38
5.2.12 <i>Análise Estatística</i>	39
5.3 RESULTADOS.....	39
5.4 DISCUSSÃO	47
5.5. CONCLUSÃO	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que a fase pós-desmame é um dos períodos mais críticos da vida dos suínos, pois passam por importantes transformações ambientais, sociais e nutricionais. Além disso, pode-se incluir a precocidade do desmame nos sistemas produtivos, visto que esse se dá entre três a quatro semanas de vida, quando comparado a um ambiente natural que ocorre por volta das 17 semanas de vida do leitão (JENSEN; RECÉN, 1989; BARBA-VIDAL et al., 2018). Ainda, os leitões enfrentam a separação da mãe e do resto da leitegada, a nova hierarquia estruturada com leitegadas diferentes e a mudança abrupta da alimentação de leite para uma baseada em alimentos vegetais menos digestíveis (MOESER et al., 2007).

Somado a isso, há um sistema imunológico imaturo (LELLÉS et al, 2004), uma baixa capacidade digestiva devido a um trato gastrointestinal (TGI) ainda em desenvolvimento e a instabilidade da microbiota intestinal (WANG et al., 2013). Com isso, os leitões têm um aumento da susceptibilidade à microrganismos oportunistas comuns a suinocultura, como a *Salmonella* e a *Escherichia coli* enterotoxigênica (NAGY; FEKETE et al., 1999; FOUHSE et al., 2016, MARKOWIAK; ŚLIŻEWSKA, 2018). Esses agentes ocasionam sinais clínicos conhecidos, como a diminuição do consumo de ração, redução do ganho de peso, piora da conversão alimentar e diarreia.

Assim, têm-se buscado tecnologias nutricionais efetivas que minimizem a elevada ocorrência de diarreia na fase pós-desmame de leitões, bem como alternativas que garantam o desempenho, sanidade e o bem-estar dos suínos. Dessa forma, é possível evidenciar o uso dos probióticos, que por definição da FAO (2016), são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas garantem benefícios à saúde do hospedeiro.

Dentro da classe probiótica, as leveduras vivas, como as do gênero *Saccharomyces spp.*, são populares na suinocultura e avicultura (CHAUCHEYRAS-DURAND; DURAND, 2010). No entanto, seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado, mas apesar da incerteza, há teorias sobre como acontecem as ações benéficas desses probióticos. Dentre elas, a capacidade de evitar desequilíbrios da microbiota intestinal e possibilitar um

maior desempenho do animal. Isso se dá, em partes, por melhorar o ambiente microbiano gastrointestinal impedindo, por meio de competição, a fixação de patógenos; modulação das respostas imunes intestinais e melhora da digestão e absorção de nutrientes (BROWN et al., 2012).

No entanto, alguns estudos apontam a incapacidade das cepas de leveduras em aderir ao epitélio intestinal (EDWARDS-INGRAM et al., 2007). Porém, independentemente desse fato, há estudos que comprovam não somente a eficácia nos parâmetros produtivos com o uso de leveduras como os probióticos (BONTEMPO et al., 2006; KIROS et al., 2018), mas também a diminuição da ocorrência de diarreia, a modulação da microbiota intestinal (KIROS et al., 2018; UPADRASTA et al., 2013) e conseqüentemente, a melhoria da saúde dos animais (APIĆ et al., 2016).

Contudo, é interessante observar que assim como outras classes de probióticos, os resultados variam entre experimentos e alguns não demonstraram mudanças associadas ao uso de probióticos (KORNEGAY et al., 2014).

Dessa forma, vale ressaltar a importância do trabalho no que diz respeito ao estudo de probióticos e seu efeito na saúde intestinal dos leitões e sobre o desempenho dos animais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Microbiota Intestinal dos leitões*

O intestino dos mamíferos abriga uma comunidade extremamente densa e diversificada de microrganismos não patogênicos denominada microbiota comensal. O trato gastrointestinal (TGI) é o maior compartimento microbiológico dos animais, é composto por inúmeras espécies de microrganismos formando um sistema dinâmico e complexo sendo de difícil mensuração. Estima-se que haja mais de 400 espécies diferentes de microrganismos, representando 10 vezes mais microrganismos no TGI do que células do corpo do hospedeiro (SILVA; NORBERG, 2003).

O TGI está envolvido em vários processos fisiológicos e bioquímicos no hospedeiro, incluindo digestão, absorção, metabolismo de nutrientes,

fermentação de carboidratos não digeríveis, produção de ácidos graxos de cadeia curta, desenvolvimento da homeostase e do sistema imunológico e proteção contra patógenos (CLEMENTE et al., 2012; GUARNER e MALAGELADA, 2003).

Para ocorrer o estabelecimento da microbiota intestinal dos leitões, é necessária uma primeira fase de colonização, quando o intestino é rapidamente colonizado pelos primeiros microrganismos com os quais o leitão entra em contato. Posteriormente ocorre o desmame, onde se tem a troca de alimentação líquida pela sólida e interação com um novo ambiente, em que há uma extensa diversidade de grupos bacterianos que alcançam o TGI determinando uma nova dinâmica populacional (GOMÉZ, 2006).

As mucosas do TGI dos leitões recém-nascidos deixam de ser estéreis no momento do nascimento. A colonização por microrganismos como fungos, vírus e principalmente, bactérias patogênicas, como *E. coli*, *Streptococcus* e *Clostridium* (RADECKI e YOKOYAMA, 1991; SCHMIDT et al., 2011) ocorre rapidamente, assim que o leitão entra em contato com o muco vaginal materno. A deficiência de secreções de ácido clorídrico nas primeiras horas de vida dos leitões, facilita essa colonização em diferentes seções do trato intestinal.

No entanto, é a posteriori, por meio do leite materno que ocorre a transferência substancial das bactérias para o intestino do neonato. A diminuição da predominância de *E. coli* acontece gradativamente devido ao aleitamento, visto que há uma diminuição do pH estomacal, em função da produção de ácido láctico a partir da lactose, que propicia a colonização de bactérias anaeróbicas benéficas, como *Lactobacillus*, *Streptococcus lactis*, *S. faecalis* e *S. termophilus* (SANCHES, 2006). Ainda assim, não somente o pH mas a concentração de oxigênio, disponibilidade de nutrientes, idade, dieta, estado imunológico e utilização de medicamentos dinamizam a colonização de microrganismos no trato gastrointestinal ao longo da vida do animal (LUPP e FINLAY, 2005).

Sendo assim, durante a fase de aleitamento, o controle do crescimento bacteriano no intestino é consequência da ingestão de colostro e leite. Bactérias anaeróbicas consideradas benéficas, como *Bacteroidetes spp.*, *Eubacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, representam

cerca de 90% da microbiota normal de um leitão em aleitamento sendo os 10% restantes representados por bactérias consideradas nocivas, como *E. coli*, *Clostridium spp.* e *Staphylococcus spp.* (HUYGHEBAERT, 2003).

A fermentação bacteriana estimula a produção das imunoglobulinas da mucosa, IgA, e conseqüentemente, limita a entrada de patógenos pelas células epiteliais intestinais (CHEN et al., 2014). Sendo importante para equilibrar a população de células imunes à exposição microbiana contínua durante o desenvolvimento dos leitões (INMAN et al., 2010).

O desmame caracteriza-se pela interrupção da ingestão do leite materno, conseqüentemente, há a ausência da lactose gerando uma diminuição de ácido láctico no estômago e ocasionando assim, variabilidade da microbiota intestinal dos leitões (MORAES; AMARAL, 2001). Além disso, nesse momento inicia-se o fornecimento de uma dieta contendo ingredientes de origem vegetal, o que contribui para a alteração da microbiota encontrada no TGI desses animais. Esses fatos, associados à insuficiente capacidade de produzir ácido clorídrico, eleva o pH (VIOLA; VIEIRA, 2003), proporcionando um declínio na população de bactérias lácticas e gerando um meio adequado para o crescimento de microrganismos patogênicos oportunistas.

Nessa fase pós-desmame, há o predomínio de algumas bactérias gram positivas na microbiota intestinal, dentre elas *Streptococcus* e *Lactobacillus*, com densidade de 10^7 a 10^9 UFC/g de mucosa (JOHNSSON; CONWAY, 1992; SCHIFFRIN; BLUM, 2002).

Ainda que haja inúmeros fatores que influenciem a composição da microbiota intestinal (dieta, ambiente, idade, sexo, sanidade, manejo, antibióticos), diversos filos e gêneros são preservados em mais de 85% das populações de suínos comerciais (HOLMAN et al., 2017). Destacando-se os filos, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*, e que estão presentes em todas as porções do TGI. Já os gêneros com maior prevalência são os *Clostridium*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Roseburia* e *Rikenellaceae* e representam cerca de 90% das bactérias do TGI de suínos (HOLMAN et al., 2017).

Ao longo do TGI há uma acentuada diferença de composição e diversidade bacteriana entre os intestinos delgado e grosso. Fatores relacionados à taxa de passagem do alimento, competição por nutrientes, disponibilidade de oxigênio e pH compõem essa diferença (GOMÉZ, 2006). Por exemplo, maiores concentrações de oxigênio e menores valores de pH disponíveis no estômago e duodeno, favorecem fatores de vantagem competitiva para as bactérias do gênero *Lactobacillus* (WALTER et al., 2008).

No entanto, a capacidade de acidificar o estômago e a porção inicial do intestino só é alcançada aos 75 dias de vida, deixando o animal predisposto à proliferação dos microrganismos patogênicos durante esse período (SANCHES, 2004).

2.2 Diarreia pós desmame

Após o desmame há o desafio dos leitões em adaptar-se a inúmeros fatores estressantes que ocorrem nessa fase, como transporte, transferência de instalações, separação materna e o reagrupamento social devido à mistura de lotes (CASTILLO-SOTO et al., 2004), bem como ao trato gastrintestinal (TGI) em adaptar-se ao novo regime alimentar. Considerando que o TGI nesta fase ainda está em desenvolvimento e assim é uma importante via de entrada de microrganismos patogênicos, a manutenção de uma microbiota equilibrada (eubiose) minimiza os efeitos deletérios sobre o organismo do leitão (SAAD, 2006).

O sistema imune do leitão ainda se encontra em desenvolvimento após o desmame (MELLOR, 2000). Essa insuficiente produção de imunoglobulinas, adjunta à redução da imunidade passiva, predispõe os leitões jovens a doenças entéricas e respiratórias (VIOLA; VIEIRA, 2003).

Devido a esses fatores, os microrganismos patogênicos têm um ambiente favorável à fixação no TGI, os quais modificam estruturalmente o intestino delgado, bem como reduzem a capacidade digestiva e absorptiva devido ao encurtamento das vilosidades e alongamento das criptas (PLUSKE, 2018). Outro fator que predispõe a alterações morfológicas são as reações de hipersensibilidade transitória que ocorrem em resposta aos antígenos presentes

na dieta (MILLER et al., 1983), podendo levar ao encurtamento de aproximadamente 75% das vilosidades em todos os segmentos do intestino delgado (HAMPSON; KIDDER, 1986). Essas alterações estruturais estão intimamente ligadas a patogênese da diarreia pós desmame.

A diarreia é caracterizada como o excesso de água presente nas fezes comparado com a matéria seca (normais: >24% MS; líquidas: < 20% MS), tornando-as mais líquidas e mais frequentes que o normal (BARCELLOS et al., 2015), podendo ser causadas por diferentes mecanismos. Dentre eles, o primeiro tipo seria a **diarreia secretória**, que é associada à disfunção dos mecanismos secretórios e absorptivos fisiológicos, ocasionando transporte anormal de íons das células do epitélio intestinal ao lúmen, retendo maior quantidade de água na luz intestinal e, conseqüentemente provocando diarreia (CHESKIN; MILLER, 2001). Doenças infecciosas no TGI podem causar essa diarreia, sendo a enterotoxemia causada pela *E. coli* o exemplo mais conhecido (FAIRBROTHER; NADEAU, 2006).

Outro mecanismo está relacionado com a diferença de pressão osmótica (**diarreia osmótica**), cuja causa está relacionada com maiores quantidades, que o normal, de solutos de baixa absorção e com atividade osmótica, como os carboidratos, presentes no lúmen intestinal (LIMA; MORÉS; SANCHES, 2009).

A **alteração da motilidade intestinal** também é um mecanismo, já que o excesso de motilidade, ocasionando um trânsito acelerado, prejudica a digestão e absorção do alimento fazendo com que os fluidos sejam lançados à parte final do intestino. Por outro lado, um trânsito lento aumenta a quantidade de substrato para os microrganismos e bactérias patogênicas podendo ocasionar a diarreia (FELDMAN; SCHARSCHMIDT; SLEISSINGER, 1998).

Já a **diarreia má absorptiva** ocorre devido a hipotrofia das vilosidades, cuja causa pode ocorrer devido a presença de algum agente, dentre eles os vírus, resultando em menor absorção de eletrólitos e água (BROWN et al., 2007). Com isso, a atrofia das vilosidades do intestino delgado, permite a passagem de água e eletrólitos não absorvidos ao intestino grosso, ultrapassando sua capacidade de absorção e resultando em diarreia (ZLOTOWSKI; DRIEMEIER; BARCELLOS, 2008).

Por fim, a **diarreia efusiva** (inflamatória) ocorre em casos de inflamação da lâmina própria e linfangiectasia (dilatação dos vasos linfáticos), a qual gera uma maior permeabilidade vascular, edema e perda de proteínas plasmáticas entéricas ocasionando a efusão e passagem de fluido intersticial para o lúmen intestinal (BROWN; BAKER; BARKER, 2007).

2.2.1 Diarreia causada pela *Escherichia coli* em leitões

A colonização de *E. coli* enterotoxigênica aderida ao epitélio do intestino delgado é a responsável pela maioria das lesões observadas no TGI de leitões, sendo a colibacilose neonatal (ocorre na maternidade) e a colibacilose do desmame (ocorre nas primeiras semanas de creche) os tipos mais frequentes (ALFIERI, A.A; ALFIERI, A.F; BARRY, 2010; NAGY; FEKETE, 1999).

