UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

USO DE FITOGÊNICOS E ß-GLUCANO NA DIETA DE LEITÕES RECÉM DESMAMADOS

EDUARDO RODRIGUES DA SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Agosto de 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

USO DE FITOGÊNICOS E ß-GLUCANO NA DIETA DE LEITÕES RECÉM DESMAMADOS

EDUARDO RODRIGUES DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Marcos Lívio Panhoza Tse

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Agosto de 2023

S586u

Silva, Eduardo Rodrigues da
Uso de fitogênicos e ß-glucano na dieta de leitões recém desmamados / Eduardo Rodrigues da Silva. -- Botucatu, 2023
72 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Marcos Lívio Panhoza Tse

1. Aditivos. 2. Desmame. 3. Suínos. 4. Saúde. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

BIOGRAFIA DO AUTOR

Eduardo Rodrigues da Silva – nascido em 27 de outubro de 1995, natural de Rolim de Moura – Rondônia, filho de Dirceu Rodrigues da Silva e Marinez Santos Silva, ingressou no curso de medicina veterinária da Fundação Universidade Federal de Rondônia, Campus de Rolim de Moura em setembro de 2013 e graduou-se em setembro de 2018, na graduação foi monitor dos laboratórios de Histologia Veterinária (como voluntário) e de Anatomia Animal (bolsista), trabalhou com produção, avaliação microbiológica e bromatológica de silagem ácida de vísceras de suíno no trabalho de conclusão de curso, tem experiência em Produção de Suínos, adquirida por meio do estágio curricular obrigatório realizado na FMVZ - UNESP, Campus de Botucatu no ano de 2018, em março de 2021 iniciou o curso de mestrado em Zootecnia da Unesp - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu, onde foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Durante a pós-graduação, atuou na área de nutrição e produção de suínos.

Dedicatória

Dedico à minha mãe Marinez Santos e ao meu pai Dirceu Rodrigues, por todo apoio, amor e carinho nessa jornada.

Agradecimentos

Aos meus pais e família, por toda a força, ajuda e carinho durante todo este processo.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/FMVZ da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade de realização do meu mestrado.

Ao Professor Doutor Marcos Lívio Panhoza Tse, pela oportunidade de orientação, por todo auxílio, amizade, ensinamentos, paciência, competência e profissionalismo durante todo o processo da realização deste trabalho, meus mais sinceros agradecimentos.

Aos funcionários e amigos do setor de suinocultura, pelo auxílio prestado e todos os ensinamentos durante o experimento.

Aos amigos e colegas do grupo de pesquisa, Geyssane Farias, Leticia Garbin, Bernadette Rossiti, Mariane Evangelista, Thallysoon Taumaturgo e Alan Alves, por todo o auxílio e apoio prestados durante o experimento.

Aos colegas, amigos e professores que deram apoio, auxílio e ensinamentos durante essa jornada.

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

E de modo geral, a todas as pessoas que auxiliaram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

A todos os meus sinceros agradecimentos!

Uso de fitogênicos e ß-glucano na dieta de leitões recém desmamados

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de β-glucano e a mistura de fitogênicos de extrato de semente de uva e de extrato de Yucca, em dietas de leitões recém-desmamados no período de creche, sobre o desempenho, incidência de diarreia, saúde intestinal e sobre os parâmetros hematológicos e imunológicos quando desafiados com Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS).Foram utilizados 120 leitões recém-desmamados com idade média de 21 dias (6,20±0,746 kg), num período experimental de 41 dias, distribuídos em delineamento de blocos casualizados, com cinco tratamentos, oito repetições. Os tratamentos foram: C = Dieta basal sem a inclusão de aditivos; 300β = C com 300g/ton de β-glucano; 450β/300F = C com 450g/ton de β-glucano e 300g/ton de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca); 300β/200F = C com 300g/ton de β-glucano e 200g/ton de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca); 150β/100F = C com 150g/ton de β-glucano e 100g/ton de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca). Não houve diferença entre os tratamentos para o desempenho e incidência de diarreia (P>0,05). Entretanto, ao 41º dia de experimento, houve maior (P<0,05) altura de vilos no jejuno dos animais do grupo 300β/200F em relação ao grupo 300β e também houve maior (P<0,05) altura de vilos no íleo dos animais do grupo 150β/100F em relação àqueles alimentados com C, 300β e 300β/200F. Os animais do grupo 300β/200F apresentaram maior (P<0,05) área de placas de Peyer em relação aos animais alimentados com 450β/300F. Os animais alimentados com 150β/100F apresentaram maior (P<0,05) concentração de ácido butírico em relação aos leitões que receberam a dieta com 300β e 300β/200F. Ao final do experimento (41º dia), 40 animais foram desafiados com injeção intramuscular de 30µg/kg de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* (O55:B5) para avaliação dos parâmetros sanguíneos antes e após a aplicação do LPS. No hemograma, não houve interação (P>0,05) entre os tratamentos e os momentos avaliados do desafio (antes e depois) para nenhuma das variáveis analisadas. No entanto, após o desafio, houve aumento (P<0,05) dos valores séricos de hematócrito, hemoglobina e hemácias e redução (P<0,05) dos valores séricos de plaquetas, leucócitos e proteína total. Em relação as citocinas, houve interação entre os momentos avaliados e os tratamentos para fator de necrose tumoral-α (TNF-α) (P=0,0194). Após a aplicação de LPS, os animais do grupo

150β/100F tiveram maior liberação de TNF-α em relação aos animais alimentados com 300β e 300β/200F, mostrando que 300g/ton de β-glucano ou sua combinação com os fitogênicos foi eficiente em minimizar a liberação dessa citocina. Para temperatura retal, não houve interação (P>0,05) entre os tratamentos e os momentos avaliados, porém três horas após a aplicação com LPS, os animais apresentaram a maior temperatura retal em relação ao momento antes do desafio. Conclui-se que leitões alimentados com a combinação de prebiótico e fitogênicos da dosagem de 300β/200F apresentaram-se mais eficientes em minimizar a resposta inflamatória do sistema imunológico causada pelo desafio com *E.coli* e a menor dosagem da combinação de β-glucano e fitogênico (150β/100F) conseguiu proporcionar melhora no ambiente intestinal, com o aumento da produção de ácido butírico.

Palavras-chave: aditivos, desmame, suínos, saúde

Use of phytogenics and ß-glucan in the diet of newly weaned piglets

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the use of β-glucan and the blend of phytogenic grape seed extract and Yucca extract in diets of weaned pigs on performance, diarrhea incidence, intestinal health and on hematological and immunological parameters when challenged with LPS of *E.coli.* One hundred and twelve weaned pigs with an average age of 21 days (6.20±0.746 kg) were housed in an experimental period of 41 days, distributed in a randomized block design, with five treatments, eight replications. The treatments were: C = basal diet without the inclusion of additives; 300β = C with 300g/ton of β-glucan; 450β/300F = C with 450g/ton of β-glucan and 300g/ton of phytogenics (150g of grape seed extract and 150g of Yucca extract); 300β/200F = C with 300g/ton of β-glucan and 200g/ton of phytogenics (100g of grape seed extract and 100g of Yucca extract); 150β/100F = C with 150g/ton of β-glucan and 100g/ton of phytogenics (50g of grape seed extract and 50g of Yucca extract). There was no difference between treatments for performance and incidence of diarrhea (P>0.05). However, on the 41st day of the experiment, there was higher (P<0.05) villus height in the jejunum of the animals fed 300β/200F diet compared to the 300β diet and there was also higher (P<0.05) villus height in the ileum of the animals fed 150β/100F diet compared to those fed C, 300β and 300β/200F groups. The animals in the 300β/200F group had a greater (P<0.05) Peyer's patch area than the animals fed 450β/300F. The animals fed 150β/100F had a higher (P<0.05) concentration of butyric acid than the piglets fed 300β and 300β/200F diets. At the end of the experiment (41st day), 40 animals were challenged with an intramuscular injection of 30µg/kg of *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS) (O55:B5) to evaluate blood parameters before and after LPS application. In the blood count, there was no interaction (P>0.05) between the treatments and the evaluated challenge moments (before and after) for any of the analyzed variables. However, after the challenge, there was an increase (P<0.05) in serum values of hematocrit, hemoglobin and red blood cells and a decrease (P<0.05) in serum values of platelets, leukocytes and total protein. With regard to cytokines, there was an interaction between the times evaluated and the treatments for tumor necrosis factor-α (TNF-α) (P=0.0194). After the application of LPS, the animals in the 150β/100F group had a greater release of TNF-α than the animals fed 300β and 300β/200F, showing that 300g/ton of β-glucan or its combination with phytogenics was

effective in minimizing the release of this cytokine. For rectal temperature, there was no interaction (P>0.05) between the treatments and the times evaluated, but three hours after the application of LPS, the animals had the highest rectal temperature compared to the time before the challenge. In conclusion, piglets fed the combination of prebiotics and phytogenics at a dosage of 300β/200F were more effective in minimizing the inflammatory response of the immune system caused by *E.coli* challenge and the lowest dose combination of β-glucan and phytogenics (150β/100F) was able to provide better intestinal environment, with an increase in butyric acid production.

Keywords: additives, weaning, swine, health

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais nas fases pré-inicial I, pré-inicial II e inicial.....50

Tabela 2. Valores nutricionais calculados para as fases pré-iniciais I, pré-iniciais II e iniciais[1] 51

Tabela 3. Peso final de cada fase, consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA) e incidência de diarreia (ID) dos leitões durante todo período experimental (41dias)[1].....55

Tabela 4. Altura média de vilos (AV), profundidade média de criptas (PC), relação AV:PC e área de Placas de Peyer (PP) dos leitões.....56

Tabela 5. Concentração (mmol/L) de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do ceco dos leitões ao 41º dia de experimento[1,2] 57

Tabela 6. Hemograma dos leitões antes e três horas após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli*[1,2].....57

Tabela 7. Leucograma dos leitões antes e três horas após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* [1,2].....58

Tabela 8. Valores séricos de proteína C-reativa, haptoglobina e proteína total dos leitões antes e três horas após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* [1,2].....58

Tabela 9. Valores séricos das citocinas dos leitões antes e 24h após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* [1,2].....59

Tabela 10. Médias de temperatura retal (ºC) dos leitões antes (hora 0), 3h e 24h após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* 60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGCC = Ácidos graxos de cadeia curta

AV = Altura de vilos

AV:PC = Relação altura de vilos:profundidade de criptas

CA = Conversão alimentar

CDR = Consumo diário de ração

CV = Coeficiente de variação

ELISA = Enzyme Liked Immunosorbent Assay

FMVZ = Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

FOS = Frutoligossacarídeos

GALT = Tecido linfoide associado à mucosa do trato gastrintestinal

GDP = Ganho diário de peso

ID = Incidência de diarreia

IFN = Intérferon

IL = Interleucina

IN = Instrução Normativa

LPS = Lipopolissacarídeo

MOS = Mananoligossacarídeo

NK = Células *Natural Killer*

ONDs = Oligossacarídeos não digestíveis

PC = Profundidade de criptas

PCR = Proteína C-reativa

PFA = Proteínas de fase aguda

PRR = Receptor de reconhecimento padrão

TGI = Trato gastrintestinal

TNF-α = Fator de necrose tumoral-α

UFC = Unidade Formadora de Colônia

Co = Cobalto

Cu = Cobre

Fe = Ferro

I = Iodo

Mn = Manganês

Se = Selênio

Zn = Zinco

°C = grau Celsius

mM = Milimolar

µL = Microlitro

mL = Mililitro

dL = Decilitro

mm = Milímetro

µm = Micrômetro

µg = Micrograma

mg = Miligrama

g = Grama

kg = Quilograma

ton = Tonelada

β = Beta

min = Minutos

h = Horas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Revisão de Literatura..... 16
Considerações iniciais..... 17
1. Revisão de literatura..... 18
1.1 Desafios do pós-desmame..... 18
1.2 Sistema imunológico 20
1.3 Morfologia intestinal 22
1.4 Microbiologia intestinal..... 23
1.5 Melhoradores de desempenho 25
1.5.1 Prebióticos..... 25
a) β-glucanos 26
1.5.2 Aditivos fitogênicos 28
Referências bibliográficas..... 33

CAPÍTULO 2. Fitogênicos e ß-glucano na dieta modulam o sistema imune e a produção ácidos graxos no intestino de leitões recém-desmamados..... 45
Resumo..... 46
1. Introdução..... 47
2. Material e métodos..... 48
2.1. Instalação experimental e animais..... 48
2.2. Delineamento e dietas experimentais..... 48
2.3. Variáveis avaliadas..... 51
Desempenho..... 51
Incidência de diarreia..... 51
Morfometria intestinal..... 51
Quantificação do perfil dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ceco..... 52
Desafio imunológico e coletas de sangue..... 53
Hemograma, leucograma e citocinas..... 53
Proteínas de fase aguda e proteína C-reativa..... 53
Temperatura retal..... 54
2.4. Análises estatísticas..... 54
3. Resultados..... 54

3.1. Desempenho e incidência de diarreia 54
3.2. Morfologia intestinal 55
3.3.Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ceco..... 56
3.4. Hemograma, leucograma, proteínas de fase aguda e haptoglobina..... 57
3.5. Citocinas..... 59
3.6. Temperatura retal..... 60
4. Discussão..... 60
Conclusão..... 64
Referências..... 64
Implicações..... 72

CAPÍTULO 1
Revisão de Literatura

Considerações Iniciais

O período pós-desmame gera vários desafios ao leitão, como o estresse da separação da mãe, troca da dieta líquida para a sólida, ocasionando menor consumo de alimento, perda de peso e diminuição da imunidade, ficando então, susceptível a doenças e levando-o até a morte (MALHEIROS, 2018). Logo após o desmame, aos 21 dias de idade, os leitões têm alta exigência nutricional, mas não tem capacidade de absorção de alguns nutrientes, por ainda não terem a capacidade plena de digestão (MENDES et al., 2010), e associado com à imaturidade fisiológica e imunológica deles, possibilita um ambiente gastrintestinal favorável ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos, podendo levar a quadros diarreicos e danos ao tecido do epitélio intestinal, com consequente queda da área de absorção e redução nos índices de desempenho dos animais (PLUSKE; LE DIVIDICH; VERSTEGEN, 2003).

Para reduzir essas perdas, alguns aditivos, como prebióticos, ácidos orgânicos, probióticos, fitogênicos entre outros, são adicionados na dieta para auxiliar na manutenção e fortalecimento da microbiota intestinal do animal, favorecendo a proliferação de microrganismos benéficos além de melhorar a imunidade (CARON et al., 2014) e desempenho (CAO, et al., 2016; PARK et al., 2018; WU et al., 2018; HU, et al., 2019; YANG, et al., 2019; ZHAI, et al., 2020; MONTOYA et al., 2021; CHANG et al., 2022).

