

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MAIKEL POSSAMAI

**DESEMPENHO, METABOLISMO E MICROBIOTA INTESTINAL DE LEITÕES
ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS**

Marechal Cândido Rondon
2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MAIKEL POSSAMAI

**DESEMPENHO, METABOLISMO E MICROBIOTA INTESTINAL DE LEITÕES
ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, para obtenção do título de “Mestre em Zootecnia”.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza

Co-Orientador: Prof.^a Dr.^a Magali Soares dos Santos Pozza

Marechal Cândido Rondon

2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

P856d Possamai, Maikel
Desempenho, metabolismo e microbiota intestinal de leitões alimentados com rações contendo probióticos e simbióticos / Maikel Possamai. – Marechal Cândido Rondon, 2010.
64 p.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Pozza
Co-Orientador: Prof^a Dr^a Magali Soares dos Santos Pozza

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2010.

1. Rações para leitões. 2. Suíno - Alimentação. 3. Suinocultura. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

CDD 22.ed. 636.50855
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Marcia Elisa Sbaraini Leitzke CRB-9/539

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ

CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

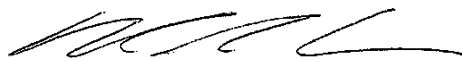
MAIKEL POSSAMAI

**DESEMPENHO, METABOLISMO E MICROBIOTA INTESTINAL DE
LEITÕES ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO PROBIÓTICOS E
SIMBIÓTICOS**

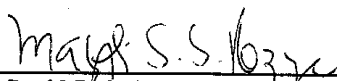
Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia, Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", para a obtenção do título de "Mestre em Zootecnia".

Marechal Cândido Rondon, 20 de agosto de 2010.

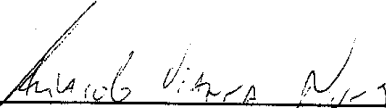
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof.ª Dr.ª Magali Soares dos Santos Pozza
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aos meus pais Angelino e Marli, e minha família,
pelo apoio incondicional, amor e confiança.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela divina criação e bênçãos concedidas.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

À ITAIPU - Binacional: financiadora do trabalho e à CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsa.

Aos meus pais Angelino Possamai e Marli Teresinha Cardoso Possamai, às minhas irmãs Luciani Possamai e família e Anelise Possamai e família, pelo amor filial e por serem os alicerces em minha vida.

À minha vó Santa Ana Herculano Cardoso, pelo incentivo e exemplo de vida.

À Stefanie Scottini, pelo amor, companheirismo e apoio incondicional nos momentos difíceis, obrigado.

Ao professor Paulo Cesar Pozza, pelos seus ensinamentos passados, confiança na orientação no mestrado e, principalmente pela amizade e humildade.

À professora Magali Soares dos Santos Pozza pela valiosa co-orientação, aos conselheiros professor Ricardo Vianna Nunes e Antonio Claudio Furlan. Pelas sugestões, colaboração no enriquecimento deste trabalho e dignos profissionais.

Aos professores do mestrado, pela oportunidade concedida e qualidade no ensino. Ao secretário Paulo Henrique Morsh, pela disposição e paciência.

Aos colegas, Douglas B. Lazzeri, Edson Richart, João de Moraes Pereira Junior, Leandro Dalcin Castilha, Liliane Borsatti, Marli Busanello, Mayara Rodrigues, Maurício Osvaldo Wochner pela colaboração durante o experimento. Em especial André Cristiano Lohmann, Marcel Kague Schnoor e Tiago Pasquetti Junior, pela amizade, conselhos e apoio.

Aos amigos Rafael e Mari Priesnitz, Ana Claudia Radiz, Raphael Pagliarini, Wagner Mozer da Silva, Anderson Luiz de Carvalho, Eduardo Weimann, Carlos Eduardo Marschal a família Simsen, aos Irmãos DeMolay`s e aos Tios Maçons.

Ao tio Iomar Bauermann e funcionários da fazenda experimental pelo auxílio no experimento que embasou esta pesquisa.

E demais colegas que de alguma forma ajudaram na realização deste trabalho e pela amizade no decorrer deste curso, a todos obrigado.

BIOGRAFIA

MAIKEL POSSAMAI, filho de Angelino Possamai e Marli Teresinha Cardoso Possamai, nasceu dia 13 de maio de 1985, em Francisco Beltrão.

Em dezembro de 2007, diplomou-se em Zootecnia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* Marechal Cândido Rondon – PR.

Em março de 2008 iniciou o Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* Marechal Cândido Rondon – PR, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos.

Em agosto de 2010 submeteu-se aos exames finais de defesa de dissertação, para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

RESUMO

MAIKEL POSSAMAI; Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Julho de 2010;
Desempenho, metabolismo e microbiota intestinal de leitões alimentados com rações contendo probióticos e simbióticos. Orientador: Dr. Paulo Cesar Pozza, Co-orientadora: Dr.^a Magali Soares dos Santos Pozza.

Foram realizados dois experimentos para avaliar o efeito do uso de probióticos e simbiótico em rações para leitões na fase de creche. O primeiro experimento foi o de desempenho dos leitões dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 dias e no período total, sendo também realizada a contagem das bactérias lácticas, coliformes e clostrídios nas fezes dos leitões, aos 35 e 49 dias de idade. A viabilidade econômica da utilização dos probióticos e simbiótico nas rações dos leitões também foi avaliada. Foram utilizados 120 leitões, com 21 dias de idade, com peso médio inicial de $5,80 \pm 0,30$ kg, distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao acaso, em um esquema fatorial constituído de dois níveis de probióticos (0,30 e 0,60%) e três níveis de inclusão de inulina (0,00; 0,25 e 0,50%), totalizando seis tratamentos com cinco repetições. No ensaio de metabolismo foram utilizados 24 suínos machos castrados, com peso vivo médio inicial de $18,00 \pm 0,38$ kg, distribuídos individualmente em gaiolas de metabolismo, e o delineamento experimental e tratamentos utilizados foram os mesmos descritos no experimento de desempenho, com quatro repetições. Foram determinados os valores de energia digestível, energia metabolizável, os coeficientes de digestibilidade e metabolizabilidade da energia bruta e no final do ensaio metabólico foram coletadas amostras de fezes, por meio de massagem retal, para determinar o pH fecal. A inclusão do probiótico e inulina nas rações não influenciou ($P>0,05$) o desempenho dos leitões, dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade, o índice de custo, o índice de eficiência econômica, a contagem de bactérias acidoláticas, coliformes e clostrídios das fezes. No ensaio metabólico foi observado que a inclusão de probiótico nas rações não influenciou na metabolizabilidade da energia. No entanto, os níveis de inclusão de inulina reduziram ($P<0,05$) os valores de energia digestível e o coeficiente de digestibilidade da energia bruta, mas não influenciaram no coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta. Os valores de pH fecal não foram

influenciados pela inclusão de probiótico e simbiótico. O uso de probiótico e inulina, e sua associação, não alteraram o desempenho, a contagem de micro-organismos, a viabilidade econômica e a metabolizibilidade da energia bruta de leitões dos 21 aos 49 dias de idade.

Palavras chave: *Bifidobacterium bifidum*, inulina, *Lactobacillus acidophilus*, metabolizibilidade, suínos.

ABSTRACT

MAIKEL POSSAMAI; Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Julho de 2010;
Performance, metabolism and gut microbiota of piglets fed diets containing probiotics and symbiotics. Adviser: Dr. Paulo Cesar Pozza, Committee member: Dr.^a Magali Soares dos Santos Pozza.

Two experiments were conducted to evaluate the effect of using probiotics and symbiotic in piglets diets in the nursery phase. The first experiment was the performance of piglets from 21 to 35, from 36 to 49 days and in total period, being also held the count of lactic bacteria, fecal coliforms and clostridia in the piglets faeces at 35 and 49 days old. The economic viability of probiotics and symbiotic used in piglets diets was also evaluated. There were used 120 piglets, with 21 days old, with initial average weight of 5.80 ± 0.30 kg, distributed in a randomized blocks design, in a factorial scheme consisting of two levels of probiotics (0.30 and 0.60%) and three levels of inulin inclusion (0.00; 0.25 and 0.50%), totalizing six treatments with five replicates. In the metabolism trial were used 24 barrows, with average initial weight of 18.00 ± 0.38 kg, distributed individually in metabolic cages, and the experimental design and treatments used were the same described in the performance experiment, with four replicates. In this trial were determined the values of digestible energy, metabolizable energy, the digestibility and metabolizability coefficients of gross energy and at the end of metabolism trial, were collected fecal samples, by means of retal massage to determine fecal pH. The inclusion of probiotic and inulin in the diets did not influence ($P>0.05$) the performance of piglets, from 21 to 35 and from 21 to 49 days of age, the cost index, the index of economic efficiency, the count of lactic bacteria, fecal coliforms and clostridia in the faeces. In the metabolism trial was observed that the inclusion of probiotics in the diets did not influence in the energy metabolization. Nevertheless, the levels of inclusion of inulin reduced ($P<0.05$) the digestible energy and the digestibility coefficient of gross energy, but did not influence in the coefficient of gross energy metabolization. The pH fecal values were not influenced by the inclusion of probiotic and symbiotic. The use of probiotic and inulin, and their association, did not change the performance, the

faeces microbial counts, the economic viability and gross energy metabolism of piglets from 21 to 49 days old.

Keywords: *Bifidobacterium bifidum*, inulin, *Lactobacillus acidophilus*, metabolism, pigs.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais para leitões dos 21 aos 35 dias de idade	34
Tabela 2. Composição e níveis nutricionais das rações experimentais para leitões dos 35 aos 49 dias de idade	35
Tabela 3. Desempenho de leitões dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 e dos 21 aos 49 dias de idade submetidos à rações com diferentes níveis de inclusão de probiótico e inulina	41
Tabela 4. Número de unidades formadoras de colônias (UFC/g) de bactérias acidoláticas, coliformes e clostrídios nas fezes de leitões, aos 35 e 49 dias de idade, que receberam ração com diferentes níveis de inclusão de probiótico e inulina na ração	45
Tabela 5. Custo da ração (CR), índice de eficiência econômica (IEE) e índice de custo (IC) em função da inclusão de probiótico e inulina em rações para leitões dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 e dos 21 aos 49 dias de idade	49
Tabela 6. Valores de energia bruta (EB), digestível (ED) e metabolizável (EM), coeficientes de digestibilidade (CD) e metabolizibilidade (CM) da energia bruta e relação EM:ED de rações com diferentes níveis de inclusão de probiótico e inulina.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Valores de energia digestível (ED) em função dos níveis de inclusão de inulina na ração	53
Figura 2. Coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) em função dos níveis de inclusão de inulina na ração	53

SUMÁRIO

RESUMO.....	3
ABSTRACT	5
LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
SUMÁRIO.....	9
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Fatores estressantes relacionados ao desmame de leitões.....	17
2.2 Estabelecimento e modulação da microbiota intestinal dos leitões e seus efeitos sobre a saúde intestinal	18
2.3 Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de leitões	24
2.4 Probiótico e prebiótico para suínos sobre a digestibilidade e metabolismo.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 Desempenho dos leitões submetidos a rações contendo probiótico e simbiótico	33
3.2 Digestibilidade e metabolizibilidade da energia bruta de rações contendo probiótico e simbiótico para leitões	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Desempenho dos leitões submetidos a rações contendo probiótico e simbiótico	40
4.2 Digestibilidade e metabolizibilidade da energia bruta de rações contendo probiótico e simbiótico para leitões	50
5 CONCLUSÃO.....	56
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

A utilização de aditivos não nutricionais destacando-se antibióticos, probióticos e prebióticos, que são classificados como promotores de absorção ou de crescimento, são utilizados com finalidade de modificar benéficamente as características químicas, físicas e microbiológicas, influenciando positivamente no desempenho dos animais (BERTECHINI, 2006).

A inclusão de antibióticos na ração representa uma significativa melhora no desempenho dos animais e quando usados em níveis subterapêuticos, ou seja, em quantidades inferiores às usadas para o tratamento de doenças específicas, proporciona aumento no ganho de peso, melhora da conversão alimentar e redução da mortalidade (FRANCO, 1999).

Os fatores externos ao trato digestório, como o estresse animal, o manejo e as doses terapêuticas dos antibióticos devem ser observados no controle microbiano com antibióticos, pois o uso incorreto pode resultar na seleção de bactérias resistentes ao princípio ativo, e estas podem transferir rapidamente o material genético para outras bactérias e para outras populações bacterianas de diferentes gêneros e espécies (VAZ, 2009; CLOSE, 2000). Segundo Barcellos et al. (2009) o uso terapêutico de antimicrobianos na suinocultura somente tornou-se um problema devido ao uso incorreto destes medicamentos, devendo assim reduzir esse uso e oferecer aos animais um ambiente adequado para alcançar uma boa produção.

Um dos problemas encontrados na indústria suinícola são os micro-organismos enterotoxigênicos como a *Escherichia coli* que, após o desmame, gera o aumento da mortalidade e baixo desempenho dos leitões. A forma tradicional de controlar este problema é o uso de níveis subterapêuticos de antibióticos na ração destes animais, no entanto, visando atender o mercado consumidor cada vez mais exigente tem-se pesquisado e desenvolvido produtos saudáveis e naturais, como os prebióticos e probióticos, com objetivo de combater a ação de bactérias patogênicas e auxiliar no equilíbrio benéfico da microbiota do trato gastrintestinal (BHANDARI et al., 2008; SILVA e NÖRNBERG, 2003).

Dessa forma, existe a necessidade de se encontrar substâncias alternativas ao uso de antibióticos promotores de crescimento, como os probióticos, de acordo com Gibson e Roberfroid (1995), que são definidos como suplementos alimentares constituídos por micro-organismos que afetam benéficamente o hospedeiro, tais

como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, que possuem propriedades promotoras de saúde e são usados para alterar a composição e promover equilíbrio da microbiota intestinal. No mesmo sentido, o uso de prebióticos, que são ingredientes alimentares como carboidratos e alguns candidatos a prebióticos como peptídeos, proteínas e lipídios, devido às suas estruturas químicas não são hidrolisados por enzimas digestivas e nem absorvidos na parte superior do trato gastrointestinal de monogástricos, atuando como nutriente e estimulam seletivamente o crescimento e o metabolismo de um número limitado de micro-organismos no cólon, o que afeta benéficamente a saúde do hospedeiro.

Uma variedade de micro-organismos tem sido utilizada como probióticos, incluindo espécies de *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, e algumas leveduras, como o *Saccharomyces*. Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* têm mostrado um grande potencial como probiótico, tanto na alimentação humana, quanto na nutrição animal, gerando efeitos benéficos para o hospedeiro (COLLINS e GIBSON, 1999).

