



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CONVENCIONAL E INTEGRATIVA

Manoela Karolina Ribeiro Santos

Impacto de um aditivo fitogênico no desempenho, sistema antioxidante e microbiota
intestinal de leitões recém desmamados

Curitibanos
2023

Manoela Karolina Ribeiro Santos

Impacto de um aditivo fitogênico no desempenho, sistema antioxidante e microbiota intestinal de leitões recém desmamados

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Convencional e Integrativa da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Criações Animais com ênfase em saúde, nutrição integrativa e bem-estar.

Orientadora: Profa. Dra. Priscila de Oliveira Moraes

Coorientadora: Profa. Dra. Lucélia Hauptli

Curitiba

2023

Santos, Manoela Karolina Ribeiro

Impacto de um aditivo fitogênico no desempenho, sistema antioxidante e microbiota intestinal de leitões recém desmamado / Manoela Karolina Ribeiro Santos ; orientadora, Priscila de Oliveira Moraes, coorientador, Lucélia Hauptli, 2023.

50 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Convencional e Integrativa, Curitibanos, 2023.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária Convencional e Integrativa. I. Moraes, Priscila de Oliveira. II. Hauptli, Lucélia. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária Convencional e Integrativa. IV. Título.

Manoela Karolina Ribeiro Santos

Impacto de um aditivo fitogênico no desempenho, sistema antioxidante e microbiota intestinal de leitões recém desmamados

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 24 de abril de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Alexandre Mossate Gabbi, Dr.
Pronutra do Brasil Ltda.

Prof. Glauber Wagner, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Convencional e Integrativa.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa. Priscila de Oliveira Moraes.
Orientadora

Curitibanos, 2023.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Celia Ribeiro, que em toda a minha vida acadêmica sempre esteve ao meu lado, me apoiando e encorajando. Obrigada por toda dedicação, amor, carinho e por sempre acreditar em mim.

Ao meu marido, Eduardo, que me ajudou nos momentos de maior aflição e comemorou cada pequena conquista durante a minha trajetória como mestranda.

Aos amigos pelos momentos de descontração, por compreender a minha ausência em alguns momentos e pelo constante apoio. E a minha irmã e sobrinho, Luana e Vicente, que muitas vezes tornaram os dias de angustia em dias de tranquilidade e alegria.

A toda equipe da Eurotec Nutrition, em especial aos senhores Ivair Piccinin e Alexandre Mossate Gabbi, que desde o início apoiaram e incentivaram na realização do mestrado.

Aos colegas do curso de Zootecnia/UEDESC, principalmente os professores Alekssandro e Diovani, que não mediram esforços para me ajudar a executar este trabalho.

A minha Orientadora Priscila Moraes por me acolher, novamente, nesta jornada acadêmica. Por toda a orientação, amizade e principalmente por toda dedicação, comprometimento e por sempre me desafiar e incentivar profissionalmente.

Muito obrigada!

RESUMO

desmame é um período crítico na vida do suíno, por diversos fatores e os antibióticos promotores de crescimento são utilizados para amenizar estes problemas. No entanto, o surgimento de bactérias resistentes aos antimicrobianos tem levado a busca de novas ferramentas. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de um blend comercial de fitogênicos na digestibilidade, sistema antioxidante, desempenho e microbiota intestinal de leitões recém desmamados. Foram conduzidos dois experimentos com os seguintes tratamentos controle negativo (C): dieta padrão sem adição de aditivos promotores de crescimento; controle positivo (B) dieta padrão com adição de bacitracina de zinco (300g/t); e fitogênico (F): dieta padrão com adição de um aditivo fitogênico comercial (400g/t). No primeiro experimento, foi avaliada a digestibilidade, o sistema antioxidante, hemograma e proteinograma de 15 leitões desmamados aos 26 e alojados em gaiola metabólicas. No segundo experimento foram utilizados 108 leitões desmamados com 26 dias de idade e alojados em 3 animais por baias, para análise do desempenho. O desenho experimental foi o delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Em ambos os experimentos não houve diferença estatística entre os tratamentos para os dados de desempenho, digestibilidade e hemograma ($p > 0,05$). Houve uma redução nos níveis da enzima superperóxido dismutase; de peroxidação lipídica e um aumento nos níveis do grupo tiol não proteico para os animais do grupo que receberam o fitogênico na ração quando comparado com os demais tratamentos ($p < 0,05$). Para o mesmo tratamento também foi observado um aumento dos níveis de IgA e redução da haptoglobulina quando comparado com os demais ($p < 0,05$). Para a microbiota, observou-se que índice CHAO 1 foi maior para o tratamento contendo fitogênico ($p = 0,054$). As famílias *Muribaculaceae* e *Clostridiaceae* apresentaram, respectivamente, maior e menor abundância relativa nas amostras dos animais que receberam fitogênico quando comparado com os demais. O blend de fitogênicos demonstrou importante papel no sistema antioxidante e microbiota intestinal.

Palavras-chave: fitogênico; antimicrobiano; leitão.

ABSTRACT

Brazilian pig farming is the fourth largest in the world ranking and, internally, pork consumption is increasing. To keep up with the growth in demand for products from pig production, pig farming has intensified production. In this process the weaning is a critical period in the pig's life caused to several factors. Antibiotic growth promoters are to alleviate these problems. However, the appearance of antimicrobial-resistant bacteria led to the search for new tools. Thus, this research aimed to evaluate the effect of a commercial blend of phytogenics on the digestibility, antioxidant system, immune system, performance, and intestinal microbiota of newly weaned piglets. We conducted two experiments with the following negative control treatments (C): a standard diet without growth additives promoters addition; positive control; (B): a standard diet with phytogenic and bacitracin zinc addition (300g/t); (F): a standard diet with a commercial phytogenic additive addition (400g/t). In the first experiment, was analyze the digestibility, the antioxidant system, the blood count, the proteinogram and the intestinal microbiota of 15 26-days-of-life weaned piglets were housed in metabolic cages. In the second experiment, was analyze the performance of housed 108 26-day-aged weaned piglets in stalls. The study's experimental design was thoroughly randomized. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA), and the averages were compared by Tukey's range test at a 5% level. In both experiments, there was no statistical difference between treatments for performance data, digestibility, and blood count ($p > 0.05$). There was a reduction in the levels of the superoxide dismutase enzyme, made of lipid peroxidation. There was also an increase in the levels of the non-protein thiol group for the animals in the group that received the phytogenic in the pig feed compared to the other treatments ($p < 0.05$). For the same treatment, we observed an increase in IgA levels and a reduction in haptoglobin levels compared to the others ($p < 0.05$). For the microbiota, an observation was that the CHAO 1 index was higher for the treatment containing phytogenic ($p = 0.054$). *Muribaculaceae* and *Clostridiaceae* families presented higher and lower relative abundance in the samples of animals that received phytogenic compared to the others. The blend of phytogenics demonstrated an essential role in the antioxidant system and intestinal microbiota

Keywords: Phytogenic, Antimicrobial, Piglet

LISTA DE FIGURA

Figura 1: Representação da regulação da barreira funcional do intestino. Fonte: Oriá e Brito (2016).....	17
Figura 2: Linha do tempo da introdução de diferentes princípios ativos e respectivos relatos de resistência. Fonte: Brasil, 2020	21
Figura 3: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível de lipoperoxidação (LPO)	39
Figura 4: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível da enzima superóxido desmutase (SOD)	39
Figura 5: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível de espécies reativa ao oxigênio (EROs) e glutathione transferase (GST)	40
Figura 6: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível do grupo tiol proteico (PSH) e não proteico (NPSH)	40
Figura 7: Diversidade de Chao-1, Shannon e Simpson	42
Figura 8: Análise das coordenadas principais (PCoA) da diversidade beta	43
Figura 9: Abundância relativa dos filos da microbiota intestinal de leitões recém desmamados.....	44
Figura 10: Abundância relativa das famílias da microbiota intestinal de leitões recém desmamados.....	45

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Efeito da microbiota intestinal no sistema imune.....	18
Tabela 2: Composição do aditivo Phytomizer Lac.....	28
Tabela 3: Composição da ração do primeiro experimento	29
Tabela 4: Composição da ração do segundo experimento	35
Tabela 5: Efeito da bacitracina e fitogênico no desempenho de leitões recém desmamados.....	36
Tabela 6: Efeito da bacitracina e fitogênico na digestibilidade de leitões com 44-49 dias.....	37
Tabela 7: Efeito da bacitracina e fitogênico na composição sanguínea de leitões aos 38 dias de vida.	37
Tabela 8: Efeito da bacitracina e fitogênico no proteinograma de leitões com 50 dias de vida.....	41
Tabela 9: Desempenho zootécnicos dos leitões do segundo experimento	45

SUMÁRIO

CAPITULO I	11
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVO	14
1.1.1 Geral	14
1.1.2 Específico	14
1.2 HIPÓTESE	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 IMPACTO DO DESMAME	15
2.2 IMPACTO DO DESMAME NO SISTEMA IMUNE (SI).....	15
2.3 IMPACTO DO DESMAME NA MICROBIOTA INTESTINAL	18
2.4 MICROBIOTA VS DIGESTIBILIDADE	19
2.5 SISTEMA ANTIOXIDANTE	20
2.6 USO DE ANTIBIÓTICO NO DESMAME	21
2.7 FITOQUÍMICO	22
CAPITULO II	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
INTRODUÇÃO	26
MATERIAIS E MÉTODOS	27
RESULTADOS	36
DISCUSSÃO	46
CONCLUSÃO	49
ANEXOS	50
CAPITULO III	54
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
4. REFERENCIAS	56

CAPITULO I

1 INTRODUÇÃO

A suínocultura brasileira está, atualmente, em quarto lugar no ranking mundial com 4,983 milhões toneladas de carne produzidas no último ano, tendo o estado de Santa Catarina como destaque com 32,33% de abates do país. O consumo no Brasil apresentou um aumento de 16,7 kg/hab para 18 kg/hab no período de um ano e para acompanhar o aumento do consumo de carne suína, a suínocultura tem intensificando a produção (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, 2023). Uma das práticas adotadas na intensificação da suínocultura é o desmame precoce, que proporciona um aumento do número de leitões produzidos por matriz por ano e redução de dias não produtivos de uma matriz. Porém em condições naturais, este processo ocorre de forma gradual, sem mudanças drásticas para os leitões. Diferente da suínocultura moderna, tornando o desmame um dos momentos mais críticos na vida produtiva dos suínos em função de diversos fatores causadores de estresse (DONG & PLUSKE, 2007).

Dentre eles fatores de estresse no desmame, há os problemas sociais, exposição a ambientes desconhecidos e, principalmente, uma mudança abrupta da dieta que é acompanhado por baixa consumo. Essa parece ser a principal razão para a estase do crescimento após o desmame (SPREEUWENBERG et al. 2001), pois este processo pode deixar os animais mais susceptíveis a patógenos, necessitando assim, de um sistema imune mais ativo. Entretanto, o sistema imune pode acionar processos inflamatórios e se a resposta inflamatória for descontrolada, além de causar danos intestinais e prejudicar as funções digestivas do intestino (MCLAMB et al. 2013), acarretará, também, em aumento na demanda por energia desviando esta e nutrientes do crescimento para a resposta inflamatória (CHILDS et al. 2019; DIANGELO et al. 2009). Além disso, estes fatores externos, como ambiente e dieta, podem influenciar na dinâmica da composição da microbiota intestinal (CHEN et al. 2017) e conseqüentemente, infecções decorrentes deste processo podem causar flutuação de membros importantes desses filós (GRESSE et al., 2017).

Os antibióticos têm sido utilizados como aditivo promotor de crescimento desde a década de 50 e até hoje são amplamente utilizados na produção animal (CASTANON, 2007; STELLA et al. 2020). Na suínocultura, é utilizado para minimizar o impacto do desmame no desempenho animal. No entanto, o uso de antibiótico como promotores de crescimento vem sendo progressivamente restringido, pois

existe a possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana cruzada em humanos. Este fato preocupa autoridades no mundo inteiro levando à emergente exigência dos importadores por produtos livres de resíduos de antibióticos (BRANCO et al. 2011). Essas novas regulamentações têm exigido a procura por alternativas que garantam resultados semelhantes ou superiores aos antimicrobianos.

Os fitogênicos têm sido estudados como uma importante alternativa aos antimicrobianos. Ele são compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas (HASHEMI E DAVOODI, 2011). Os possíveis mecanismos de ação de fitogênico em animais estão relacionados à alteração do microbiota intestinal, aumento da digestibilidade e absorção de nutrientes bem como atividades antioxidantes e imunomoduladoras (AHMED et al. 2013). Cui et al. (2019) avaliou o efeito de flavonóides frente a um antimicrobiano (Sulfato de colistina) e observou resultado semelhantes entre os aditivos na digestibilidade de diferentes nutrientes. Enquanto Ahmed et al. (2013) observou resultado semelhante no desempenho zootécnico ao avaliar resveratrol de amora e um blend de óleo essencial (orégano, anis, casca de laranja e chicória) frente a um antimicrobiano (Apramicina).

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Geral

- Avaliar a utilização de um aditivo composto por um blend de fitogênicos como alternativo ao antibiótico promotor de crescimento em leitões na fase de creche.

1.1.2 Específico

- Avaliar o efeito do blend de fitogênicos como otimizador de nutriente a partir da digestibilidade para leitões na fase de creche;
- Avaliar o efeito da substituição do antibiótico promotor de crescimento pelo blend de fitogênicos, sobre o desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de alimento e conversão alimentar) em leitões na fase de creche;
- Avaliar o efeito da substituição do antibiótico promotor de crescimento pelo blend de fitogênicos, sobre o sistema antioxidante;
- Avaliar o efeito da substituição do antibiótico promotor de crescimento pelo blend de fitogênicos na microbiota intestinal.

1.2 HIPÓTESE

- O uso do blend de fitogênico não influencia nos parâmetros de digestibilidade, desempenho, sistema antioxidante e microbiota intestinal de leitões recém desmamados;
- O uso do blend de fitogênico influencia pelo menos um dos parâmetros avaliados (digestibilidade, desempenho, sistema antioxidante e microbiota intestinal) em leitões recém desmamados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 IMPACTO DO DESMAME

A fase de desmame é um período de grande desafio para os leitões, pois precisam lidar com a separação abrupta da mãe e adaptar-se a um novo reagrupamento em um novo ambiente. Neste período, os leitões passam por uma transição nutricional, cuja fonte de nutrientes passa de líquida e simples para um alimento sólido e complexo (SPREEUWENBERG et al. 2001), acarretando em desafios fisiológicos, uma vez que o trato gastrointestinal destes animais ainda não está totalmente preparado para essa mudança.

O estresse sofrido nesta fase causa um baixo consumo de ração e, conseqüentemente ocorrem modificações no sistema digestivo dos leitões como: o comprometimento da estrutura e microbiota intestinal, alteração no pH, na secreção enzimática, na motilidade e na absorção intestinal (CARON E BEIRÃO, 2020; CHAMONEE et al. 2010). Estes fatores ocasionam uma queda no desempenho produtivo destes animais.

2.2 IMPACTO DO DESMAME NO SISTEMA IMUNE (SI)

O sistema gastrointestinal possui múltiplas funções, como digestão e absorção de nutrientes e eletrólitos, secreção de enzimas digestivas, mucina, imunoglobulinas e vários outros componentes, além de servir como barreira contra patógenos e antígenos nocivos (CAMPBELL et al. 2013).