Mesmo fazendo parte da microbiota normal do intestino dos animais, a bactéria *E. coli* possui cepas patogênicas que ocasionam diversas doenças em suínos (MORÉS; MORENO, 2007; FAIRBROTHER; GYLES, 2006). No entanto, para definição da patogenicidade da cepa é importante a identificação dos fatores de virulência (FRANCIS, 1999). Os isolados de *E. coli* podem ser classificados em três diferentes tipos, sendo eles: sorotipos, com base nos antígenos de superfície (O - somático, K - capsulares, H - flagelares e F - fimbriais); virotipos, segundo os fatores de virulência; e patotipos, que considera o efeito da infecção bacteriana no organismo (enterotoxigênica, enteropatogênica, shiga toxigênica ou verotoxigênica, enterohemorrágica, uropatogênica e enteroinvasiva) (FAIRBROTHER; GYLES, 2006).

Os fatores de virulência são determinados, basicamente, pelas estruturas de adesão e enterotoxinas (MORÉS; MORENO, 2007). As fimbrias são responsáveis pela adesão aos enterócitos, através da subunidade adesiva (lectina) que interage com os receptores do epitélio intestinal do hospedeiro, possuem grande atividade antigênica e por isso categorizam as cepas patogênicas (GYLES; FAIRBROTHER, 2004). Após adesão, há a multiplicação das cepas e a produção de um ou mais tipos de enterotoxinas, cuja ação ocorre nas células secretoras nas criptas intestinais (ALFIERI, A.A; ALFIERI, A.F; BARRY, 2010).

As enterotoxinas alteram as trocas de água e fluxo de eletrólitos no lúmen intestinal provocando desequilíbrio hidrossalino resultando na secreção de eletrólitos e, conseqüentemente, em maior excreção de fluídos (GUTH, 2008). Em leitões desmamados, dois tipos de enterotoxinas podem ser destacadas e são classificadas de acordo com sua estabilidade térmica: a termolábil (LT), inativada a 60°C e a termoestável (ST) resistente ao calor de 100°C, ambas por 15 minutos (FAIRBROTHER; GYLES, 2006). As duas causam diarreia do tipo secretória, mas possuem diferentes mecanismos de ação:

As enterotoxinas LT ligam-se aos receptores das células do epitélio intestinal, ativam a adenilciclase, que catalisa a síntese de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), que, por sua vez, ativa a proteína quinase A (PKA), estimulando a secreção de cloro pelas criptas epiteliais e inibindo a absorção de sódio pelas vilosidades intestinais, conseqüentemente ocorre a saída de água por osmose, ocasionando a diarreia (BARCELLOS et al., 2015). Além deste mecanismo, também podem causar secreção na mucosa por estimulação da produção local de prostaglandinas e leucotrienos que aumentam o transporte eletrolítico e a mobilidade intestinal (GUTH, 2008).

Já as enterotoxinas ST podem ser divididas em duas classes de acordo com a solubilidade em metanol e atividade biológica: STI (STa), solúvel em metanol e resistente a proteases, e STII (STb), insolúvel em metanol e sensível a proteases (GUTH, 2008). Ambas foram relacionadas a diarreia em suínos sendo a STa em neonatos e STb em animais com mais de uma semana de idade (ALFIERI, A.A; ALFIERI, A.F; BARRY, 2010). A STa ativa a enzima guanilciclase, promovendo aumento na concentração de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), inibindo o co-transporte de sódio e cloro, ou seja, há um aumento da secreção de água e cloro e baixa absorção de água e sódio pelas vilosidades intestinais, ocasionando a diarreia (MORÉS; MORENO, 2007; VAANDRAGER, 2002). A STb ainda é pouco compreendida, mas sabe-se que não há relação com os nucleotídeos intracitoplasmáticos (AMPc e GMPc), como ocorre na LT e STa. Acredita-se que está relacionada com a ativação do sistema nervoso entérico, cujo processo envolve o estímulo de mecanismos secretórios pela síntese de prostaglandina endoperoxidase (DUBREUIL, 2008). Além disso, a

ligação da STb aos enterócitos também pode causar alterações morfológicas no epitélio como encurtamento e atrofia de vilosidades, mas sem alterar os enterócitos (ALFIERI, A.A; ALFIERI, A.F; BARRY, 2010; DUBREUIL, 2008).

Por prejudicar o crescimento e a conversão alimentar dos leitões, as diarreias pós desmame geram perdas econômicas significativas à suinocultura. O controle baseia-se em correções ambientais, manejo, nutrição e modulação da resposta imune. Muitas vezes, tais recursos são insuficientes, tendo a utilização de antibióticos promotores de crescimento como uma alternativa, visto sua melhora significativa no desempenho dos animais. No entanto, essa tecnologia está se extinguindo e novos recursos sendo utilizados como aditivos alimentares. Dentre eles, probióticos, prebióticos, simbióticos e ácidos orgânicos têm sido propostos como uma alternativa promissora, com potenciais efeitos benéficos no animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal e da imunidade do animal.

2.3 Probióticos

Primeiramente os probióticos foram definidos por Lilly e Stillwell (1965) como substâncias desconhecidas promotoras de crescimento produzidas por um protozoário que estimulava o crescimento de outros microrganismos. Posteriormente, Parker (1974) definiu como microrganismos ou substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal. Mas foi por Fuller (1989) a definição mais utilizada em que probióticos seriam um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro, melhorando seu equilíbrio microbiano intestinal.

Atualmente, a Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos aceita e adota a definição de probióticos proposta pela FAO e a OMS, onde entende-se probiótico como um microrganismo vivo que, quando administrado em quantidades adequadas, é benéfico à saúde do hospedeiro (FAO, 2016; HILL et al., 2014).

Quanto à classificação, a FAO os divide em quatro classes a partir de características dos probióticos: bacterianos ou não bacterianos (fungos e leveduras); quanto à formação ou não de esporos; em relação ao número de

espécies/cepas, uma vez que várias espécies/cepas ou apenas uma é capaz de compor o probiótico; e por último, podem ser classificados como autóctone, cuja presença do microrganismo na microbiota seja natural do animal ou alóctone, cuja ocorrência não é natural (FAO, 2016). Já Huyghebaert, Ducatelle e Van Immerseel (2011) as classificam a partir de duas características: espécies colonizadoras, sendo *Lactobacillus* e *Enterococcus spp* e espécies não colonizadoras de trânsito intestinal livre, como *Bacillus spp* (esporos) e *Saccharomyces cerevisiae*.

A fim de se escolher um microrganismo como probiótico, deve-se levar em consideração a não patogenicidade para os animais, a capacidade de sobrevivência e colonização no trato gastrointestinal, suportar pH baixo, altas concentrações de ácidos biliares, metabolicamente ativo no local alvo incluindo a adesão ao epitélio ou muco, concorrência com a microbiota residente, produção de substâncias antimicrobianas e antagonismo contra bactérias patogênicas (GAGGIÀ; MATTARELLI; BIAVATI, 2010).

Vários microrganismos têm sido utilizados como probióticos, especialmente em leitões recém desmamados, dentre eles destacam-se principalmente estirpes bacterianas de bactérias Gram-positivas pertencentes aos tipos *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*; e as leveduras como às espécies de *Saccharomyces cerevisiae* (GÀGGIA; MATTARELLI; BIAVATI, 2010).

O uso de probióticos na produção suína visa estabelecer uma microbiota intestinal saudável e, assim, melhorar a saúde e o bem-estar dos animais (CHO et al., 2011, KENNY et al., 2011). De modo geral, promovem melhor desempenho zootécnico por reduzirem a contaminação por agentes patogênicos e melhorar a imunidade dos animais (KHAKSEFIDI; GHOORCHI, 2006). Com isso, os possíveis mecanismos de ação estão divididos em: interação direta com as células do hospedeiro, inibição do crescimento de patógenos e modulação das respostas imunes do hospedeiro (MA; SUZUKI; GUAN, 2018).

Em relação à interação com as células do hospedeiro, esta pode ocorrer de maneira direta com as células epiteliais do intestino e as células dendríticas modulando os sinais que levam à produção de muco e defensinas (SCHLEE et

al., 2007, 2008), aprimorando as *tigh junctions* e a barreira intestinal (SETH et al., 2008), e prevenindo a apoptose induzida por citocinas (YAN et al., 2007).

A inibição do crescimento de patógenos pode ocorrer pela produção de compostos antimicrobianos ou tóxicos, incluindo bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio, inibindo diretamente o crescimento de microrganismos patogênicos (MAZMANIAN; ROUND; KASPER, 2008), pela competição com patógenos por nutrientes impedindo-os de crescer e proliferar no intestino (BAJAJ; CLAES; LEBEER, 2015), através da competição com patógenos pelos sítios de adesão no epitélio intestinal, pela interação com as células dendríticas do hospedeiro aumentando assim, sua capacidade de fagocitose (BENE et al., 2017); e por abaixar o pH intestinal produzindo ácido lático ou acético e inibindo assim, o crescimento de alguns microrganismos patogênicos como *E. coli* e *Salmonella* (BERMUDEZ-BRITO et al., 2012).

A modulação das respostas imunes em tecidos linfoides associados ao intestino (GALT) é amplamente especializada (FAMULARO et al., 1997). A interação dos probióticos com as Placas de Peyer e as células epiteliais intestinais, estimulam a produção de IgA pelas células B e a produção de interferon pela proliferação de células T (PERDIGÓN; HOLGADO, 2000). Com isso, a atividade imunomoduladora tem sido relatada tanto na imunidade inata quanto na adaptativa (TSAI et al., 2012).

2.4 *Saccharomyces cerevisiae*

Com a proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento na Europa, a utilização de leveduras e produtos de levedura, como *Saccharomyces cerevisiae*, como aditivo alimentar em dietas de suínos, teve um acentuado aumento e foi relatada ao longo dos anos (MATHEW et al., 1998; VAN HEUGTEN; FUNDERBURKE; DORTON, 2003; VAN DER PEET-SCHWERING et al., 2007; BROADWAY; CARROLL; SANCHEZ, 2015). Seu mecanismo de ação, bem como seus benefícios, tem maior relato em animais ruminantes, como a melhor eficiência alimentar (MOALLEM et al., 2009) e melhora da produção e qualidade do leite (DESNOYERS et al., 2009).

Já em monogástricos os resultados têm sido contraditórios e seus efeitos benéficos ainda são vagos (XU et al., 2018). Kornegay et al. (1995) e Jurgens, Rikabi e Zimmermann (1997) não relatam efeito sobre o consumo de ração ou ganho de peso diário em leitões desmamados, enquanto Van Heugten et al (2003) e Li et al. (2006) encontraram aumento tanto na ingestão quanto no ganho de peso de leitões desmamados. Apesar dos resultados contraditórios, entende-se as leveduras vivas como probióticos que melhoram a saúde e desempenho de animais de criação, de forma genérica, agindo como um agente protetor contra microrganismos patogênicos (Tabela 1) (AUCLAIR, 2001).

Em condições normais, *S. cerevisiae* diferentemente de outros probióticos, como bactérias ácido lácticas, não faz parte da microbiota comensal do hospedeiro, no entanto, não há malefícios vinculados a sua ingestão. Não possuem a capacidade de colonizar o trato digestivo, mas uma parte significativa da levedura viva pode ser encontrada ainda viva nas fezes dos animais (AUCLAIR, 2001).

Geralmente, os mecanismos de ação relacionados a esse tipo de levedura envolvem efeitos benéficos na mucosa intestinal, imunomodulação intestinal, inibição da ação de toxinas, efeitos antagônicos contra microrganismos patogênicos (AUCLAIR, 2001) e efeito anti-inflamatório (SOUGIOULTZIS et al., 2006).

A levedura promove um aumento da atividade das dissacaridases (maltase, frutase e lactase) na mucosa intestinal, as quais são responsáveis pela degradação dos dissacarídeos em monossacarídeos, e assim, ocorre a absorção pelos enterócitos. Buts e De Keyser (1986) mostraram que em humanos e ratos, a ingestão de *S. cerevisiae* aumentou acentuadamente as atividades específicas e totais das dissacaridases, devido a liberação de poliaminas (espermina e espermidina) no lúmen intestinal que regulam a expressão gênica e síntese proteica. Essa descoberta se faz interessante pois algumas diarreias estão associadas com a diminuição das dissacaridases intestinais (AUCLAIR, 2001).

Ainda, pode ocorrer alterações morfológicas na mucosa intestinal, em que, segundo Bontempo et al. (2006), o uso de leveduras vivas pode aumentar

a altura das vilosidades intestinais e com isso, melhorando a relação vilosidade:cripta, indicando indiretamente, a maturidade e capacidade funcional dos enterócitos. Baum et al. (2002) também descobriram maior comprimento das vilosidades no intestino delgado de leitões alimentados com leveduras.

Durante a passagem da levedura pelo TGI, é observada a liberação de proteínas e fatores tróficos que aumentam as defesas imunes, a digestão e a absorção de nutrientes (BUTS e DE KEYSER, 2006). Estudos em camundongos e ratos demonstraram a indução significativa do aumento nos níveis de IgA secretados e o componente secretor das imunoglobulinas (QAMAR et al., 2001), mostrando seu efeito modulador da resposta imune.

A inibição da ação de toxinas patogênicas, segundo Rodrigues et al. (1996), se explica pelo efeito protetor da levedura de *S. cerevisiae* que reduz as quantidades disponíveis das toxinas secretadas e pela competição aos locais de adesão do epitélio intestinal.

O antagonismo contra microrganismos patogênicos foi observado *in vitro* em que após a adição da levedura houve uma acentuada inibição do crescimento de *E. coli* K88⁺ (AUCLAIR, 2001). Já *in vivo*, trabalhos mostram uma diminuição nos níveis populacionais de algumas espécies de *Candida spp.* (DUCLUZEAU e BENZAADA, 1982) e dos níveis de *E. coli* em leitões desmamados após quatro semanas de suplementação (LE BON et al, 2009). Além disso, Massot, Desconclois, Astoin (1983) utilizando *S. cerevisiae var boulardii* para humanos, observou a inibição de perdas de água, sódio e potássio induzidas pela *E. coli* em células epiteliais intestinais.

Sougioultzis et al. (2006) mostraram que a levedura tem capacidade de secretar substâncias anti-inflamatórias. Os autores observaram a secreção de um fator anti-inflamatório (<1 kDa) termoestável que inibe a produção de IL-8 (interleucina-8), a degradação de I κ B- α (proteína inibitória kB α) e reduz a ativação de NF-kB (fator nuclear kappa B).

O uso de probióticos a base de leveduras vivas de *S. cerevisiae* pode contribuir potencialmente com a microbiota intestinal, estimulando seletivamente o crescimento de bactérias benéficas e principalmente, suprimindo o

crescimento de bactérias patogênicas. Com isso, seu uso pode proporcionar melhora no desempenho produtivo, saúde e bem-estar dos animais.