Muitos mecanismos foram sugeridos sobre a ação dos probióticos, sendo que Fuller (1989) divide estas ações em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos, ou seja, uma competição com outros micro-organismos por nutrientes e por sítios de adesão, o que estimula a imunidade do hospedeiro aumentando os níveis de anticorpos e a atividade dos macrófagos. As bactérias probióticas, através da atividade enzimática e a produção de compostos antimicrobianos, alteram o metabolismo microbiano inibindo o crescimento de micro-organismos indesejáveis.

Cross (2002) sugeriu vários processos em que os probióticos podem atuar no trato digestório, o principal deles é a exclusão competitiva, em que o micro-organismo probiótico ajuda a recompor a microbiota intestinal, através da adesão e colonização da mucosa intestinal. Esta ação impede a adesão dos patógenos em sítios de fixação e a utilização de nutrientes, impedindo sua ação patogênica, produção de toxinas ou invasão das células epiteliais, oferecendo um grau de proteção contra patógenos e, ao provocar irritação do epitélio intestinal, estimula a imunidade do hospedeiro.

Conforme Guarner e Malagelada (2003) o mecanismo denominado como exclusão competitiva pelos probióticos modula a microbiota intestinal ao competir

por sítios de adesão, nutrientes e produção de compostos antimicrobianos, impedindo a colonização da mucosa intestinal por micro-organismos patogênicos.

Os prebióticos, por sua vez, são considerados ingredientes alimentares que não são hidrolisados nem digeridos pela acidez e enzimas digestivas na parte superior e proximal do trato gastrointestinal. Devido à característica das ligações químicas β (2-1), entre as moléculas de açúcares, os prebióticos devem ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias benéficas do cólon, as quais terão crescimento e ou metabolismo estimulados para alterar a microbiota intestinal e induzir a efeitos benéficos ao hospedeiro (DIONIZIO et al., 2002; COLLINS e GIBSON, 1999).

Alguns oligossacarídeos possuem características para serem considerados prebióticos, como os frutooligossacarídeos obtidos a partir de oligofrutoses e inulina, galactooligossacarídeos, lactulose, lactitol e maltooligossacarídeo (TZORTZIS et al., 2005).

Carboidratos como amidos resistentes, polissacarídeos não amiláceos e constituintes da parede celular de plantas (hemicelulose, pectina e os oligossacarídeos), conhecidos e chamados de alimentos funcionais por influenciar nos processos metabólicos e fisiológicos do organismo, não possuem as características prebióticas (GIBSON e ROBERFROID, 1995; NINESS, 1999).

Para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (1999) um ingrediente alimentar pode ser considerado funcional quando consumido sem restrição como parte da dieta, fornecendo um potencial para promover a saúde e serem seguros para consumo, influenciando diretamente nos processos metabólicos ou fisiológicos, promovendo o crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo.

Neste sentido, os oligossacarídeos formados por frutanos do tipo inulina, com ligações β (2-1) entre uma molécula de glicose terminal e uma cadeia linear de frutose e ou oligofrutoses, são capazes de resistir à digestão e absorção sofrendo fermentação no cólon e podem promover mudanças significativas na composição da microbiota e epitélio intestinal, reduzindo o número de bactérias potencialmente nocivas, aumentando a absorção de nutrientes e modulando a secreção de peptidases gastrointestinais (ROBERFROID, 2007).

Segundo Roberfroid (2007) ao combinar o alimento prebiótico com micro-organismos probióticos surge o conceito de simbiótico, proposto para caracterizar ingredientes alimentares funcionais com propriedades nutricionais prebióticas e probióticas capaz de promover a saúde intestinal. Entretanto, devido a grande diversidade e a composição da microbiota do intestino, e as diferentes propriedades nutricionais dos alimentos funcionais, recentemente têm aumentado o interesse sobre as propriedades do uso de probióticos, prebióticos e simbióticos.

Conforme descrito por Collins e Gibson (1999) o termo simbiótico refere-se à combinação de micro-organismos com potenciais probióticos, juntamente com substratos alimentares específicos, favorecendo a sobrevivência do probiótico e auxiliando na eliminação de micro-organismos patogênicos do organismo, por exemplo, combinações entre bifidobacteria juntamente com frutooligossacarídeos (FOS) ou galactooligossacarídeos (GOS) e lactobacilos com lactitol ou lactulose.

Assim, a microbiota do trato gastrointestinal é dependente da dieta como a principal fonte de substrato para o seu crescimento e metabolismo, dessa forma o uso de probióticos, e ou simbióticos em rações para leitões, pode promover condições para uma microbiota benéfica e estável, auxiliando na digestão do alimento, absorção de nutrientes e inibe a proliferação de micro-organismos patogênicos, proporcionando melhor desempenho e saúde para o hospedeiro (STEFE et al., 2008).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o uso de probiótico e simbiótico, em diferentes níveis nas rações, sobre o desempenho, o metabolismo energético e a microbiota intestinal de leitões dos 21 aos 49 dias de idade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fatores estressantes relacionados ao desmame de leitões

Em condições práticas os leitões são desmamados entre 21 e 28 dias de idade, com mais de 6 kg de peso vivo, tendo como objetivo principal passar de uma dieta líquida láctea para uma dieta sólida, visando atender todas as necessidades nutricionais que possui o leite da porca, rico em lipídeos, lactose e proteína, com um ótimo perfil de aminoácidos (FILHO et al., 2006).

O desmame precoce de leitões desencadeia uma série de fatores estressantes para o animal, pois a limitação no consumo de alimento, transição de dieta líquida para uma dieta sólida, separação da matriz suína, a adaptação ao novo manejo e o estresse sócio-ambiental, combinados com a imaturidade do sistema digestório na produção de enzimas digestivas tem como consequências uma série de alterações na fisiologia digestiva, impactos sobre o balanço imunológico e saúde intestinal desses animais (FREITAS et al., 1995; SOBESTIANSKY et al., 1998).

De acordo com Kummer et al. (2009) alguns fatores podem influenciar no desempenho produtivo de suínos como o desenvolvimento genético, manejo sanitário, a nutrição, o ambiente e a interferência do homem. No entanto, cuidados na fase de creche, dos 21 as 63 dias de vida, é fundamental para obter um melhor desempenho do animal. Fatores como a idade do desmame, a qualidade do leitão e a variação de peso dentro do mesmo lote devem ser considerados, pois uma menor idade ao desmame resulta em aumento no número de leitões terminados por ano, porém influenciam em um maior desafio sanitário e variação de peso dentro do mesmo lote. Os autores supracitados relataram que ao se desmamar leitões com 20 dias de idade observa-se uma redução nos problemas relacionados com o desmame precoce.

Do mesmo modo, Cera et al. (1988) e Wu et al. (1996) observaram que o desmame precoce de leitões leva à atrofia das vilosidades intestinais e diarreia, capazes de provocar um drástico decréscimo no aporte de imunoglobulinas e diminui a capacidade digestiva e absorptiva de nutrientes essenciais, comprometendo o futuro desempenho destes animais.

Os leitões desmamados precocemente são submetidos a fatores estressantes entre eles se inclui o estresse psicológico, e fatores estressantes imunológicos, aumentando a susceptibilidade da ação de agentes patogênicos. Logo após o desmame a microbiota intestinal dos leitões não é estável, sendo um meio adequado para o estabelecimento de uma população microbiana. Assim, a deficiência digestiva e absorviva pós-desmame é prejudicial ao animal, sendo que a manutenção inadequada do pH ácido reduz a atividade do pepsinogênio e consequentemente da pepsina não havendo digestão das proteínas que, no intestino delgado, será fermentada por micro-organismos patogênicos fortalecendo o seu crescimento, causando lesões na mucosa intestinal e produzindo toxinas, o que leva a um quadro de enterite (FERREIRA, 2001).

A imunidade é importante no desempenho do leitão desmamado e a estabilidade do rebanho das porcas também tem a sua importância devido à transmissão de imunidade passiva para os leitões através da amamentação e, de acordo com Main et al. (2002), esta imunidade pode protegê-los até seis semanas de vida. Desta forma, o desmame dos leitões com mais de 21 dias de idade irá influenciar no desenvolvimento nas fases de creche e de terminação, no ganho diário de peso, peso ao abate e taxa de mortalidade.

Todos estes fatores estressantes propiciam grandes alterações na microbiota intestinal reduzindo a população de bactérias benéficas e aumentando as patogênicas que produzem metabólitos tóxicos, causando inflamações na mucosa intestinal do hospedeiro, ocasionando o surgimento de doenças e afetando no desempenho animal (SILVA e NÖRNBERG, 2003).

2.2 Estabelecimento e modulação da microbiota intestinal dos leitões e seus efeitos sobre a saúde intestinal

O trato gastrointestinal desempenha muitas funções diferentes no organismo e além das funções de digestão e absorção desempenha um importante papel de defesa contra agentes patogênicos (SERVIN, 2004). A microbiota intestinal é dependente da dieta como a principal fonte de alimento para seu metabolismo. Desta forma, pequenas mudanças na composição da dieta pode ter efeitos sobre o microbiota intestinal (BEDFORD e APAJALAHTI, 2001).

Segundo Moraes e Neto (2003) a secreção ácida gástrica e as secreções digestivas no intestino delgado, pancreática e biliar são consideradas um dos principais fatores na regulação da microbiota intestinal por suprimir parte das bactérias ingeridas. No entanto, as respostas imunes da mucosa intestinal proporcionada por bactérias são fundamentais na produção da imunoglobulina A (IgA) secretora, principal anticorpo produzido no intestino, a qual se diferencia da IgA sérica pela capacidade de impedir a aderência de micro-organismos à superfície dos enterócitos.

A colonização por bactérias do trato gastrointestinal do recém-nascido interage com o sistema imunológico, se desenvolvendo e reconhecendo as bactérias hospedeiras desejáveis e contribuindo para a saúde intestinal (SAKATA et al., 2005).

Os probióticos são reguladores do trato intestinal melhorando a saúde intestinal e diretamente o desempenho dos animais, e o seu mecanismo de ação complexo pode variar com fatores ambientais e condições físicas do animal (TOURNUT, 1998).

As bifidobactérias, através de sistemas de fermentação, são capazes de exercer um efeito inibitório sobre micro-organismos patogênicos como a *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*, mas não necessariamente relacionadas somente com a produção de ácido orgânicos. Conforme descrito por Gibson e Wang (1994) algumas espécies de bifidobactérias são capazes de exercer mais de um mecanismo de inibição, como excretar substâncias antimicrobianas com uma ampla atividade inibitória sobre espécies dos gêneros *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter* e *Shigella*.

Ao nascimento há uma rápida colonização bacteriana na microbiota intestinal dos leitões e a alimentação predispõe a uma disfunção enterocolite necrosante (NEC), uma grave doença inflamatória gastrointestinal. Entretanto, Siggers et al. (2008) observaram benefícios quanto ao uso de *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus* (*acidophilus*, *casei*, *pentosus* e *plantarum*) em dietas para leitões, havendo uma redução da suscetibilidade da forma clínica da NEC que associada ao desenvolvimento intestinal da mucosa, e ao aumento da relação vilo-crípta, dificultou a colonização por micro-organismos com potencial patogênico (*Clostridium perfringens*).

Ao avaliar o uso de probiótico constituído de *Lactobacillus* sp. em dietas para leitões nas fases de aleitamento e de creche, Santos et al. (2003) não observaram efeito do probiótico sobre a microbiota intestinal na contagem de *Lactobacillus*, coliformes, *Clostridium* e *Enterococcus*.

No entanto, Rodrigues et al. (2007) verificaram que o uso de probiótico composto por bactérias (*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum*) é eficaz por induzir uma resposta do sistema imune ao aderir nas células do duodeno, competindo com organismos patogênicos e atuando como antígenos para estimular as células da mucosa a segregar IgA, melhorando a absorção dos nutrientes.

Siggers et al. (2008) observaram que leitões alimentados com ração contendo uma mistura de probióticos (*Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus* spp) apresentaram menor densidade de colonização pela bactéria patogênica *Clostridium perfringens* e maior número de espécies de *Lactobacillus* spp associados aos enterócitos ao longo das vilosidades intestinais, em relação aos animais que receberam ração sem probióticos. Estes resultados sugerem que o uso de probióticos promove a colonização de uma microbiota benéfica, capaz de limitar disfunções, atrofia e a carga de patógenos na mucosa intestinal em leitões recém-nascidos.

Ao avaliar dois níveis de probióticos constituído por *Lactobacillus* sp, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bacillus subtilis* e dois princípios ativos de antimicrobianos em dietas para leitões na fase de creche, dos 21 aos 63 dias de idade, Silva et al. (2007) não observaram diferença no desempenho dos leitões, mas os probióticos, em relação aos antimicrobianos, proporcionaram redução dos quadros de diarreia mostrando eficácia no equilíbrio da microbiota intestinal.

Há muitos aspectos na utilização de *Bifidobacterium* sp relacionados com a saúde, como o tratamento e prevenção de doenças inflamatórias intestinais, proporcionando resistência contra infecções microbianas, com potencial na prevenção do câncer, impacto na função imune, redução do colesterol sérico, diminuição de bactérias intestinais e aumento da secreção de citocinas (molécula envolvida na emissão de sinais entre as células durante as respostas imunes),

aumentando a produção de anticorpos (LEAHY et al., 2005; MORAES e COLLA, 2006).

A inclusão de carboidratos fermentáveis (oligofrutoses) em dietas para leitões desmamados tem-se mostrado uma estratégia eficaz para controlar problemas com o trato digestório. Em caso de esgotamento de carboidratos como fonte de energia para os micro-organismos intestinais, a fermentação no intestino torna-se mais proteolítica e o excesso de fermentação de proteína no intestino grosso leva ao aumento da concentração de amônia no cólon, o que predispõe os leitões desmamados precocemente à diarreia (PARTANEN e MROZ, 1999).

Para Seifert e Watzl (2007) a dieta contendo nutrientes essenciais, e carboidratos não digeríveis, pode influenciar nas funções do sistema imune de diferentes formas, principalmente aumentando a resistência a infecções causadas por micro-organismos patogênicos. A ingestão de inulina e oligofrutose, por exemplo, promove efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal e no sistema imunológico.

Awati et al. (2006) inferiram que a inclusão de polpa de beterraba, lactulose, amido de trigo e inulina (carboidratos fermentáveis) na dieta de leitões não influenciou nas concentrações de ácidos graxos voláteis (ácido acético, propiônico e butírico) contido nas amostras de fezes e na digesta coletada em diferentes partes do trato gastrointestinal. Entretanto, observaram menor concentração de amônia e ácidos graxos de cadeia ramificada (ácido isobutírico e isovalérico) utilizados como indicadores de fermentação da proteína, quando comparados com os animais que não receberam carboidratos fermentáveis, concluindo que os micro-organismos reduziram a quantidade de fermentação da proteína com o uso de carboidratos, o que reduziu também a concentração de amônia fecal.