Os prebióticos são definidos de amplas formas, como substâncias na complementação alimentar, que trazem benefícios a microbiota intestinal do animal. Em sua maioria, são carboidratos não digeríveis no trato gastrintestinal e que propiciam a proliferação da microbiota benéfica do animal, trazendo benefícios para o sistema imunológico e evitando infecções por patógenos (HUTKINS et al., 2016).

O β-glucano é um prebiótico formado por um polissacarídeo de monômeros de D-glicose ligados por ligações β-glicosídicas e está presente em microrganismos como fungos, bactérias e na celulose em plantas (PARK et al., 2018). Ele promove melhorias na imunidade e desempenho animal, estimulando a estabilidade e o crescimento dos grupos microbianos produtores de ácidos orgânicos, como o ácido lático, acético e butírico, sendo o último considerado fonte de energia para o epitélio intestinal (PIEPER et al., 2008).

Os benefícios gerados pela inclusão de β-glucano na dieta dos leitões podem estar relacionados com a estimulação do sistema imune, pois estimulam diretamente células

imunológicas específicas, podendo proporcionar ação antimicrobiana e citotóxica, pois aumenta a capacidade de induzir resposta imunológica de forma rápida e eficiente (STUYVEN et al., 2009). A utilização do β-glucano pode auxiliar os animais quando desafiados sanitariamente, em função de sua ação imunomoduladora na resposta imunológica (MENDES et al., 2010) e no crescimento do animal (VETVICKA; VANNUCCI; SIMA 2014).

Os aditivos fitogênicos são produtos de origem vegetal, que podem proporcionar melhores índices zootécnicos por meio de suas diversas características e efeitos na nutrição animal, como o efeito antioxidante, propriedade antimicrobiana e auxiliando nas funções intestinais, pois podem estimular a produção de secreções digestivas, como enzimas digestivas, bile e muco (JACELA et al., 2010), além de efeito aromático, flavorizante, podendo auxiliar no aumento da ingestão de ração (VALE et al., 2010). Com isso, esses aditivos podem ter efeitos benéficos na nutrição de suínos, principalmente em leitões recém-desmamados, devido ser uma fase crítica ao animal, podendo assim amenizar os problemas desse período (CASTRO, 2015).

De forma geral, há na literatura resultados benéficos com a utilização de β-glucano e aditivos fitogênicos na dieta de suínos, mas existem dúvidas quanto a diferentes dosagens nas dietas, às melhores combinações, proporções de utilização dos mesmos e seus reflexos no desempenho e saúde do animal.

Diante do exposto, o objetivo dessa pesquisa foi de avaliar o uso de β-glucano e a mistura de extrato de semente de uva e extrato de Yucca na dieta de leitões recém-desmamados no período de creche, sobre o desempenho, incidência de diarreia, saúde intestinal (morfometria do intestino delgado, concentração de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do cólon) e sobre os parâmetros sanguíneos e imunológicos, quando desafiados com Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS).

1 Revisão de Literatura

1.1 Desafios do pós-desmame

O desmame dos leitões na natureza ocorre gradualmente em um período de 10 a 12 semanas de vida do animal, quando ocorre a maturação quase que completa do sistema epitelial, imunológico e nervoso do trato gastrintestinal dos leitões (MOESER; POHL; RAJPUT, 2017). No período de amamentação, o leite é o principal alimento do leitão, tendo disposto um elevado teor de gordura, caseína, lactose, sendo de fácil digestão

(RIGUEIRA et al., 2013).

O colostro e o leite contêm grupos de componentes biologicamente ativos, como enzimas, hormônios, fatores de crescimento e agentes imunológicos, responsáveis pelo início do desenvolvimento do trato gastrointestinal do leitão (SBARDELLA, 2011). A presença da lactose do leite materno garante a proliferação de microrganismos fermentadores, como as bactérias do gênero *Lactobacillus* spp. (TANNOCK, 1992), as quais convertem a lactose em ácido láctico, assim diminuído naturalmente o pH intestinal (ROSTAGNO; PUPA, 2018).

Com o desmame, diminui a disponibilidade de substrato às bactérias láticas, assim a produção de ácido lático diminui, e o leitão recém-desmamado possui baixa capacidade de produção de ácido clorídrico (VIOLA; VIEIRA, 2003). Com isso há dificuldade em manter o controle adequado do pH estomacal, o qual é responsável pela ativação das pepsinas (PROHÁSZKA; BARON, 1980).

A pepsina é responsável por catalisar a digestão das proteínas, realizando hidrólise das ligações peptídicas, e liberando peptídeos menores, facilitando a digestão. Entretanto, quando não ocorre a digestão completa das proteínas, parte da fração proteica poderá estar disponível, no intestino grosso, como substrato para microrganismos patogênicos, como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., os quais esses secretam metabólitos tóxicos como enterotoxinas, aminas biogênicas e compostos que agridem o epitélio intestinal e se caracterizam como agentes etiológicos de diarreias pós-desmame (CHAMONE et al., 2010).

No processo de produção nas granjas comerciais, os animais são desmamados em média no período de 21 e 28 dias de vida (XUE et al., 1993, WOROBEC et al., 1999). Neste período, os leitões são expostos a uma série de estresses, devido a troca da alimentação e forma, a mudança de ambiente, com a troca de instalações, a mistura com outros indivíduos de outras leitegadas, hierarquização social, acarretando em redução do consumo de alimento e consequentemente influenciando no seu desenvolvimento e ganho de peso (MARTINEZ et al., 2014). O sistema gastrintestinal possui várias funções como digestão, absorção de nutrientes e eletrólitos, controle dos fluidos corporais, secreção de enzimas digestivas, imunoglobulinas entre outros componentes, que possam servir de barreira contra patógenos e antígenos, que possa causar danos ao animal (CAMPBELL; CRENSHAW; POLO, 2013).

Entretanto, nos primeiros dias pós-desmame com a redução de consumo de alimento, ocorrem alterações nas estruturas e função do intestino delgado do leitão, como

atrofia das vilosidades e aumento da profundidade das criptas, devido à perda das células dos vilos, o que leva à redução brusca da área de capacidade digestiva e absortiva do intestino delgado (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997), diminuição a digestibilidade e afetando o desempenho do leitão.

Além da redução do consumo de ração, outro problema enfrentado pelos leitões em sistema intensivo no pós-desmame é o desfio sanitário, pois há grande presença de matéria orgânica como sobras de ração e fezes dos animais, o que proporciona um ambiente para o desenvolvimento de microrganismos potencialmente patogênicos e com isso, há possiblidade de ocorrer diversas enfermidades nos animais, como diarreia, distúrbios metabólicos, entre outras doenças (ROHR, 2014).

1.2 Sistema imunológico

Com a função de defender o organismo contra agentes infecciosos, o sistema imunológico é formado por um conjunto de defesas corporais, por interações de reações celulares e bioquímicas complexas. Estas reações são dividias em duas vias distintas, sendo a primeira reação definida como imunidade inata (inespecífica) e a seguinte, adaptativa (adquirida). Estas reações moleculares da resposta imune, visam assegurar a destruição do agente invasor, para manter a saúde e a homeostasia do indivíduo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Inicialmente, a primeira barreira de defesa é física, pois esta não depende de ativações, faz parte da imunidade inata, sendo constituída por pele, saliva, ácido clorídrico, pH, lágrimas, cera, muco, cílios epiteliais, fluxo urinário, vômito, diarreia, peristaltismo e flora bacteriana normal, impedindo a penetração de agentes potencialmente patogênicos no organismo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013; TIZARD, 2014; LEVINSON, 2016). A flora bacteriana comensal nos tecidos, auxilia inibindo a invasão ou proliferação de microrganismos potencialmente patogênicos, pela competição entre elas, com a produção de metabolitos tóxicos e ácidos orgânicos, tornado o ambiente desfavorável a proliferação desses microrganismos patogênicos (COLDITZ, 2002).

Caso estas barreiras sejam vencidas, ocorre a ativação do sistema imune, inicialmente pela resposta inata, em que ocorre o reconhecimento de antígenos específicos dos agentes invasores, mediada por células fagocitarias, que são compostas por neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células *Natural Killer*-NK, além de

proteínas que agem no processo inflamatório, como as proteínas do sistema complemento, as proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas (KIERSZENBAUM; TRES, 2012; LEVINSON, 2016).

Com a ativação do sistema imune inato, essas células especificas e os mecanismos bioquímicos fazem o reconhecimento do agente invasor, gerando sinais que além de ativar células de defesa, estimulam a secretar diversas moléculas pro-inflamatórias e citocinas, como interleucinas (IL-1β, IL-6), interferon-β (IFN-β) e fator de necrose tumoral-α (TNF-α); essas moléculas são responsáveis por desencadear o aumento de fluxo sanguíneo e a permeabilidade vascular do local, o que atrai células de defesa para o local da inflamação (MURPHY et al., 2010; TIZARD, 2019).

A inflamação aguda consiste no acúmulo de várias células de defesa, proteínas plasmáticas e o plasma sanguíneo no local da infecção, com isso provoca calor, rubor, aumento de volume, dor e até perda de função no local. Estes sintomas são causados por ações de aminas (histamina), peptídeos (C3 e C5), cininas, neuropeptídeos e lipídeos vasoativos (leucotrienos, tromboxanos, prostaglandinas) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013; TIZARD, 2014; LEVINSON, 2016).

As citocinas constituem um amplo grupo de proteínas com diversas estruturas e funções, ao serem secretadas e estimuladas, podem ter ação autócrina, parácrina e endócrina, são proteínas de vida curta, elas atuam como mediadora da comunicação intercelular (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019). Na circulação sanguínea, as citocinas: IL-1, IL-6, IL-12, IL-18 e TNF-α, com a ação de enzimas lisossomais e componentes do complemento, causam letargia, mal-estar, perda de apetite e agem sobre as células musculares, mobilizando aminoácidos para formação de proteínas de fase aguda e de imunoglobulinas (TIZARD, 2008; LEVINSON, 2016).

Com a indução do TNF- α e IL-1 as células hepáticas aumentam a síntese e secreção de proteínas de fase aguda (PFA) e este aumento começa a partir de 90 minutos após a indução e com picos entre 24 e 48 horas, além de os componentes do sistema complemento, Receptores de reconhecimento padrão (PRR) solúveis, fatores de coagulação, inibidores de proteases e proteínas ligantes de ferro (OLIVEIRA et al., 2011). As PFA mais abundantes em suínos são principalmente a proteína C-reativa (PCR) e a haptoglobina (HEEGAARD et al., 1998).

A PCR faz a ativação de muitas células ao se ligarem a membrana delas, como aos dos linfócitos, e conjuga-se a neutrófilos para promover a fagocitose e remoção de microrganismos da lesão, inibindo assim a produção de superóxido e degranulações

neutrofílicas (TIZARD, 2014). Após o início da inflamação, o tempo necessário para que a concentração de PCR aumente são de 4 horas, alcançando o valor máximo normalmente entre 24 à 48 horas após o início da inflamação (CONNER et al., 1988).

A haptoglobina é uma proteína de fase aguda, ela é produzida pelas células do fígado, tem a função de ligar-se a moléculas de ferro, além de se ligar a hemoglobina livre, que foi liberada pela destruição intravascular das hemácias, tornando-as indisponíveis para a bactéria invasora, inibindo a invasão e proliferação bacteriana, assim conservando o ferro corpóreo e prevenindo a oxidação de proteínas e lipídios (PETERSEN; NIELSEN; HEEGAARD, 2004).

Em suínos, as glicoproteínas α1-ácidas, α2- globulinas séricas e ceruloplasminas fazem parte das proteínas de fase aguda. Além disso, existe a redução de níveis de algumas proteínas durante a fase de inflamação aguda, que são conhecidas como proteínas de fase aguda negativas, que em suínos, são as albuminas, α-lipoproteínas, fetuínas e a transferrinas (KUSHNER, 1990).

1.3 Morfologia Intestinal

O principal local de digestão em animais monogástricos é o intestino delgado. A absorção dos nutrientes no local ocorre por meio das vilosidades, que são projeções do tecido da mucosa, revestidas por enterócitos, que são células colunares ciliadas. A maturação dos enterócitos acontece no processo de migração da cripta para a ponta da vilosidade, o tamanho do vilo é influenciado pelo número de células que os constituem (KIERSZENBAUM; TRES, 2012).

Os enterócitos nas vilosidades, são responsáveis por absorverem os nutrientes, eletrólitos e à água do lúmen intestinal. O conteúdo em processo de digestão, ao chegar no intestino, se mistura com secreções alcalinas secretadas pelo fígado, pâncreas e com substâncias secretadas pela parede do intestino, que elevam o pH intestinal, permitindo e facilitando a ação das enzimas pancreáticas (PUPA, 2008).

Em suínos, antes da desmama dos leitões, o tamanho e estruturas das vilosidades intestinais se apresentam de forma adequada e altamente eficiente na absorção de nutrientes. Mas, no pós-desmama, com a súbita mudança na alimentação juntamente com os outros estresses, ocorrem algumas alterações na estrutura das vilosidades, como redução da altura dos vilos, que está relacionada a redução na taxa de renovação ou na maior taxa de perda celular e com isso, ocorre o aumento da profundidade das criptas

devido à maior produção de células da região (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997).

Com a redução da altura dos vilos, ocorre perda de enzimas que são importantes para o processo digestivo e as vilosidades deixam de apresentar formas alongadas e passa a apresentar formas mais curtas, afetando diretamente a capacidade de absorver nutrientes pelo intestino, com isso, ocorre à má digestão e má absorção (HEO et al., 2013). Como consequência, ocorre diarreia e queda de desempenho (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997; CAMPBELL; CRENSHAW; POLO, 2013).

1.4 Microbiologia Intestinal

A microbiota intestinal saudável atua como barreira biológica na defesa do animal, por colonizar todo o epitélio intestinal, dificultando a fixação de patógenos, agindo na imunidade, na morfologia intestinal e na digestão (ZHANG et al., 2016). No nascimento, o sistema digestório do animal é estéril e a colonização por microrganismos ocorre no momento de parto e pós-parto com o contado com o muco vaginal, as fezes da matriz, a via de amamentação e do ambiente (ASSIS, 2019).