Tabela 1. Resultados de trabalhos que utilizaram *Saccharomyces cerevisiae* como probióticos na fase de creche.

AUTOR	LEVEDURA	QNT	[]	Desafio	ATB	Zn	Cu	Desemp	Altura Vilosidade	Prof. cripta	Microb.	Diarreia	AGCC
Mathew et al, 1998	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1g/kg	-	-	-	-	-	GPD = 16,4% > C	-	-	NS	-	NS
Van Heugten et al, 2003	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> SC47	2g/kg	1,6 x 107 UFC/g	-	-	-	-	NS	-	-	-	-	-
Van Heugten et al, 2003	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> SC47	3g/kg	2,4 x 107 UFC/g	-	Pre-inicial - 440mg/kg clortetraciclina, 39mg/kg tiamulina; Inicial 1 e 2 - 110mg/kg tilosina e sulfametazina	2500 ppm	240 ppm	GPD = 10,6% > C	-	-	< bact. Totais	-	-
Bontempo et al, 2006	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ssp. <i>boulardii</i>	2g/kg	2 x 106 UFC	-	-	270 ppm	30 ppm	GPD = 8,8% > C	19,7% > C	26,5% > C	-	-	-
Jieyun Li et al, 2006	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	3 x 107 UFC/g	-	aureomicina 105 mg/kg	-	160mg/kg	GPD = 15%>C	-	-	NS	-	NS
Zongyong Jiang et al, 2015	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Y200007	3g/kg	4,3 x 109 UFC/g	-	bacitracina zinco 4 mg/kg	-	-	EA = 9% > C	10% > C	NS	-	-	-
Cui Zhu et al, 2017	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Y200008	3g/kg	4,3 x 109 UFC/g	-	bacitracina zinco 4 mg/kg	-	-	-	-	-	ceco e íleo: <i>e.coli</i> LY< <i>e.coli</i> C	-	-

Lianqiang Che et al, 2017	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNCM I- 4407 Actisaf	1g/kg	1010 UFC/g	E. coli K88	Colistina 20mg/kg + Aureomicina 75mg/kg	2100mg/kg	-	atb+zn = Ly (2 semana)	no jejuno- atb+zn = zy> com.etec/ no ileo- atb+zn>zy	NS	<i>e.coli</i> COM ETEC> <i>e.coli</i> LY/ lacto LY> lacto COM ETEC	atb+zn = Ly 24h pos desafio	-
---------------------------------	---	-------	---------------	----------------	--	-----------	---	------------------------------	---	----	--	---	---

Qnt: quantidade de Ceba utilizada; [] concentração; ATB: antibiotico; Zn: zinco; Cu: cobre; Desemp: desempenho; GPD: ganho de peso diário; Prof: profundidade; Microb: microbiologia; Prt:parte; E.coli: *Escherichia coli*; ETEC: *Escherichia coli* enterotoxigênica; Lacto:Lactobacilos; Bifido:Bifidobactéria; C: controle; LY: levedura viva; AGCC: ácido graxo de cadeia curta; EA: Eficiência alimentar.

3. HIPÓTESE

Leitões desafiados com *E. coli* F4 no período de creche, ao serem suplementados com cepas de levedura, terão um melhor desempenho e parâmetros de saúde intestinal.

4. OBJETIVOS

4.1 *Objetivo geral*

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de duas cepas de levedura em relação ao desempenho produtivo e aos parâmetros de saúde intestinal de leitões desafiados com *E. coli* F4.

4.2 *Objetivos específicos*

- Determinar se o fornecimento de probióticos em animais desafiados melhora o desempenho produtivo dos leitões;
- Avaliar se há mudanças na integridade da mucosa intestinal (altura de vilosidades e profundidade de criptas) e encontrar possíveis respostas fisiológicas ao uso dos probióticos;
- Avaliar se o efeito dos probióticos em animais desafiados, melhora a saúde dos leitões (hemograma);
- Analisar como o efeito do uso dos probióticos em animais desafiados interfere na composição microbiológica do conteúdo cecal;
- Analisar se há alterações na composição dos ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) no conteúdo cecal de leitões desafiados e suplementados com probióticos;
- Avaliar se o fornecimento de probióticos em animais desafiados diminui a ocorrência de diarreia, correlacionando com a efetividade dos probióticos;
- Analisar se o uso dos probióticos é viável economicamente.

5. EFEITO DA INCLUSÃO DE DUAS CEPAS DE LEVEDURA NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE LEITÕES DESAFIADOS COM *E. COLI* F4 NA FASE DE CRECHE

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de duas cepas de levedura em relação ao desempenho produtivo e aos parâmetros de saúde intestinal de leitões desafiados com *E. coli* F4. Para tanto, 192 leitões (machos castrados e fêmeas, 24 dias de idade, 6,4 ±0,92 kg de peso corporal), foram alocados em blocos casualizados (peso inicial e sexo), constituído por 12 repetições e quatro tratamentos, sendo: controle sem desafio (CS); cepa de levedura 1 (LY1), cepa de levedura 2 (LY2) e controle desafiado (CD). Os leitões foram alojados por 42 dias experimentais, divididos em três períodos, conforme as trocas de ração. As leveduras, *Saccharomyces cerevisiae*, foram incluídas na dieta durante todo o experimento. Em dois momentos, os animais do grupo CS receberam solução salina, enquanto os animais dos demais tratamentos receberam inóculo de *E. coli* F4 bacteriano, como forma de desafio. Os leitões do grupo LY1 foram superiores em 7% para o peso vivo, 13% em GPD, 9,5% em EA e 12% para o CRMD nas quatro primeiras semanas pós-desmame, comparado aos animais controle desafiado. Nenhuma das duas cepas de levedura foi eficaz em mitigar a diarreia pós-desmame, em alterar os parâmetros morfológicos intestinais, bem como o perfil sanguíneo, microbiota e ácidos graxos de cadeia curta. Com isso, a inclusão da cepa 1 foi capaz de minimizar os efeitos deletérios associados ao desafio provenientes à inoculação da *E. coli* nas primeiras semanas de creche.

Palavras-chave: diarreia; probiótico; *Saccharomyces cerevisiae*; saúde intestinal;

5.1. Introdução

Sabe-se que a fase pós-desmame é um dos períodos mais críticos da vida dos suínos, pois passam por importantes transformações ambientais, sociais e nutricionais. Além disso, pode-se incluir a precocidade do desmame nos sistemas produtivos (JENSEN; RECÉN, 1989; BARBA-VIDAL et al., 2018), a separação da mãe e do resto da leitegada, a nova hierarquia estruturada com leitegadas diferentes e a mudança abrupta da alimentação de leite para uma baseada em alimentos vegetais menos digestíveis (MOESER et al., 2007).

Somado a isso, há um sistema imunológico imaturo (LELLÉS et al, 2004), uma baixa capacidade digestiva devido a um trato gastrointestinal (TGI) ainda em desenvolvimento e a instabilidade da microbiota intestinal (WANG et al., 2013), o que pode ocasionar um aumento da susceptibilidade à microrganismos oportunistas comuns à suinocultura, como a *Salmonella* e a *Escherichia coli* enterotoxigênica (NAGY; FEKETE et al., 1999; FOUHSE et al., 2016, MARKOWIAK; ŚLIŻEWSKA, 2018). Esses agentes ocasionam sinais clínicos conhecidos, como a diminuição do consumo de ração, redução do ganho de peso, piora da conversão alimentar e diarreia.

Assim, têm-se buscado tecnologias nutricionais efetivas a fim de garantir o desempenho, a sanidade e o bem-estar dos suínos. Dentre elas, é possível evidenciar o uso dos probióticos, leveduras vivas como as do gênero *Saccharomyces spp.* Mesmo com seu mecanismo de ação não totalmente elucidado, acredita-se na capacidade de evitar disbiose da microbiota intestinal e possibilitar um melhor desempenho do animal. Isso se dá, em partes, pela melhora do ambiente microbiano gastrointestinal impedindo, por meio de competição, a fixação de patógenos; estímulo das respostas imunes intestinais e melhora da digestão e absorção de nutrientes (BROWN et al., 2012).

No entanto, os estudos têm se mostrado contraditórios, enquanto alguns autores relataram sua eficácia nos parâmetros produtivos (BONTEMPO et al., 2006; KIROS et al., 2018), diminuição da ocorrência de diarreia, modulação da microbiota intestinal (KIROS et al., 2018; UPADRASTA et al., 2013), bem como na melhoria da saúde dos animais (APIC et al., 2016), outros não encontraram efeitos positivos com o seu uso (EDWARDS-INGRAM et al., 2007; KORNEGAY

et al., 2014). Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de duas cepas de levedura em relação ao desempenho produtivo e aos parâmetros de saúde intestinal de leitões desafiados com *E. coli* F4.

5.2. Material e Métodos

A pesquisa em animais foi conduzida de acordo com o comitê institucional sobre uso de animais (protocolo: 3743220518). O estudo foi conduzido em uma fazenda experimental na cidade de Pirassununga, São Paulo, Brasil (21° 59' 46" S e 47° 25' 36" O), agosto de 2019.

5.2.1 Animais e instalações

Foram utilizados 192 leitões (machos castrados e fêmeas) de linhagem genética *Choice Genetics*, obtidos a partir de um rebanho suíno comercial. Os leitões foram desmamados aos 24 dias de idade, com peso vivo médio de 6,7 ±0,92 kg, alojados na unidade de creche dotada de baias suspensas, piso 50% ripado, com comedouros semiautomáticos e bebedouros tipo chupeta. A temperatura foi controlada através da regulagem de cortinas laterais e uso de lâmpadas de aquecimento.

5.2.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi realizado em blocos casualizados (peso inicial e sexo) com quatro tratamentos e 12 repetições. A unidade experimental para o desempenho foi composta pela média dos animais presentes na baia (quatro animais por baia). O período experimental foi de 42 dias dividido em três períodos de acordo com as trocas de ração, ou seja, pré-inicial 1 (0 a 7 dias), pré-inicial 2 (8 a 28 dias) e inicial (29 a 42 dias).

Foram utilizados quatro tratamentos:

- CS: Controle negativo **sem** desafio;
- LY1: Cepa 1 (2,0 kg/ton na dieta pré 1 e 1,0 kg/ton nas outras fases) **com** desafio;
- LY2: Cepa 2 (2,0 kg/ton na dieta pré 1 e 1,0 kg/ton nas outras fases) **com** desafio;

- CD: Controle positivo **com** desafio.

Foi realizado um choque de antibiótico composto de 200 ppm de doxiciclina, via ração na primeira semana de experimento. Isso, devido a um experimento anterior, onde cerca de 17% dos animais vieram a óbito na primeira semana de experimento sem a adição de um antibiótico inicial. Além disso, durante os sete primeiros dias de creche, foi fornecido 3000 ppm de óxido de zinco e nos 21 dias subsequentes o óxido de zinco foi reduzido a 2300 ppm. Os 14 dias finais, não houve a inclusão do óxido de zinco.

Os probióticos utilizados eram compostos por leveduras vivas de *Saccharomyces cerevisiae*, cada tratamento com uma cepa de fabricante distinto. No entanto, o teor de leveduras vivas utilizadas em ambos foi de $1,0 \times 10^{10}$ UFC/g. Os probióticos foram incluídos em substituição ao material inerte (caulim) nas rações pré-inicial 1 (2 kg/ton), pré-inicial 2 (1 kg/ton), e inicial (1 kg/ton). As dietas estão apresentadas na tabela 2, foram formuladas para atender ou exceder às exigências nutricionais de cada fase, segundo o NRC (2012).

Tabela 2. Composição centesimal e valores nutricionais calculados das dietas utilizadas nas diferentes fases do experimento.

Ingredientes (kg)	Pré-inicial 1	Pré-Inicial 2	Inicial
Milho	25,000	40,000	62,000
Farelo de Soja 45%	15,000	20,000	27,000
Soja integral micronizada	9,000	1,750	7,000
Concentrado proteico de soja	6,000	6,250	-
Amido	23,449	15,821	0,757
Soro de leite em pó	12,097	6,250	-
Produto lácteo, 38% de lactose	6,000	6,250	-
DL-Metionina	0,227	0,187	0,101
L-Triptofano	0,052	0,040	0,008
L-Treonina	0,185	0,158	0,091
L-Lisina	0,500	0,434	0,312
L-Valina	0,114	0,071	-
Fitase	0,010	0,010	0,010
Premix Vit/Min ¹	1,000	1,000	1,000
Sal	0,200	0,250	0,400
Calcário	-	-	0,579
Fosfato bicálcico	0,542	0,704	0,668

Sulfato de cálcio	0,550	0,750	-
Antioxidante	0,025	0,025	0,025
Flavorizante	0,050	0,050	0,050
Caulim	0,500	0,500	0,500
Valores Calculados			
Energia metabolizável, Kcal/kg	3433,21	3369,17	3309,10
Proteína bruta	19,88	19,90	20,67
Lisina Total (%)	1,56	1,46	1,34
Lisina Digestível (%)	1,45	1,39	1,17
Ca (%)	0,73	0,63	0,60
P (%)	0,44	0,48	0,47
P disp (%)	0,36	0,38	0,35
AA Sulfurado (%)	0,76	0,73	0,67
Lactose (%)	11,11	6,97	-

¹ Composição/kg do produto: Cu (12,00 mg); Fe (80,00 mg); I (1,00 mg); Mn (40,00 mg); Se (0,36 mg); Zn (110,00 mg); vit. A (6875,00 U.I.); vit. D3 (1505,00 U.I.); vit. E (40,00 mg); vit. K3 (3,07 mg); vit. B1 (1,00 mg); vit. B2 (3,13 mg); vit. B6 (2,00 mg); vit. B12 (0,02 mg); niacina (30,00 mg); ácido fólico (0,30 mg); ácido pantotênico (15,00 mg); biotina (0,10 mg); colina (200,97 mg).