Quando o leitão é desmamado, ele precisa adaptar-se abruptamente a uma dieta sólida, menos digerível e palatável. Como consequência, o consumo de ração é comprometido logo após o desmame (CAMPBELL et al. 2013). Este fator pode causar um comprometimento na estrutura epitelial do intestino, resultando na ativação da resposta imune e inflamatórias (SPREEUWENBERG et al. 2001).

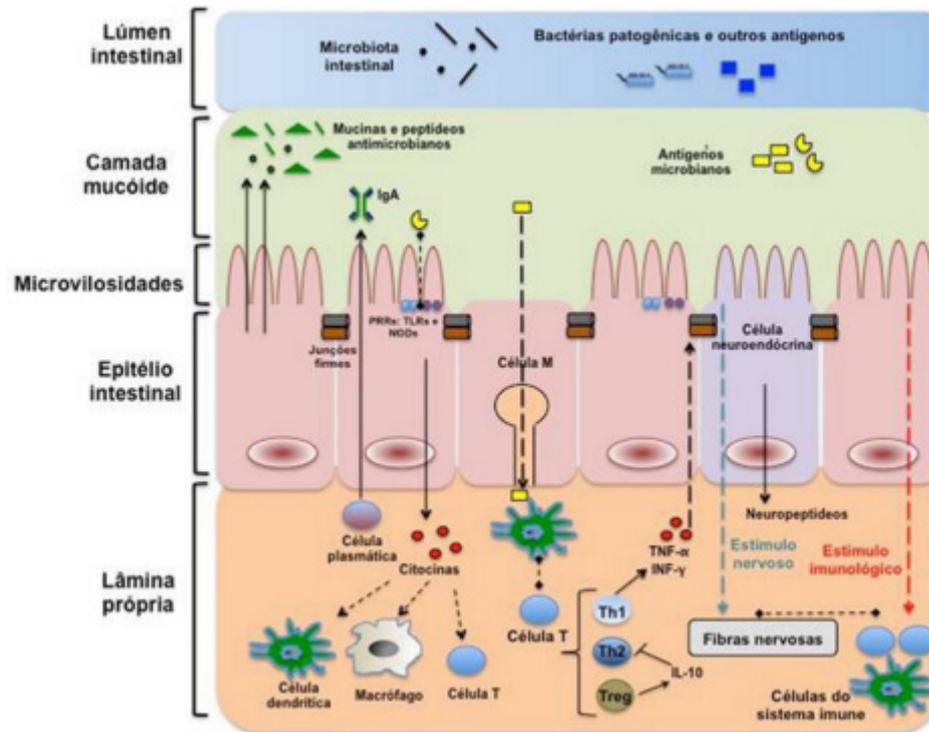
Diversos componentes atuam na manutenção da homeostase do sistema imune. No lúmen intestinal, a microbiota residente tem papel protetor contra bactérias patogênicas, evitando a colonização e invasão no epitélio. A camada mucóide, com peptídeos antimicrobianos e mucinas, funciona como barreira para a penetração de antígenos microbianos. Estas substâncias são produzidas por células especializadas do epitélio intestinal, células caliciformes (mucina) e células de

Paneth (peptídeos antimicrobianos). A IgA, presente também na camada mucóide, é secretada por células plasmáticas na lâmina própria (ORÍÁ E BRITO, 2016).

Quando o sistema imune é ativado, a resposta não específica é a primeira a atuar e pertence à imunidade inata, representada por células epiteliais e células do SI localizada na lâmina própria: células dendríticas, macrófagos e células NK ('natural killer'). E são responsáveis pelo reconhecimento dos antígenos com auxílio de receptores de reconhecimento padrão (PPRs), receptores Toll-like (TLRs – toll-like receptors) e receptores de domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos (NODs – nucleotide-binding oligomerization domain receptors) (ORÍÁ & BRITO, 2016; KIM, 2018; POTT E HORNEF, 2012).

A resposta imune adaptativa, atuante na lâmina própria, é acionada logo após o reconhecimento; nela há os linfócitos T e B com resposta específica e de memória para certos antígenos. Células T CD4⁺ geram as células Th1 e Th2 com propriedades pró-inflamatórias. As células T regulatórias (Treg) atuam contrabalanceando este efeito, ajudando a manter a inflamação sob controle. Neste processo, os mediadores inflamatórios liberados podem modificar as funções das junções firmes, levando à distúrbios de permeabilidade intestinal (Figura 1) (ORÍÁ E BRITO, 2016).

Figura 1: Representação da regulação da barreira funcional do intestino. Fonte: Oriá e Brito (2016)



Com o aumento da permeabilidade, toxinas, compostos alergênicos ou bactérias podem entrar nos tecidos sistêmicos (SPREEUWENBERG et al. 2001). E ocasionar o aparecimento de diarreia, um problema que acomete grande parte dos leitões recém desmamados, levando a perdas econômicas significativas, devido ao aumento da morbidade e mortalidade, redução do ganho de peso e aumento no consumo de medicações (SUN et al. 2019).

Além do SI acionar processos inflamatórios e, conseqüentemente, aumentar a permeabilidade intestinal nos animais, ele também aumenta o gasto de energia e até a necessidade proteica de suínos. Isto porque a estimulação do SI aumenta a utilização de aminoácidos para produção de proteínas atuantes no SI, reduzindo a absorção no músculo esquelético, aumentando até 70% a necessidade energética (PLUSKE et al. 2018). Estima-se que a necessidade proteica aumenta de 7-10% quando o SI está atuante (KLASING et al. 2007).

A ativação do SI é de extrema importância para a supressão do patógeno (KOGUT, 2013; LIU, 2015). No entanto, se a resposta inflamatória for descontrolada, além de causar danos intestinais e prejudicar as funções digestivas do intestino (MCLAMB et al. 2013), acarretará, também, em aumento na demanda por energia

desviando esta e nutrientes do crescimento para a resposta inflamatória, aumentando, assim, a energia de manutenção do animal (CHILDS et al. 2019; DIANGELO et al. 2009).

Logo, a interação entre a nutrição, a microbiota e a imunidade são particularmente importantes para manter a resiliência, promover o crescimento e produtividade animal (PAN E YU, 2014).

2.3 IMPACTO DO DESMAME NA MICROBIOTA INTESTINAL

Os microrganismos intestinais influenciam fortemente os sistemas imunológicos, e a dinâmica da colonização no início da vida está ligada na educação do sistema imunológico em desenvolvimento (GEUKING et al, 2014). Os microrganismos comensais do intestino, induzem a manutenção de células importantes para a imunidade (Tabela 1) (SAMUELSON et al, 2015).

Tabela 1: Efeito da microbiota intestinal no sistema imune

Microbiota intestinal	Efeito no sistema imune
<i>Bacteroides fragilis</i> PSA <i>Clostridial cluster IV</i>	Aumento nos níveis de células T+CD4 Melhora a sinalização anti-inflamatória; Aumento na secreção de IL-10
<i>Bacteroides vulgatus</i>	Auxílio na diferenciação das células T Aumento nos níveis de IgE, IgG, IL-4
<i>Lachnospiraceae</i>	Aumento da produção de ácido butírico
<i>Parabacteroides distasonis</i>	Redução das citocinas pró-inflamatórias

Fonte: Samuelson et al, 2015

Há uma grande e diversa população microbiana no trato gastrointestinal dos mamíferos (NIU et al. 2015) que sofre alterações durante as fases de vida. Chen et al (2017) investigou a mudança dos microrganismos comensais no intestino de leitões durante a fase do desmame e observou que os filos Firmicutes e Bacteroidetes foram os mais abundantes em todo o período, enquanto os filos Proteobacteria e Fusobacteria foram diminuindo ao longo do tempo, enquanto que o filo Actinobacteria permaneceu constante.

Porém, fatores externos, como ambiente e dieta, podem influenciar na dinâmica da composição da microbiota intestinal (CHEN et al. 2017). O próprio estresse do desmame e, conseqüentemente, infecções decorrentes deste processo podem causar flutuação de membros importantes desses filos, como, por exemplo, a diminuição de *Lactobacillus* (Firmicutes) e perda da diversidade microbiana, e o favorecimento de bactérias patogênicas, como *Clostridium spp.* (Firmicutes), *Prevotella spp.* (Bacteroidetes). e *Escherichia coli* (Proteobacteria) (GRESSE ET AL., 2017). *Lactobacillus spp.* são conhecidos por serem o principal grupo benéfico aos hospedeiros (KONSTANTINOV et al. 2006). Enquanto *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é o principal agente infeccioso da diarreia no período de creche em leitões (PAN et al. 2017).

Portanto, a modulação da microbiota intestinal pode favorecer o desempenho dos leitões. Petrujkic et al (2019) verificou que o extrato de *Nigella sativa* diminuiu significativamente os níveis de *E. coli* no trato gastrointestinal e melhorou a conversão alimentar em 63,7%. Resultados similares foram encontrados por Zeng et al (2014) ao avaliar óleo essencial contendo cinamaldeído e timol, ao mesmo tempo que verificaram a diminuição da população de *Escherichia coli*, também observaram um aumento da população de *Lactobacillus* acompanhada da melhora no ganho de peso e conversão alimentar.

2.4 MICROBIOTA VS DIGESTIBILIDADE

Alguns pesquisadores já verificaram a influência de alguns microorganismos intestinal na digestibilidade de determinados nutrientes.

Niu et al (2015) correlacionaram o aumento da população de bactérias dos gêneros: *Anaeroplasma*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Methanobrevibacter*, *Nitrosospira*, *Propionibacterium*, *Pseudobutyrvibrio*, *Robinsoniella*, *Staphylococcus* e *Treponema*, com uma melhora na digestibilidade aparente de fibra bruta.

O melhor aproveitamento das fibras pela microbiota resulta em uma maior produção de ácidos graxos (MU et al. 2017). Essas alterações levam à inibição de apoptose e à estimulação da proliferação através da diminuição de citocinas pró-inflamatórias, promovendo assim o desenvolvimento do ambiente intestinal pós-desmame (ZHONG et al. 2019).

O intestino delgado hospeda diferentes espécies de bactérias fermentadoras de aminoácidos, como *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus sp.*, *Megasphaera elsdenii* e *Acidaminococcus fermentans* (DAI et al. 2010). Estes microorganismos sintetizam simultaneamente aminoácidos e proteínas microbianas, que poderiam alimentar o hospedeiro (WANG et al. 2020). Usando técnica de marcação de isótopos, Dai et al. (2012) descobriram que tanto culturas puras de *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, quanto culturas bacterianas mistas isoladas do intestino delgado suíno poderiam utilizar rapidamente glutamina, lisina, arginina e treonina. Mais de 10% desses aminoácidos são usados para síntese proteica; no entanto, a porcentagem depende das espécies da bactéria fermentadora de aminoácidos.

2.5 SISTEMA ANTIOXIDANTE

O estresse oxidativo ocorre apenas quando o sistema de defesa antioxidante não consegue neutralizar a elevada produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SIES, 1997). Os ROS são produtos do metabolismo normal das células e possui na sua órbita externa um elétron desemparelhado, que o torna instável. Esta é a característica responsável pelas reações em cadeia pois eles tentam se ligar a outras moléculas, átomos ou elétrons livres para se tornar estável (MARTEMUCCI et al. 2022).

Quando há um desequilíbrio do sistema antioxidante e conseqüentemente um excesso de ROS no organismo, pode ocorrer danos teciduais, danos ao DNA, danos às proteínas, danos a estruturas lipídicas, oxidação de enzimas importantes e ainda funcionar como moléculas sinalizadoras ou mediadores da inflamação (Figura 2) (CHAPPLE E MATTHEWS, 2007).

Os antioxidantes do organismo podem ser classificados em duas categorias com base em seu modo de função (CHAPPLE E MATTHEWS, 2007). A primeira categoria compreende antioxidantes preventivos, incluindo antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase e enzimas de reparo de DNA, bem como alguns sequestradores de íons metálicos, como a albumina. A segunda categoria compreende antioxidantes de eliminação ou antioxidantes de quebra de cadeia, como ácido ascórbico (vitamina C), carotenóides (incluindo retinol-vitamina A), ácido

úrico, α tocoferol (vitamina E), glutationa reduzida e polifenóis (flavonóides) (WANG et al. 2017).

Shi-bin et al (2007) avaliou desempenho de leitões recém desmamados submetidos a processo de estresse oxidativo e verificou que, no processo intenso de oxidação, além de causar redução na digestibilidade dos nutrientes, no desempenho produtivo e do sistema antioxidante, os animais podem apresentar episódios de vômito e anorexia.

2.6 USO DE ANTIBIÓTICO NO DESMAME

Antimicrobianos são ferramentas muito utilizadas nos sistemas de produção de suínos, porém o seu uso exacerbado tem favorecido a ocorrência e disseminação de resistência microbiana aos antibióticos (Figura 3), a qual tem sérias implicações em saúde pública (BRASIL, 2020). Diante disso, a necessidade de alternativos aos antibióticos vem surgindo nos últimos anos.

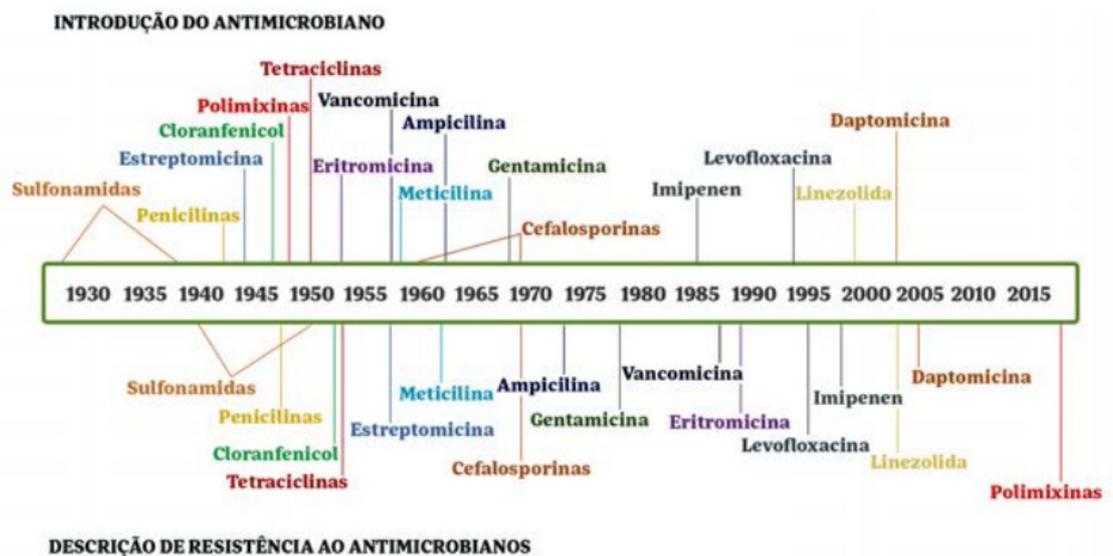


Figura 2: Linha do tempo da introdução de diferentes princípios ativos e respectivos relatos de resistência. Fonte: Brasil, 2020

Os agentes antimicrobianos são utilizados desde a década de 50-60 para a alimentação animal, em sub doses por períodos prolongados como promotor do crescimento (CASTANON, 2007; STELLA et al. 2020). A inclusão de antibióticos em doses subterapêuticas nas dietas pode melhorar significativamente a conversão

alimentar e ganho de peso, especialmente em animais jovens e sob alto desafio sanitário, como por exemplo na fase de creche (RIBAS, 2014).