Nos leitões lactentes, a atividade antimicrobiana de componentes do leite, como carboidratos, glicolipídios, glicoproteínas, mucina e oligossacarídeos, ajuda a manter o equilíbrio da microbiota intestinal (KELLY; COUTTS, 2000). Neste período, o pH diminui devido à produção de ácido lático, que promove uma seleção de bactérias resistentes à acidez, que causa uma proteção contra bactérias patogênicos (ROSTAGNO; PUPA, 2018). Mas no período pós-desmame do leitão, podem ocorrer alterações na microbiota, o que pode influenciar na digestão e absorção de nutrientes (MORÉS; AMARAL, 2001).

A colonização intestinal dos leitões ocorre primeiramente, em sua maioria, por agentes dos grupos de *Clostridiaceae*, principalmente pelo *Clostridium perfringens* e por enterobactérias. Em torno do terceiro dia de vida, com o aleitamento, inicia-se a colonização de bactérias do gênero da família dos *Lactobacillaceae* até os 20 dias de vida (DINIS, 2010). No intestino delgado dos suínos, as bactérias mais predominantes são as dos gêneros de *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Bifidobacterium*, que estão em densidades de 10^7 a 10^9 UFC/g de mucosa (DINIS, 2010). No ceco e cólon são observadas quantidades similares os gêneros de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, além de bacteroides e da família *Eubacteriaceae* (DINIS, 2010; ASSIS, 2019).

Além dessas bactérias, há a presença de bactérias gram-negativas patogênicas, conhecidas como coliformes fecais, a *Escherichia coli* e a *Salmonella* spp. que são responsáveis por secretar enterotoxinas, que podem causar distúrbios fisiológicos e diarreia no período pós-desmame. Sendo a *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. e *Salmonella* spp., os principais agentes etiológicos causadores de diarreias em leitões (CHAMONE et al., 2010).

Na membrana da parede celular de bactérias gram-negativas contém uma molécula conhecida como lipopolissacarídeo (LPS), ela é uma endotoxina, que leva a uma resposta de fase aguda, e é responsável por alguns sintomas das doenças, como febre e choque séptico (especialmente hipotensão) pela infecção. O lipídio A da LPS é o componente tóxico da molécula, pois induz a superprodução de citocinas, como o fator TNF, IL-1 e óxido nítrico pelos macrófagos, o que causa os sintomas de choque séptico, como febre e hipotensão, o LPS também ativa o sistema complemento e a cascata de coagulação, que leva ao aumento da permeabilidade vascular e coagulação vascular disseminada (LEVINSON, 2016).

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são os principais microrganismos fermentadores no intestino grosso. No cólon, as fibras solúveis não digestíveis da dieta sofrem fermentação por estas bactérias, as quais produzem ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), sendo os principais o ácido acético, butírico e o propiônico, eles reduzem o pH do intestino grosso (SANCHES, 2004). Em torno de 95% dos AGCC produzidos no cólon, são absorvidos pelo intestino antes de chegar no reto, o que traz benefícios para a saúde do animal (GOULART et al., 2016).

A presença dos AGCC reduz o pH no trato gastrintestinal, o que reduz populações de bactérias patogênicas, por serem sensíveis ao ambiente ácido, como de *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella* ssp. (DE LUNA et al., 2015). O ácido butírico é fonte de energia para as células intestinais, principalmente no cólon, promove a absorção de glicose por meio do aumento da expressão dos transportadores da glicose, o que auxilia no aumento da proliferação de enterócitos no ceco (DINIS, 2010).

Os ácidos graxos de cadeia curta também auxiliam na melhora da morfologia intestinal, por meio do aumento da área de absorção e renovação celular do epitélio, além de atuarem como imunoestimulantes, pois à presença de AGCC no lúmen intestinal, estimula a proliferação de enterócitos, o que pode influenciar a profundidade de cripta no intestino (DUARTE, 2018).

1.5 Melhoradores de desempenho

Com o intuito de melhorar o desempenho dos animais, além de reduzir perdas e prejuízos na criação, na busca por alternativas que possam auxiliar nisso, se faz o uso de alguns aditivos, que são ingredientes funcionais utilizados na formulação de dietas para animais de produção. De acordo com a INSTRUÇÃO NORMATIVA (IN) Nº 13, DE 30 DE NOVEMBRO DE 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2004), aditivo destinado à alimentação animal é:

> Substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais.

Dentre essas substâncias estão os prebióticos, probióticos, simbióticos, ácidos orgânicos e fitogênicos, eles auxiliam na manutenção e fortalecimento da microbiota intestinal do animal, favorecendo a proliferação de microrganismos benéficos além de melhorar a imunidade do hospedeiro (CARON et al., 2014).

Na suinocultura, a utilização desses aditivos na dieta de leitões pós-desmame pode trazer benefícios na produção, como melhora no consumo de alimentos sólidos por meio de palatabilizantes ou aromatizantes que aumente a aceitação sensorial do paladar do animal, reduzindo as ações dos microrganismos patogênicos, auxiliando no controle de problemas gastrintestinais, além de ajudar a aumentar os índices imunológicos do animal (LONG et al., 2018). A busca por novas estratégias de produção, visando melhorias na saúde e desenvolvimento animal é essencial para a sustentabilidade da suinocultura (PLUSKE, 2013).

1.5.1 Prebióticos

Os prebióticos são definidos como substâncias que podem ser intencionalmente adicionados à dieta ou estarem presentes naturalmente no alimento e trazem benefícios a microbiota intestinal do animal (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Em sua maioria são usados os carboidratos não digeríveis no trato gastrintestinal e que servem como substrato para a proliferação da microbiota benéfica, o que pode trazer benefícios para o sistema imunológico, evitando infecções por patógenos (MIKKELSEN; JAKOBSEN; JENSEN,

2003; HUTKINS et al., 2016).

Para que seja classificado como prebiótico estas substâncias necessitam atender a pelo menos três quesitos: (a) não deve ser hidrolisado ou absorvido no trato gastrintestinal; (b) deve ser seletivo para bactérias benéficas no intestino; (c) trazer efeitos benéficos ao animal por meio da fermentação do substrato (GAGGÌA; MATTARELLI; BIAVATI, 2010). Essas substâncias são fermentadas por grupos bacterianos específicas no intestino, que são bactérias benéficas (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus*) ao organismo e resultam na produção de ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido propiônico, ácido butírico e ácido lático, os quais auxiliam na redução do pH lúmen intestinal, além de servir como fonte de energia para os enterócitos (AZAD et al., 2020).

Dentre os produtos definidos como prebióticos, citam-se alguns carboidratos (oligossacarídeos e polissacarídeos), álcoois derivados de açúcares, peptídeos, proteínas e lipídeos (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Os mais estudados são os oligossacarídeos não digeríveis (ONDs), sendo os mananoligossacarídeos (MOS), os frutoligossacarídeos (FOS) e β-glucanos, por apresentarem as características prebióticas como possuir a capacidade se ser fermentado pela microbiota benéfica do trato gastrintestinal dos animais (MOSENTHIN; BAUER, 2000), o que melhora a digestibilidade (ALBINO et al., 2006), na adsorção e remoção de patógenos (SPRING, 2000); estimula o sistema imune, melhorando a saúde e o desempenho dos animais (ASSIS et al., 2014; SAN ANDRES et al., 2019).

Esses oligossacarídeos prebióticos, tem a capacidade de modular a microbiota intestinal, proporcionando benefício aos animais, por terem capacidade anti-inflamatória, limitando a produção de citocina pró-inflamatórias (ZENHOM et al., 2011).

a) β-glucanos

O β-glucano é um prebiótico formado por um polissacarídeo de monômeros de D-glicose ligados por ligações β-glicosídicas e está presente em microrganismos como fungos, bactérias e na celulose em plantas (PARK et al., 2018). A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que é amplamente empregada nos processos de fermentações nas industrias, é a principal fonte de β-glucano, em que parte da sua parede celular é formada por esta molécula, a qual é composta por uma cadeia glicosídica com do tipo β-1,3 e β-1,6 (MAGNANI; CASTRO-GÓMEZ, 2008; KAUR et al., 2020).

Pesquisas mostram que o uso de β-glucanos na dieta de animais, possuem a

capacidade de melhorar a saúde e o desempenho dos animais, por meio de suas ações anti-inflamatórias, imunomodulatórios, antimutagênicos e antitumorais (KIM et al., 2006; SHEN et al., 2016; SHOUKAT; SORRENTINO, 2021). Pode ser considerado como imunopotenciador de amplo espectro, melhorando o ambiente gastrintestinal e aumentando as funções de barreira da mucosa intestinal, contribuindo para o desenvolvimento do animal (VETVICKA; VANNUCCI; SIMA 2014). É considerado imunomodulador, por interagir com o sistema imunológico, regulando positiva ou negativamente partes específicas da resposta imunológica (VETVICKA et al., 2019).

O β-glucano pode influenciar consideravelmente na composição da microbiota intestinal, pois este polissacarídeo é fermentado por bactérias benéficas no TGI do animal, as quais produzem ácido lático, que reduz o pH do ambiente intestinal e evita o desenvolvimento descontrolado de bactérias patogênicas, além de ajudar na digestão, podendo auxiliar direta e indiretamente nas atividades imunológicas do tecido linfoide associado à mucosa do trato gastrintestinal (GALT) (VETVICKA et al., 2007).

A suplementação de beta-glucanos modula a resposta imune das células das placas de Peyer e dos linfócitos intestinais intraepiteliais, sendo interiorizado pelas células M, que são células epiteliais responsáveis pelo transporte de macromoléculas para as placas de Peyer e fagocitada por macrófagos. Essas interações aumentam a produção de citocinas e melhoram a resposta imunológica (TSUKADA et al., 2003). Assim, o seu uso na dieta de leitões desmamados, pode trazer efeitos benéficos para crescimento dos animais, devido a sua capacidade de modular reações imunes específicas, aumentando a imunidade inespecífica (MOWAT, 1987).

A adição de β-glucanos de parede de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, na nutrição dos leitões desmamados, pode promover resistência dos animais contra infecções por *Escherichia. coli* (LIU et al., 2017). Também, quando usados na dieta de leitões pós-desmame, pode proporcionar redução na contagem de coliformes nas fezes e a susceptibilidade dos leitões à *E. coli*, sugerindo esses efeitos à melhora do ambiente intestinal (PARK et al., 2018). Outros autores mostraram que o β-glucano melhora o desempenho (MENDES et al., 2010) e aumenta a concentração sérica de IgM (STUYVEN et al., 2009).

Leitões suplementados com β-glucanos e desafiados com LPS de *E. coli* (sorotipo O55:B5) no período de creche, podem apresentar aumento na contagem de leucócitos no plasma, melhorar a atividade proliferativa de linfócitos, reduzir a concentração de TNF-α (ZHOU et al., 2013). Mao et al. (2005) relataram que a adição de β-glucanos de

Astragalus membranaceus na dieta de leitões desmamados e desfiados com LPS de *E. coli* (sorotipo O55:B5), apresentaram redução na resposta inflamatória, com diminuição na concentração de citocinas pró-inflamatórias e aumento na proliferação de linfócitos.

Em outro trabalho, a adição de β-glucanos de levedura nas dietas de leitões desmamados e desafiados com *E. coli* enterotoxigênica, na concentração de 500g/ton na ração, tiveram resultado positivo no desempenho, no sistema imune, com redução de secreção de citocinas pró-inflamatória e melhora na morfologia intestinal (ZHOU et al., 2022). Por outro lado, outro estudo mostrou que o β-glucano aumentou a concentração de IL-6, TNF-α, IL-10 no plasma após desafio (LI et al., 2006). Em outro trabalho, os autores não conseguiram reverter a infecção, mas apresentaram efeito anti-inflamatório em relação a reações agudas causadas por injeção de LPS, o que evitou a maior elevação de temperatura retal dos leitões desfiados (LEDUR et al., 2012),

Com relação à microbiota intestinal, a adição de β-glucanos na dieta de leitões desmamados pode reduzir a concentração de *E. coli* nas fezes dos animais (ZHOU et al.,2013) ou proporcionar mais resistência e menor vulnerabilidade dos animais contra a infecção de *E. coli* enterotoxigênica (STUYVEN et al., 2009). No entanto, outros autores relataram que a suplementação com β-glucanos na dieta de leitões após desmame, não influenciou a quantidade de coliformes totais, *E. coli*, bactérias ácido láticas, *Clostridium* sulfito redutor e de *Salmonella* spp. no conteúdo do ceco (VIANA et al., 2018), no desempenho e morfologia intestinal (ASSIS et al., 2014).

Segundo Junqueira et al. (2009) a ausência de efeitos dos prebióticos podem estar atribuídos ao do baixo desafio sanitário e imunológico em que os leitões foram submetidos e à composição dos aditivos utilizados nas dietas.

1.5.2 Aditivos fitogênicos

Os aditivos fitogênicos são produtos de origem vegetal, que em geral, derivam de ervas, especiarias, plantas e seus extratos. Estas substâncias podem oferecer vários grupos de princípios ativos, tais como substâncias picantes e amargas, saponinas, flavonóides, óleos essenciais, taninos, mucilagens, dentre outros (FERNANDES et al., 2015). Podem proporcionar melhores índices zootécnicos por meio de suas diversas características e efeitos na nutrição animal, como o efeito antioxidante, antimicrobiana, ação anti-inflamatória, melhorando as funções intestinais (DRASKOVIC et al., 2018), além de efeito aromático, flavorizante, podendo auxiliar no aumento da ingestão de ração (VALE

et al., 2010). São incorporados às dietas animais com o intuito de promover melhor desempenho e qualidade dos produtos obtidos destes animais. (WINDISCH et al., 2008).

O uso desses aditivos na alimentação dos animais, melhora o desempenho produtivo, a segurança e a qualidade da carne em animais de produção (DHAMA et al., 2015). Também, podem ter ação como antioxidantes proveniente do alecrim, manjerona, orégano, tomilho e sálvia (RAHAL et al., 2014), em frutas e especiarias comuns, como ameixa, alho, canela, cravo, cúrcuma, gengibre, dentre outros (KHAN et al., 2012).

O princípio ativo cinamaldeído do *Cinnamonum* spp (canela) mostrou efeitos estimulantes nas enzimas pancreáticas (WANG; LI; BOURNE, 1998) e reduziu a motilidade gástrica em suínos, o que aumentou o tempo de passagem de alimento no estômago (MANZANILLA et al., 2004). O componente ativo capsaicina, do *Capsicum annum* (pimenta vermelha), apresenta eficiência em estimular a salivação (que induz a produção de amilase) (PLATEL; SRINIVASAN, 1996). Com isso, ocorre o aumento da ação das enzimas gástricas, promovendo maior digestibilidade e disponibilidade dos nutrientes (BRUGALLI, 2003).