Em um experimento realizado por Kien et al. (2007) com leitões alimentados com rações líquidas em substituição ao leite da matriz, contendo ou não prebiótico (inulina), observaram que os animais alimentados com a inulina apresentaram menores valores de pH no fluido luminal coletado no ceco em relação com aos animais que receberam dieta sem a inclusão de prebiótico. Foi observado que o butirato, produzido pela fermentação bacteriana de carboidratos normalmente ingeridos pelos leitões, pode desempenhar um papel importante no crescimento das vilosidades intestinais.

A inulina e a oligofrutose são considerados ingredientes alimentares funcionais com baixo valor energético, que afetam os processos fisiológicos e bioquímicos da microbiota intestinal, ao estimular o sistema imunológico do organismo e diminuir os níveis de bactérias patogênicas, promovendo a saúde para o hospedeiro. Kaur e Gupta (2002), em um estudo realizado com animais alimentados com ração contendo inulina, observaram uma redução do pH do ceco e aumento da quantidade de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato). Este aumento está relacionado à hiperplasia da mucosa e ao aumento da espessura da parede intestinal, tanto no intestino delgado quanto no ceco e ainda mostrou ser eficaz na redução da uréia sanguínea e níveis de ácido úrico, mantendo um adequado balanço de nitrogênio.

A suplementação de inulina em dietas para animais pode estimular o sistema imune e a absorção de nutrientes e minerais. Yasuda et al. (2006) observaram que a utilização de inulina, como ingrediente funcional, melhora a absorção e a utilização de ferro presentes em uma dieta à base de milho e farelo de soja para leitões, aumentando as concentrações de hemoglobinas em até 28 % com a utilização de dietas contendo 4 % de inulina. Esse efeito benéfico foi associado com as maiores concentrações de ferro solúvel encontrado na digesta coletada no cólon distal, onde também foi observado menores concentrações de sulfeto. Entretanto nenhum efeito sobre o pH ou atividade da fitase digestiva foi observado em qualquer um dos segmentos intestinais.

Em estudo realizado com leitões desmamados com 21 dias de idade, Budiño et al. (2005) observaram que os leitões que receberam prebióticos apresentaram maior densidade de vilos duodenais em relação aos que receberam dieta com probiótico, entretanto o probiótico melhorou a recuperação na densidade dos microvilos. Para explicar estes resultados os autores relacionam a maior profundidade de cripta com a maior atividade proliferativa das células, permitindo transformar as células epiteliais da cripta e compensar as perdas da altura de vilosidades. O equilíbrio entre uma taxa de renovação constante de células e o tamanho dos vilos pode significar uma manutenção adequada da mucosa intestinal e o aumento na área de absorção, estes resultados reforçam o efeito de frutoligosacarídeos prebióticos sobre a modulação da mucosa intestinal.

Segundo White et al. (2002) a eficácia dos mananoligossacarídeos prebióticos, na alimentação dos suínos, não melhora a composição microbiológica quanto aos coliformes totais, *Escherichia coli*, lactobacilos, *Bifidobacterium* spp., *Clostridium perfringens* e organismos anaeróbicos ou aerotolerantes. Os autores relatam ainda que não foram observadas diferenças em relação a altura das vilosidades intestinais.

Neste sentido, os resultados obtido por Konstantinov et al. (2004) indicaram que a adição de carboidratos fermentáveis em dietas para leitões favorece o crescimento de *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus amylovorus* no cólon e no íleo, observando ainda que a inulina fornecida na dieta reduziu o pH no íleo dos leitões quando comparado a animais que receberam polpa de beterraba e amido de trigo, que apresentaram maior pH no íleo.

Bactérias do gênero *Bifidobacterium* sp e *Lactobacillus* sp, são capazes de fermentar carboidratos insolúveis e não digeríveis, utilizado como nutrientes para o seu crescimento e multiplicação. Yasuda et al. (2007) coletaram amostras de digesta do estômago, jejuno, íleo, ceco e cólon de suínos jovens onde verificaram a atividade de degradação da inulina. No entanto, encontraram maiores quantidades de frutose e concentrações de sacarose na parte superior do trato gastrointestinal, porém, grande parte da degradação da inulina ocorreu no ceco dos suínos sugerindo que no ceco ocorre a maior parte da degradação da inulina devido à ação de micro-organismos fermentadores.

Alguns carboidratos, como os galactooligossacarídeos (GOS), possuem um grande potencial prebiótico, com isso Tzortzis et al. (2005) compararam as propriedades dos GOS e da inulina sobre a atividade microbiana *in vivo* e *in vitro* de *Bifidobacterium bifidum*. Os autores observaram que o número de colônias de bifidobactérias aumentou após a adição de GOS e que esta inibiu o crescimento de bactérias patogênicas, como a *Escherichia coli* e *Salmonella*. Na avaliação em leitões com 28 dias de idade, submetidos a dietas contendo 1,60% GOS; 4,00% GOS e inulina, observaram que o GOS e a inulina promoveu um aumento de lactobacilos e bifidobactérias nas amostras fecais, no entanto, 4% de GOS resultaram em maior contagem de bifidobactérias e concentrações de ácido acético, o que reduziu o pH no cólon, demonstrando o potencial prebiótico dos GOS e seletividade para o crescimento de bifidobactérias.

Os prebióticos podem aderir a bactérias patogênicas evitando sua adesão e colonização no epitélio intestinal, além disso, podem contribuir para a proliferação de micro-organismos benéficos e estimulação das células do sistema imune, promovendo o aumento de IgG no sangue, sendo que na mucosa intestinal a secreção do anticorpo (IgA) impede a aderência de micro-organismos à superfície dos enterócitos (KAMIMURA et al., 2006).

Ingredientes alimentares como a inulina estimulam o crescimento de bifidobactéria intestinais em humanos e roedores, mas o seu efeito em suínos é inconsistente. Loh et al. (2006) avaliaram o efeito da inulina sobre a microbiota intestinal em suínos, entre 9 e 12 semanas de vida, alimentados com dietas a base de trigo, cevada, glúten de trigo ou glúten de milho, com ou sem a suplementação com 3% de inulina. Os autores observaram que a colonização por bifidobactéria no cólon é independente da dieta basal, rica em fibra ou não, e que a inulina estimula a colonização do cólon por bifidobactéria, influenciando na concentração de ácidos graxos de cadeia curta, ao reduzir a concentração do acetato e aumentar a concentração do butirato no cólon, no entanto, promoveu um aumento do pH.

Borsatti et al. (2006) avaliando o efeito probiótico e simbiótico (probiótico e inulina) sobre a microbiota intestinal de leitões dos 21 a 35 dias de idade, concluíram que o uso de probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus* ($3,5 \times 10^{11}$ UFC/kg), *Enterococcus faecium* ($3,5 \times 10^{11}$ UFC/kg) e *Bifidobacterium bifidum* ($3,5 \times 10^{11}$ UFC/kg) proporcionaram maiores contagens de bactérias lácticas na digesta do cólon (9,05) em relação ao tratamento contendo simbiótico (8,22), sendo que o tratamento contendo antibiótico apresentou semelhança ao probiótico e simbiótico (8,76). Os autores não observaram diferença entre os tratamentos para os valores de contagem de coliformes e de pH na digesta coletada do cólon dos leitões.

2.3 Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de leitões

Os micro-organismos probióticos formam uma barreira antagônica a colonização de bactérias patogênicas, mecanismo conhecido como exclusão competitiva, através dos quais as bactérias intestinais, como os lactobacilos e bifidobactéria, inibem a colonização por bactérias, competindo por sítios de colonização, nutrientes, produção de compostos tóxicos, estimulação do sistema

imune e melhorando a saúde intestinal do hospedeiro. Estes efeitos proporcionam melhor digestão e absorção de nutrientes, gerando bons resultados produtivos e zootécnicos (HUAYNATE et al. 2006a). O aumento da colonização por bactérias probióticas pode ser auxiliado pela alimentação específica com carboidratos que possuam propriedades prebióticas (PATTERSON e BURKHOLDER, 2003).

No entanto, estatisticamente é pouco evidenciada essa melhoria no desempenho, contudo apresenta efeitos benéficos na redução da incidência de diarreia em pesquisas com leitões na fase de creche (PATTERSON e BURKHOLDER, 2003; SIMON et al., 2001).

Segundo Bellaver (2000) os probióticos podem ser contituido de diferentes misturas de bactérias ou leveduras vivas, administradas nas rações, para estabelecer uma microbiota benéfica natural e competir com bactérias indesejáveis no intestino, sendo que micro-organismos dos gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Saccharomyces* têm sido utilizados em dietas para suínos, que favorece o desenvolvimento de micro-organismos benéficos ao hospedeiro, a fim de melhorar o desempenho quanto ao ganho de peso e eficiência alimentar. Além disso, os probióticos podem competir e inibir o crescimento da *Escherichia coli*, através da formação de lactato que altera o pH intestinal.

Alguns resultados como os obtidos por Taras et al. (2006), que ao compararem leitões que receberam dietas contendo probiótico (*Enterococcus faecium*) com leitões do grupo controle que não receberam probiótico, mostraram, aos 42 e 49 dias de idade, melhores pesos médios para o grupo controle, porém aos 56 dias apresentaram pesos médios semelhantes, sendo que o único benefício do uso de probióticos foi a melhoria na conversão alimentar aos 56 dias de idade.

Ao avaliar leitões que receberam dietas contendo probiótico ou não, Silva et al. (2006) observaram que dos 21 aos 63 dias de idade os animais que receberam probiótico apresentaram melhores resultados de conversão alimentar em relação ao grupo controle, no entanto, o ganho diário de peso, o consumo diário de ração e o peso médio foi semelhante entre os tratamentos. A inclusão de probiótico apontou ser a melhor dieta em relação ao Índice de Eficiência Econômica e de Custo. Segundo os autores estes resultados podem ser conflitantes, mas foram positivos e dependentes do desafio sanitário, da composição da ração e o manejo alimentar o qual estes animais foram submetidos.

Cepas de *Bacillus cereus* foram utilizadas por Alexopoulos et al. (2001) que obtiveram resultados satisfatórios com o uso de probióticos, produzindo efeitos positivos sobre a menor incidência de diarreia, sobrevivência e desempenho de leitões ao nascimento e no crescimento, os quais receberam dietas contendo probiótico (*Bacillus cereus*) juntamente com as matrizes suínas durante a gestação e maternidade.

Fedalto et al. (2002) avaliaram o desempenho de leitões desmamados aos 23 dias de vida recebendo dietas suplementadas com antibiótico, probiótico ou associado (antibiótico + probiótico) em relação a um grupo controle sem promotor de crescimento. Até os 63 dias de idade os autores não observaram diferenças no ganho diário de peso e na conversão alimentar entre os tratamentos.

Os micro-organismos probióticos podem se isolados do próprio animal, porém as combinações e o número de micro-organismos podem trazer benefícios para o hospedeiro ou contribuir para uma competição por nutrientes com o trato intestinal, dependendo da idade do animal, do nível de estresse e do ambiente em que vive. Ao avaliar grupos de leitões que receberam antibiótico (bacitracina de zinco) ou probiótico isolado dos próprios animais ($2,5 \times 10^8$ UFC/ml de *Lactobacillus* sp), Santos et al. (2002) não observaram diferenças no desempenho de leitões dos 21 aos 49 dias de vida em comparação aos animais que não receberam estes tratamentos.

A adição de carboidratos fermentáveis tem mostrado eficácia no aumento da diversidade bacteriana e na mais rápida estabilização da microbiota intestinal em leitões recém-desmamados, favorecendo melhorias na saúde do animal e no seu desempenho (PARTANEN e MROZ, 1999).

Visentini et al. (2008) avaliando o desempenho de leitões dos 21 aos 63 dias de idade, alimentados com dietas contendo ou não com frutooligosacarídeos e antibiótico, observaram que a adição de prebiótico não afetou o consumo e o ganho diário de peso dos leitões, mas os animais alimentados com antibióticos apresentaram melhores resultados produtivos.

Pierce et al. (2005) observaram que a inclusão de inulina e ácido láctico, em dieta para leitões desmamados, promoveu maiores estímulos no aumento da altura das vilosidades do jejuno, na proliferação de lactobacilos no cólon e no ganho diário

de peso dos leitões, quando comparado ao efeito da dieta somente com inulina, indicando a importância da altura dos vilos para o desempenho de suínos.

Apesar dos efeitos benéficos da adição de prebióticos na alimentação animal existem muitos resultados inconsistentes. Alguns trabalhos como o apresentado por Kien et al. (2007), utilizando leitões com 18 dias de idade e alimentados com rações líquidas contendo ou não inulina, não observaram efeito no desempenho quanto ao ganho de peso, no entanto, observaram maior desenvolvimento das vilosidades intestinais dos leitões. No entanto, Lanthier et al. (2006) utilizaram inulina em dietas para leitões e também não observaram diferença no desempenho dos 28 aos 42 dias de idade.

Com o objetivo de avaliar os efeitos do uso de prebióticos (0,1% mananoligossacarídeo e 0,1% frutoligossacarídeo) em rações para suínos, Bellé et al. (2009) não verificaram diferenças no desempenho dos animais na fase de crescimento e terminação e também para as características sensoriais e de qualidade da carne quanto ao pH da carne, espessura do toucinho, profundidade de lombo, cor, marmoreio e perda de água por gotejamento, quando comparado com o uso do antibiótico apramicina.

Utiyama et al. (2006) não observaram alterações na frequência de diarreia, modificações na microbiota intestinal e no desempenho de leitões, dos 21 aos 49 dias de vida, independente do uso de antimicrobiano, probiótico, prebiótico e de extratos vegetais (alho, cravo, canela, pimenta, tomilho, cinamaldeído e eugenol). O prebiótico, por sua vez, proporcionou aos leitões dos 21 aos 35 dias de vida desempenho equivalente ao tratamento que recebeu antimicrobiano devido ao maior consumo diário de ração, porém não houve interferência na conversão alimentar. Segundo os autores este desempenho dos animais pode estar relacionado à ação do mananoligossacarídeo (prebióticos) sobre a resposta imune.

Ao avaliar o efeito de probiótico e/ou prebiótico adicionados à ração de matrizes suínas, sobre o desempenho dos leitões durante o aleitamento, Barros et al. (2008) observaram que a adição de prebiótico durante o aleitamento promoveu um aumento no ganho de peso dos leitões de 0 a 14 dias de idade, mas no período de 15 a 21 dias de idade os melhores resultados foram observados para os animais dos tratamentos com probiótico e simbiótico. Em relação à viabilidade econômica, a

adição de probiótico teve o melhor índice de eficiência econômica com o menor custo médio na alimentação das matrizes.

Junqueira et al. (2009) realizaram estudos sobre a influência de antibiótico, gluconato de sódio (fermentado por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*), prebiótico, probiótico e simbiótico em dietas para suínos na fase de creche, crescimento e terminação, observando que o simbiótico foi mais eficiente, pois promoveu os melhores resultados de ganho de peso e conversão alimentar. No geral os animais alimentados com prebiótico, probiótico e simbiótico apresentaram maior ganho de peso em relação aos tratamentos sem promotores de crescimento ou com antibiótico. Este resultado, segundo os autores, pode ser explicado pela melhor absorção dos nutrientes aliada ao menor gasto de energia para manutenção do trato gastrointestinal.