5.2.4 Procedimentos experimentais

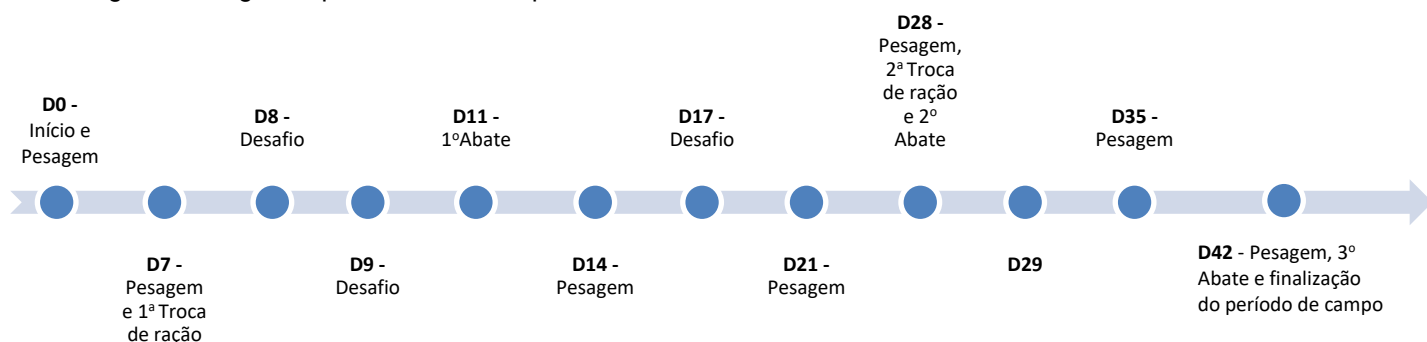
Na figura 1, é possível visualizar o diagrama dos procedimentos experimentais durante os 42 dias de experimento. O desafio ocorreu no oitavo, nono e décimo sétimo dia de experimento. No oitavo e nono dia, dias esses escolhidos a fim de mimetizar os dias de maior desafio de uma granja comercial; os leitões do tratamento CS receberam 1 ml de solução salina, via sonda esofágica, e os leitões dos tratamentos LY1, LY2 e CD receberam 1 ml de solução contendo 10^6 UFC/ml de *E. coli*. Além disso, os animais passaram por um estresse térmico para melhor efetividade do desafio o qual constituiu de cortinas abertas e lâmpadas apagadas durante o período mais frio (noite) e cortinas fechadas e lâmpadas acesas no período mais quente (dia), do dia seis ao dia 11 de experimento. No entanto, os animais não responderam aos desafios pois apresentavam hígidos e com escore fecal considerado normal, por isso foi realizada outra inoculação no décimo sétimo dia. Os animais dos tratamentos com desafio receberam 2 ml do inóculo a uma concentração de 10^9 UFC/ml de *E. coli*.

O inóculo bacteriano foi preparado a partir da cepa de campo *Escherichia coli* F4 (LT⁺, STa⁺ e STb⁺). A cepa foi cultivada em meio de cultura durante 16 horas, à 37°C, e em seguida foi lavada sequencialmente em PBS (tampão

fosfato-salino), até a concentração de 10^6 ou 10^9 UFC/ml, de acordo com a metodologia de Silveira (2014).

Aos 11, 28, e 42 dias de experimento nove animais de cada tratamento foram abatidos, 36 animais por período, totalizando 108 animais abatidos ao final do experimento, os animais selecionados para abate foram aqueles que apresentavam o peso mais próximo ao peso médio da sua respectiva unidade experimental. O abate foi realizado com a técnica de eletronarcose para insensibilização dos animais, seguido por exsanguinação, no frigorífico da Universidade de São Paulo – *Campus Pirassununga*.

Figura 1. Diagrama procedimentos experimentais



5.2.5 Avaliação do desempenho

Os animais foram pesados ao início do experimento, aos sete, 11, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de experimento. A ração fornecida e as sobras foram avaliadas diariamente. Com base nesses dados, calculou-se o ganho de peso diário (GPD), o consumo de ração diário (CRD) e eficiência alimentar (EA).

5.2.6 Ocorrência de diarreia

Duas vezes ao dia, durante todo o experimento, foi realizada a análise do escore fecal através da classificação das fezes na baia e calculada a ocorrência de diarreia, por baia, em percentagem relacionada aos dias de estudo. Seguindo a metodologia de Pedersen e Toft (2011), sendo associada à presença de fezes líquidas ou pastosas, com escore fecal de 1 a 4. Os escores eram avaliados com a nota de 1 a 4, de acordo com a consistência fecal (figura 2): escore 1, fezes firmes e moldadas; escore 2, fezes moles e moldadas; escore 3, fezes moles e

escore 4, fezes aquosas. Com a representação de fezes normais os escores de 1 e 2; e diarreia os escores de 3 e 4.

Figura 2. Escore fecal



5.2.7 Hemograma

A fim de monitorar o perfil sanguíneo, foram coletadas amostras de sangue em cada abate seriado, através de um tubo de coleta com anticoagulante (EDTA) no momento da exsanguinação para realização de hemograma.

As análises foram realizadas de forma automatizada - utilizando a metodologia de impedância elétrica e colorimetria - as contagens globais de hemácias/uLs, leucócitos totais/uL, taxa de hemoglobina g/dL, determinação do hematócrito %, determinação dos índices hematimétricos absolutos - VCM, HCM, CHCM - e contagem global de plaquetas/uL. Além disso, houve contagem diferencial de leucócitos e avaliação da morfologia celular de forma manual, utilizando esfregaços sanguíneos corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa modificado.

5.2.8 Morfometria intestinal

Após o abate, amostra do jejuno (2,0 cm) foi coletada para avaliação da integridade da mucosa. A amostra foi previamente lavada com água destilada, colocada em cassete histológico e submersa em uma solução com formol tamponada a 10% por 48 horas, e em seguida colocada em álcool 70% até o processamento da amostra. Para a preparação das lâminas, as amostras passaram por desidratação em série crescente de álcoois (70%, 96%, 100%), clarificadas com xilol, incluídas em parafina e microtomizadas (4µm de

espessura). A coloração dos cortes foi realizada com hematoxilina-eosina (HE) e com isso, foi possível examinar e avaliar a estrutura microanatômica e determinar a altura das vilosidades (V) (10 vilosidades medidas por seção), a profundidade da cripta (C) (10 criptas medidas por seção) e a relação altura das vilosidades até a profundidade da cripta (V: C). As lâminas foram analisadas através de microscópio óptico com câmera associada e foi utilizado software analisador de imagens (ImageJ).

5.2.9 Composição Microbiológica do conteúdo cecal

Nos dias do abate, foram coletadas amostras do conteúdo cecal dos animais. Pós abate, foi realizada uma incisão no ceco dos animais e o conteúdo armazenado em potes de coleta, imediatamente colocados no gelo e posteriormente no freezer até o dia das análises. Foram realizadas análises das colônias de *E. coli*, Enterobactéria, Bifidobacterium e Lactobacilos no ambiente intestinal.

Foram utilizados meios de cultura seletivos específicos para cada tipo de bactéria; todas as amostras passaram por diluição seriada em PBS, fracionando-as de 10^{-1} a 10^{-3} para *E. coli*, Enterobactéria e Bifidobactéria; e de 10^{-1} a 10^{-5} para Lactobacilos. Para a quantificação de *E. coli* foi utilizado meio Harlequin *E. coli*/coliform ágar como meio seletivo cromogênico; foi inoculado 0,1 ml de cada diluição por placa através da técnica de *spread plate*. Após incubação por 24 horas a 37°C foram contadas as colônias azul/verde. Para a análise de Bifidobactéria foi utilizado ágar BSM (Sigma Aldrich) junto do suplemento BSM; e novamente foi inoculado 0,1 ml para todas as diluições com a técnica *spread plate*. As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose por 48 horas a 37°C e então levadas para a contagem. Finalmente, a análise de Lactobacillus foi realizada através do meio seletivo ágar MRS e dessa vez, foi inoculado 1 mL de cada diluição, adotando-se a técnica de *pour plate*; as placas foram incubadas por 24 horas, a 37°C.

As contagens de todas as colônias (UFC/g) foram submetidas a transformação logarítmica (\log_{10}) antes da análise estatística.

5.2.10 Composição de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

A análise dos ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato, isobutirato, butirato, isovalerato e valerato) foi realizada a partir de conteúdo cecal coletado, em tubos falcon, após abate. Em uma amostra de 2 g do conteúdo foi adicionado 4 mL de ácido fórmico (17%) para extrair e conservar os ácidos graxos presentes, posteriormente foi realizada a centrifugação a 2500 rpm e então o sobrenadante foi analisado para quantificação dos AGCC utilizando o cromatógrafo de gás Agilent 7890A equipado com detector de ionização de chama (7683B) e uma coluna capilar de sílica fundida (J & W 19091F-112, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), de 25 m de comprimento e 320 µm de diâmetro interno, contendo 0,20 µM de cianopropil polissiloxano. A aquisição de dados foi realizada por meio do software ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). O tempo total de execução cromatográfica foi de 16,5 min, dividido em três ciclos de aquecimento, como segue: 80 °C (1 min), 120 °C (20 °C / min por 3 min) e 205 °C (10 °C / min por 2 min). O hidrogênio foi usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 1,0 mL / min, e a temperatura do injetor e detector era 260 °C. O gás nitrogênio foi usado como gás de “reposição” a uma taxa de 30 mL / min. O hidrogênio foi usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 1,35 mL / min, e a temperatura do injetor e detector foi 260 °C. O gás nitrogênio foi usado como o gás de “reposição” a uma taxa de 40 mL / min. A opção de divisão na proporção de 20:1 foi usada. A concentração de AGCC (mM) foi calculada com base em uma curva de calibração externa feita com cromatografia padrões (Chem Service, West Chester, PA, EUA) de ácido acético (995 mL / L, CAS 64-19-97); ácido propiônico (990 mL / L, CAS 9.4.79); ácido isobutírico (990 mL / L, CAS 79-31-2) ácido butírico (987 mL / L, CAS 107-92-6), isovalérico (990 mL / L, CAS 503-74-2) e ácido valérico (990 mL / L, CAS 109-52-4).

5.2.11 Análise econômica

Ao final do experimento foi realizada análise econômica com o intuito de avaliar a viabilidade da utilização ou não dos probióticos na dieta de leitões na fase de creche. As variáveis analisadas foram receita, margem bruta, renda líquida e retorno sobre o investimento, conforme dados da Central de Inteligência

de Aves e Suínos (CIAS) para o mês de agosto de 2019. Os custos totais de produção foram compostos por (i) custos com ração e (ii) outros custos. Os "outros custos de produção" foram considerados de acordo com custos da agroindústria em uma Unidade Produtora de Leitões de Creche (UPLC), e são representados por: custos com mão de obra; sanidade; transporte; manutenções; depreciações; energia elétrica; custo do capital; e diversos. Para a composição da receita da atividade, foi considerado o valor de venda do animal estipulado na bolsa de Suínos da Associação Paulista dos Criadores de Suínos (APCS), para o mês de setembro de 2019. Como forma de correção de preço, agregou-se 60% ao preço do cevado (APCS) para compor o preço de venda do leitão descrechado.

5.2.12 Análise Estatística

O teste de *Shapiro-Wilk* foi utilizado para analisar a normalidade dos dados e quando eles não apresentaram essa distribuição foi realizada a transformação usando o PROC RANK (SAS INSTITUTE INC, 2009).

Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância. Quando houve diferença estatística pelo teste de F ($P < 0,05$) foi adotado o teste de Tukey para comparação das médias. Os dados foram submetidos ao pacote estatístico do software SAS (2009) através do procedimento MIXED.

Para a variável ocorrência de diarreia, foi utilizado o procedimento NPAR1WAY do SAS, para as variáveis que foram rejeitadas pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de probabilidade de 5%, o teste de Dunn foi aplicado como *pos-hoc* para comparações múltiplas pareadas com $P < 0,05$ sendo considerado significativo.

5.3 RESULTADOS

Desempenho

O experimento foi dividido em três períodos (0-7, 8-28, 29-42), conforme as trocas de ração e o desempenho dos animais também foi considerado nos mesmos períodos e na fase total (Tabela 3). No primeiro período (0-7 dias), os animais do tratamento LY1 apresentaram peso vivo superior em 3,4% ($P = 0,031$),

ganho de peso diário (GPD) superior em 15,2% ($P=0,033$) e a eficiência alimentar melhor em 9,5% ($P=0,009$) quando comparado aos animais do tratamento CD.

No segundo período (8-28 dias), os animais do tratamento LY1 apresentaram peso vivo superior em 7,7% ($P < 0,01$), GPD superior em 11,3% ($P < 0,01$) e consumo de ração diário (CRD) superior em 12,3% ($P = 0,012$) quando comparado aos animais do tratamento CD.

Por fim, para o último período (29-42 dias) bem como para a fase total (0-42 dias) não foram observados efeitos significativos dos tratamentos ($P > 0,10$).

Tabela 3. Desempenho de suínos na fase de creche desafiados com *E. coli* F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.

Variáveis	Tratamento				EPM	Valor de P
	CS	LY1	LY2	CD		
Peso inicial, kg	6,71	6,70	6,70	6,70	0,2678	0,625
Peso 7 dias, kg	8,70 ab	8,83 a	8,75 ab	8,54 b	0,3650	0,031
GPD, 0-7 dias, kg	0,284 ab	0,304 a	0,293 ab	0,264 b	0,0163	0,033
CRD, 0-7 dias, kg	0,383	0,400	0,391	0,385	0,0208	0,605
EA 0-7 dias	0,762 ab	0,752 a	0,742 a	0,687 b	0,0165	0,009
Peso 28 dias, kg	18,61 ab	19,26 a	18,66 ab	17,88 b	0,6591	0,0009
GPD, 8-28 dias, kg	0,470 ab	0,493 a	0,472 ab	0,443 b	0,0160	0,002
CRD, 8-28 dias, kg	0,715 ab	0,756 a	0,719 ab	0,673 b	0,0319	0,012
EA 8-28dias	0,661	0,657	0,663	0,659	0,0124	0,975
Peso 42 dias, kg	26,01	26,48	26,28	25,72	0,7565	0,322
GPD, 29-42 dias, kg	0,528	0,504	0,520	0,534	0,0203	0,680
CRD, 29-42 dias, kg	0,937	0,958	0,960	0,971	0,0407	0,900
EA 29-42 dias	0,573	0,527	0,546	0,554	0,0197	0,382
GPD, 0-42 dias, kg	0,458	0,466	0,458	0,443	0,0135	0,255
CRD, 0-42 dias, kg	0,734	0,764	0,744	0,725	0,0296	0,354
EA 0-42 dias	0,629	0,612	0,619	0,614	0,0110	0,573

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média; GPD: Ganho de peso diário; CRD: consumo de ração diário; Médias na linha seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey com $P < 0,05$.