Os bioflavonóides, são formados por polifenóis e encontrados em frutas, vegetais, sementes e flores que possuem diferentes estruturas e propriedades químicas (ERLUND, 2004). Eles podem atuar como antioxidantes naturais, além de exibir atividade antiviral, antifúngica e antibacteriana (CUSHNIE; LAMB, 2005). As uvas apresentam grandes concentrações de compostos fenólicos, os quais fazem parte do grupo dos flavonóides e suas sementes apresentam compostos polifenólicos que possuem ações antioxidantes (KATALINIC et al., 2013; GUNGOR; ALTOP; ERENER, 2021), antimicrobianas (CHEDEA et al., 2011; ADÁMEZ et al., 2012), anti-inflamatórios (TSUDA, 2012) e imunomoduladora (HAO et al. 2015).

O mecanismo de ação de saponinas ainda não é completamente elucidado, mas elas podem auxiliar na melhora do desempenho e reduzir a produção de amônia e o odor das fezes de animais domésticos, pois ela tem ação de alterar a microbiota intestinal, aumentar a permeabilidade de células da mucosa e a taxa de absorção intestinal, e de agir no metabolismo do nitrogênio (MONTEIRO et al., 2005; PATRA; SAXENA, 2010), além de ter ação na inibição do crescimento *in vitro* de *Escherichia coli* (ARABSKI et al., 2012).

Uma das fontes de saponinas utilizadas como aditivos em rações é a *Yucca schidigera*. Estudos apontam que a utilização de extrato de Yucca na dieta de animais, pode proporcionar melhor desempenho (GEBHARDT et al., 2019), ter ação antioxidante

(SUN et al. 2017) e ter potencial de melhorar a microbiota intestinal de suínos (KATSUNUMA et al., 2000).

Os resultados de aditivos fitogênicos foram atribuídos aos diferentes modos de ação, incluindo os efeitos antimicrobianos em grupos específicos de bactérias (DORMAN; DEANS, 2000), efeitos benéficos na morfologia, função intestinal (OETTING et al., 2006) e atividades imunomoduladoras no animal (KROISMAYR et al., 2008). Também, os aditivos fitogênicos podem melhorar o desempenho dos animais por meio do aumento da palatabilidade da ração, do estímulo da secreção de enzimas digestiva, controlar a microbiota intestinal, o que pode reduzir processos infecciosos (SRINIVASAN et al., 2001).

Foi relatado de que a suplementação com saponinas na dieta de matrizes no período dos 10 dias de gestação e na lactação, proporcionou melhor índice corporal das matrizes no final da lactação e seus leitões se apresentaram mais pesados ao nascer e ao desmame (HAUPTLI; LOVATTO, 2006). Piedra et al. (2009) observaram melhor desempenho e aumento das vilosidades intestinais de leitões suplementados com a mistura de butirato de sódio microencapsulado e extrato de yucca. Também, Gebhardt et al. (2019) relataram modesta melhora no desemprenho com leitões suplementados com 200 µg/kg de propionato de cromo e 125 g/ton de *Yucca schidigera*.

O uso de 120g/ton extrato de Yucca na dieta de leitões desmamados aumentou a concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e o tamanho das vilosidades intestinais, com redução da concentração de amônia nas fezes dos animais (FAN et al., 2022). Yang et al. (2021) adicionando extrato de Yucca e levedura *Candida utilis oral* na dieta de leitões pós-desmame, observaram melhor desempenho, redução na incidência de diarreia e melhora na saúde intestinal dos animais.

O uso do extrato de yucca pode também influenciar os parâmetros sanguíneos dos animais. Nas fases de crescimento e terminação, a suplementação de 120g/ton de extrato de yucca na dieta não modificou o perfil hematológico na fase de crescimento, mas houve reduziu os níveis de triglicerídeos, colesterol e ureia no sangue neste período e aumentou as concentrações de hemoglobina, neutrófilos e monócitos, com também redução dos níveis de triglicerídeos, colesterol, ureia e proteína total na fase de terminação (MUNÕZ et al., 2008). Entretanto, Hong et al. (2001) não encontraram efeito sobre o desempenho e perfil bioquímico sanguíneo de suínos nas fases de crescimento e terminação alimentados com 60g/ton e 120g/ton de extrato de yucca na dieta.

A suplementação de uma dosagem menor de extrato de yucca (65g/ton) na dieta

de leitões desmamados não foi capaz de melhorar o desempenho ou reduzir da concentração de amônia no ambiente (AMON et al., 1995). Mesma situação foi relatada por outros autores com suplementação de 62,5g/ton (PANETTA et al., 2006) e 125g/ton de extrato de yucca (COLINA et al., 2001; PANETTA et al., 2006), em que não encontraram melhora no desempenho e não conseguiram mostrar diferença nas concentrações de amônia nas fezes de leitões pós-desmame.

No trabalho de Hao et al. (2015) utilizando procianidinas (que são compostos polifenólicos do grupo dos flavonóides) extraído de sementes de uva na dieta de leitões desmamados, observou-se que a suplementação desse aditivo foi capaz de reduzir a incidência de diarreia, além de ter melhorado as respostas do sistema imunológico e com ação antioxidante.

Em outro trabalho, a suplementados com 8% de farinhas de sementes de uva n deita de leitões desmamados e desafiados com colite induzida por sulfato de dextrana, modulou beneficamente a microbiologia intestinal, com aumento da produção de ácido butírico e isobutirico (GROSU et al., 2020). Wang et al. (2020) utilizando bagaço de uva na nutrição de leitões pós-desmame, relataram efeito modulador na microbiota intestinal, com aumento da proporção dos microrganismos benéficos no intestino e maior altura das vilosidades do jejuno.

Han et al. (2016) testaram o uso de proantocianidinas da semente de uva na concentração de 250g/ton na dieta de leitões desmamados e relataram que houve redução na incidência de diarreia, melhora na morfologia intestinal e os aditivos modularam beneficamente a microbiologia intestinal, com aumento nas concentrações de ácidos propiônico e butírico. Entretanto, numa dosagem de 150g/ton de extrato de sementes de uva na dieta de leitões desmamados, não foi capaz de melhorar o desempenho e não influenciou concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (RAJKOVIĆ et al., 2021)

Em outro trabalho, a utilização de 1% de bagaço e sementes de uva na dieta de leitões melhorou o desempenho, mas não apresentou diferença no sistema antioxidantes dos animais (GESSNER et al., 2013). Fiesel et al. (2014) trabalhando com 1% de extrato de farinha de uva e farelo de bagaço de uva ou 1% de inclusão de lúpulo na dieta de leitões desmamados, observaram melhoras no desempenho, na conversão alimentar com modulação positiva da microbiota benéfica intestinal e efeitos anti-inflamatórios nos animais, entretanto sem alterar a morfometria intestinal.

No entanto, um estudo com a inclusão de uma mistura de extratos de ervas, contendo *Rosmarinus officinalis*, *Mentha piperita*, *Lippia sidoides* e *Porophyllum*

ruderale, não conseguiu demonstrar efeitos dos aditivos sobre o desempenho produtivo de leitões desmamados (BRUNO et al. 2013). É importante ressaltar que o mecanismo de ação e local onde atua os princípios ativos dos aditivos fitogênicos estão relacionados a sua estrutura, forma de metabolismo e do nível de inclusão na dieta dos animais (BRUGALLI, 2003).

Em leitões suplementados com uma mistura de fitogênicos contendo flavonóides naringina em suas dietas e desafiados com *E. coli*, apresentaram redução das proteínas de fase aguda e melhor controle da resposta inflamatória (MONTOYA et al., 2021). Outro estudo mostrou que leitões desafiados com *E. coli* e que tiveram a adição de óleos essenciais em sua dieta, apresentaram melhora no desempenho e na digestibilidade dos alimentos e diminuição da incidência de diarreia (TIAN; PIAO, 2019).

Em outro trabalho, os autores mostraram que a suplementação de aditivos fitogênicos, formados por timol e carvacrol na dieta de leitões desmamados desafiados com *E. coli*, foi capaz de minimizar os efeitos negativos de *E. coli*, melhorando o desempenho dos animais, devido estes compostos terem ações antibacteriana e anti-inflamatória, podendo prevenir a diarreia (CHANG et al., 2022).

Mesmo que o uso dos aditivos fitogênicos venha se demonstrando promissor, os resultados obtidos nas pesquisas recentes não se apresentaram homogêneos e poucos relatam seus efeitos em animais desafiados imunologicamente, alimentados com extrato de sementes de uva e extrato de Yucca, demonstrando que ainda são necessárias outras pesquisas que ajudem a elucidar os mecanismos de ação e principais benefícios nas dietas dos suínos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da inclusão de prebiótico (β-glucano) e mistura de fitogênicos (extrato de semente de uva e extrato de Yucca) na dieta de leitões recém-desmamados em fase de creche sobre o desempenho, incidência de diarreia, saúde intestinal (morfometria do intestino delgado, concentração de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do cólon) e sobre os parâmetros sanguíneos e imunológicos quando desafiados com Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS).

No Capítulo 2 encontra-se o trabalho intitulado: “Fitogênicos e ß-glucano na dieta modulam o sistema imune e a produção ácidos graxos no intestino de leitões recém-desmamados”, o qual foi redigido segundo as normas do periódico Animal Bioscience.

Referências bibliográficas

ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. **Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

ADÁMEZ, J. D.; SAMINO, E. G.; SÁNCHEZ, E. V.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (Vitis vinifera L.). **Food Control**, v.24, p136-141, 2012.

ALBINO L.F.T.; FERES F.A.; DIONIZIO M.A.; ROSTAGNO H.S.; VARGAS JR. J.G.; CARVALHO D.C.O.; GOMES P.C.; COSTA C.H.R. 2006. uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia** v35, p.742-749, 2006.

AMON, M.; DOBEIC, M.; MISSELBROOK, T. H.; PAIN, B. F.; PHILLIPS, V. R.; SNEATH, R. W. A farm scale study on the use of De-Odorase® for reducing odour and ammonia emissions from intensive fattening piggeries. **Bioresource Technology**, v.51, p.163-169, 1995.

ARABSKI, M.; WĘGIEREK-CIUK, A.; CZERWONKA, G.; LANKOFF, A.; KACA, W. Effects of saponins against clinical E. coli strains and eukaryotic cell line. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2012, 2012.

ASSIS, S. D.; LUNA, U. V.; CARAMORI JUNIOR, J. G.; CORREA, G. S. S.; CORREA, A. B.; BRUSAMARELO, E. Performance and morpho-intestinal characteristics of weaned gilts fed diets containing combinations with mannan oligosaccharides. **Archives of Veterinary Science.** v.19, p.33-41, 2014.

ASSIS, H. F. Uso de soro de leite bovino in natura na alimentação de suínos pós-desmame. Tese (Doutorado em Zootecnia) – **Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa**,** 2019.

AZAD, M. A.; GAO, J.; MA, J.; LI, T.; TAN, B.; HUANG, X.; YIN, J. Opportunities of prebiotics for the intestinal health of monogastric animals. **Animal Nutrition**, v.6, p.379-388, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 13, de 30 de novembro de 2004**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2004. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/IN13atualizada.pdf. Acesso em: 10 fev. 2023.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. **Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos**, v.1, p.167-182, 2003.

BRUNO, D. G.; MARTINS, S. M. M. K.; PARAZZI, L. J.; AFONSO, E. R.; DEL SANTO, T. A.; TEIXEIRA, S. D. M. N.; MORENO A.M.; MORETTI, A. D. S. A. Phytogenic feed additives in piglets challenged with Salmonella Typhimurium. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, p.137-143, 2013.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. O estresse biológico de leitões desmamados precocemente. **Jornal de Ciência Animal e Biotecnologia**, v.4, p.1-4, 2013.

CAO, S.; WANG, L.; JIAO, L.; LIN, F.; XIAO, K.; HU, C. Effects of diosmectite-Lactobacillus acidophilus on growth performance, intestine microbiota, mucosal architecture of weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.220, p.180-186, 2016.

CARON, L. F.; FILHO, T. F.; BEIRÃO B. C. B.; INGBERMAN M.; JUNIOR C. F. Fundamentos de imunologia aplicados a produção de suínos. In: **Produção de suínos: teoria e prática**. 908 p. p. 201-245. Brasília, DF. 2014

CASTRO, F. F. **Fitogênicos ou mono e diglicerídeos associados com ácidos orgânicos em dietas para leitões recém-desmamados / Fabrício Faleiros de Castro**. Jaboticabal, p.40. 2015.

CHAMONE, J. M. A.; MELO, M. T. P.; AROUCA, C. L. C.; BARBOSA, M. M.; SOUZA, F. A.; SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. **Revista Nutritime**, v.7, p.1353- 1363, 2010. Disponível em < https://nutritime.com.br/wp-content/uploads/2020/02/Artigo-123.pdf >. Acesso 20 de outubro de 2022.

CHANG, S. Y.; SONG, M. H.; LEE, J. H.; OH, H. J.; KIM, Y. J.; AN, J. W.; GO, Y. B.; SONG, D. C.; CHO, H. A.; CHO, S. Y.; KIM, D. J.; KIM, M. S.; KIM, H. B.; CHO, J. H. Phytogenic feed additives alleviate pathogenic Escherichia coli-induced intestinal damage through improving barrier integrity and inhibiting inflammation in weaned pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.13, p.1-12, 2022.

CHEDEA, V. S.; BRAICU, C.; CHIRILĂ, F.; C OBER, C.; SOCACIU, C. Antibacterial action of an aqueous grape seed polyphenolic extract. **African Journal of Biotechnology**, v.10, p.6276-6280, 2011.

COLDITZ, I.G. Effects of the immune system on metabolism: implications for production and disease resistance in livestock. **Livestock Production Science**, v.75, p.257–268, 2002.

COLINA, J. J.; LEWIS, A. J.; MILLER, P. S.; FISCHER, R. L. Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities. **Journal of Animal Science**, v.79, p.3096-3103, 2001.

CONNER, J. G.; ECKERSALL, P. D.; FERGUSON, J.; DOUGLAS, T. A. Acute phase response in the dog following surgical trauma. **Research in Veterinary Science,** v.45, p.107-110, 1988.

CUSHNIE, T. P.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International**

Journal Antimicrobial, v.26, p.343-356, 2005.

DE LUNA, U. V.; CARAMORI JÚNIOR, J. G.; CORRÊA, G. S. S.; KIEFER, C.; SOUZA, M. A.; VIEITES, F. M.; CRUZ, R. A. S; ASSIS, S. D. Mananoligossacarídeo e ß-glucano em dietas de leitões desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, p.591-599, 2015.