Há mais de um mecanismo de ação proposto para estas substâncias: inibição de infecções subclínicas; redução na produção de metabólitos derivados do crescimento bacteriano no intestino que leva a redução no crescimento dos animais ou a processos inflamatórios constantes e maior absorção e uso de nutrientes através do parede intestinal associada a animais suplementados com antibióticos (GASKINS et al. 2002; BRASIL, 2020).

A bacitracina é um metaloantibiótico amplamente utilizado como medicamento e aditivo alimentar. Interfere na biossíntese da parede celular bacteriana ligando-se ao undecaprenil-pirofosfato, um transportador lipídico que serve como intermediário na produção da parede celular (ECONOMOU et al. 2013)

Ao sequestrar o transportador lipídico, a bacitracina interrompe o fluxo de peptidoglicano, precursores para o local de síntese da parede celular e, finalmente, levando à morte bacteriana (STORMS et al. 1972, TOSCANO et al. 1982). Para vincular a molécula de pirofosfato lipídico, a bacitracina requer um íon metálico, formando um complexo ternário 1:1:1 antibiótico-metal-lipídio (21-Stone). A bacitracina pode se ligar a uma variedade de metais diferentes, mas o zinco suporta a ligação lipídica de forma mais potente (ECONOMOU et al. 2013)

Contudo, há relato de que mesmo utilizando, via ração, baixas doses e em um curto período, há um aumento na abundância e diversidade de microrganismos resistentes a antibióticos o que favorece o aumento de *E. coli*, um potencial patógeno, no trato gastrointestinal (LOOFT et al. 2012)

2.7 FITOQUÍMICO

A restrição de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal, tem colocado os fitoquímicos como uma das alternativas ao uso de antibióticos na alimentação animal (WINDISCH et al. 2008).

Os fitogênicos são compostos do metabolismo secundário das plantas (HASHEMI E DAVOODI, 2011). E seus efeitos podem ser divididos em duas categorias: 1) Efeito sensoriais: palatabilizante e flavour e 2) Efeitos biológicos: antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatório, antiviral, imunoestimulantes e melhorador da digestibilidade (HASHEMI E SAVOODI, 2011; STEINER E SYED, 2015).

O mecanismo de ação dos efeitos antimicrobianos dos fitoquímicos baseia-se na alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática, conduzindo à deterioração dos processos essenciais da célula e resultando em perda do controle quimiosmótico da célula afetada e conseqüentemente a morte bacteriana (MULLER, 2006; WINDISH et al. 2007). Os terpenos (cinamaldeído e eugenol) tem apresentado atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*, com capacidade de reduzir a concentração da bactéria patogênica *Eschiarichia coli* (SANTURIO, 2011; YAN E KIM, 2012). E os flavonóides, que pertencem a uma ampla classe de substâncias químicas de origem natural, apresentam atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (FLAMBÓ, 2013).

Com isso, possivelmente, ocorre uma modulação na microbiota intestinal, aliviando os animais hospedeiros de estresse de defesa imunológica durante situações críticas e direcionando a energia para o desempenho produtivo (WINDISCH ET AL, 2007). Zeng et al. (2014) e Li et al (2012) verificaram que o óleo essencial (OE), contendo como princípio ativo o cinamaldeído e timol, apresentou melhores resultados tanto em desempenho (ganho de peso e conversão alimentar) quanto na digestibilidade. Li et al (2012) ainda observou que o sistema imune também foi favorecido neste processo.

Enquanto o efeito antioxidante dos flavonoides age nas membranas das células e/ou alimentos de diversas maneiras: sequestro de radicais livres, inibição de catalisadores (inativação de íons metálicos); remoção de compostos reativos ao oxigênio; sequestro de oxigênio; destruição de peróxidos, prevenção de radicais e concentração do oxigênio local (LABUZA et al., 1971; DZIEZAK, 1986). Cheng et al (2018) verificou que o óleo essencial de orégano além melhorar a taxa de crescimento, conversão alimentar e encurtar o dia de abate de suínos em terminação, também reduziu os níveis do produto da peroxidação lipídica e aumenta a atividade das enzimas antioxidante circulares, deixando o organismo preparado para o processo de oxidação /lipídica.

CAPITULO II

ARTIGO

O artigo este escrito de acordo com as normas da revista *Research in Veterinary Science*, a qual será submetido.

Impacto de um aditivo fitogênico no desempenho, sistema antioxidante e microbiota intestinal de leitões recém desmamados

Manoela Karolina Ribeiro Santos¹, Ronaldo Seghetto¹, Lucélia Hauptl¹, Diovani Paiano², Aleksandro Schafer da Silva², Alexandre Mossate Gabbi³, Vilmar Benetti Filho¹, Glauber Wagner¹, Priscila de Oliveira Moraes¹,

¹ Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

² Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Chapecó, Santa Catarina, Brasil

³ Pronutra do Brasil Comércio e Indústria, Palhoça, Santa Catarina, Brasil

RESUMO

Os antibióticos promotores de crescimento são utilizados para amenizar os efeitos negativos do desmame. No entanto, o surgimento de bactérias resistentes aos antimicrobianos tem levado à busca de novas ferramentas. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de um blend comercial de fitogênicos na digestibilidade, sistema antioxidante, desempenho e microbiota intestinal de leitões recém desmamados. Foram conduzidos dois experimentos compostos por três tratamentos: controle negativo, controle positivo e fitogênico. No primeiro experimento, foram realizadas análises sanguíneas, de digestibilidade e microbiota intestinal em 15 leitões alojados em gaiolas metabólicas. No segundo experimento foi realizada análise de desempenho em 108 leitões alojados em baias coletivas. O desenho experimental foi o delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Houve uma redução nos níveis da enzima superperóxido dismutase; de peroxidação lipídica; de haptoglobulina e um aumento nos níveis do grupo tiol não proteico e IgA para os animais do grupo que receberam o fitogênico na ração quando comparado com os demais tratamentos ($p < 0,05$). Na microbiota intestinal, observou-se uma tendência na diversidade para os animais que receberam o fitogênico na ração ($p = 0,054$). O blend de fitogênicos demonstrou importante papel no sistema antioxidante e microbiota intestinal.

INTRODUÇÃO

A fase de desmame é um período de grande desafio para os leitões, pois eles precisam lidar com a separação abrupta da mãe e adaptar-se a um novo reagrupamento em um novo ambiente. Neste período, os leitões passam por uma transição nutricional, cuja fonte de nutrientes passa de líquida e simples para um alimento sólido e complexo (Spreeuwenberg et al, 2001), acarretando em desafios fisiológicos, uma vez que o trato gastrointestinal destes animais ainda não está totalmente preparado para essa mudança.

O estresse sofrido nesta fase causa um baixo consumo de ração e, conseqüentemente ocorrem modificações no sistema digestivo dos leitões como: o comprometimento da estrutura e microbiota intestinal, alteração no pH, na secreção enzimática, na motilidade e na absorção intestinal (Caron e Beirão, 2020; Chamone

et al, 2010). Estes fatores ocasionam uma queda no desempenho produtivo destes animais.

Os antibióticos promotores de crescimento são utilizados nesta fase para minimizar os efeitos causados pelo estresse do desmame. Porém, seu uso tem sido restringido em diversos países, em virtude da possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana cruzada, que resulta em menor eficiência dos antimicrobianos a terapia animal e humana, e da emergente exigência dos importadores de produtos cárneos livres de resíduos de antibióticos (Xing et al, 2019).

Os fitogênicos, que são substâncias oriundas do metabolismo secundário das plantas, têm sido muito estudados nos últimos tempos como alternativa aos antibióticos. Alguns efeitos positivos vêm sendo observados, como: antiinflamatórios, antioxidantes (Wiseman et al., 1997), imunoestimulante (Guo et al., 2004). Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de um aditivo fitogênico na digestibilidade, desempenho e microbiota intestinal de leitões recém desmamados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos, um com 24 dias e outro com 35 dias, para análise da digestibilidade e desempenho, respectivamente, nas instalações experimentais da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) localizado em Guatambu/SC. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado de Santa Catarina sob o número 3070220222.

Foi utilizado, em ambos os experimentos, o aditivo fitogênico comercial Phytomizer Lac, produzido pela Eurotec Nutrition.

Tabela 2: Composição do aditivo Phytomizer Lac

Princípio ativo	Concentração mínima (g/kg)
Extrato de hortelã	100,00
Extrato de cebola	88,00
Extrato de laranja	88,00
Extrato de pimenta	40,00
Extrato de tocoferol	10,00
Óleo essencial de canela	88,00
Óleo essencial de cravo da Índia	20,00
Óleo essencial de alecrim	20,00
Óleo essencial de laranja	18,00
Óleo essencial de cominho	5,00
Óleo essencial de limão	5,00

Experimento 1 – Digestibilidade

Animais e instalações - desenho experimental

O experimento foi conduzido na instalação experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) no período de 10 de março de 2022 a 03 de abril de 2022.

Foram utilizados 15 leitões desmamados com 26 dias de idade, alojados em gaiolas coletivas (5 animais/baia) por seis dias e posteriormente alojados individualmente em gaiolas metabólicas (PEKAS, 1968) com dezessete dias de adaptação antes do início da coleta. A coleta iniciou no décimo oitavo dia do alojamento e teve duração de cinco dias.

Os leitões permaneceram nas gaiolas metabólicas até o final do experimento. Os bebedouros eram tipo chupeta e aquecimento automático. A duração total do experimento foi de 24 dias

Dietas

A dieta foi elaborada de acordo com Rostagno et al. (2017) e diferiu-se pela presença dos aditivos, formando os seguintes tratamentos: controle negativo (C): dieta padrão sem adição de aditivos promotores de crescimento controle positivo (B) dieta padrão com adição de bacitracina de zinco (300g/t); e fitogênico (F): dieta padrão com adição de um aditivo fitogênico comercial (400g/t).

Tabela 3: Composição da ração do primeiro experimento

Ingredientes	Pré Inicial (%)
Milho 7,5%	39,169
Milho extrusados	10,000
Soja, farelo 46%	23,800
Soja integral desativada	6,00
Prot. Conc. Soja	1,500
Farinha de ovos desidratadas	2,000
Soro do leite	10,000
Açúcar	2,500
Calcário calcítico	0,711
Fosfato bicálcico	0,975
Bicarbonato sódio	0,200
Sal refinado	0,357
L-Lisina	0,440
DL-Metionina	0,200
L-Treonina	0,387
L-Triptofano	0,025
L-Isoleucina	0,006
L-valina	0,093
Hostazym	0,010
Phytafeed ³	0,005
Óxido de zinco	0,200
Sucram	0,020
Banox	0,100
Bewei-Spray 99L	0,537
Premix vitaminico 50 ¹	0,300
Premix mineral 50 ²	0,465
Níveis de garantia	
Energia Metabolizável (Kcal/kg)	4.416
Proteína bruta (%)	20,44
Extrato etéreo (%)	5,41
Matéria mineral (%)	5,85

¹Composição do premix vitamínico: Vitamina A (12510 UI), vitamina D3 (2505 UI), vitamina E (100,005 mg/kg), vitamina K3 (3,014mg/kg), vitamina B - Tiamina (3,024 mg/kg), vitamina B2 - Riboflavina (8,640 mg/kg), vitamina B6 - Piridoxina (4,920 mg/kg), Vitamina B12 (60,000 mcg/kg). ²Composição do premix mineral: cálcio (0,741%), fósforo total (0,540%), sódio (0,267%), cloro (494%), cobre (233,198 mg/kg), ferro (108,810 mg/kg), ferro orgânico (46,506 mg/kg), iodo (2,791 mg/kg), manganês (89,513 mg/kg), selênio (0,628 mg/kg), zinco (1693,998 mg/kg). ³Phytafeed: 500 unidades de fitase.

Análise de digestibilidade

Para a avaliação da digestibilidade (matéria seca, matéria orgânica, energia bruta, energia metabolizável, proteína bruta) foi utilizado o método de coleta total de fezes, com o início e o final das coletas determinadas pelo aparecimento de fezes marcadas por óxido de ferro (adicionado a 2% na ração). As fezes foram coletadas uma vez ao dia, acondicionadas em sacos plásticos e conservadas em freezer a -10°C. Ao final do experimento, as fezes foram homogeneizadas e amostradas para posterior análises. E a urina excretada foi drenada para um balde de plástico contendo 20 mL de HCL. A cada 24h, após homogeneização, foi pesado a urina e retirado 20% do volume para amostra e conservada a 4°C para análise posterior. As coletas foram realizadas com 44 - 49 dias de vida dos animais.

As amostras de fezes e urina foram encaminhadas ao laboratório para análise de matéria seca (MS), nitrogênio (N) e energia bruta (EB) seguindo os procedimentos descritos pela AOAC (1997).

Com base nos dados de consumo, ração, produção de fezes e urina e nas análises de MS, N e EB foi determinado a energia digestível (ED) e energia metabolizável aparente (EMA) utilizando as equações de Matterson et al (1965).

$$\text{Energia digestível (ED)} = \frac{EB \text{ ing} - EB \text{ exc nas fezes}}{MS \text{ ing}}$$

Energia Metabolizavel Aparente (EMA)

$$= \frac{EB \text{ ing} - EB \text{ exc nas fezes} - EB \text{ exc na urina}}{MS \text{ ing}}$$

Com base nos dados de consumo de ração, produção de fezes e urina e nas análises de MS e proteína (PB = N x 6,25) da ração e fezes foi determinada a proteína digestível.

$$\text{Proteína Digestivel (PBD)} = \left(\frac{PB \text{ ing} - PB \text{ exc na fezes}}{MS \text{ ing}} \right) \times 100$$

Análise de sangue

Para análise sanguínea foi coletado 10 mL de sangue da veia jugular em tubo contendo anticoagulante EDTA e em tubo contendo ativador de coágulo para análise

do sistema antioxidante (glutathione S-transferase (GST), superóxido dismutase (SOD), lipoperoxidação (LPO), grupo tiol proteico (TSH), grupo tiol não proteico (NPSH) e espécies reativas de oxigênio (EROs)), hemograma (linfócitos (Lym), granulócitos (Gran), hematócrito (HCT), hemoglobina, volume globular médio (VCM), hemoglobina corpuscular médio (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC)), análise bioquímica (glicose, colesterol, triglicérides, albumina, proteína total, ureia) e proteinograma (imunoglobulina A (IgA), ceruplasmina, haptoglobulina, proteína c reativa, ferritina, transferina, globulina). A coleta de sangue foi realizada com 38 e 50 dias de vida dos animais, no período da manhã.

A atividade da SOD foi medida espectrofotometricamente (Marklund e Marklund, 1974), e os resultados foram expressos como U SOD/mg de proteína do sangue.

Para a GST, utilizamos a técnica de Mannervik e Guthenberg (1981), e a atividade GST foi medida como a taxa da formação de dinitrofenil-S-glutathione a 340 nm em um meio contendo 50 mM fosfato de potássio, pH 6,5, GSH 1 mM e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno 1 mM como substrato e sobrenadantes de tecido (aproximadamente 0,045 mg de proteína), expressa como U GST/mg de proteína sanguínea.

Os níveis EROs no plasma foram analisados pelo método descrito por Ali et al. (1992). O volume de 10 μ L de soro foram incubados com 12 μ L de diclorofluoresceína por 1 mm a 37°C durante 1h no escuro. A fluorescência foi determinada utilizando 488 nm para excitação e 520 nm para emissão. Os resultados são expressos em U DCF/mL.