Ao realizar um experimento com leitões desmamados com 23 dias de idade, Sanches et al. (2006) concluíram que a inclusão de probiótico (*Bacillus subtilis*), prebiótico (mananoligossacarídeo), simbiótico ou antibiótico (Olaquinox) na alimentação de leitões na fase de creche, proporcionou desempenho semelhante entre os tratamentos.

2.4 Probiótico e prebiótico para suínos sobre a digestibilidade e metabolismo

Para melhor evidenciar os benefícios no aproveitamento de nutrientes com a utilização de probióticos em dietas para leitões, Huaynate et al. (2007) visando à menor contaminação das amostras observaram que independente da metodologia para coletar fezes, seja diretamente do reto do animal ou da caixa coletora da gaiola de metabolismo, as amostras podem ser utilizadas em estudos de metabolismo para a obtenção de bons resultados para estimar a utilização de nutrientes da dieta.

Silva e Nörnberg (2003) relataram que os compostos prebióticos podem atuar na modulação da mucosa intestinal beneficiando o hospedeiro através de melhorias nos processos de digestão e absorção de nutrientes e estimulação do sistema imune da mucosa intestinal. Entretanto, nem todos os compostos formados por oligossacarídeos (celulose, hemicelulose e alguns amidos resistentes à ação de enzimas) têm potenciais prebióticos e a modulação intestinal é dependente da

composição dos ingredientes utilizados nas dietas, sendo que a resposta biológica do animal pode ser devido a fatores inerentes à nutrição, como o estresse animal.

Em um estudo realizado por Chiquieri et al. (2007) observou-se que suínos na fase de crescimento, alimentados com dietas contendo probiótico, prebiótico e ou antibiótico, independente do tratamento não influenciou no aumento das vilosidades duodenais e na absorção de nutrientes.

Ao avaliarem suínos alimentados com dietas contendo probiótico à base de *Bacillus toyoi*, prebiótico à base de oligossacarídeos, simbiótico ou antibiótico (avilamicina), Junqueira et al. (2009) observaram que o probiótico promoveu um melhor equilíbrio na manutenção do trato gastrointestinal e os animais se tornaram mais eficientes em digerir os alimentos e utilizar os nutrientes da dieta.

A ação de micro-organismos no trato digestório influencia a digestibilidade e disponibilidade de alguns nutrientes da dieta, como a de proteínas e gorduras, sendo que a fermentação de produtos lácteos por bactérias pode aumentar a concentração de determinados nutrientes, como vitaminas do complexo B (KOPP-HOOLIHAN, 2001).

Em um experimento realizado por Budiño et al. (2004) onde avaliaram leitões desmamados com 21 dias de idade e alimentados com dietas contendo antibiótico (bacitracina de zinco 15%), probiótico (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*), prebiótico (frutoligossacarídeo), simbiótico ou sem a adição de promotores de crescimento, observaram que independente do promotor de crescimento não houve alteração na atividade das dipeptidases, sacarase e maltase da mucosa intestinal de leitões. No entanto, foi observado um aumento na atividade da sacarase e maltase nos leitões que receberam dieta com prebiótico, entre os 7 e 14 dias pós-desmame. Os autores concluíram que o uso de prebiótico, probiótico ou simbiótico em dietas para leitões não influenciou diretamente na digestão de nutrientes, mas proporcionou melhores condições para que houvesse melhor digestão e absorção de nutrientes.

Rodrigues et al. (2009) não observaram diferenças significativas referente aos níveis de inclusão de probióticos em rações para leitões na fase de creche quanto ao balanço de nitrogênio, porém, verificaram que o aumento na inclusão de prebiótico (inulina) nas dietas influenciou no aumento do nitrogênio excretado nas fezes dos leitões, o que reduziu a digestibilidade do nitrogênio. Segundo os autores

a excreção de nitrogênio nas fezes está relacionada inversamente com a digestibilidade e proporcional a uma maior atividade bacteriana no intestino, o que aumenta a excreção de nitrogênio incorporado pelas bactérias.

Ao avaliar a digestibilidade de nutrientes, a excreção nitrogênio, a microbiota intestinal e produção de ácido graxos voláteis (AGV) em suínos alimentados com dietas contendo dois níveis de proteína e ou inulina, Lynch et al. (2007) observaram que o uso de inulina resultou em um aumento na concentração de bifidobactérias no ceco e cólon o que reduziu as contagens de *Enterobacteria* sp., assim como promoveu aumento da excreção fecal de nitrogênio e diminuiu o nitrogênio da urina, indicando que a inulina tem a capacidade de manipular a microbiota intestinal mas não houve efeito sobre a concentração de AGV, no pH intestinal e nos coeficientes de digestibilidade das dietas em relação a energia bruta.

O interesse pelos efeitos da fermentação de carboidratos, como a inulina ou oligofrutose no intestino delgado e no cólon é associado com alterações metabólicas na digestão e melhorias na saúde do trato digestório. Estes substratos alimentares no cólon são fermentados por bactérias específicas principalmente pelas bifidobactérias e lactobacilos, sendo aproveitados como ácidos graxos de cadeia curta e, ao mesmo tempo, estimulam a microbiota intestinal. Segundo Wong e Jenkins (2007) este processo pode ter efeitos metabólicos importantes no intestino possivelmente relacionados com a fermentação, na produção de ácidos graxos de cadeia curta e a estimulação de certas populações da microbiota do cólon, o que pode contribuir para a biotransformação de alimentos aumentando a disponibilidade de nutrientes para o organismo.

A manipulação dietética com substratos fermentáveis, especialmente frutanos do tipo inulina, pode modular a absorção de nutrientes, pois Coxam (2007) relatou que estes substratos são resistentes à hidrólise por enzimas em mamíferos e são fermentados no intestino grosso por bactérias específicas, produzindo ácidos graxos de cadeia curta que, por sua vez, reduzem o pH luminal e modificam a solubilidade luminal, exercendo um efeito direto sobre as vias de transporte das mucosas.

Pouco ou nenhuma inulina é detectável nas fezes, pois o metabolismo no cólon através da fermentação de bactérias anaeróbias é quase completo, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, ácido láctico e gases, incluindo hidrogênio, dióxido de carbono e metano (RIZKALLA et al., 2000).

Algumas bactérias probióticas, quando fermentam carboidratos, produzem ácidos graxos de cadeia curta que quando absorvidos auxiliam na manutenção de um pH apropriado no lúmen do cólon, protegendo contra mudanças na mucosa e contribui elevando a energia disponível no lúmen (WOLLOWSKI et al., 2001).

Os prebióticos podem inibir a proliferação de bactérias patogênicas o que possibilita a colonização por bactérias benéficas, havendo uma melhora na absorção de nutrientes. Santos (2010), avaliando leitões dos 22 a 63 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não diferentes níveis de prebiótico (mananoligossacarídeo) e com antibiótico, observou que independente do tratamento as variáveis de ganho diário de peso, consumo diário de ração e conversão alimentar não foram influenciadas. A altura das vilosidades, profundidade das criptas e a relação vilo-cripta avaliados no duodeno e jejuno dos leitões também não apresentaram diferenças entre os tratamentos. A utilização de níveis de prebióticos nas dietas dos leitões não promoveu melhorias na digestibilidade em relação ao coeficiente de digestibilidade da energia bruta e coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta das rações. Em resumo os autores relataram que o prebiótico não influenciou no desempenho, na digestibilidade dos nutrientes e na modulação do trato digestório.

Estudos demonstraram que ácidos graxos de cadeia curta, produzidos pela fermentação bacteriana e absorvido pelo sangue pode ter um efeito inibitório na síntese hepática de colesterol e produção de triglicerídeos (gordura). A inulina, ingrediente fermentável, tem o mesmo efeito de algumas fibras dietéticas solúveis e pode modular a concentração de lipídios no sangue e reduzir a densidade calórica dos alimentos, ou seja, parte das gorduras e açúcares utilizados nos alimentos, já que o conteúdo calórico da inulina é 4,13 kJ / g ou 1 kcal / g (DAVIDSON e MAKI, 1999), enquanto que 1 g de lipídeo produz 9 kcal e 1 g de carboidrato digestível produz 4 kcal de energia (BERTECHINI, 2006).

Ao avaliarem diferentes níveis de probióticos (0, 100, 200 e 300 ppm), em rações para leitões dos 22 aos 44 e dos 45 aos 68 dias de idade, Huaynate et al. (2006b) não observaram diferenças quanto à excreção de nitrogênio, no entanto, observaram menor excreção do cálcio na fase inicial e em todo o período experimental nos animais que receberam alimento contendo 300 ppm de probiótico.

Segundo os autores o probiótico propiciou melhor equilíbrio da microbiota intestinal, o que favoreceu uma melhor absorção de alguns de minerais.

Os oligossacarídeos não digestíveis aumentam a absorção de alguns minerais sendo que os frutanos do tipo inulina, incluindo derivados de sacarose, estimulam a absorção óssea de minerais quando combinado com lactobacilos probióticos e na presença de antibióticos. Essa estimulação da absorção pode ser mais pronunciada em animais jovens, quando a demanda de minerais for elevada. O mecanismo adotado pelos frutanos, do tipo inulina, inclui o efeito de acidificação do lúmen intestinal por ácidos graxos de cadeia curta aumentando a solubilidade dos minerais no intestino e o alargamento da superfície de absorção, aumentando assim a expressão de cálcio vinculado a proteína, principalmente no intestino grosso, melhorando a saúde do tubo digestório incluindo a estabilização da microbiota intestinal e redução de inflamações (SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIR, 2007).

Segundo Saad (2006) os carboidratos estruturais como as fibras alimentares, a inulina e a oligofrutose influenciam na digestão e absorção de nutrientes através de efeitos na motilidade do trato digestório ao atrasar o esvaziamento gástrico e diminuir o tempo de passagem da dieta no intestino delgado.

Um dos fatores que pode influenciar na digestibilidade da ração é o tempo de permanência da digesta no intestino, qual decresce quando maior o consumo de ração, pois quanto mais alimento ingerido piora a relação enzima-substrato, levando a uma redução na digestibilidade. Huaynate et al. (2006a) ao avaliarem leitões alimentados com dietas suplementadas ou não com probióticos, dos 22 aos 68 dias de idade, observaram que o tratamento com probiótico foi eficiente em manter os coeficientes de digestibilidade mesmo com o aumento no consumo de ração. Segundo os autores os micro-organismos probiótico pode ter auxiliado na digestão e absorção dos nutrientes por secretar enzimas digestivas como a amilase, protease e lipase.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos para avaliar os níveis de inclusão de probiótico e simbiótico em rações para leitões, sendo o primeiro de desempenho, realizado na creche demonstrativa e experimental, e o segundo de digestibilidade realizado na sala de metabolismo de suínos, localizadas na Fazenda Experimental “Profº. Antônio Carlos dos Santos Pessoa” da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, no município de Marechal Cândido Rondon.

3.1 Desempenho dos leitões submetidos a rações contendo probiótico e simbiótico

Foram utilizados 120 leitões com 21 dias de idade, por ocasião da desmama com peso médio inicial de $5,80 \pm 0,30$ kg, distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao acaso em um esquema fatorial 2×3 , constituído de dois níveis de probióticos (0,30 e 0,60%) e três níveis de inclusão de inulina (0,00; 0,25 e 0,50%), totalizando seis tratamentos com cinco repetições. A unidade experimental foi representada pela baia onde foram alojados quatro animais, dois machos castrados e duas fêmeas.

Os leitões foram distribuídos em lotes uniformes conforme o peso individual inicial e alojados em baias suspensas, dotadas de comedouros semi-automáticos, bebedouros tipo chupeta e piso de plástico vazado, em um galpão de alvenaria com piso de concreto e telhas de cerâmica.

Os leitões receberam ração pré-inicial I dos 21 aos 35 dias (Tabela 1), e pré-inicial II dos 35 aos 49 dias de idade (Tabela 2), sendo que as rações e à água foram fornecidas à vontade. As rações experimentais foram formuladas visando atender as exigências nutricionais dos animais na fase pré-inicial I e II, seguindo as recomendações mínimas descritas por Rostagno et al. (2005).

O probiótico comercial utilizado nas rações era composto de *Lactobacillus acidophilus* ($3,50 \times 10^{11}$ UFC/kg), *Enterococcus faecium* ($3,50 \times 10^{11}$ UFC/kg) e *Bifidobacterium bifidum* ($7,00 \times 10^{11}$ UFC/kg). Como prebiótico foi utilizado a inulina, caracterizada por carboidratos não digeríveis com sua estrutura formada por frutooligossacarídeos, ou seja, um polímero de moléculas de frutose unidas a uma molécula de glicose terminal por ligações β - 2,1.

Tabela 1 – Composição e níveis nutricionais das rações experimentais para leitões dos 21 aos 35 dias de idade

Probiótico	0,30			0,60		
Inulina	0,00	0,25	0,50	0,00	0,25	0,50
Milho	53,57	53,57	53,57	53,57	53,57	53,57
Farelo de soja	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59	7,59
Soro de leite em pó	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Plasma <i>spray dried</i>	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Farinha de peixe	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Glúten de milho	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de Soja	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Açúcar	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Calcário calcítico	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Fosfato bicálcico	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
Óxido de zinco	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Cloreto de colina (60%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
L - lisina HCL	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58
DL - metionina	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
L - treonina	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
L - triptofano	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Antioxidante ¹	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Ácidos orgânicos	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Mistura vitamínica ²	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Mistura mineral ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Probiótico	0,30	0,30	0,30	0,60	0,60	0,60
Inulina	0,00	0,25	0,50	0,00	0,25	0,50
Inerte ⁴	0,80	0,55	0,30	0,50	0,25	0,00
Composição Calculada ⁵						
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.325	3.325	3.325	3.325	3.325	3.325
Proteína Bruta (%)	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Cálcio (%)	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Fósforo Disponível (%)	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
Sódio (%)	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Potássio (%)	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
Cloro (%)	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Lisina Digestível (%)	1,52	1,52	1,52	1,52	1,52	1,52
Met. + Cist. Digestível (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Metionina Digestível (%)	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
Treonina Digestível (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Triptofano Digestível (%)	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
Lactose (%)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00

¹ BHT: Butil Hidroxitolueno; ² Conteúdo/kg: ferro 100 g; cobre 10 g; cobalto 1 g; manganês 40 g; zinco 100 g; iodo 1,5 g; e veículo q.s.p 1000 g. ³ Conteúdo/kg: vit. A, 10.000.000 U.I.; vit. D₃, 1.500.000 U.I.; vit. E, 30.000 U.I.; vit. B₁, 2,0 g; vit. B₂, 5,0 g; vit. B₆, 3,0 g; vit. B₁₂, 30.000 mcg; ácido nicotínico 30.000 mcg; ácido pantotênico 12.000 mcg; vit. K₃, 2.000 mg; ácido fólico 800 mg; biotina 100 g e veículo q.s.p 1.000 g. ⁴ Areia. ⁵ Valores obtidos de Rostagno et al. (2005).