DHAMA, K.; LATHEEF, S. K.; MANI, S.; SAMAD, H. A.; KARTHIK, K.; TIWARI, R.; KHAN, R. U.; ALAGAWANY, M.; FARAG, M. R.; ALAM, G. M.; LAUDADIO, V.; TUFARELLI, V. Multiple beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production-a review. **International Journal of Pharmacology**, v.11, p.152-176, 2015.

DINIS, J. V. B. M. F. Estratégias nutricionais na prevenção de doenças digestivas dos suínos. Dissertação (Mestrado integrado a Medcina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária Pólo D'Ajuda, **Universidade Técnica de Lisboa**, Lisboa, 2010.

DORMAN, H. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.308-316, 2000.

DRASKOVIC, V.; BOSNJAK-NEUMULLER, J; VASILJEVIC, M.; PETRUJKIC, B.; ALEKSIC, N.; KUKOLJ, V.; STANIMIROVIC, Z. Influence of phytogenic feed additive on Lawsonia intracellularis infection in pigs. **Preventive Veterinary Medicine**, v.151, p.46-51, 2018.

DUARTE, M. E. Uso de aminogut® e enzimas na dieta de suínos durante a lactação e creche. Tese (Doutorado integrado em Zootecnia) **Universidade Federal da Paraíba,** João Pessoa**,** 2018.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutrition Research**, v.24, p.851–874, 2004.

FAN, X.; XIAO, X.; CHEN, D.; YU, B.; HE, J.; YU, J.; LUO, J.; LUO, Y.; WANG, J.; YAN, H.; MAO, X. Yucca schidigera extract decreases nitrogen emission via improving nutrient utilisation and gut barrier function in weaned piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.106, p.1036-1045, 2022.

FERNANDES, R. T. V.; DE ARRUDA, A. M. V.; OLIVEIRA, V. R. M.; DE QUEIROZ, J. P. A. F.; MELO, A. S.; DIAS, F. K. D.; MARINHO, J. B. M.; DE SOUZA, R. F.; SOUZA, A. O. V.; DOS SANTOS FILHO, C. A. Aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte: óleos essenciais e especiarias. **Pubvet**, p.502–557, 2015.

FIESEL, A.; GESSNER, D. K.; MOST, E.; EDER, K. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. **BMC Veterinary Research**, v.10, p.1-11, 2014.

GAGGÌA, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal

feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, p.S15-S28, 2010.

GEBHARDT, J. T.; WOODWORTH, J. C.; TOKACH, M. D.; DEROUCHEY, J. M.; GOODBAND, R. D.; LOUGHMILLER, J. A.; SOUZA, A. L. P.; RINCKER, M. J.; DRITZ, S. S. Determining the influence of chromium propionate and Yucca schidigera on growth performance and carcass composition of pigs housed in a commercial environment. **Translational Animal Science**, v.3, p.1275-1285, 2019.

GESSNER, D. K.; FIESEL, A.; MOST, E.; DINGES, J.; WEN, G.; RINGSEIS, R.; EDER, K. Supplementation of a grape seed and grape marc meal extract decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF-κB and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.55, p.1-10, 2013.

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

GOULART, F. R.; ADORIAM, T. J.; MOMBACH, P. I. da Silva, L. P. Importância da fibra alimentar na nutrição de animais não ruminantes. **Revista de Ciência e Inovação**, v.1, p.141-154, 2016.

GROSU, I. A.; PISTOL, G. C.; MARIN, D. E.; CIŞMILEANU, A.; PALADE, L. M.; ŢĂRANU, I. Effects of dietary grape seed meal bioactive compounds on the colonic microbiota of weaned piglets with dextran sodium sulfate-induced colitis used as an inflammatory model. **Frontiers in Veterinary Science**, v.7, p.31, 2020.

GUNGOR, E.; ALTOP, A.; ERENER, G. Effect of raw and fermented grape seed on growth performance, antioxidant capacity, and cecal microflora in broiler chickens. **Animal**, v.15, p.100194, 2021.

HAN, M.; SONG, P.; HUANG, C.; REZAEI, A.; FARRAR, S.; BROWN, M. A.; MA, X. Dietary grape seed proanthocyanidins (GSPs) improve weaned intestinal microbiota and mucosal barrier using a piglet model. **Oncotarget**, v.7, p.80313, 2016.

HAO, R.; LI, Q.; ZHAO, J.; LI, H.; WANG, W.; GAO, J. Effects of grape seed procyanidins on growth performance, immune function and antioxidant capacity in weaned piglets. **Livestock Science**, v.178, p.237-242, 2015.

HAUPTLI, L.; LOVATTO, P. A. Alimentação de porcas gestantes e lactantes com dietas contendo saponinas. **Ciência Rural**, v.36, p.610-616, 2006.

HEEGAARD, P. M.; KLAUSEN, J.; NIELSEN, J. P.; GONZÁLEZ-RAMÓN, N.; PIÑEIRO, M.; LAMPREAVE, F.; ALAVA, M. A. The porcine acute phase response to infection with Actinobacillus pleuropneumoniae. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 119, p. 365-373, 1998.

HEO, J. M.; OPAPEJU, F. O.; PLUSKE, J. R.; KIM, J. C.; HAMPSON, D. J.;

NYACHOTI, C. M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.97, p.207-237, 2013.

HONG, J. W.; KIM, I. H.; MOON, T. H.; KWON, O. S.; LEE, S. H.; KIM, Y. G. Effects of yucca extract and (or) far infrared emitted materials supplementation on the growth performance, serum characteristics and ammonia production of growing and finishing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, p.1299-1303, 2001.

HU, C.; XING, W.; LIU, X.; ZHAN, X.; LI, K.; LI, J.; DENG, B.; Deng, J.; LI, Y.; TAN, C. Effects of dietary supplementation of probiotic Enterococcus faecium on growth performance and gut microbiota in weaned piglets. **Applied Microbiology and Biotechnology Express**, v.9, p.1-12, 2019.

HUTKINS, R.W.; KRUMBECK, J.A.; BINDELS, L.B.; CANI, P.D.; FAHEY Jr, G.; GOH, Y.J.; HAMAKER, B.; MARTENS, E.C.; MILLS, D.A.; RASTAL, R.A.; VAUGHAN, E. Prebiotics: why definitions matter. **Current Opinion in Biotechnology**, v.37, p.1-7, 2016.

JACELA, J. Y.; DEROUCHEY, J. M.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; NELSSEN, J. L.; RENTER, D. G.; DRITZ, S. S. Feed additives for swine: Fact sheets – prebiotics and probiotics, and phytogenics. **Journal of Swine Health and Production**, v. 18, p. 132-136, 2010.

JUNQUEIRA, O. M.; BARBOSA, L. C. G. S.; PEREIRA, A. A.; ARAÚJO, L. F.; GARCIA NETO, M.; PINTO, M. F. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2394-2400, 2009.

KATALINIC, V.; MOZINA, S. S.; GENERALIC, I.; SKROZA, D.; LJUBENKOV, I.; KLANCNIK, A. Phenolic profile, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of leaf extracts from six *Vitis vinifera* L. varieties. **International Journal of Food Properties**, v.16, p.45-60, 2013.

KATSUNUMA, Y.; OTSUKA, M.; NAKAMURA, Y.; TOYODA, A.; TAKADA, R.; MINATO, H. Effects of the administration of Yucca shidigera saponins on pigs intestinal microbial population. **Nihon Chikusan Gakkaiho**, v.71, p.594-599, 2000.

KAUR, R.; SHARMA, M.; JI, D.; XU, M.; AGYEI, D. Structural features, modification, and functionalities of beta-glucan. **Fibers**, v.8, p.1, 2020.

KELLY, D.; COUTTS, A. G. P. Early nutrition and the development of immune function in the neonate. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.59, p.177-185, 2000.

KHAN, R. U.; NIKOUSEFAT, Z.; TUFARELLI, V.; NAZ, S.; JAVDANI, M.; LAUDADIO, V. Garlic (Allium sativum) supplementation in poultry diets: effect on production and physiology. **World's Poultry Science Journal**, v.68, p.417-424, 2012.

KIERSZENBAUM, A.; TRES, L. **Histologia e Biologia Celular: Uma introdução à patologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

KIM, S. Y.; SONG, H. J.; LEE, Y. Y.; CHO, K.-H.; ROH, Y. K. Biomedical issues of dietary fiber β-glucan. **Journal Korean of Medical Science**, v.21, p.781-789, 2006.

KROISMAYR, A.; SEHM, J.; PFAFFL, M. W.; SCHEDLE, K.; PLITZNER, C.; WINDISCH, W. Effects of avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets. **Czech Journal of Animal Science**, v.53, p.377-387, 2008.

KUSHNER, I. C-reative protein and the acute-phase response. **Hospital Practice**, v.25, p.13-28, 1990.

LEDUR, V.S.; RIBEIRO, A.M.L.; KESSLER, A.M.; GIANFELICI, M.F.; VIEIRA, M.M.; GRANDI, J.; MACHINSKY, T.G. Respostas fisiológicas e de desempenho de leitões suplementados com β-glucanos e desafiados imunologicamente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.64, p.434-442, 2012.

LEVINSON, W. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 13.ed. Porto Alegre: Amgh, 2016.

LI, J.; LI, D. F.; XING, J. J.; CHENG, Z. B.; LAI, C. H. Effects of β-glucan extracted from Saccharomyces cerevisiae on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with Escherichia coli lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, v.84, p.2374-2381, 2006.

LIU, G.; YU, L; MARTÍNEZ, Y.; REN, W.; NI, H.; AL-DHABI, A. N.; DURAIPANDIYAN, V.; YIN, Y. Dietary Saccharomyces cerevisiae cell wall extract supplementation alleviates oxidative stress and modulates serum amino acids profiles in weaned piglets. Oxidative **Medicine and Cellular Longevity**, v.1, p.1-7, 2017.

LONG, S. F.; XU, Y. T.; PAN, L.; WANG, Q. Q.; WANG, C. L.; WU, J. Y.; WU, Y. Y.; HAN, Y. M.; YUN, C. H.; PIAO, X. S. Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. Animal **Feed Science and Technology**, v.235, p.23-32, 2018.

MAGNANI, M.; CASTRO-GÓMEZ, R.J.H. β-glucana de Saccharomyces cerevisiae: constituição, bioatividade e obtenção. **Seminário de Ciências Agrárias**, v.29, p.631-650. 2008.

MALHEIROS, F. M. Quantificação bioecônomica do impacto do bem-estar no desmame e final de creche de suínos. Dissertação (Mestrado em agronegócios), **Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2018.

MANZANILLA, E.G.; PEREZ, J.F.; MARTIN, M.; KAMEL, C.; BAUCELLS, F.; GASA, J. Effect of plant extracts and formic acid on intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.82, p.3210-3218, 2004.

MAO, X. F.; PIAO, X. S.; LAI, C. H.; LI, D. F.; XING, J. J.; SHI, B. L. Effects of β-

glucan obtained from the Chinese herb Astragalus membranaceus and lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal, and somatotropic responses of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v.83, p.2775-2782, 2005.

MARTINEZ, J. F.; AMORIM, A. B.; FARIA, D. E.; NAKAGI, V. S.; SARTORI, M. M. P.; MARQUES, M. F. Palatabilizantes em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.1207-1215, 2014.

MENDES, C. B. S.; FONTES, D. O.; GUEDES, R. M. C.; SILVA, F. C. O.; SILVA, M. A.; OLIVEIRA, J. S. V.; FERNANDES I.S.; FONTES, F. A. P. V. Suplementação de betaglucano a dietas de leitões de 21 a 60 dias de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.696-705, 2010.

MIKKELSEN, L. L.; JAKOBSEN, M.; JENSEN, B. B. Effects of dietary oligosaccharides on microbial diversity and fructo-oligosaccharide degrading bacteria in faeces of piglets post-weaning. **Animal Feed Science and Technology**, v.109, p.133-150, 2003.

MOESER, A. J.; POHL, C. S.; RAJPUT, M. Estresse do desmame e desenvolvimento da barreira gastrointestinal: Implicações para a saúde intestinal ao longo da vida em suínos. **Nutrição Animal**, v.3, p.313-321, 2017.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v.28, p.892-896, 2005.

MONTOYA, D.; D'ANGELO, M.; MARTÍN-ORÚE, S. M.; RODRÍGUEZ-SORRENTO, A.; SALADRIGAS-GARCÍA, M.; ARAUJO, C.; CHABRILLAT, T; KERROS, S; CASTILLEJOS, L. Effectiveness of two plant-based in-feed additives against an Escherichia coli F4 oral challenge in weaned piglets. **Animals**, v.11, p.2024, 2021.

MORÉS, N.; AMARAL, A.L. Patologias associadas ao desmame. In: **CONGRESSO DA ABRAVES,** p.215-224. 2001.

MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The potential use of prebiotics in pig nutrition. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.13, p.315-325, 2000.

MOWAT, A. M. The regulation of immune responses to dietary protein antigens. **Immunology Today**, v.8, p.93-98, 1987.

MUNÕZ, V. E.; CONTRERAS, A. D. C. G.; HARO, J. G. H.; MACIAS, A. G. A.; BARRON, S. G. E.; CORTES, M. M. Effects of Yucca schidigera Extract on Biochemical and Hematological Profiles of Growing and Fattening Pigs. **Revista Cientifica**, v.18, p.51-58, 2008.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway,** 7.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2010.

OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. D. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1389-1397, 2006.

OLIVEIRA, C.M.B; SAKATA, R.K.; ISSY, A.M.; GEROLA, L.R.; SALOMÃO, R. Citocinas e Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.61, p.255-265, 2011.

PANETTA, D. M.; POWERS, W. J.; XIN, H.; KERR, B. J.; STALDER, K. J. Nitrogen excretion and ammonia emissions from pigs fed modified diets. **Journal of Environmental Quality**, v.35, p.1297-1308, 2006.

PARK, J. H.; LEE, S. I.; KIM, H. I. et al. Effect of dietary β-glucan supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and characteristics of feces in weaned pigs. **Journal of Applied Animal Research**, v.46, p.1193-1197, 2018.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v.71, p.1198-1222, 2010.

PETERSEN, H.; NIELSEN, J.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, v.35, p.163-187, 2004.

PIEPER, R.; JHA, R.; ROSSNAGEL, B.; VAN KESSEL, A.G.; SOUFFRANT, W.B.; LETERME, P. Efeito de cultivares de cevada e aveia com diferentes composições de carboidratos nas comunidades bacterianas intestinais de leitões desmamados. **FEMS Microbiology Ecology**, v.66, p.556-566, 2008.

PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, v.47, p.55-59, 1996.