Os níveis de peroxidação lipídica (LPO) no plasma foram mensurados método proposto por Monserrat et al (2003) e ressumido publicado por Da Silva Barreto et al (2018). O protocolo utilizou microplaca (Biotek Elx 800), empregando 90 μ L de FeSO₄ 1 mM (preparado imediatamente antes do uso), 35 μ L de H₂SO₄ 250 mM, 35 μ L de xilenol laranja 1 mM (da Sigma) e 140 μ L de água desionizada. Com L. acuta, diferentes volumes de amostra (8, 15, 20, 30 ou 40 μ L) foram adicionados e a água desionizada foi suficiente para obter 350 μ L de final de volume. A absorbância (550 nm) foi registrada em tempos diferentes (variando de 0 a 215 min) até a estabilização. A relação linear entre o volume da amostra e as leituras de absorbância também foi verificada.

Os níveis de tiol não proteico (NPSH) e tiol proteico (PSH) no plasma foram avaliados de acordo com Sedlak e Lindsay (1968) e relatados em detalhes por Maltez et al. (2018). Os resultados foram expressos em nmol sulfidril (SH)/mL e nmol SH/mg de proteína, respectivamente.

As concentrações de eritrócitos, hematócrito, leucócitos totais e hemoglobina foram mensuradas por meio de um analisador automático. As contagens diferenciais de leucócitos foram realizadas usando esfregaços de sangue corados com corante comercial (método Romanowsky) usando um microscópio de luz com aumento de 1000x.

A análise bioquímica foi realizada com kits comerciais (Analisa®), seguindo as instruções do fabricante em um analisador bioquímico semiautomático (Bioplus 2000®).

O proteíno foi realizada segundo Fagliari et al. (1998) usando mini-géis (10 x 10 cm). O géis foram corados com azul de Coomassie e fotografados para identificar e quantificar frações proteicas utilizando o software Labimage 1D (Loccus Biotechnology). A padrão contendo frações com peso molecular entre 10 e 250 KD (Caleidoscópio - BIORAD) foi usado como referência.

Análise microbiota

O kit comercial “ZR Fecal DNA MiniPrep®” da Zymo Research foi utilizado para extrair o DNA das amostras seguindo o protocolo recomendado pela fabricante. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria a 260nm. Para avaliar a integridade do DNA extraído, todas as amostras foram processadas por eletroforese em gel de agarose 1%.

Um segmento de aproximadamente 460 bases da região hipervariável V3V4 do 16S do gene ribossômico rRNA foi amplificado usando os primers universais descritos pela metodologia e as seguintes condições de PCR: 95°C por 3 min; 25 ciclos de 95°C por 30 seg, 55°C por 30 seg e 72°C por 30 seg, seguido de uma etapa a 72°C por 5 min. A partir desses amplicons, a biblioteca metagenômica foi construída usando o kit comercial “Nextera DNA LibraryPreparation Kit” da Illumina®. espaço os amplicons foram agrupados e subsequentemente sequenciados no Illumina® “MiSeq” sequenciador (Degnan e Ochman, 2012).

As leituras ou “reads” obtidas no sequenciador foram analisadas na plataforma QIIME2 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) (Caporaso et al.,

2011, 2010). As sequências foram classificadas em gêneros de bactérias através do reconhecimento de Amplicon Sequence Variants (ASVs), neste caso, a homologia entre as sequências quando comparadas com um banco de dados. Para comparar as sequências, a atualização (SILVA 138) do ano de 2019 da SILVA banco de dados de sequências ribossomais foi usado.

Para gerar a classificação de comunidades bacterianas por identificação de ASVs, foram utilizadas 15.446 leituras por amostra, para normalizar os dados e não comparar amostras com diferentes números de leituras.

Análise estatística

O desenho experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e cinco repetições. Os dados sanguíneos e digestibilidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância no programa estatístico Minitab 19.

Para a análise da microbiota, a comparação estatística entre as diversidades alfa para cada grupo analisado foi realizada através do teste não paramétrico de Wilcoxon, considerando como estatisticamente significativos, resultados inferiores a 0,05 ($p < 0,05$). A análise estatística da diversidade beta foi realizada por perMANOVA de Qiime2 pipeline, usando um número de 10.000 permutações. Todos os números e outras análises estatísticas foram calculados “R”. As diversidades de alfa foram calculadas por “phyloseq” (McMurdie e Holmes, 2013), “vegano” (Oksanen et al., 2007) e “microbioma” biblioteca (Lahti e Shetty, 2018). As diferenças nas abundâncias relativas de táxons entre os grupos analisados foram estimadas pelo teste de Wilcoxon (Wilcoxon, 1992).

Experimento 2 – Desempenho

Animais e instalações

O experimento foi executado na instalação experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) no período de 22 de setembro de 2022 a 27 de outubro de 2022.

Foram utilizados 108 leitões desmamados com 26 dias de idade, alojados em baias coletivas (3 animais/baia), com bebedouros tipo chupeta e aquecimento automático por 35 dias.

Dietas

As dietas foram elaboradas de acordo com Rostagno et al. (2017) e diferiu-se pela presença dos aditivos, formando os seguintes tratamentos: controle negativo (C): dieta padrão sem adição de aditivos promotores de crescimento controle positivo (B) dieta padrão com adição de bacitracina de zinco (300g/t); e fitogênico (F): dieta padrão com adição de um aditivo fitogênico comercial (400g/t)

Tabela 4: Composição da ração do segundo experimento

Ingredientes	Pré Inicial (%)	Inicial (%)
Milho 7,5%	43,481	63,483
Milho extrusados	10,000	0,000
Soja, farelo 45%	20,692	25,063
Soja micronizada	5,318	5,000
Prot. Conc. Soja	1,500	-
Farinha de ovos desidratadas	2,000	-
Soro do leite	10,000	-
Açúcar	2,500	-
Calcário calcítico	0,691	0,736
Fosfato bicálcico	1,070	1,181
Bicarbonato sódio	0,300	0,400
Sal refinado	0,230	0,261
L-Lisina	0,594	0,587
DL-Metionina	0,243	0,222
L-Treonina	0,465	0,444
L-Triptofano	0,060	0,058
L-Isoleucina	0,024	0,023
L-valina	0,200	0,182
Hostazym	0,010	0,010
Phytafeed ³	0,005	0,005
Vitamina E	0,015	0,015
Sucram	0,020	0,015
Bewei-Spray 99L	0,000	1,734
PX interno vitamínico 111 ¹	0,267	0,267
Premix mineral 50 ³	0,300	0,300
BHT	0,015	0,015
Composição nutricional		
Energia Metabolizável (Kcal/kg)	3.977	4.117
Proteína bruta (%)	21,56	21,00
Extrato etéreo (%)	3,83	5,42
Matéria mineral (%)	6,84	5,11

¹Composição do premix vitamínico: Vitamina A (12001,50 UI), vitamina D3 (2400,3 UI), vitamina E (100,17 mg/kg), vitamina K3 (3,998 mg/kg), vitamina B - Tiamina (1,867 mg/kg), vitamina B2 - Riboflavina (5,334 mg/kg), vitamina B6 - Piridoxina (2,000 mg/kg), Vitamina B12 (24,003 mcg/kg). ²Composição do premix mineral: cálcio (0,740%), fósforo total (0,541 - 0,552%), sódio (0,224%), cloro (0,465 - 0,342%), cobre (150,45 mg/kg), ferro (70,20

mg/kg), ferro orgânico (30,030 mg/kg), lodo (1,804 mg/kg), manganês (57,750 mg/kg), selênio (0,405 mg/kg), zinco (125,16 mg/kg). ³Phytafeed: 500 unidades de fitase.

Desempenho

As variáveis de desempenho (consumo diário de ração, ganho de peso diário e conversão alimentar) foram calculadas por meio da pesagem dos animais e quantificação semanal das sobras de ração.

Análise estatística

O desenho experimental utilizado foi o delineamento em bloco ao acaso (DBC), com três tratamentos e doze repetições, tendo o peso como fator de bloqueamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância no programa estatístico Minitab 19.

RESULTADOS

Experimento 1

Desempenho

Os parâmetros de desempenho não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) aos 50 dias de vida.

Tabela 5: Efeito da bacitracina e fitogênico no desempenho de leitões recém desmamados

Parâmetros	Controle ¹	Antimicrobiano ²	Fitogênico ³	valor p	<i>EPM</i> ⁴
<i>26 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	9,430	9,338	9,420	0,95	0,114
<i>32 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	11,100	10,363	10,930	0,18	0,163
GPD (Kg)	0,278	0,171	0,252	0,318	0,028
<i>38 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	12,150	11,513	11,99	0,325	0,168
GPD (Kg)	0,210	0,230	0,212	0,929	0,021
<i>50 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	18,74	18,388	19,17	0,615	0,3
GPD (Kg)	0,459	0,525	0,569	0,243	0,027

*As médias dentro da mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%. ¹Controle: sem inclusão de aditivos zootécnicos; ²Antimicrobiano: bacitracina - 300 g/t e ³Fitogênico: Phytomizer - 400g/t. ⁴EPM erro padrão da média. PV – Peso vivo; GPD – Ganho de peso diário.

Digestibilidade

A digestibilidade da MS, MO, PB e energia não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Tabela 6: Efeito da bacitracina e fitogênico na digestibilidade de leitões com 44-49 dias

Parâmetros	Controle ¹	Antimicrobiano ²	Fitogênico ³	<i>EPM</i> ⁴	Valor-p
MS (%)	86,64	85,54	86,34	0,50	0,680
CDA MO (%)	88,40	87,58	87,92	0,44	0,775
PBD (%)	85,82	84,20	85,00	0,76	0,714
ED (%)	85,78	84,72	85,66	0,51	0,685
EMA (%)	83,48	82,44	83,28	0,53	0,730

*As médias dentro da mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%. ¹Controle: sem inclusão de aditivos zootécnicos; ²Antimicrobiano: bacitracina - 300 g/t e ³Fitogênico: Phytomizer - 400g/t. ⁴*EPM* erro padrão da média. MS – Matéria Seca; CDA MO – Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica; PBD – Proteína bruta digestível; ED – Energia digestível; EMA – Energia metabolizável aparente.

Hemograma e análise bioquímica

O hemograma e a análise bioquímica não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Tabela 7: Efeito da bacitracina e fitogênico na composição sanguínea de leitões aos 38 dias de vida.

Parâmetros	Controle ¹	Antimicrobiano ²	Fitogênico ³	<i>EPM</i> ⁴	valor p
<i>Análise bioquímica</i>					
Glicose	80,60	80,75	82,00	2,21	0,968
Colesterol	92,80	73,25	83,00	4,36	0,210
Triglicerídeos	52,60	41,75	51,60	3,04	0,329
Albumina	2,34	2,35	2,40	0,05	0,892
Proteína total	4,88	4,97	4,88	0,07	0,865
Ureia	14,40	16,25	14,80	0,82	0,685
<i>Hemograma</i>					
Lym	7,46	8,72	9,12	0,45	0,534
Gran	3,39	3,42	3,92	0,32	0,858
RBC	6,96	6,84	7,15	0,10	0,234
HGB	12,24	11,87	11,96	0,19	0,194
HCT	42,04	41,17	41,44	0,55	0,301
MCV	60,46	60,17	58,10	0,78	0,527
MCH	17,62	17,33	16,80	0,24	0,404
MCHC	29,12	28,80	28,90	0,13	0,263

*As médias dentro da mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%. ¹Controle: sem inclusão de aditivos zootécnicos; ²Antimicrobiano: bacitracina - 300 g/t e ³Fitogênico: Phytomizer - 400g/t. ⁴*EPM* erro

padrão da média. Lym – Linfócitos; Gran - ; RBC - contagem total de glóbulos vermelhos; HCT – hematócrito; MCV - volume globular médio; MCH - hemoglobina corpuscular médio; MCHC - Concentração de hemoglobina corpuscular média

Sistema antioxidante

Os animais que consumiram o fitogênico além de apresentar uma tendência na redução do nível de espécies reativas ao oxigênio (EROs) ($p < 0,10$), também apresentaram menor nível de peroxidação lipídica (LPO) e da enzima superóxido dismutase (SOD) em comparação com os animais do tratamento controle negativo e

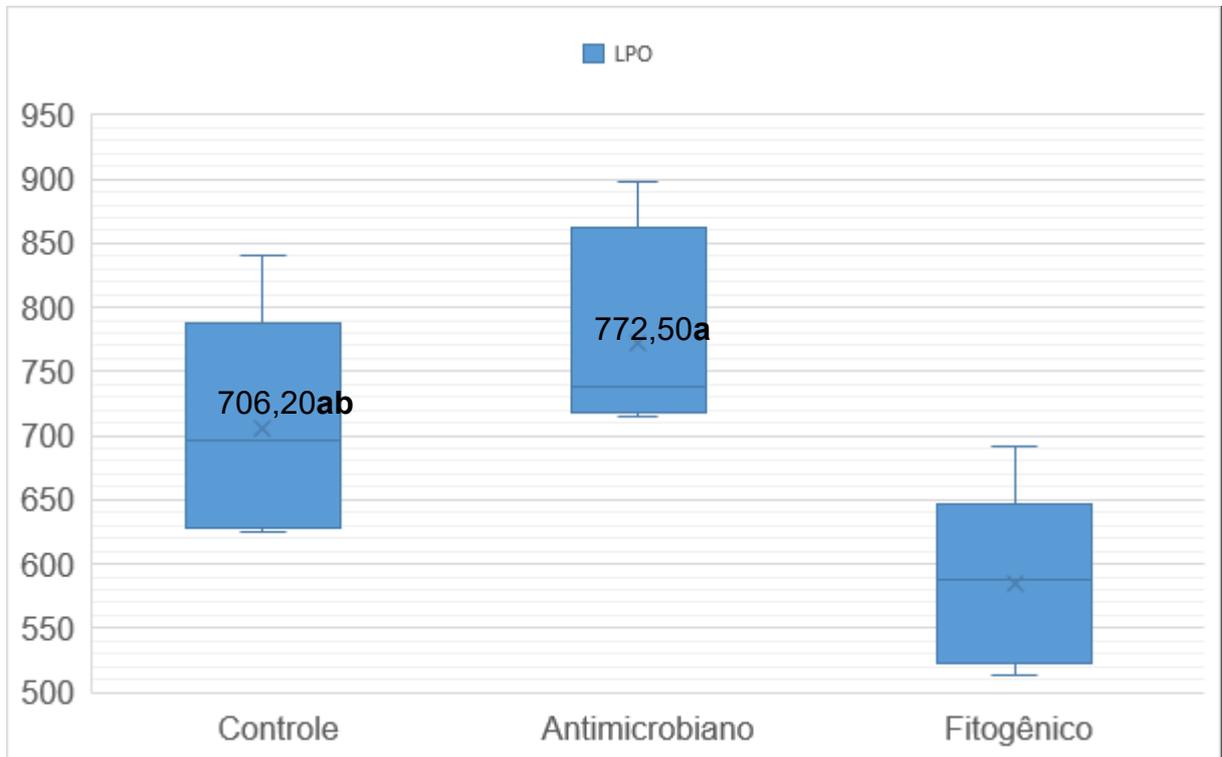


Figura 3: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível de lipoperoxidação (LPO) antimicrobiano ($p < 0,05$). Enquanto os grupos tíois não proteicos (NSPH) apresentou maior nível nos animais do tratamento Fitogênico ($p < 0,05$).