Tabela 2 – Composição e níveis nutricionais das rações experimentais para leitões dos 35 aos 49 dias de idade

Probiótico	0,30			0,60		
Inulina	0,00	0,25	0,50	0,00	0,25	0,50
Milho	56,66	56,66	56,66	56,66	56,66	56,66
Farelo de soja	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00
Soro de leite em pó	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Farinha de peixe	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Glúten de milho	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de Soja	2,70	2,70	2,70	2,70	2,70	2,70
Açúcar	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Sal comum	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Calcário calcítico	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Fosfato bicálcico	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45
Cloreto de colina (60%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
L - lisina HCL	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
DL - metionina	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
L - treonina	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
L - triptofano	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antioxidante ¹	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Ácidos orgânicos	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Mistura vitamínica ²	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Mistura mineral ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Probiótico	0,30	0,30	0,30	0,60	0,60	0,60
Inulina	0,00	0,25	0,50	0,00	0,25	0,50
Inerte ⁴	0,80	0,55	0,30	0,50	0,25	0,00
Composição Calculada ⁵						
Energia Met. (kcal/kg)	3.325	3.325	3.325	3.325	3.325	3.325
Proteína Bruta (%)	19,67	19,67	19,67	19,67	19,67	19,67
Cálcio (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Fósforo Disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sódio (%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Potássio (%)	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Cloro (%)	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Lisina Digestível (%)	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Met. + Cist. Digestível (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Metionina Digestível (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Treonina Digestível (%)	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85
Triptofano Digestível (%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23

¹ BHT: Butil Hidroxitolueno; ² Conteúdo/kg: ferro 100 g; cobre 10 g; cobalto 1 g; manganês 40 g; zinco 100 g; iodo 1,5 g; e veículo q.s.p 1000 g. ³ Conteúdo/kg: vit. A, 10.000.000 U.I.; vit. D₃, 1.500.000 U.I.; vit. E, 30.000 U.I.; vit. B₁, 2,0 g; vit. B₂, 5,0 g; vit. B₆, 3,0 g; vit. B₁₂, 30.000 mcg; ácido nicotínico 30.000 mcg; ácido pantotênico 12.000 mcg; vit. K₃, 2.000 mg; ácido fólico 800 mg; biotina 100 g e veículo q.s.p 1.000 g. ⁴ Areia. ⁵ Valores obtidos de Rostagno et al. (2005).

A ventilação e a temperatura dentro da sala de creche foram controladas conforme a observação do conforto térmico dos animais, através da abertura e fechamento das janelas basculantes e o uso de lâmpadas incandescentes individuais por baia.

Durante o período experimental foi avaliado o desempenho dos leitões, dos 21 aos 35 dias de idade, dos 35 aos 49 dias de idade e no período total (dos 21 aos 49 dias de idade), quanto ao ganho diário de peso (GDP), o consumo diário de ração (CDR), a conversão alimentar (CA) e mortalidade dos leitões. Os resultados foram calculados a partir das pesagens quinzenais dos animais e da quantificação do total de ração consumida, nos respectivos períodos experimentais.

Aos 35 e 49 dias de idade foram coletadas fezes, por meio de massagem retal, de um leitão de cada unidade experimental. As amostras fecais foram acondicionadas em recipientes estéreis e imediatamente transportadas ao Laboratório de Microbiologia da UNIOESTE para as análises microbiológicas.

Foram realizadas diluições sucessivas em triplicata, seguindo-se com semeaduras em meios específicos, avaliando-se a contagem de bactérias acidoláticas em meio de cultura com ágar para lactobacilos - MRS (De Man, Rogosa e Sharpe), os coliformes totais em meio VRB (Violet Red Bile Agar) e clostrídios em meio RCM (Reinforced Clostridial Medium).

As placas de Petri foram incubadas em estufa BOD com a temperatura controlada a 35°C. O período de incubação foi de 48 horas, sendo que para clostrídios (RCM) as placas de Petri foram colocadas em jarros de anaerobiose nas quais a ausência de oxigênio era assegurada pela utilização de placas de anaerobiose (Anaerobac®).

Após o período de incubação as colônias foram contadas utilizando um contador de colônia "QUEBEC", e os resultados obtidos expressos como log na base 10 da contagem por grama do peso líquido das fezes.

Para verificar a viabilidade econômica da utilização do probiótico e prebiótico nas rações foi determinado custo médio da ração por quilograma de peso vivo ganho (BELLAYER et al., 1985), conforme segue:

$$CMr = \frac{Q \times P}{G}$$

Onde:

CMr = Custo médio da ração/kg de peso vivo ganho dos leitões por tratamento;

Q = Quantidade de ração consumida no tratamento;

P = Preço da ração (R\$/kg) na época de realização do experimento;

G = Ganho de peso (g) dos leitões por tratamento no período experimental.

Em seguida foi calculado o índice de eficiência econômica (IEE) e índice de custo (IC), proposto por Barbosa et al. (1992) para avaliar o impacto financeiro dos tratamentos, em relação aos níveis de probiótico e prebiótico utilizados, da seguinte forma:

$$IEE = \frac{MCMr \times 100}{CMr}$$

$$IC = \frac{CMr \times 100}{MCMr}$$

Onde:

IEE = Índice de eficiência econômica;

IC = índice de custo;

MCMr = Menor custo médio da ração entre os tratamentos;

CMr = Custo médio da ração.

O modelo estatístico usado para as análises das variáveis avaliadas foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + I_j + PL_{ij} + B_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = Efeito do tratamento i (probiótico) no nível j (inulina) e na repetição k;

μ = média geral das unidades experimentais;

P_i = o efeito do nível de probiótico i, com i = 0,30 e 0,60%;

I_j = o efeito do nível de inulina j, com j = 0,00; 0,25 e 0,50%;

PL_{ij} = o efeito da interação entre o nível de probiótico i e o nível de inulina j;

B_k = o efeito do bloco k, com k = 1, 2, 3, 4 ou 5;

e_{ijk} = o erro aleatório associado a cada observação.

Para os resultados obtidos, dos 36 aos 49 dias de idade, não foram realizadas as análises estatísticas para o peso médio, consumo diário de ração, ganho diário de peso, conversão alimentar e para o custo da ração pelo peso vivo ganho, pois conforme descrito por De Assis Junior et al. (2009), este período pode sofrer influencia do período anterior, uma vez que não foi realizada uma nova distribuição dos animais para receber a ração pré-inicial II, fornecida dos 36 aos 49 dias de idade.

Foram realizadas as análises estatísticas, dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade, através de arranjos fatoriais e como procedimento estatístico foi utilizado o teste de F para os níveis de probiótico e regressão linear para os níveis de inulina. Os dados foram submetidos às análises estatísticas, utilizando-se o Sistema de Análise Estatística e Genética - SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 1997).

3.2 Digestibilidade e metabolizibilidade da energia bruta de rações contendo probiótico e simbiótico para leitões

Foram utilizados 24 suínos, machos castrados, com peso vivo inicial de aproximadamente $18,00 \pm 0,38$ kg, alojados individualmente em gaiolas de metabolismo semelhantes a descrita por Pekas (1968), distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao acaso em um esquema fatorial constituído de dois níveis de probióticos (0,30 e 0,60 %) e três níveis de inclusão de inulina (0,00, 0,25 e 0,50 %), totalizando seis tratamentos com quatro repetições.

O período experimental teve a duração de doze dias, sendo sete dias de adaptação dos animais às gaiolas de metabolismo e às rações e cinco dias de coleta de fezes e urina.

As rações experimentais (Tabela 2) e os tratamentos foram os mesmos descritos no ensaio de desempenho dos leitões dos 36 aos 49 dias de idade. A quantidade de ração fornecida diariamente a cada animal foi calculada com base no peso metabólico ($\text{kg}^{0,75}$). Para evitar perdas, e facilitar a ingestão, as rações foram umedecidas e fornecidas duas vezes ao dia (6h00min e 18h00min).

Para definir o início e o final do período de coleta foi utilizado o óxido férrico (Fe_2O_3) na ração como marcador fecal.

As coletas de fezes foram realizadas duas vezes ao dia, às 6h30min e às 18h30min, sendo pesadas e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em congelador (-5°C) até o final do período de coleta. Ao final do período experimental as amostras foram descongeladas, pesadas, homogeneizadas e secadas em estufa ventilada a 60°C.

A urina foi coletada uma vez ao dia, às 6h30min, sendo colhida em baldes plásticos contendo 20 mL de ácido clorídrico (HCl) 1:1 para evitar a proliferação bacteriana e possíveis perdas por volatilização. Do volume total de urina foram retiradas alíquotas de 5% e acondicionadas em frascos de vidro devidamente identificados e armazenados em refrigerador (3°C).

Para a determinação dos valores de energia digestível (ED) e metabolizável (EM), as análises de energia das fezes, urina e ração foram realizadas na Universidade Federal de Viçosa – UFV, conforme técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002).

Foram determinados os coeficientes de digestibilidade (CDEB) e metabolizabilidade (CMEB) da energia bruta, os valores de energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e a relação EM:ED.

Ao final do ensaio metabólico foram coletadas amostras de fezes, por meio de massagem retal, para realizar leituras de pH. Foram pesados 10 g de fezes em um béquer de 100 ml, adicionando-se 50 ml de água destilada e deionizada, sendo agitado por cinco minutos e após deixado em repouso por trinta minutos, em seguida procedeu-se com a leitura do pH.

Diariamente foi realizado o registro da temperatura e a umidade relativa do ar, utilizando-se um termohigrometro instalado no interior da sala de metabolismo de suínos.

Os dados foram submetidos às análises estatísticas, utilizando-se o Sistema de Análise Estatística e Genética - SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 1997). A análise estatística foi realizada através de arranjos fatoriais e como procedimento estatístico foi utilizado o teste de F para os níveis de probiótico e regressão linear para os níveis de inulina.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho dos leitões submetidos a rações contendo probiótico e simbiótico

Não foram observadas interações significativas ($P>0,05$) entre os níveis de inclusão de inulina e probiótico na ração para os pesos médios (PM), consumo de ração (CR), consumo diário de ração (CDR), ganho de peso (GP), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA), dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade (Tabela 3).

A inclusão de probióticos nas rações não influenciou ($P>0,05$) o desempenho dos leitões sendo que os resultados obtidos dos 21 aos 35 dias e no período total (dos 21 aos 49 dias de idade), estão de acordo com os apresentados por Fedalto et al. (2002) que ao utilizarem rações suplementadas com antibiótico, probiótico ou associado (antibiótico + probiótico), em relação a um tratamento controle sem promotor de crescimento, não observaram melhora no desempenho dos leitões dos 23 aos 63 dias de idade. No entanto, os valores médios de conversão alimentar obtidos neste trabalho foram melhores do que os obtidos pelos autores (2,06). Para Kummer et al. (2009) essa diferença na conversão alimentar pode ser devido ao ambiente, o nível de estresse, as concentrações de micro-organismos avaliados e ao padrão sanitário que os animais foram submetidos.

Este mesmo comportamento foi observado por Santos et al. (2002) ao avaliarem um probiótico a base de *Lactobacillus* sp em dietas para leitões, dos 21 aos 49 dias de idade, onde o ganho médio de peso, consumo médio de ração e conversão alimentar dos leitões apresentaram valores semelhantes ao tratamento sem a adição de *Lactobacillus* sp e com o tratamento que recebeu antibiótico (Bacitracina de Zinco).

Tabela 3 - Desempenho de leitões dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 e dos 21 aos 49 dias de idade submetidos a rações com diferentes níveis de inclusão de probiótico e inulina

Diferença Níveis de Inclusão de Probióticos e Inulina												
Probiótico	Níveis de Inclusão								CV (%) ²	P ¹		
	0,30			Médias	0,60			Médias		Probiótico	Inulina	Prob. x Inu.
Inulina	0,00	0,25	0,50		0,00	0,25	0,50					
21 a 35 dias												
PMI 21 dias (kg)	5,808	5,794	5,789	5,797	5,757	5,808	5,859	5,808				
PM 35 dias (kg)	8,760	8,860	8,563	8,727	8,785	8,595	8,736	8,705	3,70			0,324
CR (kg)	4,403	4,527	4,529		4,257	4,152	4,046					
CDR (kg/dia)	0,314	0,323	0,323	0,320	0,304	0,297	0,289	0,297	11,14	0,072		
GP (kg)	2,952	3,066	2,774		3,029	2,787	2,877					
GDP (kg/dia)	0,211	0,219	0,198	0,209	0,216	0,199	0,205	0,207	10,26			0,301
CA	1,49	1,48	1,63	1,53	1,41	1,49	1,41	1,43	12,38	0,138		0,207
36 a 49 dias												
PM 49 dias (kg)	13,907	13,695	13,624	13,742	14,435	13,247	13,503	13,728	-	-	-	-
CR (kg)	7,977	7,472	7,775		8,526	7,136	7,629					
CDR (kg/dia)	0,564	0,534	0,555	0,551	0,610	0,510	0,545	0,555	-	-	-	-
GP (kg)	5,190	4,836	5,061		5,650	4,653	4,768					
GDP (kg/dia)	0,371	0,345	0,362	0,359	0,404	0,332	0,341	0,359	-	-	-	-
CA	1,54	1,55	1,54	1,54	1,51	1,53	1,60	1,55	-	-	-	-
21 a 49 dias												
CR (kg)	12,380	11,999	12,304		12,782	11,288	11,675					
CDR (kg/dia)	0,442	0,429	0,439	0,437	0,457	0,403	0,417	0,426	7,72		0,100	0,350
GP (kg)	8,142	7,902	7,835		8,678	7,439	7,644					
GDP (kg/dia)	0,291	0,282	0,280	0,284	0,310	0,266	0,273	0,283	8,58		0,054	0,231
CA	1,52	1,52	1,57	1,54	1,47	1,52	1,53	1,51	5,77	0,285		

PMI - Peso Médio Inicial; PM - Peso Médio; CR - Consumo de Ração; CDR - Consumo Diário Ração; GP - Ganho de Peso; GDP - Ganho Diário de Peso; CA - Conversão Alimentar. ¹ P – valores de significância. ² CV – Coeficiente de variação.

Por outro lado, Taras et al. (2006) observaram que o uso de probióticos na ração de leitões melhorou a conversão alimentar na fase de creche, no entanto, apresentaram pesos médios semelhantes aos animais que não receberam probióticos. Silva et al. (2006) observaram que leitões, dos 21 aos 63 dias de idade, que receberam probiótico (*Pediococcus acidilactici* e *Bacillus subtilis*) tiveram melhores resultados de conversão alimentar (1,385) em relação ao tratamento controle (1,523). No entanto, o ganho diário de peso (0,504 e 0,490 kg/dia), o consumo diário de ração (0,700 e 0,746 kg/dia) e o peso médio (26,94 e 26,35 kg), não apresentaram diferenças significativas, demonstrando que o tratamento controle apresentou valores de peso médio final equivalentes aos demais, porém com um maior consumo de ração.