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

PLUSKE, J.R.; LE DIVIDICH, J.; VERSTEGEN, M.W.A. Weaning the pig: Concepts and consequences. **Wageningen Academic Publishers**, 432p. 2003.

PLUSKE, J. R. Feed-and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.4, p.1-7, 2013.

PROHÁSZKA, L.; BARON, F. The predisposing role of high dietary protein supplies in enteropathogenic *E. coli* infections of weaned pigs. **Zentralblatt Veterinarmedizin Reihe B**. v.27, p.222–232, 1980.

PUPA, J.M.R. Saúde intestinal dos leitões: o papel de alguns agentes reguladores. In: **Simpósio Brasil Sul de Suinocultura, 2008. Anais**... Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, p.13-27. 2008.

RAHAL, A.; VERMA, A. K.; KUMAR, A.; TIWARI, R.; KAPOOR, S.; CHAKRABORTY, S.; DHAMA, K. “Phytonutrients and Nutraceuticals in Vegetables and their Multi-dimensional Medicinal and Health Benefits for Humans and their companion animals”. **A Review: Journal of Biological Scieneces**, v.14, p.1-19, 2014.

RAJKOVIĆ, E.; SCHWARZ, C.; TISCHLER, D.; SCHEDLE, K.; REISINGER, N.; EMSENHUBER, C.; OCELOVA, V.; ROTH, N.; FRIETEN, D.; DUSEL, G.; GIERUS, M. Potential of grape extract in comparison with therapeutic dosage of antibiotics in weaning piglets: Effects on performance, digestibility and microbial metabolites of the ileum and colon. **Animals**, v.11, p.2771, 2021.

RIGUEIRA, L.C.M; THOMAZ, M.C.; RIGUEIRA, D.C.M.; PASCOAL, L.A.F.; AMORIM, A.B.; BUDIÑO, F.E.L. Effect of plasma and/or yeast extract on performance and intestinal morphology of piglets from 7 to 63 days of age. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, p.496-503, 2013.

ROHR, S.A. Programas de limpeza e desinfecção de instalações em suinocultura. In: **Produção de suínos: teoria e prática**. 908 p. p.615-622. Brasília, DF. 2014.

ROSTAGNO, H. S.; PUPA, J. M. R. **Fisiologia da Digestão e Alimentação de Leitões**. REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME, v.15, p.8310-8320, 2018.

SAN ANDRES, J. V.; MASTROMANO, G. A.; LI, Y.; TRAN, H.; BUNDY, J. W.; MILLER, P. S.; BURKEY, T. E. The effects of prebiotics on growth performance and in vitro immune biomarkers in weaned pigs. **Translational Animal Science**, v.3, p.1315-1325, 2019.

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

SBARDELLA, M. Óleo de arroz na alimentação de leitões recém-desmamados. Dissertação (Mestre em Ciências) – **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo**, p.101. 2011.

SHEN, R.L.; WANG, Z.; DONG, J.L.; XIANG, Q.S.; LIU, Y.Q. Effects of oat soluble and insoluble β-glucan on 1, 2-dimethylhydrazine-induced early colon carcinogenesis in mice. **Food and Agricultural Immunology**, v.27, p.657-666, 2016.

SHOUKAT, M.; SORRENTINO, A. Cereal β-glucan: a promising prebiotic polysaccharide and its impact on the gut health. **International Journal of Food Science & Technology**, v.56, p.2088-2097, 2021.

SPRING, P. Yeast’s secret weapon aids animal production. In: **SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL**. 2000, Campinas. Anais Campinas: CBNA, p.41-50. 2000.

SRINIVASAN, D.; NATHAN, S.; SURESH, T.; PERUMALSAMY, P.L. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine.

Journal of Ethnopharmacology, v.74, p.217-220, 2001.

STUYVEN, E.; COX, E.; VANCAENEGHEM, S.; ARNOUTS, S.; DEPREZ, P.; GODDEERIS, B. M. Effect of β-glucans on an ETEC infection in piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.128, p.60–66, 2009.

SUN, D.; JIN, X.; SHI, B.; SU, J.; TONG, M.; YAN, S. Dietary Yucca schidigera extract improved growth performance and liver antioxidative function in broilers. **Italian Journal of Animal Science**, v.16, p.677-684, 2017.

TANNOCK, G. W. The lactic microflora of pigs, mice and rats. In: **The Lactic Acid Bacteria**. WOOD, B.J.B. 1.ed. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, v.2, p.21-48. 1992.

TIAN, Q.; PIAO, X. Essential oil blend could decrease diarrhea prevalence by improving antioxidative capability for weaned pigs. **Animals**, v.9, p.847, 2019.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária:** Uma Introdução. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**. 9.ed. São Paulo: Elsevier, 2014.

TIZARD, Ian. **Imunologia Veterinária**. 10ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

TSUDA, Takanori. Dietary anthocyanin-rich plants: biochemical basis and recent progress in health benefits studies. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.56, p.159-170, 2012.

TSUKADA, C.; YOKOYAMA, H.; MIYAJI, C.; ISHIMOTO, Y.; KAWAMURA, H.; ABO, T. Immunopotentiation of intraepithelial lymphocytes in the intestine by oral administrations of β-glucan. **Cellular Immunology**, v.221, p.1–5, 2003.

VALE, P. A. C. B.; SOARES, R. T. R. N.; BRÊTAS, A. A.; BONAPARTE, T. P.; VIEITES, F. M.; CABRAL, N. O.; MOTA, T. Desempenho de leitões recém-desmamados alimentados com rações contendo óleos essenciais e promotores de crescimento. **Global Science Technology**, v.3, p.59-66, 2010.

PIEDRA, J. L. V.; SZYMANCZYK, S. E.; KAPICA, M.; PUZIO, I.; PAWLOWSKA, M.; MICHALOWSKI, P. Combined effect of butyrate and Yucca schidigera extract on the gastrointestinal tract of pigs around weaning. **Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme**, v.51, p.11-18, 2009.

VETVICKA, V.; DVORAK, B.; VETVICKOVA, J.; RICHTER, J.; KRIZAN, J.; SIMA, P. and YVIN, J. C. Orally administered marine (1→ 3) -β-d-glucan Phycarine stimulates both humoral and cellular immunity**. International Journal of Biological Macromolecules**, v.40, p.291-298, 2007.

VETVICKA, V.; VANNUCCI, L.; SIMA, P. The effects of β-glucan on pig growth and immunity. **The Open Biochemistry Journal**, v.8, p.89, 2014.

VETVICKA, V.; VANNUCCI, L.; SIMA, P.; RICHTER, J. Beta glucan: supplement or drug? From laboratory to clinical trials. **Molecules**, v.24, p.1251, 2019.

VIANA, Y. S.; ALVARENGA, P. V. A.; TSE, M. L. P.; PAULA, V. R. C. D.; FERREIRA, S. L.; BERTO, D. A. Efeitos da inclusão de blend de prebióticos na microbiologia cecal e peso de órgãos de leitões recém- desmamados. **Jornada de Jóvenes Investigadores AUGM, Mendoza. Anais. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo**, p.1-10, 2018.

VIOLA, E. E.; VIEIRA, S. L. Ácidos orgânicos e suas misturas em diertas de suínos. In SIMPOSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS. **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, Campinas p.255-284, 2003.

WANG, R.; LI, D.; BOURNE, S. Can 2000 years of herbal medicine history help us solve problems in the year 2000. In: **Alltechs Annual Symposium**. p.168-184. 1998.

WANG, R.; YU, H.; FANG, H.; JIN, Y.; ZHAO, Y.; SHEN, J.; ZHOU, C.; LI, R.; WANG, J.; FU, Y.; ZHANG, J. Effects of dietary grape pomace on the intestinal microbiota and growth performance of weaned piglets. **Archives of Animal Nutrition**, v.74, p.296-308, 2020.

WINDISCH, W.; SCHEDLE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAIR, A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of animal science**, v. 86, p. 140-148, 2008.

WOROBEC, E. K.; DUNCAN, I. J. H.; WIDOWSKI, T. M. Os efeitos do desmame aos 7, 14 e 28 dias no comportamento dos leitões. **Ciência Aplicada do Comportamento Animal**, v.62, p.173-182, 1999.

WU, C.; XU, Q.; WANG, R.; QIN, L.; PENG, X.; HU, L.; LIU, Y.; FANG, Z.; LIN, Y.; XU, S.; FENG, B.; LI, J.; WU, D.; CHE, L. Effects of dietary β-glucan supplementation on growth performance, immunological and metabolic parameters of weaned pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. **Food & Function**, v 6, p.3338-3343, 2018.

XUE, J. L; DIAL, G. D; MARSH, W. E; DAVIES, P. R; MOMONT, H. W. Influence of lactation length on sow productivity. **Livestock Production Science**, v.34, p.253-265, 1993.

YANG, Y.; LEE, K. Y.; KIM, I. H. Effects of dietary protected organic acids on growth performance, nutrient digestibility, fecal microflora, diarrhea score, and fecal gas emission in weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.99, p.514-520, 2019.

YANG, Z.; WANG, Y.; HE, T.; BUMBIE, G. Z.; WU, L.; SUN, Z.; SUNE, W.; TANG, Z. Effects of dietary Yucca schidigera extract and oral Candida utilis on growth performance and intestinal health of weaned piglets. **Frontiers in Nutrition**, v.8, p.685540, 2021.

ZENHOM, M.; HYDER, A.; DE VRESE, M.; HELLER, K. J.; ROEDER, T.;

SCHREZENMEIER, J. Prebiotic oligosaccharides reduce proinflammatory cytokines in intestinal Caco-2 cells via activation of PPARγ and peptidoglycan recognition protein 3. **The Journal of Nutrition**, v.141, p.971-977, 2011.

ZHAI, H.; LUO, Y.; REN, W.; SCHYNS, G.; GUGGENBUHL, P. The effects of benzoic acid and essential oils on growth performance, nutrient digestibility, and colonic microbiota in nursery pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.262, p.114426, 2020.

ZHANG, D.; JI, H.; LIU, H.; WANG, S.; WANG, J.; WANG, Y. Changes in the diversity and composition of gut microbiota of weaned piglets after oral administration of Lactobacillus or an antibiotic. **Applied microbiology and Biotechnology**, v.100, p.10081-10093, 2016.

ZHOU, T. X.; JUNG, J. H.; ZHANG, Z. F.; KIM I. H. Effect of dietary β-glucan on growth performance, fecal microbial shedding and immunological responses after lipopolysaccharide challenge in weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology,** v.179, p.85– 92, 2013.

ZHOU, Y., LUO, Y., YU, B., ZHENG, P., YU, J., HUANG, Z., MAO, X.; LUO J.; YAN, H.; HE, J. Effect of β-glucan supplementation on growth performance and intestinal epithelium functions in weaned pigs challenged by enterotoxigenic Escherichia coli. **Antibiotics**, v.11, p.519, 2022.

CAPÍTULO 2

Fitogênicos e ß-glucano na dieta modulam o sistema imune e a produção ácidos graxos no intestino de leitões recém-desmamados

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de β-glucano e a mistura de fitogênicos de extrato de semente de uva e de extrato de Yucca, em dietas de leitões recém-desmamados no período de creche, sobre o desempenho, incidência de diarreia, saúde intestinal e sobre os parâmetros hematológicos e imunológicos em 40 animais (8 por tratamento) desafiados com Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS). Foram utilizados 120 leitões recém-desmamados com idade média de 21 dias (6,20±0,746 kg), num período experimental de 41 dias, distribuídos em delineamento de blocos casualizados com os tratamentos: C = Dieta basal sem a inclusão de aditivos; 300β = C com 300g/ton de β-glucano; 450β/300F = C com 450g/ton de β-glucano e 300g/ton de mistura de fitogênicos (50:50); 300β/200F = C com 300g/ton de β-glucano e 200g/ton de mistura de fitogênicos (50:50); 150β/100F = C com 150g/ton de β-glucano e 100g/ton de mistura de fitogênicos (50:50). Não houve diferença entre os tratamentos para o desempenho e incidência de diarreia (P>0,05). Entretanto, houve maior (P<0,05) altura de vilos (AV) no jejuno dos animais do grupo 300β/200F em relação ao grupo 300β e maior (P<0,05) AV no íleo dos animais do grupo 150β/100F em relação ao C, 300β e 300β/200F. Os animais do grupo 300β/200F apresentaram maior (P<0,05) área de placas de Peyer em relação aos animais alimentados com 450β/300F. Os animais alimentados com 150β/100F apresentaram maior (P<0,05) concentração de ácido butírico em relação aos leitões da dieta com 300β e 300β/200F. Para os animais desafiados com LPS, no hemograma, não houve interação (P>0,05) entre os tratamentos e os momentos avaliados do desafio (antes e depois) para nenhuma das variáveis analisadas, porém, após o desafio, houve aumento (P<0,05) dos valores séricos de hematócrito, hemoglobina e hemácias e redução (P<0,05) dos valores séricos de plaquetas, leucócitos e proteína total. Em relação as citocinas, houve interação entre os momentos avaliados e os tratamentos para fator de necrose tumoral-α (TNF-α) (P=0,0194). Após a aplicação de LPS, os animais do grupo 150β/100F tiveram maior liberação de TNF-α em relação aos animais alimentados com 300β e 300β/200F. Conclui-se que leitões alimentados com a combinação de prebiótico e fitogênicos da dosagem de 300β/200F apresentaram-se mais eficientes em minimizar a resposta inflamatória do sistema imunológico causada pelo desafio com *E.coli* e a menor dosagem da combinação de β-glucano e fitogênico (150β/100F) conseguiu proporcionar melhora no ambiente intestinal, com o aumento da produção de ácido butírico.

Palavras-chave: aditivos, desmame, suínos, saúde

1. Introdução

O desmame é um período crítico na produção de suínos, caracterizado por ser um manejo estressante aos leitões, pela troca de ambiente, do tipo de alimento e forma, associados à imaturidade fisiológica e imunológica [1]. Com o trato gastrintestinal ainda imaturo, há produção insuficiente de ácido clorídrico e enzimas intestinais [2], tornando o ambiente intestinal favorável ao desenvolvimento de microrganismos específicos, como *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. e *Salmonella* spp. [3], causando diminuição no desempenho.

Com o intuito de reduzir essas perdas produtivas, vem sendo usados os prebióticos que beneficiam a proliferação da microbiota benéfica no trato gastrintestinal do hospedeiro [4]. Dentre os prebióticos, os β-glucanos, são polissacarídeos formados de monômeros de D-glicose, ligados por ligações β-glicosídicas, estão presentes em fungos, bactérias e plantas [5].