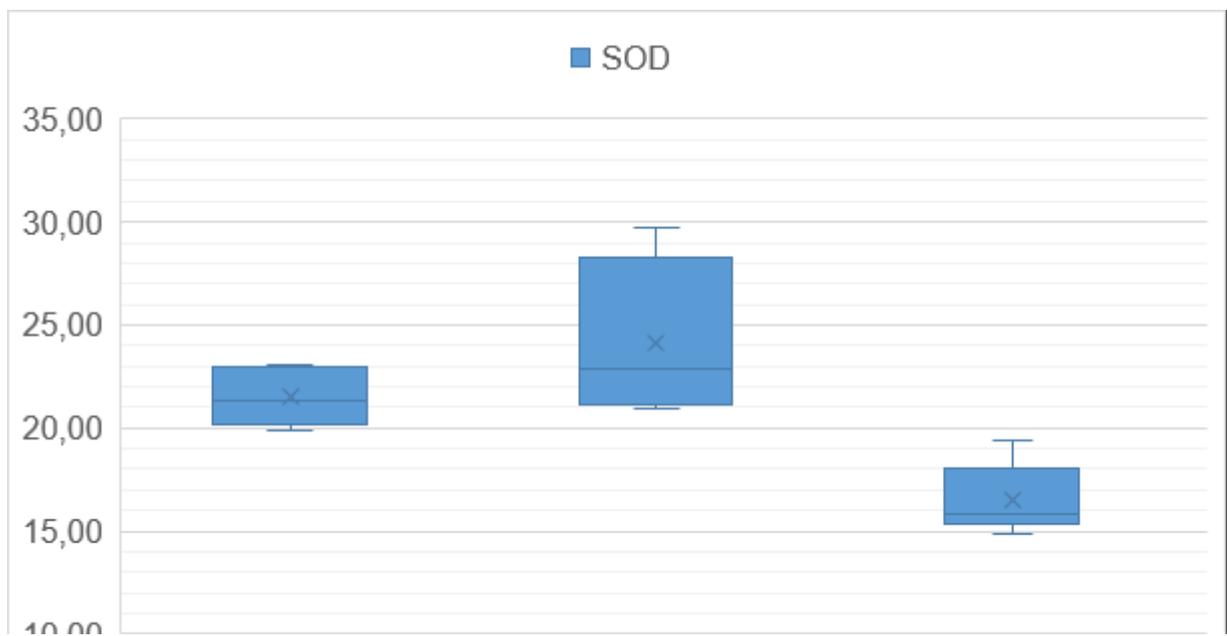


Figura 4: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível da enzima superóxido desmutase (SOD)

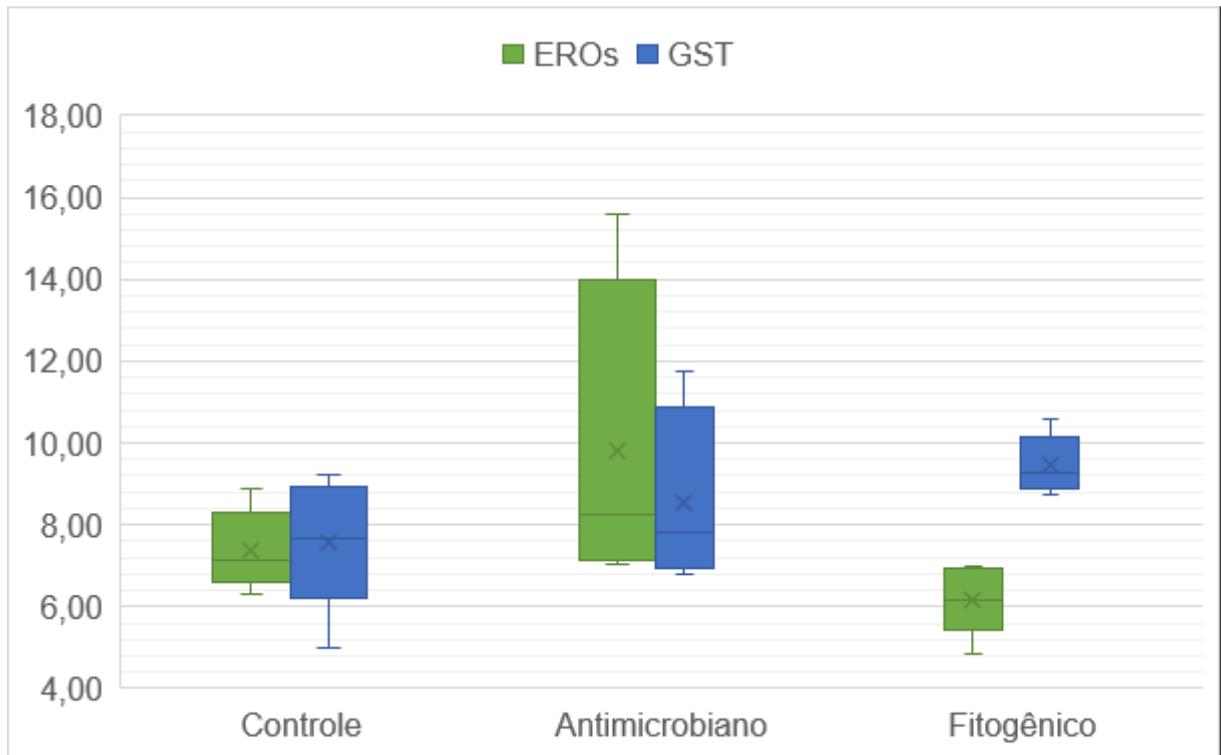


Figura 5: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível de espécies reativa ao oxigênio (EROs) e glutatona transferase (GST)

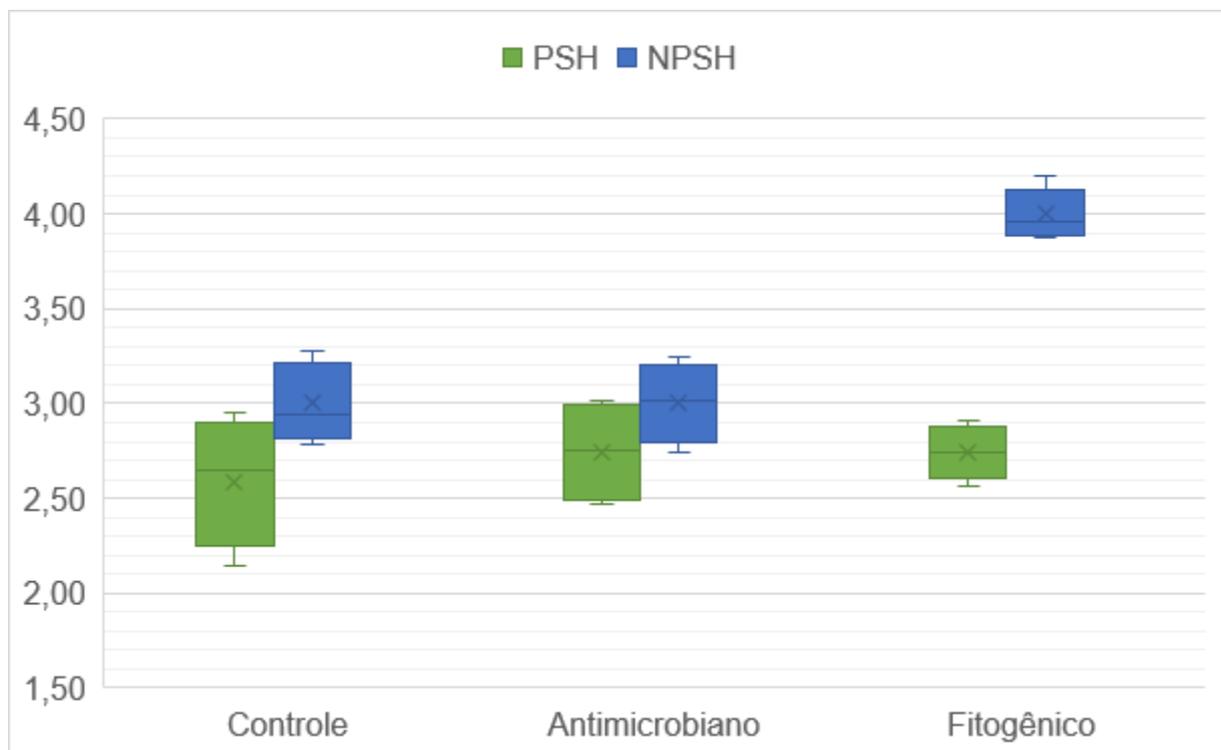


Figura 6: Efeito da bacitracina e fitogênico no nível do grupo tiol proteico (PSH) e não proteico (NPSH)

Proteinograma

Os animais que consumiram o fitogênico apresentaram menores níveis de Haptoglobina e proteína C reativa e maiores níveis de IgA em comparação com os tratamentos controle e bacitracina ($p < 0,05$).

Tabela 8: Efeito da bacitracina e fitogênico no proteinograma de leitões com 50 dias de vida

Parâmetros	Controle ¹	Antimicrobiano ²	Fitogênico ³	<i>EPM</i> ⁴	valor p
IgA (g/dL)	0,57ab	0,55b	0,84a	0,025	0,038
Ceruplasmina (g/dL)	0,85	0,86	0,91	0,016	0,320
Haptoglobina (g/dL)	0,38a	0,37a	0,28b	0,014	0,001
Proteína C reativa (g/dL)	0,25a	0,25a	0,18b	0,013	0,004
Ferritina (g/dL)	0,30	0,29	0,31	0,009	0,638
Transferina (g/dL)	0,28	0,28	0,28	0,008	0,994
Globulinas (g/dL)	2,54	2,63	2,50	0,101	0,900

*As médias dentro da mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%. ¹Controle: sem inclusão de aditivos zootécnicos; ²Antimicrobiano: bacitracina - 300 g/t e ³Fitogênico: Phytomizer - 400g/t. ⁴EPM erro padrão da média. IgA – Imunoglobulina A.

Microbiota

Foram sequenciadas 5 amostras por tratamentos. Duas amostras do tratamento antimicrobiano foram retiradas por apresentarem baixa quantidade de reads quando comparadas com as demais amostras. Mas ambas não apresentaram má qualidade no sequenciamento (Anexo I).

Neste estudo observa-se que estes índices foram maiores para o tratamento contendo fitogênico, principalmente, quando comparado com o tratamento com antibiótico ($p < 0,10$). O índice de Shannon apresentou médias próximas entre os tratamentos ($p > 0,05$).

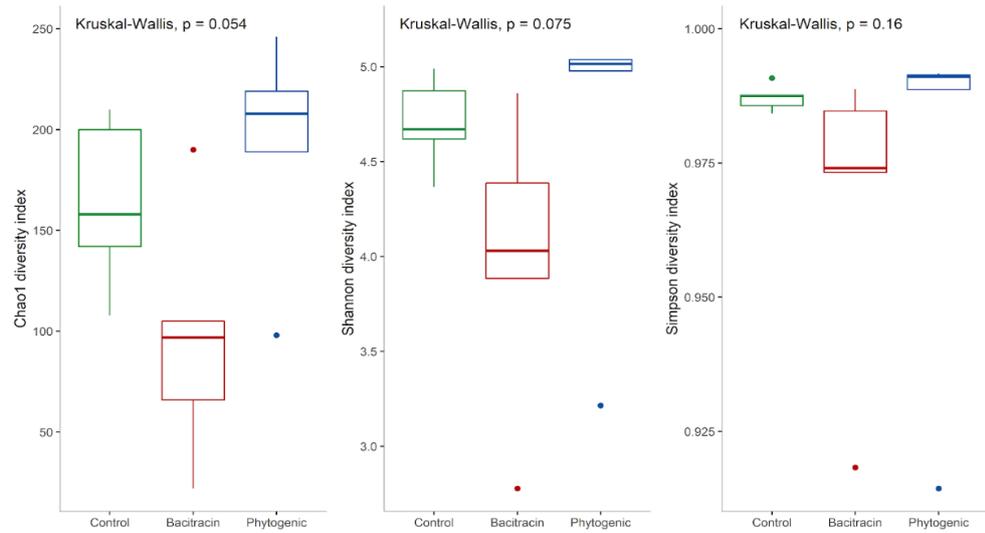


Figura 7: Diversidade de Chao-1, Shannon e Simpson

Com base no gráfico PCoA foi possível verificar que as populações microbianas dos animais dos três tratamentos apresentaram dispersão homogênea. O índice de dissimilaridade de Bray-Curtis indicou que há semelhança na composição microbiana interindividuais.

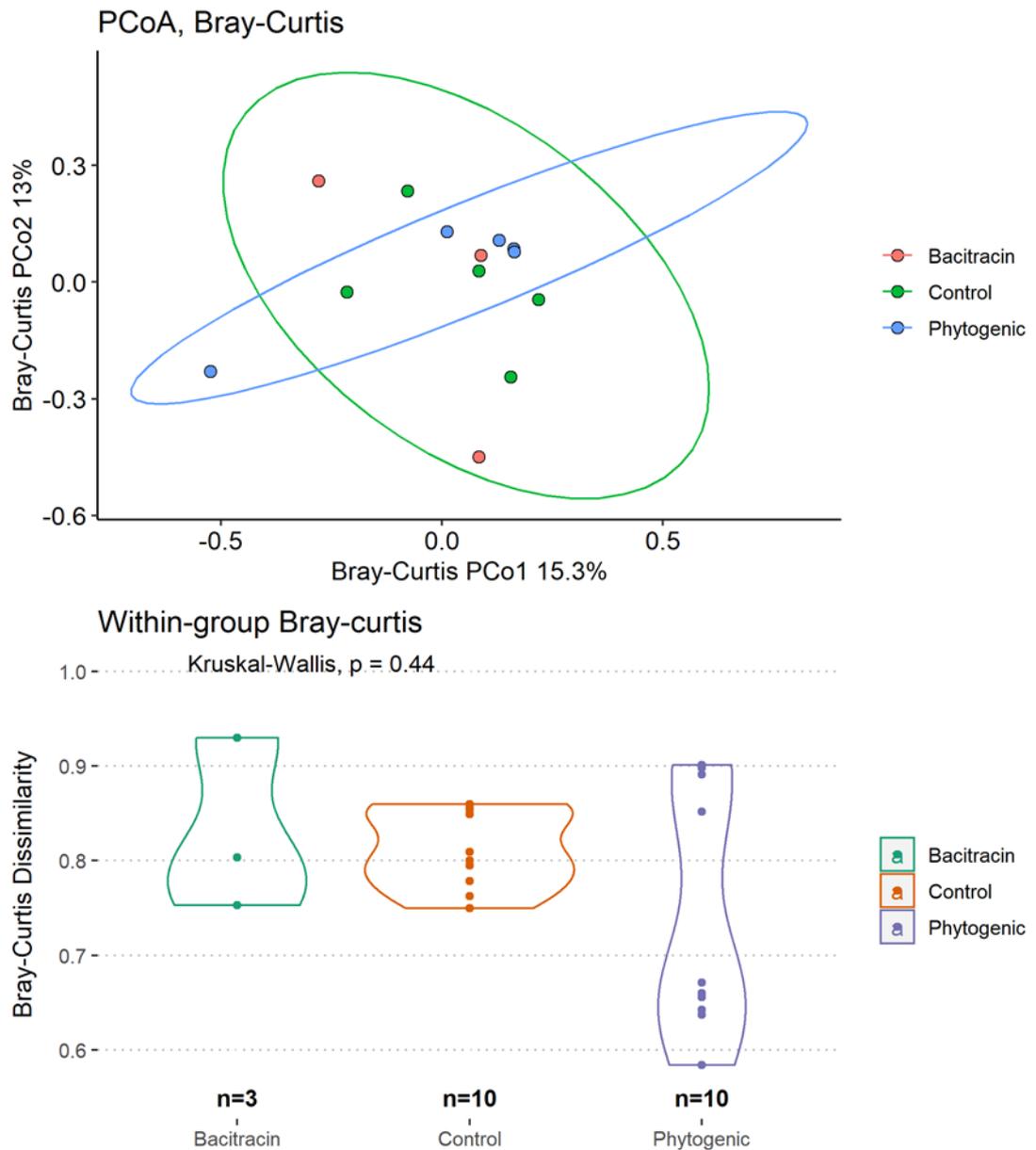


Figura 8: Análise das coordenadas principais (PCoA) da diversidade beta

Todas as sequências foram classificadas em onze filos, embora quatro filos foram mais comuns ($> 1\%$): Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobactéria e Proteobacteria. Em média, o tratamento contendo fitogênico apresentou uma relação firmicutes:bacteroidetes muito próximo entre as amostras, exceto para 1 animal que apresentou uma maior abundância relativa para o filo Proteobactéria.