Neste sentido Silva et al. (2006) relataram que resultados de desempenho positivos ou negativos, ao se utilizar probiótico em rações para leitões, são dependentes do desafio sanitário, da composição da ração e do manejo alimentar o qual estes animais foram submetidos. Os autores observaram que leitões que receberam probiótico, dos 21 aos 63 dias de idade, apresentaram melhores resultados de conversão alimentar em relação ao tratamento controle, no entanto, o ganho diário de peso, o consumo diário de ração e o peso médio foi semelhante entre os tratamentos.

Os níveis de inulina na ração de leitões, dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade, não influenciaram os resultados de desempenho ($P>0,05$), o que está de acordo com os resultados obtidos por Visentini et al. (2008) que ao avaliarem o desempenho de leitões, dos 21 aos 37 e dos 21 aos 51 dias de idade, alimentados com rações contendo diferentes níveis de prebiótico (0,1; 0,2; 0,3 e 0,5 %) ou sem a adição de prebiótico, apresentaram consumo de ração e ganho de peso semelhantes.

Da mesma forma, Kien et al. (2007) e Lanthier et al. (2006) não observaram efeito da inclusão de inulina em rações para leitões sobre o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar, afirmando que o único efeito benéfico foi o desenvolvimento das vilosidades intestinais. Bellé et al. (2009) relataram ainda que a inclusão de prebiótico não alterou as características sensoriais e a qualidade da carne suína.

Budiño et al. (2010), ao utilizarem diferentes níveis de frutoligossacarídeo (0,0; 0,2; 0,4 e 0,6%) em rações para leitões, observaram um efeito quadrático para o consumo diário de ração dos 36 aos 50 dias de idade, com ponto ótimo de 0,29% para a inclusão de frutoligossacarídeo e após este ponto foi observado um decréscimo no consumo diário de ração. O mesmo foi observado para o ganho diário de peso, dos 21 aos 35 dias de idade, com ponto máximo de suplementação do frutoligossacarídeo de 0,31%. Semelhanças foram observadas no presente trabalho, onde o aumento da inclusão de inulina reduziu os índices de desempenho, mas não foi observada diferença ($P>0,05$) para as variáveis estudadas.

Utiyama et al. (2006), por sua vez, observaram que o uso de prebiótico (mananoligossacarídeo) em ração para leitões, dos 21 aos 35 dias de idade, proporcionou um desempenho equivalente ao tratamento controle, sem a adição de promotores de crescimento, e com o tratamento contendo antimicrobiano (bacitracina de zinco e olaquinox), não influenciando o consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar. Resultados e valores médios semelhantes podem ser observados no presente trabalho, onde a inclusão de prebiótico (inulina) não influenciou o consumo diário de ração e o ganho diário de peso.

O fato de não se obter diferenças para os níveis de inulina (Tabela 3) pode estar associado ao baixo desafio a que os animais foram submetidos, uma vez que foi o primeiro experimento realizado na sala de creche, pois Budiño et al. (2010), avaliando níveis de inulina em rações para leitões submetidos à diferentes condições de desafio sanitário, observaram que os leitões dos 36 aos 50 dias de idade, apresentaram um ganho de peso 11% superior quando mantidos em local de baixo desafio.

Resultados favoráveis à inclusão de prebióticos e simbióticos, em rações para leitões desmamados aos 21 dias de idade, foram mostrados por Budiño et al. (2006) que observaram melhores resultados no desempenho e ainda preveniu a colonização por bactérias patogênicas no intestino delgado. Segundo os autores, estes ingredientes alimentares inibiram o crescimento de coliformes e estimularam a absorção de nutrientes.

Essas divergências entre os resultados de desempenho obtidos no presente trabalho em relação à literatura podem ser devido à vários fatores, pois Silva et al.

(2006), Barros et al. (2008) e Kummer et al. (2009) relataram que o efeito positivo ou negativo do uso de probióticos e prebióticos em rações para leitões são dependentes do desafio sanitário, dos ingredientes utilizados na formulação das rações e o manejo em que os animais são submetidos.

Da mesma forma, Kummer et al. (2009) inferiram que fatores como o desenvolvimento genético, manejo sanitário, a nutrição, o ambiente e a interferência do homem podem influenciar no desempenho dos leitões na fase de creche, dos 21 aos 63 dias de vida, assim como uma menor idade ao desmame resulta em um maior desafio sanitário.

Junqueira et al. (2009) observaram que os animais alimentados com rações contendo prebiótico, probiótico ou simbiótico apresentaram melhor ganho de peso em relação aos tratamentos sem promotores de crescimento ou contendo antibiótico, atribuindo estes resultados aos equilíbrio da microbiota intestinal que proporcionou uma manutenção adequada do trato gastrointestinal, resultando em menor gasto de energia e melhor absorção de nutrientes.

Não foi observada interação significativa ($P>0,05$) entre os níveis de inclusão de inulina e probiótico na ração sobre a contagem de bactérias acidoláticas, coliformes e clostrídios nas fezes dos leitões, aos 35 e 49 dias de idade (Tabela 4).

Budiño et al. (2006) observaram que a inclusão de prebióticos e simbióticos, em rações para leitões, dos 21 aos 35 dias de idade, preveniu a colonização de bactérias patogênicas no intestino delgado. Segundo os autores, estes ingredientes alimentares inibiram o crescimento de coliformes e estimularam a absorção de nutrientes, o que não foi observado no presente trabalho, uma vez que a contagem de coliformes totais não foi alterada ($P>0,05$).

Pode-se observar ainda que as amostras fecais, coletadas aos 35 e 49 dias de idade, não apresentaram diferença ($P>0,05$) para a inclusão de prebiótico (inulina) ou probiótico nas rações em relação ao número de unidades formadoras de colônias de bactérias acidoláticas, coliformes e clostrídios.

Tabela 4 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC/g) de bactérias acidoláticas, coliformes e clostrídios nas fezes de leitões, aos 35 e 49 dias de idade, que receberam ração com diferentes níveis de inclusão de probiótico e inulina na ração

Probiótico	Níveis de Inclusão								CV (%) ²	P ¹		
	0,30			Médias	0,60			Médias		Probiótico	Inulina	Prob. x Inu.
	0,00	0,25	0,50		0,00	0,25	0,50					
Inulina												
35 dias												
Bactérias Acidoláticas	9,12	8,75	8,67	8,85	8,75	9,20	8,68	8,88	4,99		0,274	0,137
Coliformes Totais	5,67	5,12	5,58	5,46	5,50	5,58	6,01	5,70	16,94			
Clostrídios	9,23	8,80	8,96	9,00	9,04	9,43	8,98	9,15	3,99	0,257		0,052
49 dias												
Bactérias Acidoláticas	9,03	9,34	8,79	9,05	9,06	9,23	9,32	9,20	3,52	0,214	0,187	0,087
Coliformes Totais	5,42	6,06	7,00	6,16	6,05	5,67	7,41	6,38	24,28		0,077	
Clostrídios	9,05	9,31	9,41	9,26	9,17	9,17	9,06	9,13	5,38			

¹ P – valores de significância. ² CV – Coeficiente de variação.

O probiótico utilizado no presente trabalho foi composto por *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, que possuem as características de redução de pH, competir com as bactérias patogênicas por nutrientes e produzir substâncias antibacterianas (TZORTZIS et al., 2005; PIERCE et al., 2005), no entanto, a inclusão do probiótico não influenciou na contagem das bactérias acidoláticas, coliformes, clostrídios e o pH fecal.

Da mesma forma, Santos et al. (2003) observaram que o uso de probiótico, em rações de leitões, na fase de aleitamento e creche, não alterou a microbiota intestinal dos animais no período total (49 dias de idade) em relação a contagem fecal de *Lactobacillus*, coliformes, *Clostridium* e *Enterococcus*. Os autores relataram ainda que os probióticos não foram capazes de competir e inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos, o que também pode ter ocorrido no presente trabalho.

Por outro lado, Borsatti et al. (2006) ao avaliarem o efeito de probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum*) e simbiótico (probiótico e inulina) sobre a microbiota intestinal de leitões, entre 21 a 35 dias de idade, concluíram que o uso de probiótico aumentou a contagem (UFC/g) de lactobacilos no cólon (9,05) em relação aos leitões que receberam simbiótico (8,22).

As contagens microbiológicas das fezes (Tabela 4) não atendem a proposição de que os probióticos são administrados nas rações para estabelecer uma microbiota benéfica natural e competir com bactérias indesejáveis no intestino, como a *Escherichia coli*, o que favorece o desenvolvimento de micro-organismos benéficos ao hospedeiro a fim de melhorar o desempenho quanto ao ganho de peso e eficiência alimentar (BELLAYER, 2000). No mesmo sentido, Partanen e Mroz (1999) relataram que o uso de carboidratos fermentáveis são eficazes no aumento da diversidade bacteriana e estabilização da microbiota intestinal em leitões.

A contagem de coliformes, aos 35 e 49 dias de idade, também estão de acordo com os resultados obtidos por Utiyama et al. (2006), que não observaram influência na contagem de coliformes com o uso de probióticos, prebiótico ou simbiótico em rações para leitões.

Os resultados obtidos para a contagem de bactérias lácticas discordam dos apresentados por Loh et al. (2006), que avaliaram o efeito da inulina sobre a microbiota intestinal em suínos, entre 9 e 12 semanas de vida, e observaram que

40% dos suínos alimentados com rações contendo inulina apresentaram uma maior colonização do cólon por bifidobactéria, em contrapartida aos animais alimentados com rações sem a inclusão de inulina, em que apenas 13% dos animais apresentaram tal colonização. Segundo os autores, este aumento foi devido a estímulos da inulina para o aumento na concentração de ácidos graxos de cadeia curta, favorecendo a colonização por esses micro-organismos.

Os resultados obtidos para as contagens de bactérias lácticas também não estão de acordo com os obtidos por Konstantinov et al. (2004), que indicaram que a adição de carboidratos fermentáveis em dietas para leitões favorece o crescimento de *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus amylovorus* no cólon e no íleo. Tzortzis et al. (2005) também verificaram que leitões com 28 dias de idade, alimentados com rações contendo galactooligossacarídeos (GOS) e inulina apresentaram um aumento de lactobacilos e bifidobactérias nas amostras fecais.

Resultados semelhantes aos obtidos no presente trabalho também foram observados por White et al. (2002) onde relataram que o uso de prebióticos em rações para leitões não melhorou a composição microbiológica quanto aos coliformes totais, *Escherichia coli*, lactobacilos, *Bifidobacterium* spp. e *Clostridium perfringens*.

Os resultados contraditórios para as contagens microbiológicas observados no presente trabalho, e na literatura citada, podem ser explicados pelo grau de polimerização da inulina que possui um grau de polimerização variando de 11 a 60, sendo composta por uma cadeia de frutose ligada a uma molécula terminal de glicose, que atuando como fibra dietética proporciona melhores condições no trato gastrointestinal (CATALDO et al., 2005). A fermentação da inulina por determinadas bactérias depende de sua estrutura molecular, por exemplo, a bifidobactéria possui afinidade na degradação de oligossacarídeos de baixo grau de polimerização, enquanto que bactérias patogênicas degradam na sua maioria os oligossacarídeos com alto grau de polimerização (ROBERFROID et al., 1998).

Assim quanto menor o grau de polimerização da molécula de inulina melhor será seu aproveitamento por bifidobactérias. Roberfroid (2007) relatou que a inulina não tem efeito direto especificadamente sobre o número de bifidobactérias, mas atua sobre as atividades associadas a estas bactérias, sendo que a inulina é capaz de resistir à digestão e absorção sofrendo fermentação no cólon e podem promover

mudanças significativas na composição da microbiota e epitélio intestinal, reduzindo o número de bactérias potencialmente nocivas, aumentando a absorção de nutrientes e modulando a secreção de peptidases gastrointestinais.

Na Tabela 5 estão apresentados os custos médios da ração, o custo médio da ração por quilograma de peso vivo ganho, os índices de eficiência econômica e os índices de custo referentes aos períodos dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 e dos 21 aos 49 dias de idade dos leitões.

Não foram observadas interações significativas ($P>0,05$) entre os níveis de inclusão de inulina e probiótico na ração sobre o custo médio da ração por quilograma de peso vivo ganho, nos períodos dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade dos leitões.

Dos 21 aos 35 dias de idade os animais que receberam 0,30% de probiótico com 0,50% de inulina na ração apresentaram pior índice de eficiência econômica (82%), proporcionando um maior índice de custo (122%), perfazendo um custo 22% superior em relação a inclusão somente de probiótico (0,60%), que apresentou o menor índice de custo e maior eficiência econômica.

Por outro lado, Silva et al. (2006) observaram que a inclusão de probiótico em rações para leitões, dos 21 aos 63 dias de idade, proporcionou melhores resultados para a conversão alimentar o que proporcionou um melhor índice de eficiência econômica com um menor índice de custo.

Tabela 5 - Custo da ração (CR), índice de eficiência econômica (IEE) e índice de custo (IC) em função da inclusão de probiótico e inulina em rações para leitões dos 21 aos 35, dos 36 aos 49 e dos 21 aos 49 dias de idade

Probiótico Inulina	Níveis de Inclusão								CV (%) ³	P ²		
	0,30			Médias	0,60			Médias		Probiótico	Inulina	Prob. x Inu.
	0,00	0,25	0,50		0,00	0,25	0,50					
21 aos 35 dias												
CR (R\$/kg) ¹	1,99	2,02	2,04	2,02	2,00	2,03	2,05	2,03	12,409	0,170	0,307	0,202
CR/kg PV ganho ¹	2,97	2,98	3,41	3,12	2,80	3,09	2,89	2,93				
IEE	94	94	82	90	100	91	97	96				
IC	106	107	122	112	100	110	103	104				
36 aos 49 dias												
CR (R\$/kg) ¹	1,16	1,19	1,21	1,19	1,17	1,20	1,22	1,20	-	-	-	-
CR /kg PV ganho ¹	1,80	1,86	1,88	1,85	1,84	1,85	1,96	1,88				
IEE	100	97	96	98	97	97	92	95				
IC	100	103	104	102	103	103	109	105				
21 aos 49 dias												
CR (R\$/kg) ¹	1,58	1,6	1,63	1,60	1,59	1,61	1,64	1,61	5,786		0,086	
CR /kg PV ganho ¹	2,41	2,43	2,58	2,47	2,34	2,46	2,50	2,43				
IEE	97	96	91	95	100	95	94	96				
IC	103	104	110	106	100	105	107	104				

¹ CR (R\$/kg) – Custo da ração; CR/kg PV ganho – Custo da ração pelo peso vivo ganho; ² P – valores de significância. ³ CV – Coeficiente de variação.