Ocorrência de diarreia

A análise do escore fecal foi realizada duas vezes ao dia e estão representadas na tabela 4, as porcentagens de cada escore fecal, o escore fecal

médio de cada tratamento e o escore fecal total de acordo com os três períodos do experimento, nesse caso foi apresentado em relação as semanas: semana 1 (0 - 7 dias), semana 2 a semana 4 (8 - 28 dias), semana 5 a semana 6 (29 - 42 dias) e o período total do experimento (0 - 6 semanas).

No primeiro período, a diferença estatística observada foi em relação aos tratamentos LY2 comparado com o CS. Foi observado um aumento de 41,6 % ($P = 0,042$) no escore 2 do tratamento LY2. Para as outras variáveis, não foram observadas diferenças estatísticas.

No segundo período os animais foram desafiados com a cepa de *E. coli* F4 e os resultados foram mais expressivos. Os animais do tratamento CS apresentaram resultados de escore 1 superiores em 13,6% ($P = 0,04$) em relação ao tratamento LY2. Já em relação ao escore 2, esses animais apresentaram resultados superiores em 46,4% ($P = 0,0347$) comparados ao tratamento CS. Resultados significativos também foram encontrados no escore 3 em que os animais do tratamento LY1 apresentaram redução de 85,3% ($P < 0,01$) comparados ao tratamento LY2. Por fim, no escore fecal médio de cada tratamento, o tratamento CS apresentou escore mais próximo de 1 sendo 10% menor que o tratamento LY2 ($P = 0,044$).

No último período não foram observados efeitos significativos dos tratamentos ($P > 0,10$).

Por fim, para o período total, foram observadas diferenças significativas para os escores 1, 2 e total. Os animais do tratamento CS apresentaram resultados superiores para a variável escore 1 em 13,4 % ($P = 0,02$) comparado ao tratamento LY2 e em 10% ($P = 0,02$) comparado ao tratamento CD. Já para a variável escore 2, os animais do tratamento LY2 apresentaram resultados maiores em 25% ($P < 0,01$) quando comparados ao tratamento CD. Em relação a variável escore fecal total médio de cada tratamento, os resultados foram diferentes para os tratamentos LY2 e CD, que apresentaram o mesmo valor (1,489), sendo superiores em 6% ($P = 0,049$) quando comparados ao tratamento CS apresentando fezes mais moles.

Tabela 4. Percentual de animais avaliados nos Escore fecal* de suínos na fase de creche desafiados com *E. Coli* F4 recebendo dietas suplementadas com levedura e escores fecais médios...

Variáveis	Tratamento				EPM	Valor de P
	CS	LY1	LY2	CD		
Escore 1 S1, %	83,02	76,96	75,45	76,56	9,67	0,245
Escore 2 S1, %	13,55	b 19,91	ab 23,21	a 19,94	ab 8,62	0,042
Escore 3 S1, %	2,72	3,13	1,24	3,26	2,74	0,402
Escore 4 S1, %	0,71	0,00	0,10	0,23	0,75	0,243
Escore fecal S1	1,211	1,262	1,260	1,272	0,12	0,599
Escore 1 S2-4, %	86,30	a 81,45	ab 74,56	b 80,21	ab 9,04	0,040
Escore 2 S2-4, %	12,50	b 18,19	ab 23,34	a 17,79	ab 8,32	0,035
Escore 3 S2-4, %	1,21	ab 0,31	b 2,11	a 1,82	ab 1,72	0,007
Escore 4 S2-4, %	0,00	0,05	0,00	0,18	0,21	0,098
Escore fecal S2-4	1,149	b 1,190	ab 1,275	a 1,220	ab 0,10	0,044
Escore 1 S5-6, %	29,05	25,89	23,68	22,19	8,45	0,266
Escore 2 S5-6, %	56,68	58,09	62,92	59,19	6,56	0,127
Escore 3 S5-6, %	13,10	12,94	10,63	14,77	5,34	0,268
Escore 4 S5-6, %	1,17	3,08	2,77	3,85	3,38	0,179
Escore fecal S5-6	1,864	1,932	1,925	2,003	0,17	0,145
Escore 1 total, %	66,67	a 62,18	ab 57,75	b 60,26	b 7,22	0,020
Escore 2 total, %	27,40	b 31,78	ab 36,51	a 31,95	ab 6,21	0,003
Escore 3 total, %	5,42	4,99	4,80	6,38	2,14	0,413
Escore 4 total, %	0,51	1,05	0,94	1,41	1,13	0,230
Escore fecal total	1,398	b 1,449	ab 1,489	a 1,489	a 0,10	0,049

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média; *Categorias de consistência fecal: escore 1 = firme e moldado, escore 2 = mole e moldado, escore 3 = mole e escore 4 = aquoso, onde escores de 1 e 2 representaram fezes normais e escores de 3 e 4 representaram diarreia (Pedersen e Toft, 2011); Escore fecal total: Média ponderada dos escores fecais; EPM: Erro padrão da média; Médias na linha seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Dunn com $P < 0,05$.

Hemograma

Os dados do hemograma estão apresentados na tabela 5 e foram divididos conforme os períodos do estudo. Sendo realizada a coleta no momento da exsanguinação de cada abate (Abates 1, 2 e 3).

Não foram observados efeitos significativos entre os grupos de tratamento para todos os parâmetros avaliados ($P > 0,05$) nos abates 1 e 2. No entanto, foi observada diferença significativa apenas no último abate para a variável eritoblastos/100 leucócitos, em que os animais do tratamento LY2 apresentaram

um aumento de 170% quando comparados aos animais do tratamento CS (P=0,050).

Tabela 5. Hemograma completo de suínos na fase de creche desafiados com E. Coli F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.

Variáveis	Tratamento				EPM	Valor de P
	CS	LY1	LY2	CD		
Abate 1						
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	6,28	6,00	6,05	6,04	0,223	0,781
Hemoglobina (g/dL)	11,39	10,79	10,90	10,98	0,405	0,731
Hematócrito (%)	35,69	34,41	34,62	34,39	1,276	0,869
VCM (fL)	57,08	57,39	57,30	57,09	0,767	0,978
HCM (pg)	18,11	17,91	17,99	18,10	0,307	0,923
CHCH (%)	31,80	31,31	31,47	31,83	0,282	0,321
Eritroblastos/ 100 Leucócitos	1,75	3,44	5,50	2,00	1,697	0,377
Leucócitos Totais Corrigidos (μL)	16067	16852	19036	16795	1664,110	0,611
Neutrófilos bastonetes (%)	0,500	1,222	1,200	0,875	0,524	0,739
Neutrófilos Segmentados (%)	45,625	45,111	42,200	42,875	4,923	0,943
Linfócitos (%)	50,375	50,333	52,400	53,375	4,929	0,951
Monócitos (%)	2,250	2,111	2,800	1,750	0,514	0,707
Eosinófilos (%)	0,375	0,444	0,700	0,625	0,312	0,811
Basófilos (%)	0,875	0,778	0,700	0,500	0,315	0,833
Plaquetas (x10 ³ /μL)	353,25 0	346,44 0	391,300	217,50 0	65,936	0,261
Proteína plasmática (g/dL)	5,175	4,978	5,260	4,975	0,136	0,216
Relação Neutrófilo/linfócito	1,040	1,087	1,028	0,976	0,266	0,852
Abate 2						
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	6,19	6,93	6,62	6,92	0,426	0,676
Hemoglobina (g/dL)	10,25	11,37	11,28	10,94	0,685	0,760
Hematócrito (%)	33,56	37,42	36,84	35,98	2,254	0,764
VCM (fL)	48,49	54,10	55,74	52,23	3,192	0,189
HCM (pg)	14,76	16,36	17,00	15,82	0,984	0,262
CHCH (%)	27,10	30,35	30,54	30,36	1,711	0,988
Eritroblastos/ 100 Leucócitos	1,22	2,11	2,11	2,78	1,197	0,551
Leucócitos Totais Corrigidos (μL)	13673,00	14089,00	16401,00	15957,00	1422,570	0,586
Neutrófilos bastonetes (%)	0,44	0,11	0,11	0,22	0,162	0,337
Neutrófilos Segmentados (%)	36,22	45,00	43,33	41,11	3,939	0,440
Linfócitos (%)	49,88	53,15	53,38	56,41	4,540	0,708
Monócitos (%)	1,33	1,33	2,22	1,33	0,361	0,239
Eosinófilos (%)	0,77	0,66	1,11	0,44	0,304	0,394

Basófilos (%)	0,11	0,22	0,33	0,00	0,124	0,289
Plaquetas (x10 ³ /μL)	531,89	633,44	566,00	433,67	94,974	0,502
Proteína plasmática (g/dL)	5,00	5,54	5,40	5,38	0,325	0,561
Relação Neutrófilo/linfócito	0,78	0,94	0,84	0,84	0,134	0,780

Abate 3

Hemácias (x10 ⁶ /μL)	7,45	7,52	7,31	7,62	0,182	0,621
Hemoglobina (g/dL)	12,49	12,59	12,06	12,33	0,325	0,636
Hematócrito (%)	40,79	41,23	39,74	40,87	1,119	0,774
VCM (fL)	54,69	54,88	54,39	53,83	0,940	0,880
HCM (pg)	16,68	16,67	16,42	16,18	0,284	0,540
CHCH (%)	30,58	30,50	30,32	30,11	0,198	0,327
Eritroblastos/ 100 Leucócitos	2,45	3,04	6,79	5,62	1,174	0,050
Leucócitos Totais Corrigidos (/μL)	20388,00	22429,00	23343,00	21406,00	2903,210	0,938
Neutrófilos bastonetes (%)	0,30	0,51	0,68	0,52	0,310	0,780
Neutrófilos Segmentados (%)	53,00	55,67	55,89	49,00	4,783	0,707
Linfócitos (%)	40,21	37,96	37,93	44,97	4,828	0,678
Monócitos (%)	5,42	5,62	4,69	3,43	1,146	0,357
Eosinófilos (%)	0,66	0,43	0,78	1,63	0,401	0,244
Basófilos (%)	0,22	0,00	0,11	0,38	0,160	0,418
Plaquetas (x10 ³ /μL)	427,22	582,11	526,22	440,00	79,977	0,443
Proteína plasmática (g/dL)	5,94	6,26	6,03	6,02	0,131	0,187
Relação Neutrófilo/linfócito	1,72	1,74	1,91	1,31	0,422	0,634

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média; Médias na linha seguidas por letras minúsculas distintas diferem pelo teste de Tukey com P<0,05.

Morfometria intestinal

Os parâmetros de morfometria avaliados foram altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação vilosidade:cripta. Os resultados foram apresentados em relação aos períodos de abate (1, 2, 3) e podem ser observados na tabela 6.

No presente estudo, não houve efeitos significativos entre os grupos de tratamentos para todos os parâmetros analisados (P>0,05).

Tabela 6. Análise histológica de amostras de jejuno de leitões desmamados, alimentados com dietas contendo leveduras e desafiados com *E. coli* F4.

Variáveis	Tratamentos				EPM	Valor P
	CS	LY1	LY2	CD		
Abate 1						

Altura de vilosidade (μm)	270,43	310,01	279,07	285,82	22,74	0,620
Profundidade de cripta (μm)	225,34	186,96	232,27	201,07	34,04	0,925
Relação vilosidade:cripta	1,25	1,92	1,30	1,43	0,262	0,361
Abate 2						
Altura de vilosidade (μm)	302,05	281,11	253,38	318,97	36,11	0,536
Profundidade de cripta (μm)	273,16	292,62	254,17	318,8	31,05	0,429
Relação vilosidade:cripta	1,08	1,00	1,06	1,08	0,182	0,985
Abate 3						
Altura de vilosidade (μm)	257,89	327,7	249,39	313,22	60,34	0,399
Profundidade de cripta (μm)	248,22	326,7	306,96	272,39	44,78	0,378
Relação vilosidade:cripta	1,07	1,01	0,98	1,20	0,29	0,734

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média.

Composição Microbiológica do conteúdo cecal

Os dados de microbiologia estão apresentados na tabela 7 e foram divididos conforme os períodos de abate 1, 2 e 3. As variáveis analisadas (UFC/g) foram: *E. coli*, Enterobactérias, Lactobacilos e Bifidobactéria.

Não foram observados efeitos significativos entre os grupos de tratamento para todos os parâmetros avaliados ($P>0,05$) nos abates 1 e 3. No entanto, foi observada diferença significativa no abate 2 para a variável Bifidobactéria, em que os animais do tratamento CD apresentaram um aumento de 10,5% quando comparados aos animais do tratamento LY1 e LY2 ($P=0,018$).

Tabela 7. Composição microbiológica do conteúdo cecal do jejuno de suínos na fase de creche desafiados com *E. Coli* F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.

Variáveis (UFC/g)	Tratamento				EPM	Valor de P
	CS	LY1	LY2	CD		
Abate 1						
<i>E. coli</i>	3,15	2,63	2,68	2,98	0,302	0,743
Enterobactéria	2,97	2,91	2,86	3,54	0,499	0,488
Lactobacilos	7,68	7,60	7,46	7,98	0,213	0,257
Bifidobactéria	4,95	4,88	4,68	5,23	0,236	0,399
Abate 2						
<i>E. coli</i>	4,26	4,41	4,60	5,13	0,352	0,216
Enterobactéria	4,04	4,05	3,99	4,54	0,382	0,490
Lactobacilos	6,94	7,35	7,12	7,55	0,198	0,184

Bifidobactéria	5,34	ab	5,28	b	5,24	b	5,86	a	0,172	0,018
Abate 3										
<i>E. coli</i>	4,71		3,33		4,33		4,04		0,741	0,485
Enterobactéria	3,43		-		5,06		3,70		0,042	-
Lactobacilos	8,06		7,46		7,87		7,68		0,278	0,566
Bifidobactéria	4,35		4,38		4,52		4,50		0,217	0,941

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média; Médias na linha seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey com $P < 0,05$.

Composição de ácidos graxos de cadeia curta

Os ácidos graxos de cadeia curta avaliados foram: acetato, propionato, isobutirato, butirato, isovalerato e valerato. Os resultados foram apresentados em relação aos períodos de abate (1, 2, 3) e podem ser observados na Tabela 8.