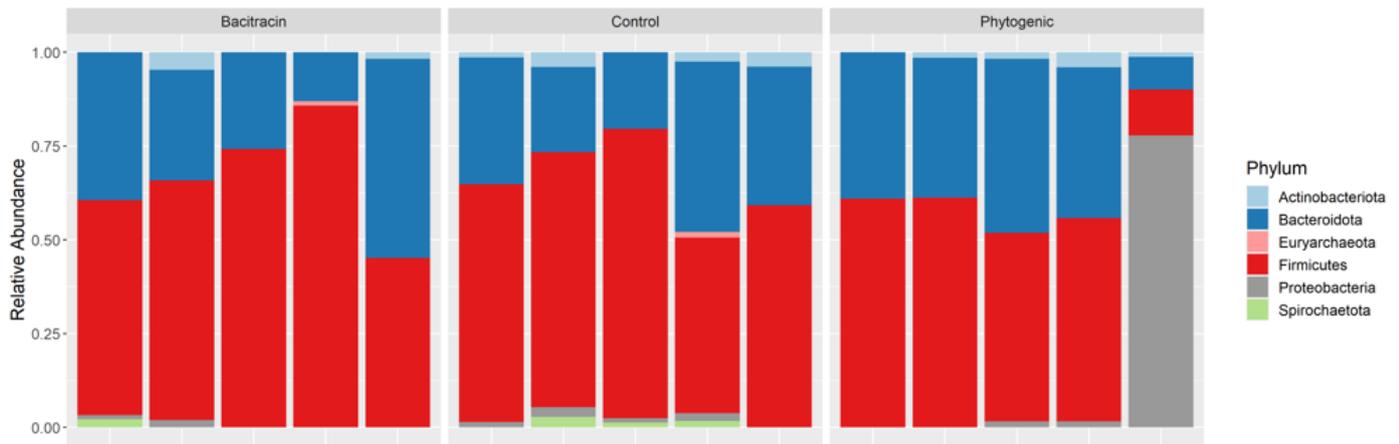


Figura 9: Abundância relativa dos filós da microbiota intestinal de leitões recém desmamados

Foram sequenciadas 57 famílias, das quais 10 apresentaram maior abundância relativa >3% (*Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Oscillospiraceae*, *Muribaculaceae*, *Ruminococcaceae* e *Clostridiaceae*, RF39, *Rikenellaceae*, *Streptococcaceae*, [*Eubacterium*] *coprostanoligenes* group, *Anaerovoracaceae*, *Butyricicoccaceae*).

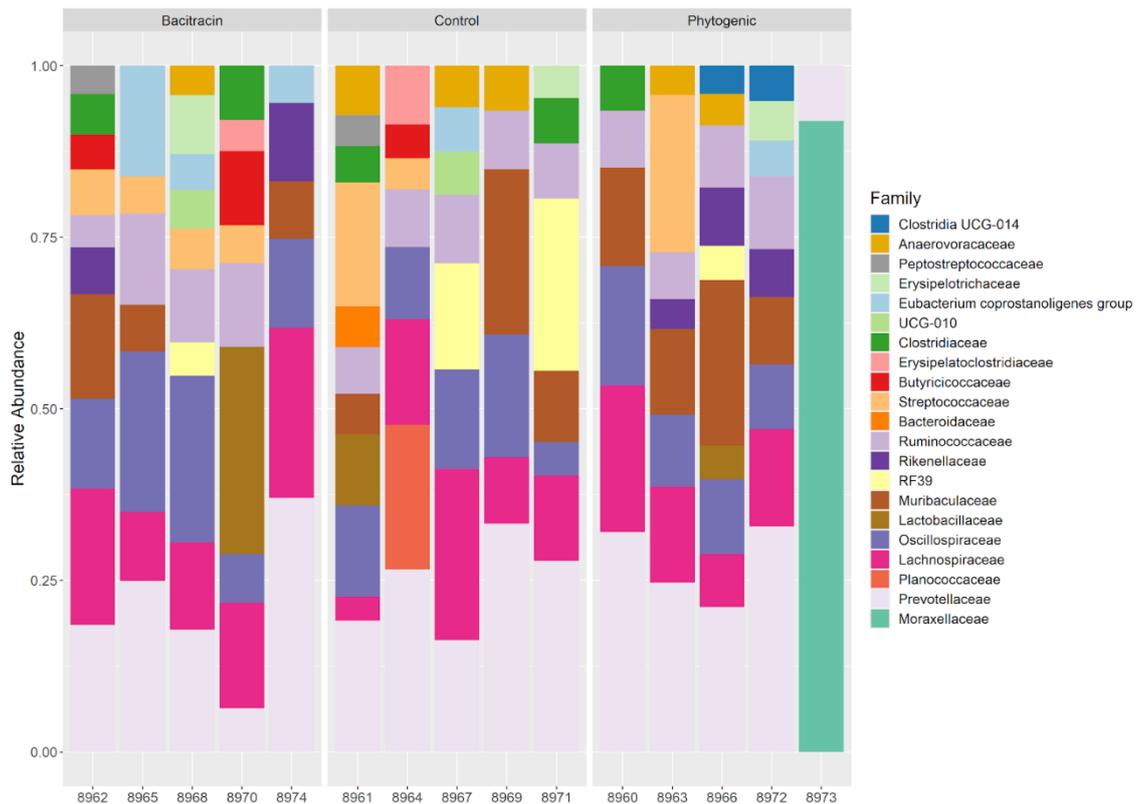


Figura 10: Abundância relativa das famílias da microbiota intestinal de leitões recém desmamados

Experimento 2

Desempenho

Os parâmetros de desempenho não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) aos 61 dias de idade.

Tabela 9: Desempenho zootécnicos dos leitões do segundo experimento

Parâmetros	Controle ¹	Antimicrobiano ²	Fitogênico ³	valor p	<i>EPM</i> ⁴
<i>26 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	7,598	7,519	7,519	0,967	0,136
<i>33 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	8,208	8,17	7,999	0,876	0,169
GPD (Kg)	0,092	0,093	0,072	0,569	0,009
CRD (Kg)	0,263	0,264	0,248	0,599	0,007
CA	4,746	4,33	5,02	0,89	0,595
<i>47 Dias de vida</i>					
PV (Kg)	10,602	9,985	10,263	0,663	0,266
GPD (Kg)	0,21	0,176	0,196	0,532	0,012
CRD (Kg)	0,355	0,339	0,349	0,854	0,011
CA	1,743	2,044	2,048	0,336	0,092
<i>61 Dias de vida</i>					

PV (Kg)	22,95	22,427	22,714	0,927	0,524
GPD (Kg)	0,439	0,426	0,434	0,927	0,013
CRD (Kg)	0,798	0,781	0,829	0,535	0,018
CA	1,845	1,855	1,919	0,443	0,025

*As médias dentro da mesma linha com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%. ¹Controle: sem inclusão de aditivos zootécnicos; ²Antimicrobiano: bacitracina - 300 g/t e ³Fitogênico: Phytomizer - 400g/t.

DISCUSSÃO

A digestibilidade e o desempenho zootécnico não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos, resultado semelhante foi encontrado por Lee et al (2003) em frangos e por Costa et al (2011), respectivamente, ao avaliarem o efeito de fitogênicos. A ausência destes efeitos pode estar relacionada à composição da dieta basal e/ou às condições ambientais a que os animais foram submetidos pois uma dieta mais digestível limita o crescimento de microrganismos patógenos no trato gastrointestinal pela redução de substrato disponível ao crescimento microbiano, diminuindo assim o efeito dos antibióticos em melhorar o desempenho animal. O mesmo pode acontecer se os animais foram alojados em instalações experimentais com baixo nível de contaminação podendo dificultar a detecção de diferença entre tratamentos (Oetting et al. 2006).

A peroxidação lipídica (LPO) no organismo ocorre nos ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas, gerando como produto as espécies reativas ao oxigênio (EROs), o que pode levar estresse oxidativo caso haja um desequilíbrio no sistema antioxidante. Neste presente estudo, houve uma redução na peroxidação lipídica (LPO) e na concentração de SOD nos animais que receberam a ração com o aditivo fitogênico. A presença de polifenóis, em especial os flavonóides, podem favorecer a diminuição da propagação dos EROs, devido a sua capacidade de interagir com a membrana celular e/ou capacidade doadora de elétrons a EROs, favorecendo o equilíbrio do sistema antioxidante e evitando o estresse oxidativo, consequentemente reduzindo a concentração da SOD visto que o mesmo aumenta com o estresse oxidativo (Barreiros et al. 2006).

A glutathiona (GSH) é o principal tiol não proteico (NPSH) envolvido na defesa celular antioxidante e seu papel protetor se deve a direta destoxificação de EROs, participando como cofator para a enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase (GSH-Px) (Arteel e Sies, 2001; Pastore et al. 2003) e encontram-se em elevados níveis

intracelular na sua forma reduzida (GSH) (Junior et al. 2001; Huber et al. 2008). Várias pesquisas têm demonstrado uma melhora na capacidade antioxidante através de maiores níveis de GSH-Px ao avaliar fitogênicos como o efeito de procidinas de sementes de uva, óleo essencial de canela e timol, curcumina e piperina (Fang et al. 2020; Tian e Piao, 2019; Shi et al. 2020). Neste presente estudo a concentração do NPSH foi maior para os animais que consumiram o aditivo fitogênico, possivelmente a GSH e GSH-Px também encontram-se em maiores níveis nestes animais e conseqüentemente, também, há melhora na capacidade antioxidante dos animais do grupo fitogênico. Pois com a redução da GSH pode haver um aumento da concentração do EROs hidroxila (OH), que é um radical livre altamente reativo e responsável pela iniciação do processo de LPO (Barbosa et al. 2010; Barreiros et al. 2006).

A IgA atua na proteção do epitélio da mucosa contra patógenos invasores (Goncalves et al. 2015). Enquanto a haptoglobulina e a proteína c reativa são proteínas da fase aguda, que aumentam sua concentração em processos inflamatórios e/ou infecciosos (Salamano et al. 2008). Neste presente estudo a concentração de IgA aumentou, resultado semelhante foi encontrado por Zeng et al. (2014) e Li et al. (2012) com a utilização de óleo essencial contendo cinamoldeido e timol. Por outro lado, as concentrações de haptoglobulinas e proteína c reativa diminuíram significativamente no grupo de animais que consumiram aditivo fitogênico, indicando uma possível melhora no sistema imune deste grupo.

O índice Chao-1 e o índice de Shannon estimam a riqueza e a equidade na abundância de espécies em cada amostra. O índice de Simpson é mais sensível à uniformidade de espécies, quando comparado com o índice Shannon (Johnson e Burnet, 2006). Neste estudo, observou-se que o índice Chao-1 e Shannon foram maiores para os animais que receberam a ração com fitogênico, principalmente quando comparado com o tratamento com antibiótico. Resultado semelhante foi encontrado por Cui et al. (2019). Possivelmente este efeito ocorre pelo fato dos antibióticos apresentarem um amplo espectro de ação e, por isso, quando utilizados como promotores de crescimento podem reduzir uma ampla gama de microrganismos do trato gastrointestinal dos animais (Zeineldin et al. 2019) afetando a diversidade e abundância da microbiota intestinal.

Os dados encontrados no presente estudo corroboram a literatura encontrada para a microbiota intestinal de leitões, que descreve os filos Firmicutes, Bacteroidete e Proteobacteria como os mais abundantes, respectivamente (Chen et al. 2017; Li et al. 2018). O filo Bacteroidete possui espécies capazes de degradar carboidratos e as Firmicutes possuem espécies especializados na degradação de substratos complexos como paredes celulares vegetais, partículas de amido e mucina, estas habilidades favorecem o aumento de ácidos graxos e conseqüentemente uma melhora no sistema imune dos animais (Vieira et al. 2021). Em uma situação de disbiose, como as causadas pelo desmame, pode resultar em diminuição do filo Firmicutes e aumento de Bacteroidetes, estas mudanças fornecem um ambiente favorável para a proliferação de alguns gêneros patogênicos deste filo e, conseqüentemente, redução da eficiência alimentar dos animais (Betancourt et al. 2019). Portanto, uma relação estável entre Firmicutes e Bacteroidetes pode resultar em melhor aproveitamento da dieta pelos animais (Vieira et al. 2021). A maturidade da microbiota de leitões está relacionada com uma menor abundância do filo Proteobactérias, que incluem uma variedade de patógenos como *Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Helicobacter* (Chen et al. 2017).

Cabe salientar, como descrito anteriormente, a Proteobacteria foi o filo com menor abundância nos animais, exceto para um animal do tratamento fitogênico, que neste estudo foi representado pela família *Moraxellaceae* que é composta por bactérias inofensivas para o trato gastrointestinal dos animais, embora estejam relacionadas com infecções respiratórias (Santos et al. 1999; Yang, 2014). Como pode ser observado no anexo II, não houve redução do desempenho produtivo deste animal, quando comparado com os demais.

As famílias *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Oscillospiraceae* e *Ruminococcaceae*, que apresentaram maior abundância indiferentemente do tratamento avaliado, são família reconhecidas por fermentar carboidratos e estruturais e estão relacionadas ao aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta, que por sua vez favorecem o sistema imune atuando no desenvolvimento e manutenção da mucosa intestinal (Amat et al. 2020; Vacca et al. 2020; Beautmon et al. 2021). Os ácidos graxos, como acetato, propionato e butirato são produzidos através da degradação anaeróbica de oligossacarídeos do muco e de fibra dietética. Estes metabólitos atuam como moléculas de sinalização ativando

receptores da proteína G, além de serem capazes de conduzir a expansão de células Treg produtoras de IL-10 (Pizollante, 2021).

Neste presente estudo a família *Muribaculaceae* apresentou maior abundância relativa para os animais que receberam o tratamento fitogênico (11,90%) quando comparado a bacitracina (4,66%) e ao controle (6,37%) enquanto a família *Clostridiaceae* apresentou menor abundância relativa para os animais que receberam o tratamento fitogênico (1,94%) quando comparado a bacitracina (3,01%) e ao controle (3,04%). A família *Muribaculaceae* além de participar da degradação de carboidratos (Lagkouvardos et al, 2019; Pereira et al, 2020) e possivelmente estar relacionada com maiores concentrações de ácidos graxos de cadeia curta na microbiota intestinal saudável desses animais (Smith et al. 2018). Também pode estar correlacionada com a redução do *Clostridiodes difficile*, uma espécie da família *Clostridiaceae* com potencial patogênico (Zhang et al. 2022). Dentro da família *Clostridiaceae*, há cerca de 35 espécies do gênero *Clostridium* produtoras de toxinas prejudiciais à saúde animal dentre eles o *C. difficile* e o *C. perfringens* são considerados os patógenos entéricos mais relevantes para os leitões (Uzal et al. 2023).