4.2 Digestibilidade e metabolizibilidade da energia bruta de rações contendo probiótico e simbiótico para leitões

As médias de temperatura e umidade relativa do ar no interior da sala de metabolismo foram de $22,64 \pm 5,77^{\circ}\text{C}$ e $52,97 \pm 15,93\%$ respectivamente, sendo próximos aos valores apresentados por Kummer et al. (2009), onde sugeriram uma temperatura média de 24°C e umidade relativa entre 50 a 75% para a fase em questão.

Não foram observadas interações significativas ($P>0,05$) entre os níveis de inclusão de inulina e probiótico sobre os valores de energia digestível (ED), energia metabolizável (EM), coeficiente de digestibilidade da energia bruta (CDEB), coeficiente de metabolizibilidade da energia bruta (CMEB), a relação EM:ED e o pH fecal (Tabela 6).

A inclusão de probióticos nas rações também não alterou ($P>0,05$) as variáveis avaliadas. Resultados semelhantes foram obtidos por Budiño et al. (2004), que ao avaliarem leitões desmamados aos 21 dias de idade observaram que independente do uso ou não de antibiótico, probiótico, prebiótico e simbiótico, não houve alteração da atividade das enzimas digestivas, dipeptidase, sacarase e maltase da mucosa intestinal. Os autores relataram ainda que o uso de prebiótico, probiótico ou simbiótico em dietas para leitões não influencia diretamente na digestão de nutrientes, mas proporciona melhores condições para que haja melhor digestão e absorção de nutrientes.

Por outro lado, Huaynate et al. (2006a) ao avaliarem rações contendo ou não probióticos, para leitões na fase de creche, observaram que o tratamento com probiótico foi eficiente em manter os coeficientes de digestibilidade, mesmo com o aumento no consumo de ração. Segundo os autores o probiótico pode ter auxiliado na digestão e absorção dos nutrientes, por secretar enzimas digestivas como a amilase, protease e lipase, pois um dos fatores que pode influenciar na digestibilidade da ração é o tempo de permanência da digesta no intestino, que decresce quanto maior o consumo de ração, e quanto mais alimento ingerido piora a relação enzima-substrato, levando a uma redução na digestibilidade.

Tabela 6 - Valores de energia bruta (EB), digestível (ED) e metabolizável (EM), coeficientes de digestibilidade (CD) e metabolizibilidade (CM) da energia bruta e relação EM:ED de rações com diferentes níveis de inclusão de probiótico e inulina

Probiótico	Níveis de Inclusão								CV (%) ³	P ²		
	0,30				0,60					Probiótico	Inulina	Prob. x Inu.
Inulina	0,00	0,25	0,50	Médias	0,00	0,25	0,50	Médias				
MS ¹ (%)	91,33	91,31	91,28	91,31	92,43	91,79	91,33	91,85				
EB (kcal/kg)	3975	3975	3975		3975	3975	3975					
ED (kcal/kg MN ¹)*	3436	3481	3340	3419	3426	3483	3342	3417	2,82		0,032	
EM (kcal/kg MN ¹)	3291	3392	3225	3303	3320	3379	3166	3288	4,81		0,086	
CDEB (%)*	86,44	87,57	84,02	86,01	86,19	87,62	84,07	85,96	2,82		0,032	
CMEB (%)	82,78	85,34	81,13	83,08	83,52	85	79,65	82,72	4,81		0,086	
EM:ED	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,95	0,96	3,44			
pH	6,63	6,7	6,57	6,63	6,59	6,91	6,59	6,70	2,83		0,066	

* Efeito linear (P<0,05) para a inclusão de inulina. ¹ MS - Matéria seca; MN - Matéria natural. ² P – valores de significância. ³ CV - Coeficiente de variação.

Para os níveis de inclusão de inulina nas rações não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para energia metabolizável (EM), coeficientes de metabolizabilidade da energia bruta (CMEB) e a relação EM:ED. Segundo Coxam (2007) a inulina utilizada na alimentação animal pode modular a absorção de nutrientes, pois estes substratos são resistentes à hidrólise por enzimas em mamíferos e são fermentados no intestino grosso por bactérias específicas, produzindo ácidos graxos de cadeia curta que reduzem o pH luminal e modifica a solubilidade, exercendo um efeito direto sobre as vias de transporte das mucosas, no entanto a utilização de inulina não alterou a metabolizabilidade da energia bruta no presente trabalho.

Resultados semelhantes aos obtidos, foram apresentados por Santos (2010), que ao avaliar leitões dos 22 a 63 dias de idade, alimentados com rações contendo ou não diferentes níveis de prebiótico, observaram que os tratamentos não promoveram melhorias nos valores de energia metabolizável (3473 e 3463 kcal/kg) e no coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta (87,04 e 86,91 %).

Ao avaliar a digestibilidade de nutrientes, Lynch et al. (2007) observaram que o uso de inulina resultou em um aumento da excreção fecal de nitrogênio e diminuiu o nitrogênio da urina, indicando que a inulina tem a capacidade de manipular a microbiota intestinal, mas exercem efeitos sobre a concentração de ácidos graxos voláteis, no pH intestinal e nos coeficientes de digestibilidade da energia bruta das rações.

Os reais efeitos do uso de prebióticos sobre a disponibilidade e o metabolismo de nutrientes em suínos são conflitantes. Budiño et al. (2010) não observaram efeito significativo sobre o metabolismo do nitrogênio ao se utilizar frutoligossacarídeos nas rações, que pode ser devido a incapacidade do prebiótico em promover um aumento na colonização de bactérias e estabilização do trato gastrointestinal. Os autores relataram que o período de seis dias de adaptação dos animais às rações não foram suficientes para alterar a colonização do trato gastrointestinal e proporcionar benefícios aos animais.

A inclusão de inulina nas rações influenciou negativamente ($P<0,05$) os valores de energia digestível (ED) e os coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB), conforme demonstrado nas Figuras 1 e 2.

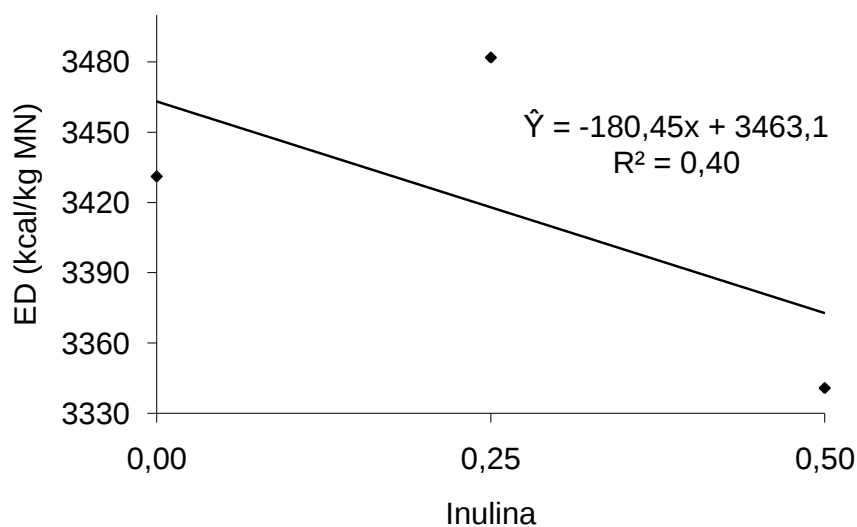


Figura 1 - Valores de energia digestível (ED) em função dos níveis de inclusão de inulina na ração.

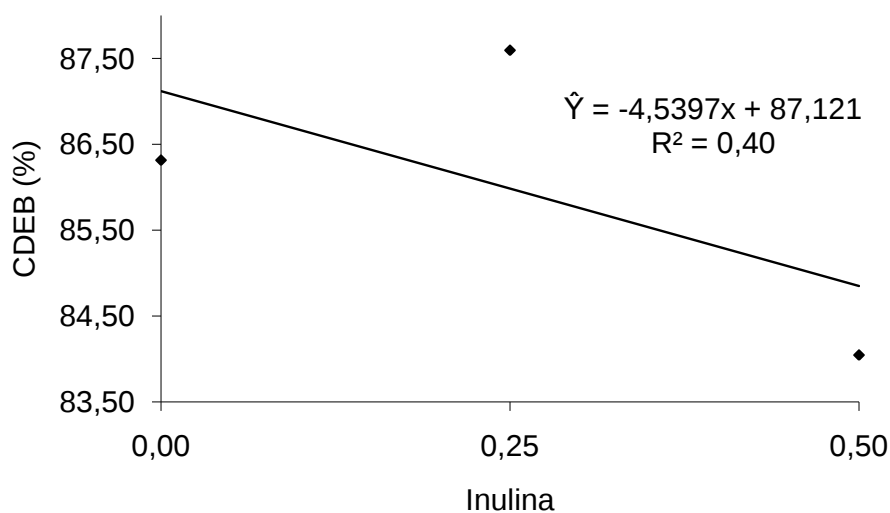


Figura 2 - Coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) em função dos níveis de inclusão de inulina na ração.

Saad (2006) comenta que os carboidratos estruturais, como as fibras alimentares, inulina e oligofrutose; influenciam a digestão e absorção de nutrientes através de efeitos na motilidade do trato digestório, ao atrasar o esvaziamento gástrico e diminuir o tempo de passagem da dieta no intestino delgado, no entanto, no presente trabalho tais efeitos podem não ter ocorrido.

Os compostos prebióticos podem atuar na modulação da mucosa intestinal beneficiando o hospedeiro através de melhorias nos processos de digestão e absorção de nutrientes, mas é dependente da composição dos ingredientes utilizados nas dietas, e a resposta biológica do animal também pode ser devido a fatores inerentes à nutrição, como o estresse animal (SILVA e NÖRNBERG, 2003). Estes fatores podem contribuir para resultados divergentes observados entre os diferentes trabalhos em relação aos resultados de ED e CDEB obtidos (Tabela 6).

Junqueira et al. (2009) observaram que os animais alimentados com prebiótico, probiótico e simbiótico apresentaram maior ganho de peso, em relação aos tratamentos sem promotores de crescimento ou com antibiótico. Segundo os autores, os resultados podem ser explicados pela melhor absorção dos nutrientes aliada ao menor gasto de energia para manutenção do trato gastrointestinal, o que foi proporcionado pelo probiótico e prebiótico. Resultados contrários foram obtidos no presente trabalho, pois a inclusão de inulina na ração de leitões não influenciou no desempenho, na contagem de micro-organismos nas fezes dos animais e influenciou negativamente o coeficiente de digestibilidade da energia bruta.

Não foi observada interação significativa ($P>0,05$) para os níveis de inclusão de probiótico e simbiótico em relação ao pH fecal (Tabela 6), e a inclusão de probiótico e ou inulina na ração dos animais não alterou ($P>0,05$) os valores de pH fecal.

A inclusão de probiótico foi ineficiente em alterar o pH fecal dos animais, e segundo Bellaver (2000) os probióticos são administrados nas rações para estabelecer uma microbiota benéfica natural e competir com bactérias indesejáveis no intestino, sendo que micro-organismos dos gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Saccharomyces* têm sido utilizados em rações para suínos com o intuito de favorecer o desenvolvimento de micro-organismos benéficos ao hospedeiro, a fim de melhorar o desempenho, competir e inibir o crescimento da *Escherichia coli*, através da formação de lactato que altera o pH intestinal.

Segundo Tzortzis et al., (2005) e Pierce et al., (2005) o probiótico utilizado no presente trabalho, composto por *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, possuem as características de redução de pH, competir com as bactérias patogênicas por nutrientes e produzir substâncias antibacterianas, inibindo o crescimento de micro-organismos indesejáveis, no entanto, no presente trabalho a

inclusão do probiótico não influenciou na contagem das bactérias acidoláticas, coliformes totais, clostrídios e no pH fecal.

Yasuda et al. (2006) também não observaram alterações no pH na digesta coletada no cólon de leitões alimentados com inulina e obtiveram valores de pH próximos aos obtidos no presente trabalho. Borsatti et al. (2006) ao avaliarem o efeito probiótico e simbiótico (probiótico e inulina) em substituição a antibióticos em rações para leitões também não observaram diferenças nos valores de pH na digesta coletada no cólon de leitões.

O contrário foi observado Konstantinov et al. (2004) indicando que a adição de inulina em dietas para leitões reduz o pH no trato gastrointestinal. Segundo Tzortzis et al. (2005) rações contendo galactooligossacarídeos (GOS) e inulina, para leitões com 28 dias de idade, promoveram um aumento de lactobacilos e bifidobactérias nas amostras fecais, os autores relataram que o principal produto da fermentação por bifidobactérias, o ácido acético, reduziu o pH no cólon e inibiu o crescimento de bactérias patogênicas.

Esta redução nos coeficientes de digestibilidade da energia bruta (Figura 2) não era esperada, pois de acordo com Wollowski et al. (2001), algumas bactérias probióticas quando fermentam carboidratos produzem ácidos graxos de cadeia curta, que quando absorvidos auxiliam na manutenção de um pH apropriado no lúmen do cólon protegendo contra mudanças na mucosa e contribui elevando a energia disponível no lúmen. Observa-se ainda que o pH das fezes não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 6), o que pode ter colaborado para que não houvesse esta maior disponibilidade de energia no lúmen.

5 CONCLUSÃO

O uso de probiótico, inulina e a associação simbiótica não alteraram o desempenho e contagens microbiológicas das fezes de leitões dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49 dias de idade.

O aumento dos níveis de inulina em rações de leitões reduziram o coeficiente de digestibilidade da energia bruta, mas sem prejuízos para o coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, C.; KARAGIANNIDIS, A.; KRITAS, S.K.; et al. Field Evaluation of a Bioregulator Containing Live *Bacillus cereus* Spores on Health Status and Performance of Sows and their Litters. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v.48, p.137–145, 2001.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA: Legislação aplicável a alimentos funcionais no Brasil. Brasil, 1999, portaria nº 398 de 30/04/99 - resolução nº 18 de 30/04/99 - resolução nº 19 de 30/04/99.

DE ASSIS JUNIOR, F.I.; FERREIRA, A.S.; DONZELE, J.L.; et al. Níveis de plasma sanguíneo em dietas pós-desmame para leitões desmamados aos 28 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p. 843-849, 2009.

AWATI, A.J.; WILLIAMS, B.A.; BOSCH, M.W.; et al. Effect of inclusion of fermentable carbohydrates in the diet on fermentation end-product profile in feces of weanling piglets. **Journal of Animal Science**. v.84, p.2133–2140, 2006.

BARBOSA, H.P.; FIALHO, E.T.; FERREIRA, A.S.; et al. Triguilho para suínos nas fases inicial de crescimento, crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.21, n.5, p.827-837, 1992.

BARCELLOS, D.E.S.N.; MARQUES, B.M.F.P.P.; MORES, T.J.; et al. Aspectos práticos sobre o uso de antimicrobianos em suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37,supl.1, p.s151-s155, 2009.