Os β-glucanos, da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* podem melhorar o desempenho e a saúde do animal, por prevenir infecções, possuir efeitos anti-inflamatórios [6], estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias [7] e promover a melhora do ambiente intestinal, por estimular o crescimento de microrganismos benéficos do trato gastrintestinal [5].

Por sua vez, os aditivos fitogênicos, são derivados de extratos de plantas, ervas e especiarias, com efeitos benéficos para o desempenho dos animais [8]. Podem possuir diversos princípios ativos como saponinas, alcalóides, flavonóides, taninos, óleos essenciais, entre outros [9]. Os flavonoides representam a classe predominante de polifenóis encontrados no extrato de semente de uva. Esses compostos têm sido de grande interesse para a indústria alimentícia devido aos seus benefícios, como ações antioxidantes, anti-inflamatórios, anticarcinogênicos, antimutagênico e propriedades antimicrobianas [10, 11].

O extrato de sementes de uva é um aditivo rico em compostos polifenólicos [12], podendo possuir ação antioxidante, imunomoduladora [13, 14] antimicrobianas [15], anti-inflamatórios [16] e capacidade de modular a microbiota benéfica positivamente, estimulando a produção de ácido graxos de cadeia curta [17].

O aditivo de extrato de *Yucca schidigera* é uma das principais fontes de saponinas que são utilizadas nas dietas dos animais e o seu modo de ação ainda não foi totalmente compreendido, mas se sabe que elas podem proporcionar melhora no desempenho,

impedir o crescimento *in vitro* de *Escherichia coli* [18], além de diminuir a geração de amônia e o odor das fezes de animais domésticos [19, 20], devido à capacidade de modificar a microbiota intestinal [21].

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da inclusão de prebiótico (β-glucano) e mistura de fitogênicos (extrato de semente de uva e extrato de Yucca) na dieta de leitões recém-desmamados em fase de creche sobre o desempenho, incidência de diarreia, saúde intestinal (morfometria do intestino delgado, concentração de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do cólon) e sobre os parâmetros sanguíneos e imunológicos quando desafiados com Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS).

2. Material e métodos

2.1 Instalação experimental e animais

Foi realizado um experimento no Laboratório de Ensino Pesquisa e Extensão de Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Fazenda Edgárdia, com todos os procedimentos experimentais previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ/ Universidade Estadual Paulista (UNESP)/ Campus de Botucatu, protocolo número 0142/2021.

Os animais foram alojados em galpão de alvenaria (pé-direito de 3,5m) com paredes laterais de 1,80m, com possibilidade de fechamento total por cortinas e o galpão possuía ainda, um ventilador com nebulizador. As baias suspensas, com piso anterior concretado e posterior em estrado plástico, medem 1,0 x 1,70m e são equipadas com bebedouro tipo chupeta, comedouro tipo canaleta e campânula com resistência elétrica de 300W.

1.2 Delineamento e dietas experimentais

Foram utilizados 120 leitões recém-desmamados (genética comercial) com idade média de 21 dias (6,20±0,746 kg), num período experimental de 41 dias, distribuídos em delineamento de blocos casualizados (por peso), com cinco tratamentos, oito repetições, com unidade experimental composta por três (avaliações de desempenho e incidência de diarreia) e um animal (restante das variáveis analisadas).

A dosagem referência de inclusão dos aditivos nas dietas foi de 300g/ton de β-glucano (C) e 200g/ton de mistura de fitogênicos (100g/ton de extrato de semente de uva

e 100 g/ton de extrato de Yucca). Depois, foi proposta a associação dos aditivos em 50% acima da dosagem referência (450β/300F), na dosagem referência (300β/200F) e 50% abaixo da dosagem referência (150/100F), como segue:

- **C -** Dieta basal sem a inclusão dos aditivos (controle);
- **300β** - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano;
- **450β/300F** - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/ton da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência);
- **300β/200F** - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200 g/ton da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência);
- **150β/100F** - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/ton da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência);

Adotou-se o programa de alimentação em três fases, sendo: Fase 1 - dieta Pré-inicial 1 (0 a 14 dias); Fase 2 - dieta Pré-inicial 2 (15 a 28 dias) e Fase 3 - dieta Inicial (29 a 41 dias) (Tabelas 1 e 2). Todas as dietas foram isoenergéticas, isoprotéicas e formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais [22].

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais nas fases pré-inicial I, pré-inicial II e inicial

Ingredientes	Pré-Inicial 1	Pré-Inicial 2	Inicial
Milho, Grão	50,074	54,491	56,814
Soja, Farelo 46%	19,000	23,000	29,000
Farinha de vísceras	3,000	2,000	1,500
Plasma sanguíneo seco	5,000	5,000	-
Soro de leite seco	10,500	3,500	-
Açúcar	5,000	5,000	5,000
Óleo de soja	2,800	2,750	2,950
Calcário	0,290	0,400	0,480
Fosfato Bicálcico	1,450	1,600	1,620
Sal	0,104	0,250	0,715
L-Lisina HCl	0,542	0,390	0,505
DL-Metionina	0,245	0,167	0,212
L-Treonina	0,270	0,185	0,235
L-Triptofano	0,067	0,035	0,047
L-Valina	0,143	0,035	0,107
Óxido de Zinco	0,200	0,132	-
Sulfato de Cobre penta	0,060	0,060	0,060
Cloreto de colina (60%)	0,090	0,090	0,090
Adsorvente	0,200	0,200	0,200
Mistura mineral[1]	0,100	0,100	0,100
Mistura vitamínica[2]	0,150	0,150	0,150
Antioxidante[3]	0,015	0,015	0,015
Sílica[4]	0,500	0,250	-
Caulim[5]	0,200	0,200	0,200
TOTAL	100,000	100,000	100,000

[1]Premix mineral fornecendo por kg de ração: 100mg Fe, 10mg Cu, 0,45mg Se, 40mg Mn, 80mg Zn, 1mg Co, 1,5mg I, 79,70mg S, 0,30mg Mg; [2]Premix vitamínico fornecendo por kg de ração: 9000 UI vit. A, 2700 UI vit. D3, 48 UI vit. E, 2,5mg vit. K, 2,03mg vit. B1, 6mg vit. B2, 3mg vit. B6, 30mg vit. B12, 0,9mg ácido fólico, 14,03mg ácido pantotênico, 30mg niacina, 0,12mg biotina; [3]Adsorvente à base de argila; [4]Aditivo antiumectante; [5]Aditivos utilizados para compor as dietas experimentais em substituição ao inerte (caulim) de acordo com cada tratamento: C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/ton da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/ton da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/ton da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência).

Tabela 2. Valores nutricionais calculados para as fases pré-iniciais I, pré-iniciais II e iniciais[1]

	Pré-Inicial 1	Pré-Inicial 2	Inicial
EM (kcal/kg)	3.400	3.376	3.351
Proteína Bruta (%)	19,670	20,007	18,814
Extrato etéreo (%)	5,339	5,283	5,479
Fibra bruta (%)	1,900	2,180	2,517
Cálcio (%)	0,757	0,753	0,753
Fósforo digestível[2] (%)	0,506	0,488	0,461
Lisina DIE[3] (%)	1,455	1,359	1,250
Metionina DIE (%)	0,498	0,425	0,454
Treonina DIE (%)	0,980	0,909	0,816
Triptofano DIE (%)	0,282	0,260	0,240
Metionina + cistina DIE (%)	0,819	0,758	0,715
Valina DIE (%)	1,006	0,930	0,865
Lactose (%)	12,060	7,020	4,500
Sódio digestível (%)	0,301	0,301	0,301

[1]Valores nutricionais dos ingredientes [22] [2]Fósforo digestível estandardizado, [3]DIE = Digestibilidade ileal estandardizada.

1.3 Variáveis Avaliadas

Desempenho: Para avaliação do desempenho, os animais e a ração fornecida foram pesados no início e final de cada fase do experimento, para determinar o ganho diário de peso, o consumo diário de ração e conversão alimentar. As sobras de ração foram pesadas diariamente.

Incidência de diarreia: Por meio de análise visual, as fezes foram examinadas duas vezes ao dia, na parte da manhã e da tarde, com a finalidade de determinar a incidência de diarreia. O monitoramento das fezes foi realizado quanto a sua consistência e aspecto [23, 24], com o uso de escores subjetivos numa escala de 3 pontos que varia de 1 a 3, sendo 1 = fezes normais (bem formadas), 2 = fezes pastosas e 3 = diarreia. A incidência de diarreia foi estimada pelo percentual médio de animais com diarreia em cada uma das baias durante o período total de observação (durante 41 dias).

Após a pesagem final dos animais (41º dia do experimento), um animal de cada baia foi sorteado, totalizando 8 animais por tratamento (40 animais no total), insensibilizado por eletronarcose e abatido para a realização das seguintes análises:

Morfometria intestinal: Imediatamente após abate e evisceração dos animais, foram

coletadas porções de aproximadamente três centímetros do duodeno, jejuno e íleo, sendo fixadas em 40 mL de solução de formol tamponado a 10% por 48h e enviadas posteriormente para processamento e confecção das lâminas no Laboratório de Histotecnologia da Unidade de Pesquisa Experimental – UNIPEX – Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu-SP. Depois da desidratação, que ocorre na sequência crescente de concentrações álcoois e do processo passado pelo xilol, as diversas amostras foram inseridasem parafina e microtomizadas para a montagem das lâminas. A coloração das peças foi realizada com coloração hematoxilina-eosina (HE) e pelas técnicas Alcian-Blue (AB, pH 2,5) e ácido periódico de Schiif (PAS, pH 2,5).

Foram realizadas 30 leituras da altura das vilosidades (AV) e profundidade das criptas (PC) em todos os segmentos, utilizando o microscópio Leica DM 750 equipado com câmera ICC 50 (Leica Microsystems (Schweiz) AG, Heerbrugg, Switzerland), e o programa software aberto de análise de imagens ImageJ® (Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, USA). Em seguida, com os resultados de AV e PC encontrados, foi calculada a relação AV:PC. A quantificação e área das placas de Peyer (PP) foram realizadas nos cortes histológicos da submucosa do íleo corados com (AB/PAS) [25], utilizando o mesmo microscópio para captura e registro das imagens e o mesmo programa de análise de imagens para as medidas.

***Quantificação do perfil dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ceco*:** Para avaliação da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) acético, propiônico, butírico e valérico, no conteúdo do ceco, uma amostra de aproximadamente 10g do conteúdo foi retirado e congelado a -20ºC para posterior envio e análise. Depois de descongeladas as amostras, 1g do conteúdo cecal foi pesado em eppendorf e adicionado 1g de água destilada. Na sequência, a solução foi homogeneizada em agitador de tubos e centrifugada a 15.000g, durante 60 minutos, a 4°C. Posteriormente, o extrato sobrenadante (±0,4 mL) de cada amostra foi transferido para vials cromatográficos, nos quais foram adicionados 100 µL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 50 µL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno).

Desse extrato, foi injetado automaticamente pelo sistema injetor, 1 µL em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies, Inc. Wilmington, USA) equipado com coluna capilar HP-FFAP (1909F-112; 25 m; 0,32 mm; 0,5 µm; JeW Agilent Technologies, Inc. Wilmington, USA). O gás de arraste utilizado foi o H_2, mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e detector foi de

260°C. O tempo total da análise cromatográfica foi de 16,5 minutos, dividido em três rampas de aquecimento: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min) e 205°C (10°C/min; 2 min) [26]. A concentração dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa.

Desafio imunológico e coletas de sangue: No dia seguinte ao abate, dos dois leitões restantes em cada uma das baias, foi realizado sorteio de um animal (40 animais – 8 animais por tratamento) que receberam injeção intramuscular de 30μg/kg de peso vivo de lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular de *Escherichia coli*, sorotipo 055:B5 (SIGMA ALDRICH L2880, St. Louis, MO) dissolvidos em 1 mL de solução salina (PBS) a 0,01 M e pH 7,4. As colheitas de sangue foram feitas conforme o seguinte protocolo: primeira colheita, antes da aplicação do LPS para determinação dos níveis basais de todas as variáveis; segunda colheita, três horas após a aplicação de LPS para análise de hemograma, leucograma e citocinas; terceira colheita, 24h após a aplicação de LPS para análise de proteínas de fase aguda.

Hemograma, leucograma e citocinas: As colheitas de sangue foram feitas utilizando-se tubos a vácuo de 4 mL contendo anticoagulante EDTA. A série hematimétrica e leucométrica global foi obtida com auxílio de um contador veterinário automático de células MC-6200 Vet (Shenzhen Maxcom Electronic Ltd, Shenzhen, China), sendo a confirmação da leucometria específica realizada pela técnica de esfregaço sanguíneo por coloração diferencial pelo método panótico [27].

Para a quantificação de todas as citocinas avaliadas (Fator de Necrose Tumoral α, TNF- α, IL-6, IL-8 e IL-1B) foram utilizados tubos para coleta a vácuo de 4 mL contendo ativador de coágulo, para posterior centrifugação e aquisição do soro. O soro obtido foi imediatamente conservado em freezer -80ºC para posterior análise. A análise das citocinas foi feita usando-se o kit de imunoensaio MULTIPLEX PCYTMAG-23K (Porcine Cytokine and Chemokine Magnetic Bead Panel - Fornecedor Millipore, St. Charles – Missouri, USA), pela metodologia LUMINEX® xMAP (Multiple Analyte Profiling).

Proteínas de fase aguda e proteína C-reativa: As colheitas de sangue foram feitas utilizando-se tubos para coleta a vácuo de 4 mL contendo ativador de coágulo. Posteriormente, o sangue foi centrifugado, armazenado a -80ºC e enviado para o

laboratório. A quantificação de haptoglobina e proteína C-reativa (PCR) foi feito usando-se Kit de ELISA (ELK Biotechnology, Wuhan, China). E para a quantificação de proteínas totais foi utilizado o método do biureto [28]

Temperatura retal: Foi mensurada temperatura retal dos animais com termômetro digital (Termo Med 1.0, Contronic Tecnology Ltd, China) antes e após a inoculação, coincidindo com os momentos das colheitas de sangue.

2.4 Análises estatísticas

Foram verificados os dados discrepantes, homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos usando o procedimento univariante do SAS. Os dados de desempenho, incidência de diarreia, morfometria intestinal e concentração de ácidos graxos de cadeia curta foram submetidos a análise de variância (ANOVA) utilizando-se o PROC GLM (General Linear Model) do SAS® [29] e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Os dados de parâmetros sanguíneos e imunológicos foram submetidos às análises de variância multivariada para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes, utilizando-se o PROC MIXED do SAS (medidas repetidas) complementada com o teste de comparação de médias múltiplas de Tukey ($P<0,05$).