No presente estudo, não houve efeitos significativos entre os grupos de tratamentos para todos os parâmetros analisados ($P > 0,05$). No entanto, foram observadas tendência para as variáveis acetato e valerato no primeiro abate; e butirato no segundo abate. Em relação ao acetato, os animais do tratamento LY1 e LY2 apresentaram valores 24,7% superiores comparado aos animais do tratamento CD ($P = 0,058$). Já para a variável valerato, foi observado um aumento de 47,4% nos animais do tratamento CD comparados aos animais do tratamento CS ($P = 0,062$). O butirato apresentou níveis 31,27% dos tratamentos LY1 e LY2 quando comparado aos animais do tratamento CS e CD.

Tabela 8. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal de suínos na fase de creche desafiados com *E. coli* F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.

Variáveis (mM)	Tratamento				EPM	Valor de P
	CS	LY1	LY2	CD		
Acetato	19,70	21,83	24,16	18,19	1,632	0,058
Propionato	7,32	8,68	8,51	8,44	0,692	0,453
Isobutirato	0,117	0,088	0,150	0,125	0,037	0,722
Butirato	2,70	3,35	3,70	2,91	0,373	0,187
Isovalerato	0,115	0,103	0,176	0,123	0,046	0,846
Valerato	0,293	0,433	0,517	0,557	0,085	0,062

Abate 2

Acetato	14,33	18,49	15,25	15,74	1,962	0,492
Propionato	6,46	8,98	7,96	6,84	0,744	0,100
Isobutirato	0,162	0,281	0,276	0,216	0,058	0,633
Butirato	2,47	4,15	4,22	2,90	0,570	0,094
Isovalerato	0,187	0,416	0,372	0,268	0,088	0,379
Valerato	0,438	0,796	0,823	0,557	0,132	0,314
Abate 3						
Acetato	21,51	22,90	19,63	23,05	1,613	0,403
Propionato	12,14	12,33	10,34	12,95	0,984	0,202
Isobutirato	0,108	0,075	0,037	0,079	0,108	0,538
Butirato	5,03	6,71	5,04	6,56	0,846	0,305
Isovalerato	0,139	0,074	0,069	0,107	0,065	0,647
Valerato	1,151	1,559	1,238	1,634	0,252	0,242

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média.

Análise Econômica

A análise econômica foi realizada ao final do experimento levando em consideração a receita, margem bruta, renda líquida e taxa de retorno de todos os períodos. Os resultados estão apresentados na tabela 9.

Não foram encontrados resultados significativos na análise econômica do experimento ($P > 0,05$).

Tabela 9. Análise econômica de suínos na fase de creche desafiados com *E. coli* F4 recebendo dietas suplementadas com levedura.

Variáveis	Tratamento				EPM	Valor de P
	CS	LY1	LY2	CD		
Receita, R\$	410,71	413,59	407,72	397,33	13,36	0,838
Margem bruta, R\$	185,35	174,61	178,89	176,89	10,40	0,898
Renda líquida, R\$	123,75	113,02	117,29	115,29	10,40	0,898
Taxa de retorno, %	44,12	38,15	40,88	41,30	4,27	0,806

CS: sem levedura e não desafiado; LY1: cepa 1 de levedura e desafiados; LY2: cepa 2 de levedura e desafiados; CD: sem levedura e desafiados; EPM: erro padrão da média.

5.4 DISCUSSÃO

Desempenho

O uso de probióticos, especialmente a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, tem sido amplamente utilizado por estar relacionada em estabelecer

uma competição entre os microrganismos benéficos e microrganismos indesejáveis, favorecendo o índice de conversão alimentar, já que a microbiota intestinal afeta significativamente a digestão e absorção dos nutrientes (SILVA et al. 2006) e com isso, relaciona-se com a promoção da saúde intestinal, melhorando o desempenho do crescimento (CHE et al., 2017).

O resultado de melhor GPD nos dois primeiros períodos, bem como a melhor EA no primeiro período podem estar associado a capacidade do probiótico em minimizar o desafio, devido ao seu efeito anti-inflamatório (SOUGIOULTZIS et al., 2006), sendo capaz de bloquear a via de ativação do NF-kB (PETROF et al. 2004) e conseqüentemente, minimizando citocinas pró inflamatórias que levam a anorexia (JÚNIOR et al., 2013). Podendo assim, os resultados serem atribuídos a suplementação do probiótico, o que corrobora com os resultados encontrados por outros autores (JURGENS; RIKABI; ZIMMERMANN, 1997; MALONEY et al., 1998; MATHEW et al., 1998; BONTEMPO et al., 2006; LI et al., 2006; CHE et.al, 2017).

No entanto, alguns autores não encontraram diferença na suplementação de leveduras probióticas, discordando dos resultados encontrados no presente estudo (KORNEGAY et al., 1995, JURGENS et al., 1997). Além disso, a falta de resultados obtidos no último período pode estar associada ao término da inclusão do óxido de zinco na ração, este, considerado um promotor de crescimento, pois como demonstrado por Van Heugten et al. (2003), apenas foram observados efeitos positivos na suplementação com leveduras vivas quando as dietas continham substâncias promotoras de crescimento. Outro fator que também pode estar associado, seria a redução do desafio no último período, já que os animais estão mais adaptados ao ambiente em questão.

Os relatos na literatura podem não ser consistentes e nesse sentido é importante ressaltar que fatores como o tipo de cepa probiótica que está sendo utilizada, condições de manejo e estresse, formas de fabricação e armazenamento do produto (NRC, 2012), dosagem utilizada (ROBLES-HUAYANATE et al., 2013) e também o estado fisiológico dos animais ou o ambiente em que são criados (MONROY-SALAZAR et al., 2012) podem interferir

na ação dos probióticos em relação ao desempenho do animal, o que pode dificultar a comparação entre os experimentos.

Ocorrência de diarreia

A ocorrência de diarreia pós desmame é considerada um dos principais problemas de perdas econômicas por estar associada a sua alta morbidade e mortalidade dos animais (LALLES et al., 2007). No presente estudo, considerando a metodologia proposta, escores fecal 3 e 4 dizem respeito à diarreia, portanto os animais suplementados com a cepa 1 (LY1) foram capazes de manter o escore fecal com fezes consideradas normais, quando comparados ao tratamento em que os animais foram suplementados com a cepa 2 (LY2) no período pós desafio com *E. coli* F4. Isso corrobora com os dados obtidos em diversos estudos (TRCKOVA et al., 2014; TREVISI et al., 2015; CHE et al., 2017), que mostraram uma redução da gravidade da diarreia em animais suplementados com *S. cerevisiae* logo após o desafio com *E. coli* F4. Com isso, a cepa 1, ao contrário da cepa 2, possivelmente foi capaz de induzir, nos enterócitos, atividade anti-inflamatória, como foi demonstrado *in vitro* (ZANELLO et al., 2011a; ZANELLO et al., 2011b). No entanto, não foi capaz de interferir na *E. coli* patogênica, já que sua contagem na microbiota cecal não foi diferente dos outros tratamentos. O contrário foi relatado por Trckova et al. (2014), em que a cepa de levedura utilizada foi capaz de aderir ao epitélio intestinal, por exclusão competitiva, em seu lugar, prevenindo doenças.

No que diz respeito ao período total do experimento, não foram observadas alterações significativas a ponto de caracterizar diarreia expressiva. Podendo estar associado a condições ambientais favoráveis, leitões saudáveis (LIAO; NYACHOTI, 2017), tipo e dosagem de cepas utilizadas, quantidade insuficiente de inóculo bacteriano para o desafio, bem como o período em que foi realizado o desafio nos leitões (CHE et al., 2017).

Além disso, foram utilizados ingredientes de alta digestibilidade e níveis adequados de proteínas lácteas e funcionais, favorecendo a capacidade digestiva dos animais desmamados, bem como a utilização de óxido de zinco

em todos os tratamentos, o que já foi demonstrado ser eficaz na redução da ocorrência de diarreia em leitões desmamados (SUN et al., 2019).

Hemograma

Os valores observados neste estudo se mantiveram dentro dos limites fisiológicos considerados normais para a espécie suína segundo Friendship e Henry (1992), Kaneko, Harvey e Bruss (1997) e Prado (2004).

A presença de eritoblastos sugerem eritropoiese e anemia regenerativa, contudo, outros parâmetros (hemácias, hematócrito, hemoglobina) se mantiveram normais, o que contradiz a alteração presente, sendo difícil alguma dessas causas serem consistentes. No entanto, o presente resultado não concorda com o achado por Van der Peet-Schwering et al. (2007), onde o efeito do tratamento não alterou as contagens de células sanguíneas dos animais, somente associadas a variável tempo.

Morfometria intestinal

Para leitões, o principal órgão responsável pela absorção e transporte de nutrientes é o intestino delgado, por isso, manter a estrutura das vilosidades é importante para garantir a função normal da digestão (ZHAXI et al., 2020). Além disso, a morfologia intestinal, comprimento e largura das vilosidades e profundidade da cripta, relaciona-se com a saúde intestinal dos suínos. Quanto mais longas as vilosidades e menos profundas as criptas, maior a relação Vilosidade/Cripta (V/C) e conseqüentemente, melhor é a digestão e absorção de nutrientes no intestino (BONTEMPO et al., 2006). No entanto, no presente estudo, não houve efeitos significativos entre os grupos de tratamentos para todos os parâmetros analisados ($P > 0,05$). Para estudos utilizando probiótico na dieta de leitões e avaliando essas variáveis, existe uma grande inconsistência nos resultados apresentados (HAMPSON, 1986; BONTEMPO et al., 2006; CHE et al., 2017; ZHAXI et al., 2020).

Nesse sentido, não foram observadas diferença na altura de vilosidade e profundidade de cripta no estudo de Che et al. (2017), entre os leitões do grupo alimentados com levedura e do grupo controle, mas, foram observadas redução

da altura das vilosidades entre os grupos controle desafiado e controle não desafiado (maior altura). O fato do presente estudo não ter obtido tais resultados, pode estar relacionados a concentração utilizada na dose do desafio de *E.coli* F4, já que, Che et al. (2017) forneceram 50 vezes mais do inóculo quando comparado ao presente estudo.

Outros estudiosos observaram aumento nas vilosidades e uma melhor relação V:C, indicando um efeito positivo sobre os aspectos morfofuncionais (BONTEMPO et al., 2006), e com isso, uma maior capacidade funcional dos enterócitos. Zhaxi et al. (2020) também obtiveram resultados positivos com inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* em que foi possível manter a integridade da mucosa dos leitões, devido ao aumento observado das vilosidades.

A altura de vilosidade observada no presente estudo, é considerada comum em leitões pós desmame e corrobora com os resultados observados por Hampson (1986). No entanto, foi verificado um aumento na profundidade de cripta, podendo estar relacionado com o alto grau de imaturidade do órgão nos animais.

Microbiologia

A microbiota intestinal é um importante mecanismo de defesa do organismo dos suínos, sendo a resistência à colonização um ponto crucial para a saúde do hospedeiro (SHEN et al., 2006). Vale ressaltar que a dieta influencia diretamente na composição microbiana do trato gastrointestinal (FRESE et al., 2015). No entanto, no presente estudo, não foram observadas diferenças significativas no primeiro e terceiro abate ($P>0,05$). Já, com relação ao segundo abate, a contagem de Bifidobactérias foi superior nos animais controle desafiados. Tais bactérias estão intimamente ligadas a promoção da saúde em humanos (MATSUKI et al., 2004; ROGER et al., 2010; GUARALDI e SALVATORI, 2012) e são consideradas um dos principais componentes da microbiota intestinal de suínos, mas em menor escala quando comparada aos Lactobacilos (Tsuchida et al., 2017).

Com isso, no presente estudo, a inclusão das cepas de levedura probióticas não influenciaram significativamente a composição microbiológica do

conteúdo cecal. Esses achados, corroboram com os encontrados por Mathew et al. (1998) e Li et al. (2006), em que a inclusão de cepas de levedura na dieta de leitões desmamados, foi capaz de melhorar ganho de peso e consumo de ração, mas não afetou o tipo da microbiota no trato gastrointestinal. Já Van Heugten et al. (2003), observaram melhora no ganho de peso e uma diminuição na contagem total de bactérias e Lactobacilos nas fezes de leitões desmamados suplementados com levedura viva. Enquanto Che et al. (2017), tiveram além da resposta positiva no desempenho dos animais suplementados com antibiótico e ZnO e nos animais suplementados com levedura, uma redução da contagem de *E. coli* nas fezes dos animais, quando comparados aos animais do grupo controle.

Além disso, segundo Cromwell (2000), a resposta ao uso de antimicrobianos é maior em ambientes com alto desafio. Como no presente estudo foi realizado um choque de antibiótico aos animais na primeira semana de creche e utilizou-se óxido de zinco até o dia 28 de experimento, pode-se concluir que o desafio pode não ter sido suficiente, bem como o ambiente não foi semelhante ao cenário comercial, não sendo possível induzir efeitos positivos na microbiota.

Composição de ácidos graxos de cadeia curta

Considerados os principais produtos produzidos pelo metabolismo das bactérias no intestino grosso dos suínos (BERGMAN, 1990), os AGCC são os principais responsáveis por fornecer energia aos colonócitos, fornecendo cerca de até 70% (HOVERSTAD et al, 1984; LIVESEY, 1995). Com isso, se há um aumento da fermentação no intestino grosso, há um aumento na produção de AGCC e conseqüentemente, uma contribuição substancial para o suprimento geral de energia (BELLIER e GIDENNE, 1996; MOURÃO et al., 2005). Podem ainda, estimular a reabsorção de água e sódio (ROEDIGER e MOORE, 1981), limitando assim o risco de diarreia; e ainda, desempenham um papel importante na saúde intestinal, afetando a produção e secreção da mucina, camada de muco que cobre a mucosa gastrointestinal (TAKO et al, 2008).

No presente estudo, foi observado na primeira fase uma maior tendência dos níveis de acetato no conteúdo cecal de leitões dos tratamentos com probióticos quando comparados aos controles. Segundo Fukuda et al. (2011), níveis elevados de acetato produzido podem exercer sua ação no epitélio colônico induzindo efeitos anti-inflamatórios, podendo com isso, estar associado ao maior consumo de ração observado no presente estudo, devido a diminuição de citocinas pró inflamatórias.