BARROS, D.S.; CARAMORI JÚNIOR, J.G.; CORRÊA, V.S.; et al. Efeito da adição de probiótico e prebiótico sobre o ganho de peso, consumo de ração e ocorrência de diarreia em leitões na fase de aleitamento. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n.3, p.469-479, 2008.

BEDFORD, M.R. e APAJALAHTI, J. Microbial interactions in the response to exogenous enzyme utilization. In: _____. **Enzymes in farm animal nutrition**, 1ª.ed. Wallingford: CAB International, 2001, p. 299–314.

BELLAVER, C. O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. In: CONGRESSO MERCOSUL DE PRODUÇÃO SUÍNA, 1., 2000. Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires: Congresso Mercosur de Producción Porcina, 2000, p.93-108.

BELLAVER, C.; FIALHO, E.T.; PROTAS, J.F.S.; et al. Radícula de malte na alimentação de suínos em crescimento e terminação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.20, p.969-974, 1985.

BELLÉ, J. C.; SILVA, C. A.; BRIDI, M.; et al. Avaliação de prebióticos como promotor de crescimento para suínos nas fases de recria e terminação. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 30, n. 2, p. 471-480, 2009.

BERTECHINI, Antonio Gilberto. **Nutrição de monogástricos**. 1^a.ed. Lavras: editora UFLA, 2006, 301p.

BHANDARI, S. K.; XU, B.; NYACHOTI, C. M.; et al. Evaluation of alternatives to antibiotics using an *Escherichia coli* K88+ model of piglet diarrhea: Effects on gut microbial ecology. **Journal of Animal Science**, v.86, p.836-847, 2008.

BORSATTI, L.; POZZA, P. C.; POZZA, M. S.; et al. Bactérias Lácticas e Coliformes na Digesta do Íleo e Cólon de Leitões Submetidos a Dieta Com Probióticos e Inulina. In: XV ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, cascavel. **Anais...** Cascavel: XV EAIC e VI EPUEPG, 2006, 1676-0018.

BUDIÑO, F.E.L.; THOMAZ, V.; KRONKA, R.N.; et al. Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros sanguíneos. **Acta Scientiarum**, v.26, n.4, p.529-536, 2004.

BUDIÑO, F.E.L.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; et al. Effect of Probiotic and Prebiotic Inclusion in Weaned Piglet Diets on Structure and Ultra-structure of Small Intestine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n.6, p.921-929, 2005.

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

BUDIÑO, F.E.L.; JÚNIOR, F.G.C. e OTSUK, I.P. Adição de frutoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados: desempenho, incidência de diarreia e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, n.10, p.2187-2193, 2010.

CATALDO, L.F.; SILVA, C.A.; MENDES, M.F.; et al. Extração de inulina a partir da raiz de chicória (*Chicorium intybus* L.) usando dióxido de carbono supercrítico. In.: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. Campinas. **Anais...** Campinas: VI COBEQ, 2005.

CERA, K.R.; MAHAN, D.C.; CROSS, R.F.; et al. Effect of age, weaning and post weaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, p.574-584, 1988.

CHIQUEIRI, J.; SOARES, R.T.R.N.; HURTADO NERY, V.L.; et al. Bioquímica sanguínea e altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com adição de probiótico, prebiótico e antibiótico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.2, p.97-104, 2007.

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

COLLINS, M.D. e GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **The American Journal Clinical Nutrition**. v.69, p.1052S–1059S, 1999.

COXAM, V. Current Data with Inulin-Type Fructans and Calcium, Targeting Bone Health in Adults. **The Journal of Nutrition**, v.137, p.2527S–2533S, 2007.

CROSS, M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.34, p.245-253, 2002.

DAVIDSON, M.H. e MAKI, K.C. Effects of dietary inulin on serum lipids. **The Journal of Nutrition**, v.129, p.1474S–1477S, 1999.

DIONIZIO, M.A.; BERTECHINI, A.G.; KATO, R.K.; et al. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte - Desempenho e rendimento de carcaça. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras: Edição Especial, p.1580-1587, 2002.

FEDALTO, L.M.; TKACZ, M. e ADER, L.P. Probióticos na alimentação de leitões do desmame aos 63 dias de idade. **Archives of Veterinary Science**. v.7, n.1, p.83-88, 2002.

FERREIRA, V.P.A.; ALOÍZIO, S.F.; JUAREZ, L.D.; et al. Dietas para leitões em aleitamento e pós- desmame. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.753-760. 2001.

FILHO, L.A.; IRGANG, R.; PADILHA, M.T.S.; et al. Avaliação de idades de desmame e manejo alimentar no desempenho de leitões em siscal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA. Pernambuco. **Anais...** Pernambuco: ZOOTECA, 2006.

FRANCO, S.G.; REQUE, S.G.; FILHO, J.M.L.; et al. Avaliação De Probióticos Desenvolvidos Na Universidade Federal Do Paraná Com Frangos De Corte. **Archives of Veterinary Science**., v.4, p.77-79, 1999.

FREITAS, H.T.; FERREIRA, A.S. e LUDWIG, A. Manejo de desmame precoce de leitões. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v.32, 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.432-433, 1995.

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

GIBSON, G.R. e ROBERFROID, M.B. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. **The Journal of Nutrition**. v.125, p.1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R. e WANG, X. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v.77, p.412-420, 1994.

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

HUAYNATE, R.A.R.; THOMAZ, M.C.; BUDIÑO, F.H.L.; et al. Métodos de colheita de fezes e balanço de minerais em suínos alimentados com dietas suplementadas ou não com probiótico. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v.29, n.4, p.395-401, 2007.

HUAYNATE, R.A.R.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; et al. Uso de probiótico em dietas de suínos: incidência de diarreia, desempenho zootécnico e digestibilidade de rações. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.43, n.5, p.664-673, 2006a.

HUAYNATE, R.A.R.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; et al. Effect of Adding Macro and Micro Minerals in Pig Feces Fed Diets with Different Levels of Probiotic. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**. v.49, n.3, p.385-392, 2006b.

JUNQUEIRA, O.M.; BARBOSA, L.C.G.S.; PEREIRA, A.A.; et al. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e Terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.12, p.2394-2400, 2009.

KAMIMURA, R., ARANTES, V.M., BELETTI, M.E.; et al. Efeitos de mananoligossacarídeo e colistina sobre a histomorfometria intestinal e níveis de IgA e IgG séricas em leitões. **Veterinária Notícia**, v.12, n.2, p.153-160, 2006.

KAUR, N. e GUPTA, A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **Journal of Biosciences**, v.27, p.703-714, 2002.

KIEN, C.L.; BLAUWIEKEL, R.; BUNN, J.Y.; et al. Cecal Infusion of Butyrate Increases Intestinal Cell Proliferation in Piglets. **The Journal of Nutrition**, v.137, p.16–922, 2007.

KONSTANTINOV, S.R.; AWATI, A.; SMIDT, H.; et al. Specific Response of a Novel and Abundant Lactobacillus amylovorus – Like Phylotype to Dietary Prebiotics in the Guts of Weaning Piglets. **Applied and Environmental Microbiology**. v.70, n.7, p.3821-3830, 2004.

KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, v.101, p.229-241, 2001.

KUMMER, R.; GONÇALVES, M.A.D.; LIPPKE, R.T.; et al. Fatores que influenciam o desempenho dos leitões na fase de creche. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, p.s195-s209, 2009.

LANTHIER, F.; LOU, Y.; TERNER, M.A. e SQUIRES, E.J. Characterizing developmental changes in plasma and tissue skatole concentrations in the prepubescent intact male pig. **The Journal of Animal Science**, v.84, p.1699-1708, 2006.

LEAHY, S.C.; HIGGINS, D.G.; FITZGERALD, G.F. e VAN SINDEREN, D. Getting better with bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1303-1315, 2005.

LOH, G.; EBERHARD, M.; BRUNNER, R.M.; et al. Inulin Alters the Intestinal Microbiota and Short-Chain Fatty Acid Concentrations in Growing Pigs Regardless of Their Basal Diet. **The Journal of Nutrition**. v.136, p.1198–1202, 2006.

LYNCH, M.B.; SWEENEY, T.; CALLAN, J.J.; et al. The effect of high and low dietary crude protein and inulin supplementation on nutrient digestibility, nitrogen excretion, intestinal microflora and manure ammonia emissions from finisher pigs. **The Animal Consortium**, v.8, p.1112–1121, 2007.

MAIN, R.G.; DRITZ, S.S.; TOKACH, M.D.; et al. Effects of weaning age on pig performance in three-site production. **Kansas Swine Industry Day Report of Progress**, v.29, p.35-41, 2002.

MORAES, F.P. e COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, p.109-122, 2006.

MORAIS, M.B. e NETO, U.F., Enteropatia Ambiental. **Revista Estudos Avançados da USP**, v.17, n.48, 2003.

NINESS, K. R. Inulin and Oligofructose: What Are They. **The Journal of Nutrition**. v. 129, p. 1402S–1406S, 1999.

PARTANEN, K.H e MROZ, Z, Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**. v.12, p.117-145, 1999.

PATTERSON, J. A. e BURKHOLDER, K. M. Application of Prebiotics and Probiotics in Poultry Production. **Poultry Science Association**. v.82, p.627–631, 2003.

PEKAS, J.C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**. v.27, p.1303-1306, 1968.

PIERCE, K.M.; SWEENEY, T.; BROPHY, P.O.; et al. Dietary manipulation post weaning to improve piglet performance and gastro-intestinal health. **Animal Science**, v.81, p.347-356, 2005.

RIZKALLA, S.W.; LUO, J; KABIR, M.; et al. Chronic consumption of fresh but not heated yogurt improves breath-hydrogen status and short-chain fatty acid profiles: a controlled study in healthy men with or without lactose maldigestion. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, p.1474-9, 2000.

ROBERFROID, M.B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**. v.137, p.2493S–2502S, 2007.

RODRIGUES, M.; POZZA, P.C.; POZZA, M.S.S.; et al. Probióticos e prebióticos em rações sobre o metabolismo do nitrogênio em leitões. In: XXXVI REUNIÃO ANUAL

DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: XXXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009, v.38.

RODRIGUES, M.A.M.; SILVA, D.A.O.; TAKETOMI, E.A.; et al. Produção de IgA, análise de coliformes e morfologia da mucosa intestinal de leitões que receberam probióticos com células viáveis ou inativadas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.27, p.241-245, 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. DONZELE, J.L.; et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.1, 2006.

SAKATA, S.; TONOOKA, T.; ISHIZEKI, S.; et al. Culture-independent analysis of fecal microbiota in infants, with special reference to *Bifidobacterium* species. **FEMS Microbiology Letters**, v.243, p.417-423, 2005.

SANCHES, A.L.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T.; et al. Utilização de probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame. **Ciências Agrotecnicas: lavras**, v.30, n.4, p.774-777, 2006.

SANTOS, M.S.; FERREIRA, C.L.L.F.; GOMES, P.C.; et al. Administração de *Lactobacillus* sp em Leitões nas Fases de Aleitamento e de Creche. **Ciências agrotecnicas**, Lavras, v.26, n.1, p.165-173, 2002.

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

SANTOS, V.M.; THOMAZ, M.C.; PASCOAL, L.A.F.; et al. Digestibilidade, desempenho e características morfofisiológicas do trato digestório de leitões desmamados sob dietas com mananoligossacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.1, p.99-105, 2010.

SCHOLZ-AHRENS, K.E. e SCHREZENMEIR, J. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal Trials **The Journal of Nutrition**. v.137, p.2513S–2523S, 2007.

SEIFERT, S. e WATZL, B. Inulin and Oligofructose: Review of experimental data on immune modulation. **The Journal of Nutrition**. v.137, p.2563S–2567S, 2007.

SERVIN, A.L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobactérias against microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, v.28, p.405-440, 2004.

SIGGERS, R.H.; SIGGERS, J.; BOYE, M.; et al. Early administration of probiotics alters bacterial colonization and limits diet-induced gut dysfunction and severity of necrotizing enterocolitis in preterm pigs. **The Journal of Nutrition**. v.138, p.1437–1444, 2008.

SILVA, C.A.; BRIDI, A.M.; CASTRO-GOMEZ, R.J.H.; et al. Uso de probiótico e de antibióticos na alimentação de leitões em fase de creche. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.28, n.4, p.739-746, 2007.

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

SILVA, D.J. e QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa-MG: UFV, 2002. 235p.

SILVA, L.P. e NÖRNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.33, n.5, p.983-990, 2003.

SIMON, O.; JADAMUS, A. e VAHJEN, W. Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action. **Journal of Animal and Feed Sciences**. v.10, p.51-67, 2001.

SOBESTIANSKY, J. e SESTI, L.A.C. Aspectos da produtividade. In: SOBESTIANSKY, Y.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S.; et al. **Suinocultura Intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. EMBRAPA-CNPSA, 1998. p.27-44.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R. e RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos - artigo de revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**. v.3, n.1, p.16-36, 2008.

TARAS, D.; VAHJEN, W.; MACHA, M.; et al. Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. **Journal of Animal Science**. v.84, p.608–617, 2006.

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

TZORTZIS, G.; GOULAS, A. K.; GEE, J. M.; et al. A Novel Galactooligosaccharide Mixture Increases the Bifidobacterial Population Numbers in a Continuous *In vitro* Fermentation System and in the Proximal Colonic Contents of Pigs *In vivo*. **The Journal of Nutrition**. v.135, p.1726–1731, 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Viçosa: Ed. UFV, 1997.

UTIYAMA, C.E.; OETTING, L.L.; GIANI, P.A.; et al. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2359-2367, 2006.

VAZ, E.K.. Resistência antimicrobiana: como surge e o que representa para a suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.27, supl. 1, p. s147-s150, 2009.

VISENTINI, P.R.S.; BERTO, D.A.; WECHSLER, F.S.; et al. Alimentação de leitões na creche com rações contendo frutooligosacarídeos. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1402-1406, 2008.

WHITE, L.A.; NEWMAN, M.C.; CROMWELL, G.L.; et al. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2619-2628, 2002.

WOLLOWSKI, L.; RECHKEMMER, G. e POOL-ZOBEL, B.L. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.451-455, 2001.

WONG, J.M.W. e JENKINS, D.J.A. Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. **The Journal of Nutrition**, v.137, p.2539S–2546S, 2007.

WU G.; MEIER A.S. e KNABE D.A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **The Journal of Nutrition**. v.126, p.2578-2584, 1996.

YASUDA, K.; MAIORANO, R.; WELCH, R. M.; et al. Cecum is the major degradation site of ingested inulin in young pigs. **The Journal of Nutrition**. v.137, p.2399–2404, 2007.

YASUDA, K., RONEKER, K.R.; MILLER, D.D.; et al. Supplemental dietary inulin affects the bioavailability of iron in corn and soybean meal to young pigs. **The Journal of Nutrition**. v.136, p.3033–3038, 2006.