CONCLUSÃO

Os tratamentos não influenciaram no desempenho ou digestibilidade. O blend de fitogênicos demonstrou importante papel no sistema antioxidante e na microbiota intestinal de leitões.

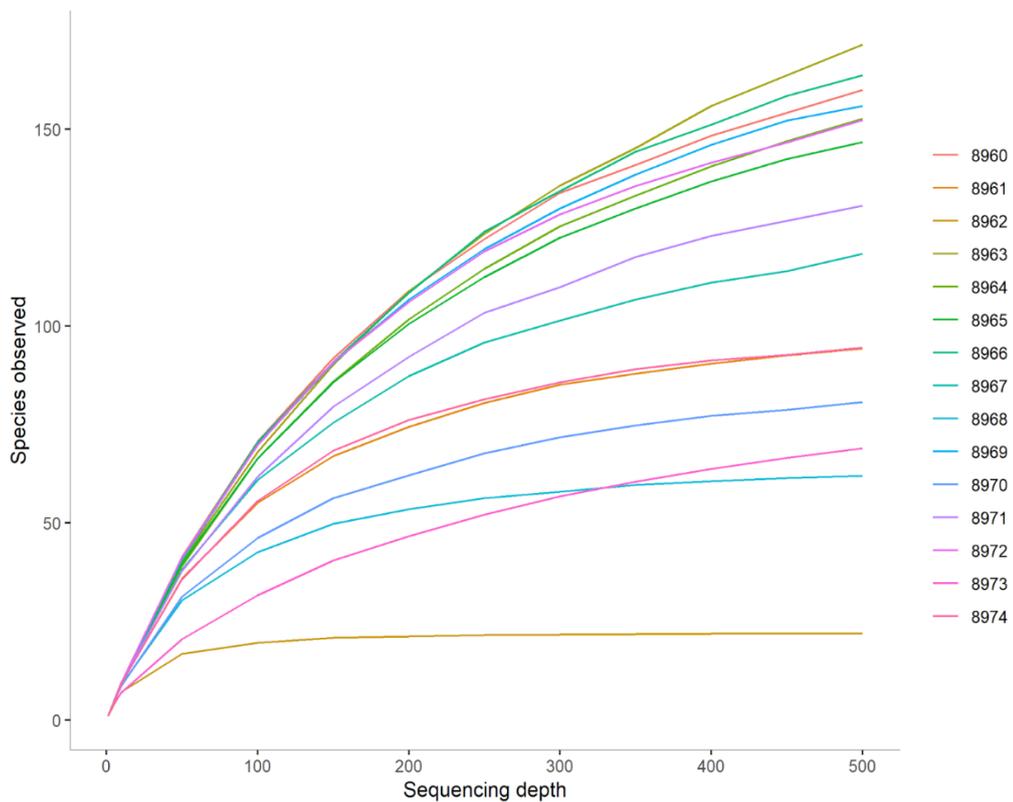
Group	sample-id	paired input	filtered	percentage of input passed filter	denoised	non-chimeric	percentage of input non-chimeric
Control	8961	33944	27438	80,83	26818	20621	60,75
Control	8964	143661	117909	82,07	116142	57998	40,37
Control	8967	57979	44957	77,54	44178	25803	44,5
Control	8969	114356	89491	78,26	88287	48734	42,62
Control	8971	91659	74243	81	73381	38511	42,02
Phytogenic	8960	117008	94871	81,08	93111	51531	44,04
Phytogenic	8963	185660	146628	78,98	144488	81385	43,84
Phytogenic	8966	128454	104600	81,43	103113	54682	42,57
Phytogenic	8972	102464	84382	82,35	82937	45183	44,1
Phytogenic	8973	161167	125386	77,8	124524	53347	33,1

ANEXOS

Bacitracin	8965	144334	116012	80,38	114771	56251	38,97
Bacitracin	8962*	4252	3153	74,15	2822	2093	49,22
Bacitracin	8968*	12467	9808	78,67	9313	7982	64,03
Bacitracin	8970	57835	46785	80,89	46125	24356	42,11
Bacitracin	8974	28937	23738	82,03	23152	18538	64,06

A
 nex
 o l:
 Dad
 os

de qualidade das amostras da microbiota intestinal



ANEXOS

Anexo II: Dados de desempenho individual dos leitões

Tratamento	ID	Gaio la	BW_E ntrada	BW_6D	Ração _forn	Sobra_r ação	GPD_ 6D	GPD_Ba ia_6D	CR_6 D
Controle	212	10	8,95	11,75	10	0,58	0,467	0,334	0,377
Controle	217	2	9,15	10,4	10	0,58	0,208	0,334	0,377
Controle	157	5	9,5	11,4	10	0,58	0,317	0,334	0,377
Controle	140	8	9,65	11,45	10	0,58	0,3	0,334	0,377
Controle	143	12	9,9	10,5	10	0,58	0,1	0,334	0,377
Bacitracina	141	9	8,65	10,3	10	1,035	0,275	0,3	0,359
Bacitracina	136	3	9,4	10,1	10	1,035	0,117	0,3	0,359
Bacitracina	230	6	9,5	10,8	10	1,035	0,217	0,3	0,359
Bacitracina	130	11	9,75	13,15	10	1,035	0,567	0,3	0,359
Bacitracina	134	15	9,8	10,25	10	1,035	0,075	0,3	0,359
PhytoMizer	145	1	8,6	10,2	10	2,44	0,267	0,302	0,302
PhytoMizer	207	4	9,4	10,3	10	2,44	0,15	0,302	0,302
PhytoMizer	221	7	9,45	11,4	10	2,44	0,325	0,302	0,302
PhytoMizer	209	13	9,65	11,05	10	2,44	0,233	0,302	0,302
PhytoMizer	187	14	10	11,7	10	2,44	0,283	0,302	0,302
Tratamento	ID	Gaio la	BW_1 1D	Ração_ forn_1	Sobra_ ração_ _1	GPD_ _11 D	CR_1 1D	CA_11D	BW_ _17D
Controle	212	10	13,35	2,412	0,869	0,32	0,309	0,964	17,05
Controle	217	2	11,5	2,35	0,511	0,22	0,368	1,672	14,9
Controle	157	5	12,1	2,3	0,705	0,14	0,319	2,279	16,15
Controle	140	8	12,15	2,434	0,575	0,14	0,372	2,656	15,8
Controle	143	12	11,65	2,4	0,829	0,23	0,314	1,366	13,75
Bacitracina	141	9	11,05	2,454	0,736	0,15	0,344	2,291	14,75
Bacitracina	136	3	11,75	2,367	0,599	0,33	0,354	1,072	15,15
Bacitracina	230	6	11,65	2,4	0,557	0,17	0,369	2,168	15
Bacitracina	130	11	13,65	2,25	0,729	0,1	0,304	3,042	16,75

a									
Bacitracina	134	15	11,6	2,3	0,68	0,27	0,324	1,2	13,95
PhytoMizer	145	1	11,65	2,5	0,715	0,29	0,357	1,231	14,8
PhytoMizer	207	4	11,1	2,55	0,805	0,16	0,349	2,181	14,15
PhytoMizer	221	7	11,9	2,438	0,681	0,1	0,351	3,514	15,6
PhytoMizer	209	13	12,65	2,388	0,905	0,32	0,297	0,927	15,5
PhytoMizer	187	14	12,65	2,25	0,692	0,19	0,312	1,64	15,9
Tratamento	ID	Gaio la	GPD_ 17D	CR_17 D	CA_17 D	BW_24 D	GPD_ 24D	CR_24D	CA_2 4D
Controle	212	10	0,74	0,475	0,642	20	0,421	0,6	1,424
Controle	217	2	0,68	0,425	0,625	18,75	0,55	0,542	0,986
Controle	157	5	0,81	0,441	0,544	18,65	0,357	0,518	1,45
Controle	140	8	0,73	0,437	0,599	19,2	0,486	0,566	1,165
Controle	143	12	0,42	0,409	0,975	17,1	0,479	0,408	0,853
Bacitracina	141	9	0,74	0,412	0,557	18,75	0,571	0,538	0,942
Bacitracina	136	3	0,68	0,423	0,622	18,85	0,529	0,55	1,041
Bacitracina	230	6	0,67	0,406	0,605	19,55	0,65	0,544	0,837
Bacitracina	130	11	0,62	0,479	0,772	20,25	0,5	0,533	1,066
Bacitracina	134	15	0,47	0,402	0,856	16,4	0,35	0,516	1,474
PhytoMizer	145	1	0,63	0,428	0,679	19,3	0,643	0,54	0,84
PhytoMizer	207	4	0,61	0,407	0,667	17,65	0,5	0,522	1,044
PhytoMizer	221	7	0,74	0,426	0,575	19,8	0,6	0,562	0,937
PhytoMizer	209	13	0,57	0,452	0,793	18,6	0,443	0,502	1,134
PhytoMizer	187	14	0,65	0,456	0,702	20,5	0,657	0,57	0,867

CAPITULO III

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa demonstrou resultado bastante interessante, considerando que a problemática da utilização de antibiótico como promotores de crescimento é um assunto mundialmente discutido. O aditivo comercial Phyto Mizer Lac apresentou um resultado importante, principalmente no sistema antioxidante de leitões recém desmamados, quando comparado com o antibiótico bacitracina. Acredita-se ainda, que o fitogênico estudado pode apresentar resultado ainda mais promissores quando os animais estiverem submetidos a maiores desafios, como uma dieta menos digestível, e assim possibilitando a detecção de diferenças estatísticas no desempenho zootécnicos dos leitões.

4. REFERENCIAS

- AHMED, S.T.; HOSSAIN, M. E.; KIM, M. G.; HWANG, J. A.; JI, H.; YANG, C. J. Effects of Resveratrol and Essential Oils on Growth Performance, Immunity, Digestibility and Fecal Microbial Shedding in Challenged Piglets. **Asian Australas. J. Anim. Sci.** Vol. 26, p. 683-690. 2013.
- AMAT, S.; LANTZ, H.; MUNYAKA, P. M.; WILLING, B. P. Prevalence in Pigs: The Positive and Negative Associations with Production and Health. **Microorganisms**. V.8, 2020.
- ARTEEL, G. E.; SIES, H. The biochemistry of selenium and the glutathione system. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v.10, p. 153–158, 2001.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). Relatório anual de produção. 2023. Disponível em:
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M.B.; ALFENAS, R.C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J.; Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.** V. 23, p. 629 - 643, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**. V. 29, p. 113-123, 2006.
- BEAUMONT, M.; CAUQUIL, L.; BERTIDE, A.; AHN, I.; BARILLY, C.; GIL, L.; CANLET, C.; ZEMB, O.; PASCAL, G.; SAMSON, A.; COMBES, S. Gut Microbiota-Derived Metabolite Signature in Suckling and Weaned Piglets. **Journal Proteome Research**. V. 20, p. 982–994, 2021.
- BETANCOURT, L.; HUME, M.; O RODRIGUEZ, F.; NISBET, D.; SOHAIL, M. U.; AFANADOR-TELLEZ, G. Effects of Colombian oregano essential oil (*Lippia origanoides* Kunth) and *Eimeria* species on broiler production and cecal microbiota. **Poultry Science**, 2019.
- BRANCO, P.A.C.; SOARES, R.; VIEITES, F.; CABRAL, N.; TAVARES, E. Effects of essential oils as growth promoters on performance of weaned pigs. **Arch. Zootec.** 60 (231): 699-706. 2011.
- BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Suinocultura: uma saúde e um bem-estar / Secretaria de Inovação, Desenvolvimento Rural e Irrigação**. Brasília, DF: AECs, 2020.
- CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of animal science and biotechnology**, 4, n. 1, p. 1-4, 2013
- CASTANON, J. I. R. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. **Poultry Science**, 2007.
- CARON, L. F. e BEIRÃO, B. C.. Diarreia pós-desmame e a relação com a saúde intestinal do leitão. Sanidade e produção suína : atualização, inovação e tecnologia. Jaboticabal : Funep, 2020. xii, 81-90 p. :
- COSTA, L.B.; BERENCHTEIN, B.; ALMEIDA, V.V.; TSE, M.L.P.; BRAZ, D.B.; ANDRADE, C.; MOURÃO, G.B.; MIYADA, V. S. Phytobiotic additives and sodium butyrate as growth promoters of weanling pigs. **Archivos de zootecnia**. v. 60, 2011.
- CHEN, L.; XU, Y.; CHEN, X.; FANG, C.; ZHAO, L.; CHEN, F. The Maturing Development of Gut Microbiota in Commercial Piglets during the Weaning Transition. **Frontiers Microbiology**. v.8, 2017.
- CHENG, C.; XIA, M.; ZHANG, X.; WANG, C.; JIANG, S.; PENG, J. Supplementing Oregano Essential Oil in a Reduced-Protein Diet Improves Growth Performance and Nutrient Digestibility by Modulating Intestinal Bacteria, Intestinal Morphology, and Antioxidative Capacity of Growing-Finishing Pigs. **Animals**. V. 8, p. 159. 2018.
- CHAMONE, J. M. A.; MELO, M. T. P.; AROUCA, C. L. C.; BARBOSA, M. M. B.; SOUZA, F. A.; SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. **Revista Eletrônica Nutri time**, artigo 123. v7, n5, p 1353-1363, 2010.
- CHAPPLE, I.L.; MATTHEWS, J. B. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. **Periodontology 2000**, Vol. 43, p. 160–232, 2007.
- CHILDS, C. E.; CALDER, P. C.; MILES, E. A. Diet and immune function. **Nutrientes**, v.11 | Art 1933. 2019.
- CUI, K.; WANG, Q.; WANG, S.; DIAO, Q.; ZHANG, N. The Facilitating Effect of Tartary Buckwheat Flavonoids and *Lactobacillus plantarum* on the Growth Performance, Nutrient Digestibility, Antioxidant Capacity, and Fecal Microbiota of Weaned Piglets. **Journals Animals**. V.9 | Edição 11, 2019.

Dai, L.Z. L.; Li, X. L.; Xi, P. B.; Zhang, J.; Wu, G.; Zhu, W. Y. Metabolism of select amino acids in bacteria from the pig small intestine. **Amino Acids**. V.42, p.1597–1608, 2012.

DAI, Z. L.; ZHANG, J.; WU, G.; ZHU, W.Y. Utilization of amino acids by bacteria from the pig small intestine. **Amino Acids**. V.39, p.1201–1215, 2010.

DIANGELO, J. R.; BLAND, M. L.; BAMBINA, S.; CHERRY, S. et al. The immune response attenuates growth and nutrient storage in *Drosophila* by reducing insulin signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. V.106, p.20853-20858, 2009.

DZIEZAK, J. D. Antioxidants - the ultimate answer to oxidation. **Food Technology**. v. 40, n. 9, p. 94, 1986.

DONG, GZ; PLUSKE, JR. The low feed intake in newly-weaned pigs: problems and possible solutions. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**. v. 20, p. 440- 452, 2007.

ECONOMOU, N. J.; COCKLIN, S.; LOLL, P. H. High-resolution crystal structure reveals molecular details of target recognition by bacitracin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. V.110, p. 14207–14212, 2013.

FANG, L.; LI, M.; ZHAO, L.; HAN, S.; LI, Y.; XIONG, B. LINSHU JIANG¹Dietary grape seed procyanidins suppressed weaning stress by improving antioxidant enzyme activity and mRNA expression in weanling piglets. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**. V.104, p. 1178 – 1185, 2020.