Liu et al. (2014) descobriram que os probióticos podem acelerar a decomposição dos carboidratos, influenciando a síntese de AGCC e ajudando a aumentar a concentração de ácido butírico no cólon. No presente estudo, as concentrações de ácido butírico tiveram uma tendência maior na segunda fase de experimento (fase do desafio), em que se apresentaram maiores nos animais tratados com as cepas probióticas, corroborando com outros autores que mostraram o efeito do butirato no controle de patógenos, como *E. coli* (PROHASKA, 1986), e na função de barreira intestinal (RAQIB et al., 2006; GUILLOTEAU et al. 2010), apresentando maior proliferação do epitélio intestinal e conseqüentemente, melhor desenvolvimento do intestino (ROEDIGER, 1982; SAKATA, 1987).

Análise econômica

Diante dos resultados positivos para as variáveis de desempenho avaliadas neste estudo, é importante avaliar o retorno econômico que pode ser obtido com o investimento no uso de probióticos na fase de creche. Considerando os custos de produção, que são fixos, para qualquer um dos tratamentos avaliados, o uso dos probióticos resultaram em receita líquida semelhante quando comparada ao uso de uma dieta básica sem aditivos. Além disso, a taxa de retorno foi igual em todos os tratamentos e com valores consideráveis, concluindo que todos os tratamentos foram viáveis economicamente.

5.5. CONCLUSÃO

Nas condições estudadas, e levando em consideração que as duas primeiras semanas pós desmame são as mais desafiadoras para o animal, a

inclusão da dieta contendo a cepa 1 de *Saccharomyces cerevisiae* (LY1), obteve resultados melhores para o peso, GPD e CRMD. Foi capaz de minimizar os efeitos deletérios associados ao desafio de *E. coli* F4 em leitões desmamados, provavelmente devido a um efeito sinérgico associado ao óxido de zinco, melhorando o desempenho produtivo dos animais nesse período.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F. **Sustainable farming: Get pigs off antibiotics**. *Nature*, v. 486, n. 7404, p. 465–466, 2012.

AARESTRUP, F. M.; WEGENER, H. C.; COLLIGNON, P. **Resistance in bacteria of the food chain: Epidemiology and control strategies**. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, v. 6, n. 5, p. 733–750, 2008.

AUCLAIR, E. **Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species**. *Feed Manufacturing in the Mediterranean Region*. Reus, Spain: CIHEAM-IAMZ, p. 45-53, 2001.

ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; BARRY, A. **Diarreias em suínos**. In: **Tópicos em Sanidade e Manejo de Suínos**. Eds. Alfieri, A.F.; Barry, A.F.; Alfieri, A.A.; et al. Sorocaba: Curuca Consciência Ecológica. p. 165-184. 2010

APIĆ, I. et al. **Influence of *Saccharomyces cerevisiae* (Actisaf SC 47®) as feed additive in gestation or lactation diets on sows and nursing piglets health and performance**. *Arhiv veterinarske medicine*, v. 9, n. 2, p. 39–52, 2016.

BAJAJ, B.K.; CLAES, I.J.; LEBEER, S. **Functional mechanisms of probiotics**. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, v.4, p. 321-327, 2015.

BARBA-VIDAL, E.; MARTÍN-ORÚE, S. M.; CASTILLEJOS, L. Review: **Are we using probiotics correctly in post-weaning piglets?** *Animal*, v. 12, n. 12, p. 2489-2498, 2018.

BARCELLOS, D.E. et al. **Diarreia causada pela *Escherichia coli* em leitões na fase de creche**. In: **Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos, IX SINSUI - Simpósio Internacional de Suinocultura, 2015, Porto Alegre, Rio Grande do Sul**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015.

BARTON, M.D. **Impact of antibiotic use in the swine industry**. *Current Opinion in Microbiology*, v. 19, n. 1, p. 9–15, 2014.

BAUM, B. et al. ***Saccharomyces boulardii* e *Bacillus cereus* var. *Toyoi* influencia a morfologia e as mucinas do intestino dos porcos**. *Z. Gastroenterol.* 40, p.277-284, 2002.

BELLIER, R.; T. GIDENNE. **Consequences of reduced fibre intake on digestion, rate of passage and caecal microbial activity in the young rabbit**. *British Journal of Nutrition*. v.75, p.353–363, 1996.

BENE, K.P. et al. ***Lactobacillus reuteri* surface mucus adhesins upregulate inflammatory responses through interactions with innate C-Type lectin receptors.** Front. Microbiol., v.8, p. 321, 2017.

BERGMAN, E. N. **Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species.** Physiology Review, v. 10, n. 2, p. 567-589, 1990.

BERMUDEZ-BRITO, M. et al. **Human intestinal dendritic cells decrease cytokine release against *Salmonella* infection in the presence of *Lactobacillus paracasei* upon TLR activation.** PLoS One, v.7, p. e43197, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 171, de 13 de dezembro 2018.** Informa sobre a intensão de proibição de uso de antimicrobianos com a finalidade de aditivos melhoradores de desempenho. 2018.

BROADWAY, P. R., CARROLL, J. A.; SANCHEZ, N. C. **Live yeast and yeast cell wall supplements enhance immune function and performance in food-producing livestock: a review.** Microorganisms v.3, p.417–427, 2015.

BONTEMPO, V. et al. **Live yeast dietary supplementation acts upon intestinal morpho-functional aspects and growth in weanling piglets.** Animal Feed Science and Technology, v. 129, n. 3–4, p. 224–236, 2006.

BROWN, C.; BAKER, D.C.; BARKER, I.K. **Alimentary System.** In: Maxie, M.G. [Ed]. Pathology of Domestic Animals. 5.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, p.3-296, 2007.

BROWN, K. et al. **Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease.** Nutrients, v. 4, n. 8, p. 1095–1119, 2012.

BUTS, J.P.; DE KEYSER, N. **Effects of *Saccharomyces boulardii* on intestinal mucosa.** Digestive diseases and sciences, v. 51, n. 8, p. 1485-1492, 2006.

CASTILLO-SOTO, W.L. et al. **Efeito da substituição do farelo de soja pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) como fonte proteica em dietas para leitões desmamados sobre a morfologia intestinal e atividade das enzimas digestivas intestinais.** Archivos LatinoAmericanos de Producción Animal, Mayaguez, v.12, n. 1, p.21-27, 2004.

CHE, L. et al. **Effects of dietary live yeast supplementation on growth performance, diarrhoea severity, intestinal permeability and immunological parameters of weaned piglets challenged with enterotoxigenic Escherichia coli K88.** British Journal of Nutrition, v.118(11), p.949-958, 2017.

CHEN, H. et al. **Impact of fiber types on gut microbiota, gut environment and gut function in fattening pigs.** Anim. Feed Sci. Tech. v.195, p.101-111, 2014.

CHESKIN L.J.; MILLER D.L. **Nutrition in the prevention and treatment of common gastrointestinal symptoms.** In: Coulston A.M. & Boushey C.J. (Eds). Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease. San Diego: Academic Press, p.549-562, 2001.

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

CLEMENTE, J.C. et al. **The impact of the gut microbiota on health: na integrative view.** Cell. 148: 1258-1270. 2012

CROMWELL, G. L. **Why and how antibiotics are used in swine production.** Animal Biotechnology, v. 13, n. 1, p. 7–27, 2002.

CROMWELL, G L. **Antimicrobial and promicrobial agents.** In Swine Nutrition, 2nd ed., Edited by: Lewis, A J and Southern, L L. p.401–426, 2000.

DESNOYERS, M. et al. **Meta-analysis of the influence of Saccharomyces cerevisiae supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants.** Journal of Dairy Science, v. 92, n. 4, p.1620-1632, 2009.

DUBREUIL, J.D. **Escherichia coli STb toxin and colibacillosis: knowing is half the battle.** FEMS Microbiology Letters. v.278, n.2, p.137- 145, 2008.

DUCLUZEAU, R.; BENSAADA, M. **Comparative effect of a single or continuous administration of "Saccharomyces boulardii" on the establishment of various strains of "candida" in the digestive tract of gnotobiotic mice.** In: Annales de microbiology. p.491-501, 1982.

EDWARDS-INGRAM, L. et al. **Genotypic and physiological characterization of Saccharomyces boulardii, the probiotic strain of Saccharomyces cerevisiae.** Applied and environmental microbiology, v.73, n.8, p.2458-2467, 2007.

FAIRBROTHER, J. M.; NADEAU, E. **Escherichia coli: on-farm contamination of animals.** Rev Sci Tech, v. 25, n. 2, p. 555-69, 2006.

FAIRBROTHER, J.M.; GYLES, C.L. **Postweaning Escherichia coli diarrhea and edema disease.** In: Diseases of Swine. Eds. Straw, B.E. et al. 9th ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing. p.649-662. 2006.

FAMULARO, G.; MORETTI, S.; MARCELLINI, S.; DE SIMONE, C. **Stimulation of immunity by probiotics.** In: Probiotics 2. Springer, Dordrecht, p. 133-161, 1997.

FAO. **Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation** by Yadav S. Bajagai, Athol V. Klieve, Peter J. Dart and Wayne L. Bryden. Editor Harinder P.S. Makkar. FAO Animal Production and Health Paper No. 179. Rome. 2016

FELDMAN, M.; SCHARSCHMIDT, B.F., SLEISSINGER, M.H. **Gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis and management.** Philadelphia: W. B. Sanders, p.3170, 1998.

FOUHSE, J.M.; ZIJLSTRA, R.T.; WILLING, B.P. **The role of gut microbiota in the health and disease of pigs.** Animal Frontiers v.6, p.30, 2016.

FRANCIS, D.H. **Colibacillosis in pigs and its diagnosis.** Journal Swine Health Production, v.7, n.5, p.241-244, 1999.

FRIENDSHIP, R. M.; HENRY, S. C. **Cardiovascular system, hematology, and clinical chemistry.** In: LEMAN, A.D.; STRAW, B.E.; MENGELING, W.L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. Diseases of swine. 7.ed. Ames: Iowa State University Press, p.3-11, 1992.

FRESE, S.A. et al. **A dieta molda o microbioma intestinal dos porcos durante a amamentação e o desmame.** Microbiome, v.3, n.1, p.1-10, 2015.

FUKUDA, S. et al. **Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate.** Nature, v.469, n.7331, p. 543-547, 2011.

FULLER R. **Probiotics in man and animals.** Journal of Applied Bacteriology, v. 66, p. 365–378, 1989.

GAGGIÀ, F., MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. **Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production.** International journal of food microbiology, v.141, p.15-28, 2010.

GOMÉZ, M.S.C. **Development of gut microbiota in the pig: modulation of bacterial communities by different feeding strategies.** Tese (Doctor dins el

programa de doctorat de producció animal del departament de ciència animal i dels aliments) – Facultat de Veterinària de Barcelona. p.242, 2006.

GUARALDI, F.; SALVATORI, G. **Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns.** *Front. Cell. Infect. Microbiol.* v.2, p.94, 2012.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.R. **Gut flora in health and disease.** *The lancet*, v.360, p.512-518,2003.

GUILLOTEAU, P. et al. **From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate.** *Nutrition research reviews*, v.23, n.2, p.366-384, 2010.

GUTH, B.E.C. **Escherichia coli Enterotoxigênica (ETEC).** In: *Microbiologia.* Eds. Trabulsi, L.R. & Alterthum, F. 5th.ed. São Paulo: Atheneu. p.301-305, 2008.

GYLES, C.L.; FAIRBROTHER, J.M. **Escherichia coli** In: *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals.* Eds. Gyles, C.L.; Prescott, J.F.; Songer, J.G. & Thoen, C.O. 3rd ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press. p.193-214, 2004.

HAMPSON, D. J.; KIDDER, D.E. **Alterations in piglet small intestinal structure at weaning.** *Research in veterinary science*, v. 40, n. 1, p. 32–40, 1986.

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*, Berlin, DE, v. 87, n. 1-2, p.32-41, 2003.

HILL, C. et al. **The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic.** *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.

HOLMAN, D.B. et al. **Meta-analysis to define a core microbiota in the swine gut.** v.2, p.4-17,2017.

HOVERSTAD, T. et al. **Short-chain fatty acids in the normal human feces.** *Scand J Gastroenterol* v.19, p.375–381, 1984.

HURDIDGE, L. et al. **Influence of probiotics on gut health in the weaned pig.** *Livestock Science*, v.133, n.1-3, 179-181, 2010.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSSEEL, F. **An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers.** *The Veterinary*

Journal, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.

INMAN, C.F. et al, **Rearing environment affects development of immune system in neonates.** Clinical and Experimental Immunology, Oxford, v.160, n.3, p.431-439, June 2010.

JENSEN, P.; RECÉN, B. **When to wean – observations from free-ranging domestic pigs.** Applied Animal Behaviour Science v.23, p.49–60, 1989.

JONSSON, E.; CONWAY, P. **Probiotics for pigs.** In: **Probiotics.** Springer, Dordrecht. p. 259-316, 1992.

JÚNIOR, G. M.O. et al. **Efeitos do desafio sanitário e da suplementação de lisina, metionina, treonina e triptofano em leitões recém desmamados.** Nutritime, Artigo 199, v.10, n.3, p. 2408 – 2427, 2013

JURGENS, M.H.; RIKABI, R.A.; ZIMMERMANN, D.R. **The effect of dietary active dry yeast supplement on performance of sows during gestation–lactation and their pigs.** J. Anim. Sci. v.75, p.593–597, 1997

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** Academic Press, San Diego, 1997.

KENNY, M. et al. **Probiotics - do they have a role in the pig industry?** Animal, v. 5, p. 462-470, 2011.

KHAKSEFIDI, A.; GHOORCHI, T. **Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks.** Journal of Poltry Science, v.43, p.296-300, 2006.

KIROS, T. G. et al. **Effect of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Actisaf Sc 47) supplementation on the performance and hindgut microbiota composition of weanling pigs.** Scientific Reports, v.8, n.1, p.1–13, 2018.

KORNEGAY, E. T.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C M. **Performance and Nutrient Digestibility in Weanling Pigs as Influenced by Yeast Culture Additions to Starter Diets Containing Dried Whey or One of Two Fiber Sources ' ABSTRACT :** p.1381–1389, 2014

KORNEGAY, E.T. et al. **Performance and nutrient digestibility in weanling pigs as influenced by yeast culture additions to starter diets containing dried whey or one of two fiber sources.** J Anim Sci. v.73, p.1381–1389, 1995.