FLAMBÓ, Diana Filipa Afonso Lopes Peres. Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana. 2013. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2013.

GASKINS, H.R.; COLLIER, C. T.; ANDERSON, D. B. Antibiotics as growth promotants: mode of action. **Animal Biotechnology**. Vol. 13, No. 1, p. 29–42, 2002.

GEUKING, M. B.; KÖLLER, T.; RUPP, S.; MCCOY, K.D. The interplay between the gut microbiota and the immune system. **Gut Microbes**. V.5, p.411–418, 2014.

GONÇALVES, J. L.; YAOCHITE, J. N. U.; QUEIROZ, C. A. A.; CÂMARA, C. C.; ORIÁ, R. B. Bases do sistema imunológico associado a mucosa intestinal. São Paulo: Blucher. Capítulo 18 – 2015.

GRESSE, R.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; FLEURY, M. A.; VAN DE WIELE, T.; FORANO, E.; BLANQUET-DIOT, S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. **Trends in microbiology**. v.25, p. 851-873, 2017.

GUO, F. C.; KWAKKEL, R. P.; WILLIAMS, B. A.; PARMENTIER, H. K.; LIS, W. K.; YANG, Z. K.; VERSTEGEN, M. W. A. Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral responses of *Eimeria tenella*-infected chickens. **Poultry Science**. V. 83, p. 1124-1132, 2004.

GRESSE, R.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; FLEURY, M. A.; VAN DE WIELE, T.; FORANO, E.; BLANQUET-DIOT, S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. **Trends in microbiology**. v.25, p. 851-873, 2017.

HASHEMI, S.R. AND DAVOODI, H. (2011) Herbal Plants and Their Derivatives as Growth and Health Promoters in Animal Nutrition. **Veterinary Research Communications**. v.35, p.169-180, 2011.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**. V. 31, p. 1170-1179, 2008.

JOHNSON, KATERINA V-A., AND PHILIP WJ BURNET. Microbiome: should we diversify from diversity?. **Gut microbes**. V.7, p. 455-458, 2016.

JÚNIOR, L.R.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quim. Nova**. V. 24, p. 112-119, 2001.

KIM, C.H. Immune regulation by microbiome metabolites. **Immunology**. V.154, p. 220-229, 2018.

KOGUT, M. H. The gut microbiota and host innate immunity: regulators of host metabolism and metabolic diseases in poultry. **Journal of Applied Poultry Research**. V. 22, p. 637-646, 2013.

KONSTANTINOV, S. R.; AWATI, A. A.; WILLIAMS, B. A.; MILLER, B. G.; JONES, P.; STOKES, C. R.; AKKERMANS, A. D.L.; SMIDT, H.; VOS, W. M. Post-natal development of the porcine microbiota composition and activities. **Environmental microbiology**. V.8, p. 1191-1199, 2006.

KLASING, K.C. Nutrition and the immune system. **British Poultry Science**. V. 48, p. 525 – 537, 2007.

LABUZA, T. P.; HEIDELBA, N. D.; SILVER, M.; KAREL, M. Oxidation at intermediate moisture contents. **Journal of the American Oil Chemists Society**. v. 48, p. 86-89, 1971.

LAGKOUVARDOS, I.; LESKER, T. R.; HITCH, T. C. A.; GÁLVEZ, E. J. C.; SMIT, N.; NEUHAUS, K.; WANG, J., BAINES, J. F.; ABT, B.; STECHER, B.; OVERMANN, J.; STROWIG, T.; CLAVEL, T.. Sequence and cultivation study of Muribaculaceae reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed Family. **Microbiome**. V. 7, 2019.

LEE, K.W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H.J. et al. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**. v.44, p.450-457, 2003.

LI, S.Y.; RU, Y.J.; LIU, M.; XU, B.; PÉRON, A.; X.G. SHI. The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. **Livestock Science**. V. 145, p. 119–123, 2012..

LIU, Y. Fatty acids, inflammation and intestinal health in pigs. **Journal of animal science and biotechnology**. v.6, 2015.

LOOFT, T.; JOHNSON, T. A.; ALLENA, H. K.; BAYLESA, D.O.; ALTA, D. P.; STEDTFELDB, R. D.; SULB, W. J.; STEDTFELDB, T. M.; CHAIB, B.; COLEB, J.R.; HASHSHAM, S. A.; TIEDJE, J. M.; STANTONA, T. B. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 109, p. 1691–1696, 2012.

LI, L.; GUO, Y.; WEN, Z.; JIANG, X.; MA, X.; HAN, X. Weaning Stress Perturbs Gut Microbiome and Its Metabolic Profile in Piglets. **SCIENTIFIC Reports**. V.8, 2018.

MARTEMUCCI, G.; COSTAGLIOLA, C; MARIANA, M.; D'ANDRE, L.; NAPOLITANO, P.; D'ALESSANDRO, A. G. Free radical properties, source and targets, antioxidants consumption and health. **Oxygen**. V. 2, p.48–78, 2022.

MCLAMB, B. L.; GIBSON, A. J.; OVERMAN, E. L.; STAHL, C. et al. Early weaning stress in pigs impairs innate mucosal immune responses to enterotoxigenic E. coli challenge and exacerbates intestinal injury and clinical disease. **Plos one**. V.8, 2013.

Mu, C.; Zhang, L.; He, X.; Smidt, H.; Zhu, W. Dietary fibres modulate the composition and activity of butyrate-producing bacteria in the large intestine of suckling piglets. **Springer International Publishing Switzerland**, 2017.

MÜLLER, J. B.. Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da *Luehea divaricata* Martius - Dissertação de mestrado. Santa Maria - RS, 2006.

NIU, Q.; LI, Q.; HAO, S.; ZHANG, Y.; KIM, S.W.; LI, H.; MA, X.; GAO, S.; HE, L.; WU, J.W.; HUANG, X.; HUA, J.; ZHOU, B.; HUANG, R. Dynamic Distribution of the Gut Microbiota and the Relationship with Apparent Crude Fiber Digestibility and Growth Stages in Pigs. **Scientific Reports**. V.5, 2015.

ORIÁ, R. B.; BRITO, G. d. C. Sistema digestório: integração básico-clínica. São Paulo: Blucher, Capítulo 18. 2015

OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Effects of herbal extracts and antimicrobials on apparent digestibility, performance, organs morphometry and intestinal histology of weanling pigs. **R. Bras. Zootec.**, v.35, p.1389-1397, 2006.

PASTORE, A.; FEDERICI, G.; BERTINIB, E.; PIEMONTEB, F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. **Clinica Chimica Acta**. V. 333, p. 19 – 39, 2003.

PEREIRA, F. C.; WASMUND, K.; COBANKOVIC, I.; JEHLICH, N.; HERBOLD, C. W.; LEE, K. S.; SZIRANYI, B.; VESELY, C.; DECKER, T.; STOCKER, R.; WARTH, B.; BERGEN, M. V.; WAGNER, M.; BERRY, D. Rational design of a microbial consortium of mucosal sugar utilizers reduces *Clostridiodes difficile* colonization. **Nature communications**. V. 11, 2020.

PIZZOLANTE, Bárbara Cristina. Mecanismos envolvidos na inflamação crônica do tecido adiposo pós-infecção intestinal aguda : contribuição da resposta TH2 e de ácidos graxos de cadeia curta [doi:10.11606/D.42.2021.tde-

28042022-105614]. São Paulo : Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2021. Dissertação de Mestrado em Imunologia.

PAN, L.; ZHAO, P.; MA, X.; SHANG, Q. et al. Probiotic supplementation protects weaned pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 challenge and improves performance similar to antibiotics. **Journal of animal science**. v.95, p. 2627-2639, 2017.

PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut microbes**. V.5, p. 108-119, 2014.

PETRUJKIE, B. T.; BEIER, R.C.; HE, H.; GENOVESE, K. J.; SWGGERTY, C. L.; HUME, M. E.; CRIPPEN, T. L.; HERVEY, R. B.; ANDERSON, R. C.; NISBET, D. J. Nigella sativa l. as na alternativer antibiotic feed suplemente and effet on growth performace in weanling pigs. **Journal of the science of food and agriculture**, 2019.

PLUSKE, J. R; KIM, J. C; BLACK, J.L. Manipulating the immune system for pigs to optimise performance. **Animal Production Science**. v.58, p.666–680, 2018

POTT, J.; HORNEF, M. Innate immune signalling at the intestinal epithelium in homeostasis and disease. **EMBO reports**. v.13, p. 684-698, 2012.

RIBAS, J. C. R. Multiprobiótico, probiótico, e antibiótico na alimentação de leitões desmamados. Dissertação (Mestrado) - UFMT. programa de Pós-graduação - Área de concentração: Nutrição e Produção de Ruminantes - Mestrado em Ciência Animal. Cuiabá, 2014.

SALAMANO, G.; MELLIA, E.; CANDIANI, D.; INGRAVALLE, F.; BRUNO, R.; RU, G.; DOGLIONE, L. Changes in haptoglobin, C-reactive protein and pig-MAP during a housing period following long distance transport in swine. **The Veterinary Journal**. V. 177, p. 110–115, 2008.

SANTOS, J. A.; GARCÍA-LÓPEZ, M. L.; OTERO, A. Moxarella. Copyright (1999)

SANTURIO, D. F. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos sobre *Escherichia coli* isoladas de suínos, aves e bovinos. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2011.

SAMUELSON, D. R.; WELSH, D. A.; SHELLITO, J.E. (2015) Regulation of lung immunity and host defense by the intestinal microbiota. **Frontiers. Microbiology**. v.6 | Art. 1085, 2015.

SHI, L; XUN, W; PENG, W; HU, H; CAO, T; HOU, G . Effect of the Single and Combined Use of Curcumin and Piperine on Growth Performance, Intestinal Barrier Function, and Antioxidant Capacity of Weaned Wuzhishan Piglets. **Front. Vet. Sci**. v. 7, 2020.

SHI-BIN, Y.;DAI-WEN, C.; KE-YING Z.; BING, Y. Effects of Oxidative Stress Growth Performance, Nutrient Digestibilities and Activities of Antioxidative Enzymes of Weanling Pigs*. **Asian-Aust. J. Anim. Sci**. V. 20, p. 1600 – 1605. 2007.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**. V.82, 1997.

SMITH, B. J.; MILLER, R. A.; ERICSSON, A. C.; HARRISON, D. C.; STRONG, R. Changes in the gut microbiome and fermentation products concurrent with enhanced longevity in acarbose-treated mice. **BMC Microbiology**. v.19, 2018.

SPREEUWENBERG, M.A.M. ; VERDONK, J.M.A.J.; GASKINS, H. R; VERSTEGEN, M.W.A. Small Intestine Epithelial Barrier Function Is Compromised in Pigs with Low Feed Intake at Weaning. **The Journal of Nutrition**. V.131, 2001.

STEINER, T., & SYED, B. Phytogetic Feed Additives in Animal Nutrition. **Springer Science**. 2015
STELLA AE, OLIVEIRA AF, MOREIRA CN, VIALI KG. Uso de antimicrobianos na suinocultura: Indicações e Restrições. **Vet. e Zootec**. V. 27, p. 001-014, 2020.

STORMS, D. R.; STROMINGER, J. L. Complex Formation between Bacitracin Peptides and Isoprenyl Pyrophosphates. **The Journal of Biological Chemistry**. V. 248, p. 3940-3945, 1972.

SPREEUWENBERG, M.A.M. ; VERDONK, J.M.A.J.; GASKINS, H. R; VERSTEGEN, M.W.A. Small Intestine Epithelial Barrier Function Is Compromised in Pigs with Low Feed Intake at Weaning. **The Journal of Nutrition**. V. 131, p. 1520 – 1527, 2001.

SUN, J.; DU, L.; LI, X.; ZHONG, H.; DING, Y.; LIU, Z.; GE, L. Identification of the core bactéria in rectums f diarrheic and non-diarrheic piglets. **Scientific Reports**. V.9, 2019.

TOSCANO Jr, W. A.; STORM, D. R.. Bacitracin. **Pharmacology and Therapeutics**. Vol. 16, p. 199 - 210, 1982.

TIAN, Q.; PIAO, X. Essential Oil Blend Could Decrease Diarrhea Prevalence by Improving Antioxidative Capability for Weaned Pigs. **Animals**. V.9, 2019.

UZAL, F. A.; NAVARRO, M. A.; ASIN, J.; BOIX, O.; BALLARA-RODRIGUEZ, I.; GIBERT, X. Clostridial diarrheas in piglets: A review. **Veterinary Microbiology**. v.280, 2023.

VACCA, M.; CELANO, G.; CALABRESE, F. M.; PORTINCASA, P.; GOBBETTI, M.; ANGELIS, M. 1The Controversial Role of Human Gut Lachnospiraceae. **Microorganisms**. v.8, 2020.

VIEIRA, A. M.; SESSIN, A. P.; SORATTO, T. A. T.; PIRES, P. G. S.; CARDINAL, K. M.; WAGNER, G.; HAUPTLI, L.; LIMA, A. L. F.; DAHLKE, F.; NETTO, D. P.; MORAES, P. O. Effect of functional oils or probiotics on performance and microbiota profile of newly weaned piglets. **Scientific Reports**. V.11, 2021.

WANG, T.; ANDRUKHOV, O.; RAUSCH-FAN, X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. **Front. Physiol**. V.8, 2017.

WANG, H.; XU, R.; ZHANG, H.; SU, Y.; ZHU, W. Swine gut microbiota and its interaction with host nutrient metabolism. **Animal Nutrition**. V.6, p. 410 – 420, 2020.

WINDISCH, E.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, KROISMAYR. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Anim. Science**. V.86, p. 140-148, 2008.

WISEMAN, S. A.; BALENTTINE, D. A.; FREI, B. Antioxidants in tea. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 37, p. 705-718, 1997.

XING, Y.; WU, Y.; MAO, C.; SUN, D.; GUO, S.; XU, Y.; JIN X.; YAN, S.; SHI, B. Water extract of *Artemisia ordosica* enhances antioxidante capability and immune response without affecting growth performance in weanling piglets. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**. 2019.

YANG, X.; Moraxellaceae. 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved. **Encyclopedia of Food Microbiology**. V.2, 2014.

YAN, L.; KIM, I. H. Effect of Eugenol and Cinnamaldehyde on the Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Characteristics, Fecal Microbial Shedding and Fecal Noxious Gas Content in Growing Pigs. **Journal Animal Science**. V. 25, p. 1178 – 1183, 2012.

ZEINELDIN, M.; ALDRIDGE, B.;LOWE, J. Antimicrobial Effects on Swine Gastrointestinal Microbiota and Their Accompanying Antibiotic Resistome. **Frontiers Microbiology**. v.10, 2019.

ZENG, Z.; XU, X.; ZHANG, Q.; LI, P.; ZHAO, P.; LI, Q.; LIU, J.; PIAO, X.. Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidante activities in weaned pigs. **Animal Science Journal**. V.86, 2015.

ZHANG, Y.; SUN, L.; ZHU, R.; ZHANG, S.; LIU, S.; WANG, Y.; WU, Y.; XING, S.; LIAO, X.; MI, J. Porcine gut microbiota in mediating host metabolic adaptation to cold stress. **Biofilms and Microbiomes**. V.8, 2022

ZHONG X, ZHANG Z, WANG S, CAO L, ZHOU L, SUN A, ZHONG Z AND NABBEN M (2019) Microbial-Driven Butyrate Regulates Jejunal Homeostasis in Piglets During the Weaning Stage. **Frontiers in Microbiology**. V.9, 2018.