LALLES J.P.; BOSI P.; SMIDT H.; STOKES CR. **Nutritional management of gut health in pigs around weaning.** *Proceedings of the Nutrition Society* v.66, p.260-268, 2007.

LE BON, M. et al. **Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants.** *Journal of Dairy Science*, v.92, n.4, p.1620–1632, 2009.

LI, J. et al. **Effects of live yeast on the performance, nutrient digestibility, gastrointestinal microbiota and concentration of volatile fatty acids in weanling pigs.** *Archives of Animal Nutrition*, v.60(4), p.277-288, 2006.

LI, J. et al. **Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide.** *Journal of Animal Science*, v. 84, n. 9, p. 2374-2381, 2006.

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

LILLY, D.M.; STILLWELL, R.H. **Probiotics: growth-promoting factors produced by micro-organisms.** *Science*, v.147, v.3659, p.747–748, 1965.

LIMA, G.J.M.M.; MORÉS, N.; SANCHES, R.L. **As diarreias nutricionais na suinocultura.** *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 37, n. Supl 1, p. s17-s30, 2009.

LIU, H. et al. **Oral administration of *Lactobacillus fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets.** *Journal of agricultural and food chemistry*, v.62, n.4, p.860-866, 2014

LIVESEY, G. **The impact of complex carbohydrates on energy balance.** *Eur J Clin Nutr* v.49, n.3, p.89–96, 1995.

LUPP, C.; FINLAY, B.B. **Intestinal Microbiota.** *Current Biology*, v.15, n.7, p.235-236, 2005.

MA, T.; SUZUKI, Y.; GUAN, L.L. **Dissect the mode of action of probiotics in affecting host-microbial interactions and immunity in food producing animals.** *Veterinary immunology and immunopathology*, v.205, p.35-48, 2018.

MARKOWIAK, P.; ŚLIŻEWSKA, K. **The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition.** *Gut pathogens*, v.10, p.1-20, 2018.

MASSOT, J.; DESCONCLOIS, M.; ASTOIN, J. **Protection par *Saccharomyces boulardii* de la diarrhée à *E. coli* du souriceau.** Ann. Pharm. Fr., v. 40, p. 445-449, 1983.

MATHEW, A. G. et al. **Effects of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, and performance of weanling pigs.** J. Anim. Sci. v.76, p.2138–2145, 1998.

MATSUKI, T. et al. **Quantitative PCR with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers for analysis of human intestinal bifidobacteria.** Appl. Environ. Microbiol. v.70, p.167–173, 2004

MAZMANIAN, S.K., ROUND, J.L., KASPER, D. **A microbial symbiosis factor prevents inflammatory disease.** Nature v.453, p.620–625, 2008

MALONEY, C. A. et al. **Effects of a heat-stable yeast product in pelleted diets for weanling pigs.** 1998.

MELLOR, L. et al., **Alternatives to antibiotics.** Pig Progress, Doentinchem, v.16, n.1, p. 18-21, 2000.

MILLER, B. G. et al. **Influence of diet o post weaning mal absorption and diarrhea in the pig.** Research in Veterinary Science, London, Inglaterra, GB, v. 36, p. 187-193, 1984.

MILLER, B. et al. **The role of dietary antigen in the aetiology of post weaning diarrhoea.** Annales de Recherches Veterinaires, v.14, p.487-492, 1983

MOALLEM U. et al. **Os efeitos da suplementação de levedura viva em vacas leiteiras durante a estação quente na produção, eficiência alimentar e digestibilidade.** J. Dairy Sci. v.92, p.343–351, 2009.

MOESER, A. et al. **Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig.** American Journal of Physiology, v. 292, n. 1, p. 173–181, 2007.

MONROY-SALAZAR, H. G. et al. **Effects of a live yeast dietary supplement on fecal coliform counts and on peripheral blood CD4(+) and CD8(+) lymphocyte subpopulations in nursery pigs.** J. Swine Health Prod. v.20, p.276–282, 2012.

MORAES, N.; AMARAL, A.L. **Patologias associadas ao desmame.** In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 10. Porto Alegre. ABRAVES, Anais, p.215-224, 2001.

MORÉS, N.; MORENO, A.M. **Colibacilose da terceira semana & Colibacilose neonatal**. In: Doenças dos Suínos. Eds. Sobestiansky, J. & Barcellos, D.E.S.N. Goiânia: Cãnone editorial. p.71-77, 2007.

MOURÃO, J.L. et al. **Effect of mannan oligosaccharides on the performance, intestinal morphology and cecal fermentation of fattening rabbits**. *Animal Feed Science and Technology*, v. 126, n. 1-2, p. 107-120, 2006.

NABUURS, M. J. A. et al. **Villous height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands**. *Research in Veterinary Science*, London, Inglaterra, GB, v. 55, n. 1, p. 78-84, Jul. 1993.

NAGY, B.; FEKETE, P. Z. **Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) in farm animals**. *Veterinary Research*, Les Ulis, v. 30, n.2/3, p. 259-284, 1999.

OLIPHANT, K.; VERCOE, A.E. **Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health**. *Microbiome*. v.7, p.91, 2019.

PERKER, R. **Probiotics, the other half of the antibiotic story**. *Animal Nutrition and Health*, v.29, n.4, p.8, 1974.

PARTANEN, K.; MROZ, Z. **Organic acids as an alternative for prophylactic medication of pig diets**. *Nutrition Research Reviews*, Cambridge, Inglaterra, GB, v. 12, p. 1-30, 1999.

PEDERSEN, K.S.; TOFT, N. **Intra- and inter- observer agreement when using a descriptive classification scale for clinical assessment of faecal consistency in growing pigs**. *Preventive Veterinary Medicine*, v 98, p. 288 – 291, 2011.

PERDIGÓN, G.; HOLGADO, A.P.D.R. **Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria**. In: *Probiotics 3*. Springer, Dordrecht. p. 213-233, 2000.

PETROF, E. O. et al. **Probiotics inhibit nuclear factor- κ B and induce heat shock proteins in colonic epithelial cells through proteasome inhibition**. *Gastroenterology*, v.127, n.5, p.1474-1487, 2004.

PLUSKE, J.R.; TURPIN, D.L.; KIM, J.C. **Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig**. *Animal nutrition*, v. 4, p. 187 – 196, 2018.

PRADO, A. M. D. R. B. D. **Valores hematimétricos normais em suínos Sus Scrofa dom. Lineu, 1758, das raças Landrace e Large White no Paraná**,

Brasil. Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais, Curitiba, v.2, n.2, p. 65-80, 2004.

PROHÁSZKA, L. **Antibacterial mechanism of volatile fatty acids in the intestinal tract of pigs against *Escherichia coli*.** Journal of Veterinary Medicine, Series B, v.33, n.1-10, p.166-173, 1986.

QAMAR, A. et al. ***Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice.** Infect. Immun., v. 69, p. 2762-2765, 2001.

RADECKI, S.V.; YOKOYAMA, M.T. **Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition.** In: MILLER, E.R.; DUANE, E.U.; LEWIS, A.J. Swine nutrition. Boston: Butterworth-Heinemann, p.439-447, 1991.

RAQIB, R. et al. **Improved outcome in shigellosis associated with butyrate induction of an endogenous peptide antibiotic.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v.103, n.24, p.9178-9183, 2006.

ROBLES-HUAYNATE, R.A. et al. **Efeito da adição de probiótico em dietas de leitões desmamados sobre as características do sistema digestório e de desempenho.** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 14, n. 1, p. 248-258, 2013.

RODRIGUES, A.C. et al. **Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice.** J. Appl. Bacteriol., v. 81, p. 251-256, 1996.

ROEDIGER, W. E. W.; MOORE, A. **Effect of short-chain fatty acid on sodium absorption in isolated human colon perfused through the vascular bed.** Digestive diseases and sciences, v.26, n.2, p.100-106, 1981.

ROEDIGER, W. E. W. **Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon.** Gastroenterology, v.83, n.2, p.424-429, 1982.

ROGER, L. C. et al. **Examination of fecal *Bifidobacterium* populations in breast- and formula-fed infants during the first 18 months of life.** Microbiology v.156, p.3329–3341, 2010.

ROSE, A. H. **Yeast culture, a microorganism for all species: A theoretical look at its mode of action.** In: Lyons TP, editor. Biotechnology in the feed industry. Nicholasville, KY: Alltech Technical Publications. p.173, 1987.

SAAD, S.M.I. **Probióticos e Prebióticos: o estado da arte.** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science*, Washington, v.12, n.1, p.1-16, 2006.

SALMINEN, S. et al. **Probiotics: How should they be defined?** *Trends in Food Science and Technology*, v. 10, n. 3, p. 107–110, 1999.

SANCHES, A.L. **Probiótico, Prébiótico e Símbiotico em rações de leitões ao desmame, 2004.** 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2004.

SANTOS, L.S.; MASCARENHAS, A.G.; OLIVEIRA, H.F. **Fisiologia digestiva e nutrição pós desmame em leitões.** *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 13, p. 4570-4584, 2016.

SAKATA, T. **Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors.** *British Journal of Nutrition*, v.58, n.1, p.95-103, 1987.

SCHLEE, M. et al. **Probiotic *Lactobacilli* and VSL#3 induce enterocyte β -defensin 2** *Clin. Exp. Immunol.*, v.151, p. 528-535, 2008.

SCHLEE, M. et al. **Induction of human β -defensin 2 by the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is mediated through flagellin.** *Infect. Immun.*, v.75, p.2399-2407, 2007.

SHEN, Y. B. et al. **Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs.** *Journal of animal science*, v.87, n.8, p.2614-2624, 2009.

SILVA, C.A.; NORBERG, J. L. **Prebióticos na nutrição de não-ruminantes.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.33, n.4, p.55-65, 2003.

SILVA C.A. et al. **Avaliação de probióticos (*Pediococcus acidilactici* e *Bacillus subtilis*) após o desmame e efeitos no desempenho dos leitões.** *Ciências Agrárias* v.27, p.133-140, 2006.

SCHIFFRIN, E.; BLUM, S. **Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa.** *European journal of clinical nutrition*. v.56, p.60–64, 2002.

SOUGIOULTZIS, S. et al. ***Saccharomyces boulardii* produces a soluble anti-inflammatory factor that inhibits NF-kappaB-mediated IL-8 gene expression.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 343, p. 69-76, 2006.

SUN, Y.B. et al. **Effects of nano zinc oxide as an alternative to pharmacological dose of zinc oxide on growth performance, diarrhea, immune responses, and intestinal microflora profile in weaned piglets.** *Animal Feed Science and Technology* v.258, p.114312, 2019.

TARAS, D.; VAHJEN, W.; SIMON, O. **Probiotics in pigs — modulation of their intestinal distribution and of their impact on health and performance.** *Livestock Science*, v. 108, p. 229 – 231, 2007.

TAKO, E. et al. **Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine.** *British Journal of Nutrition*, v.99, n.3, p.472-480, 2008.

TRCKOVA, M. et al. **The effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on postweaning diarrhea, immune response, and growth performance in weaned piglets.** *Journal of animal science*, v. 92, n. 2, p. 767-774, 2014.

TREVISI, P. et al. **Comparison of three patterns of feed supplementation with live *Saccharomyces cerevisiae* yeast on postweaning diarrhea, health status, and blood metabolic profile of susceptible weaning pigs orally challenged with *Escherichia coli* F4.** *Journal of Animal Science*, v.93, n.5, p2225-2233, 2015.

TSAI, Y.T.; CHENG, P.C.; PAN, T.M. **The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits** *Applied Microbiology and Biotechnology*., v.96, p. 853-862, 2012.

TSILOYIANNIS, V. K. et al. **The effects of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea.** *Research in Veterinary Science*, London, v.70, n. 3, p. 287-293, 2001.

TSUCHIDA, S. et al. **Genomic characteristics of *Bifidobacterium thermacidophilum* pig isolates and wild boar isolates reveal the unique presence of a putative mobile genetic element with *tetW* for pig farm isolates.** *Frontiers in microbiology*, v.8, p.1540, 2017.

URGENS M.H.; RIKABI R.A.; ZIMMERMAN D.R. **The effect of dietary active dry yeast supplement on performance of sows during gestation-lactation and their pigs.** *Journal of Animal Science*, v.75, p.593–597, 1997.

UPADRASTA, A. et al. **The Effect of Dietary Supplementation with Spent Cider Yeast on the Swine Distal Gut Microbiome.** *PLoS ONE*, v. 8, n. 10, 2013.

VAANDRAGER, A.B. **Structure and function of the heat-stable enterotoxin receptor/ guanylyl cyclase C.** *Molecular and Celular Biochemistry.* v.230, p.73-83, 2002.

VAN DER PEET-SCHWERING, C. M. et al. **Effects of yeast culture on performance, gut integrity, and blood cell composition of weanling pigs.** *J. Anim. Sci.* 85, 3099–3109, 2007.

VAN HEUGTEN E, FUNDERBURKE D.W.; DORTON K.L. **Desempenho de crescimento, digestibilidade de nutrientes e microflora fecal em porcos desmamados alimentados com levedura viva.** *J Anim Sci;* v.81, p.1004-1012, 2003.

VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. **Ácidos orgânicos e suas misturas em dietas de suínos.** In: Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos, 2003, Campinas, Anais... Campinas: CBNA, p. 255-284, 2003.

WALTER, J. **Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research.** *Appl Environ Microbiol* v.74, p.4985– 4996, 2008.

XU, J. et al. **Yeast probiotics shape the gut microbiome and improve the health of early-weaned piglets.** *Frontiers in microbiology,* v.9, p.2011, 2018.

YAN, F. et al. **Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth.** *Gastroenterology,* v.132, p.562-575, 2007.

ZANELLO, G. et al. **Saccharomyces cerevisiae modulates immune gene expressions and inhibits ETEC-mediated ERK1/2 and p38 signaling pathways in intestinal epithelial cells.** *PloS one,* v.6, n.4, 2011a.

ZANELLO, G. et al. **Saccharomyces cerevisiae decreases inflammatory responses induced by F4+ enterotoxigenic Escherichia coli in porcine intestinal epithelial cells.** *Veterinary immunology and immunopathology,* v.141, n.1, p.133-138, 2011b.

ZHAXI, Y. et al. **Duan-Nai-An, A Yeast probiotic, improves intestinal mucosa integrity and immune function in weaned piglets.** *Scientific reports,* v.10, n.1, p.1-14, 2020.

ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D.E.S. N. **Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplos.** *Acta scientiae veterinariae.* Porto Alegre, 2008.