3. Resultados

3.1 Desempenho e incidência de diarreia

A suplementação dos aditivos na deita dos leitões não influenciou o desempenho produtivo e a incidência de diarreia (Tabela 3).

Tabela 3. Peso final de cada fase, consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA) e incidência de diarreia (ID) dos leitões durante todo período experimental (41dias)[1]

	C	300β	450β/300F	300β/200F	150β/100F		
			0 a 14 dias			CV (%)[2]	Valor-P
Pfinal 14d	10,70	10,97	10,78	10,64	10,15	7,572	0,3696
CDR (g)	391	416	404	381	376	9,788	0,2520
GDP (g)	323	340	327	315	309	13,725	0,7008
CA	1,21	1,23	1,24	1,23	1,22	7,384	0,9693
			0 a 28 dias				
Pfinal 28d	18,64	19,62	19,08	19,12	18,91	5,162	0,3898
CDR (g)	610	651	615	630	613	6,522	0,2673
GDP (g)	445	478	460	460	450	7,465	0,3548
CA	1,37	1,36	1,34	1,37	1,37	4,998	0,8950
			0 a 41 dias				
Pfinal 41d	27,29	28,73	28,07	28,16	28,20	4,572	0,2978
CDR (g)	792	849	797	818	803	5,830	0,1545
GDP (g)	522	557	533	540	540	5,766	0,3015
CA	1,51	1,53	1,50	1,52	1,49	3,182	0,4342
ID (%)	1,406	0,357	0,469	0,938	0,469	148,63	0,5335

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/ton da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/ton da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/ton da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Coeficiente de variação.

3.2 Morfologia intestinal

A morfometria intestinal no duodeno, profundidade de cripta (PC) e a relação altura de vilos:profunidade de criptas do jejuno e íleo não foram afetadas pelos aditivos testados (P>0,05). Entretanto, os animais alimentados com 300β/200F tiveram maior (P<0,05) altura de vilos no jejuno em relação aqueles alimentados com 300β e os alimentados com C, 450β/300F e 150β/100F não diferiram entre si. No segmento do íleo, os leitões alimentados com a dieta 150β/100F tiveram maior AV em relação aos grupos

C, 300β e 300β/200F. Os que receberam a suplementação de 300β/200F apresentaram maior (P<0,05) área de Placas de Peyer (PP) em comparação ao grupo 450β/300F, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si (Tabela 4).

Tabela 4. Altura média de vilos (AV), profundidade média de criptas (PC), relação AV:PC e área de Placas de Peyer (PP) dos leitões

	C	300β	450β/300F	300β/200F	150β/100F		
			Duodeno			CV (%)[2]	Valor-p
AV µm	389	412	400	422	426	8,53	0,2078
PC µm	354	337	358	358	356	10,72	0,7697
AV:PC	1,12	1,23	1,12	1,18	1,21	11,45	0,3482
			Jejuno				
AV µm	339ab	330b	355ab	372a	336ab	8,29	0,0399
PC µm	300	294	317	308	269	12,20	0,1201
AV:PC	1,14	1,12	1,13	1,21	1,25	9,25	0,0910
			Íleo				
AV µm	310b	322b	336ab	323b	377a	9,99	0,0048
PC µm	205	220	248	232	239	15,54	0,1587
AV:PC	1,53	1,52	1,36	1,40	1,59	13,36	0,1494
PP (μm^2)	293ab	274ab	253b	333a	279ab	14,67	0,0105

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

3.3 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no ceco

A concentração cecal dos ácidos acético, propiônico, valérico e total não foi influenciada pelos aditivos testados (P>0,05). Entretanto, aos animais alimentados com a dieta 150β/100F apresentaram maior (P<0,05) concentração de ácido butírico em relação aos leitões das dietas com 300β e 300β/200F, sendo que o restante dos tratamentos não diferiu entre si (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração (mMol/L) de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do ceco dos leitões ao 41º dia de experimento[1,2]

Variável	C	300β	450β/300F	300β/200F	150β/100F	CV (%)[2]	Valor-P
Acético	51,77	52,28	54,26	52,46	56,00	22,58	0,9522
Propiônico	27,00	25,77	28,65	24,99	32,42	20,09	0,0910
Butírico	17,44ab	14,01b	16,33ab	14,50b	23,89a	35,49	0,0226
Valérico	2,17	1,88	2,52	1,79	3,25	51,59	0,1251
TOTAL	102,93	97,64	105,97	97,51	121,20	22,25	0,2651

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

3.4 Hemograma, leucograma, proteínas de fase aguda e haptoglobina

Não houve interação (P>0,05) entre os aditivos testados e momentos avaliados (antes e após o desafio com LPS), para nenhuma das variáveis analisadas. Entretanto, após a aplicação de LPS, houve aumento (P<0,05) dos valores séricos de hematócrito, hemoglobina e hemácias e diminuição (P<0,05) dos valores séricos de plaquetas, leucócitos e proteína total (Tabelas 6, 7 e 8). As demais variáveis analisadas não foram afetadas pelo desafio com LPS (P>0,05).

Tabela 6. Hemograma dos leitões antes e três horas após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli*[1,2]

Variável		C	300β	450β/ 300F	300β/ 200F	150β/ 100F	Média	valor de p
Hematócrito, %	Antes	48,09	46,68	45,93	49,66	49,32	47,93B	0,9938
	Depois	49,87	48,63	47,28	50,96	51,28	49,89A	
	Média	48,98ab	47,66ab	46,61a	50,31b	50,30b		
Hemoglobina, g/dL	Antes	12,04	12,00	11,59	12,53	12,30	12,09B	0,9183
	Depois	12,73	12,78	12,03	13,03	13,08	12,73A	
	Média	12,38ab	12,39ab	11,81a	12,78b	12,69b		
Hemácia, milhões/µL*	Antes	7,13	6,99	6,83	7,14	7,01	7,02B	0,9517
	Depois	7,51	7,37	7,08	7,38	7,43	7,35A	
	Média	7,32	7,18	6,96	7,26	7,22		
Plaquetas, mil unidades/µL*	Antes	630	544	506	644	577	580A	0,4495
	Depois	377	344	349	439	352	372B	
	Média	503ab	444b	428b	541a	464ab		

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano;

450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Médias com letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P=0,0471 para hematócrito; P=0,0391 para hemoglobina; P=0,0388 para plaquetas); médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P=0,0080 para hematócrito; P<0,0001 para hemoglobina e plaquetas; P=0,0004 para hemácias).

Tabela 7. Leucograma dos leitões antes e três horas após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* [1,2]

Variável		C	300β	450β/ 300F	300β/ 200F	150β/ 100F	Média	Valor-p
Leucócitos, unidade/µL	Antes	16.300	14.880	14.710	14.710	13.850	14.890A	0,7898
	Depois	5.500	5.475	5.513	5.743	3.550	5.156B	
	Média	10.900	10.178	10.112	10.227	8.700		
Linfócito, %	Antes	47,88	50,50	45,13	52,50	50,50	49,30	0,4602
	Depois	47,39	53,25	51,75	51,50	53,38	51,45	
	Média	47,64	51,88	48,44	52,00	51,94		

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,0001).

Tabela 8. Valores séricos de proteína C-reativa, haptoglobina e proteína total dos leitões antes e três horas após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* [1,2]

Variável		C	300β	450β/ 300F	300β/ 200F	150β/ 100F	Média	Valor-p
PCR[3], ng/mL	Antes	1,02	1,11	0,97	1,79	1,36	1,25	0,7440
	Depois	0,95	0,89	1,01	1,64	1,04	1,11	
	Média[2]	0,98a	1,00a	0,99a	1,72b	1,20a		
Haptoglobina, ng/mL	Antes	36,71	103,39	154,72	87,48	38,06	84,07	0,1456
	Depois	41,40	85,55	215,78	81,37	31,52	91,12	
	Média	39,06	94,47	185,25	84,43	34,79		
Proteína Total, g/dL	Antes	5,40	5,34	5,41	5,45	5,36	5,39A	0,8443
	Depois	4,99	4,85	4,99	5,14	4,85	4,96B	
	Média	5,20	5,10	5,20	5,30	5,11		

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Médias com letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P=0,0073); [2]Médias com letras diferentes

na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,0001); [3]PCR = Proteína C-reativa.

3.5 Citocinas

Não houve interação (P>0,05) entre os aditivos utilizados nas dietas e os momentos avaliados (antes e após o desafio com LPS) para as citocinas IL1-β, IL-6 e IL-8 (P>0,05). Entretanto, houve interação entre os momentos avaliados, sendo que após a aplicação de LPS, houve aumento (P<0,05) dos valores séricos de todas as citocinas avaliadas, indicando que a aplicação de LPS foi efetiva para ativação do sistema imunológico do animal.

Para TNF-α (P=0,0194), após a aplicação de LPS, os animais alimentados com a menor dosagem da associação dos aditivos (150β/100F) tiveram maior liberação de TNF-α em relação aos animais alimentados com β-glucano (300β) e animais alimentados com a dosagem 300β/200F e os animais alimentados com a dosagem 300β/200F tiveram menor liberação dessa citocina em relação ao tratamento controle (Tabela 9).

Tabela 9. Valores séricos das citocinas dos leitões antes e 24h após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli* [1,2]

Variável		C	300β	450β/ 300F	300β/ 200F	150β/ 100F	Média	Valor-p
IL-1β[3]	Antes	87	92	80	93	81	87	0,7400
	Depois	397	525	425	533	515	479	
	Média	242	309	253	313	298		
IL-6[4]	Antes	243	196	227	264	218	230	0,8570
	Depois	1.700	1.892	1.495	1.505	1.931	1.704	
	Média	971	1.044	861	884	1.075		
IL-8[5]	Antes	294	858	443	429	442	493	0,1116
	Depois	2.615	5.367	7.078	4.906	11.781	6.349	
	Média	1.454	3.113	3.761	2.667	6.111		
TNF-α[6]	Antes	36aA	152aA	82aA	29aA	118aA	83	0,0194
	Depois	257abB	198bcA	252abB	127cB	357aB	238	
	Média	147	175	167	78	237		

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência); [2]Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha e maiúsculas diferentes na coluna, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). [3]IL1-β = Interleucina 1-β; [4]IL-6 = Interleucina 6; [5]IL-8 = Interleucina 8; [6]TNF-α = Fator de necrose tumoral-α.

3.6 *Temperatura retal*

Não houve interação (P>0,05) entre os tratamentos e os momentos avaliados (antes – 0h, 3h e 24h após aplicação de LPS) para temperatura retal, porém os animais tiveram maior (P<0,05) temperatura retal três horas após aplicação de LPS em comparação aos demais momentos avaliados (Tabela 10).

Tabela 10. Médias de temperatura retal (ºC) dos leitões antes (hora 0), 3h e 24h após o desafio com lipopolissacarídeo de *E.coli*

		Tratamentos[1]						
Variável	Hora	C	300β	450β/ 300F	300β/ 200F	150β/ 100F	Média[2]	Valor-p
Temperatura retal (ºC)	0	38,86	39,06	39,08	39,18	38,75	38,99B	0,7798
	+3h	40,75	40,94	41,01	40,70	40,96	40,75A	
	+24h	38,61	38,88	38,71	38,76	38,54	38,70C	
	Média	39,41	39,63	39,60	39,54	39,42		

[1]C - Dieta basal sem a inclusão de aditivos (controle); 300β - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano; 450β/300F - C com inclusão de 450g/ton de β-glucano + 300g/tonelada da mistura de fitogênicos (150g de extrato de semente de uva e 150g de extrato de Yucca) (associação com 50% acima da dosagem referência); 300β/200F - C com inclusão de 300g/ton de β-glucano + 200g/tonelada da mistura de fitogênicos (100g de extrato de semente de uva e 100g de extrato de Yucca) (associação com dosagem referência); 150β/100F - C com inclusão de 150g/ton de β-glucano + 100g/tonelada da mistura de fitogênicos (50g de extrato de semente de uva e 50g de extrato de Yucca) (associação com 50% abaixo da dosagem referência). [2]Médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

4. Discussão

Neste estudo, os aditivos utilizados nas dosagens fornecidas não apresentaram efeito sobre o desempenho produtivo e incidência de diarreia dos leitões. Em outros estudos, o uso isolado de β-glucanos na dieta de leitões desmamados em dosagem semelhante (280g/ton, [30]), dosagem maior, 500g/ton [31] ou 1.000g/ton [32] também não influenciou o desempenho dos animais. Porém, outros autores conseguiram demonstrar efeito positivo sobre o desempenho dos leitões quando usaram doses superiores a 1kg/ton de β-glucanos do farelo de arroz [5] ou doses menores de β-glucanos de parede de levedura *Saccharomyces cerevisiae* [33, 34]. Também, o uso da mistura de 1% de extrato de farinha de uva e farelo de bagaço de uva [35] ou inclusão de 120g/ton de *Yucca schidigera* na dieta de leitões melhoraram o desempenho [36].

O uso de β-glucano na dieta de leitões desmamados, pode ter efeito benéfico sobre crescimento dos animais, devido a sua capacidade de modular reações imunes específicas,

aumentando a imunidade inespecífica [37]. Também, os fitogênicos já se mostraram promissores sobre o desempenho de suínos [35, 36]. Entretanto, nosso estudo não conseguiu demonstrar os efeitos desses aditivos usados de forma isolada no caso do β-glucanos ou a combinação desse prebiótico com aditivos fitogênicos.

A divergência nos resultados pode ser atribuída às dosagens de β-glucano e fitogênicos usadas nas dietas ou em relação a origem do β-glucano utilizado na dieta e de sua obtenção, pois isso envolve o nível de pureza e método de extração da molécula que foram usados entre os experimentos, pois a própria origem e método de extração do β-glucanos, pode determinar diferentes respostas da molécula diferenciadamente isolados da mesma fonte [38]. E o mecanismo de ação e local onde os princípios ativos dos aditivos fitogênicos atuam estão associados à sua estrutura, forma de como é metabolizado e do nível de inclusão na dieta dos animais [9].

O motivo que pode ter levado a ausência de efeitos em relação a incidência de diarreia neste estudo, talvez esteja relaciona a formulação da ração, que foi realizada com base comercial, que incluiu a adição de óxido de zinco e sulfato de cobre em todas as dietas, que é normalmente usada na suinocultura, com a intenção de diminuir a incidência de diarreia nos leitões [39].

Para morfometria intestinal, os aditivos testados de maneira geral não demonstraram efeito em relação ao grupo controle, fato semelhante relatado por outros autores que trabalharam com β-glucano [34] e fitogênicos [40, 41]. Entretanto, as doses de fitogênicos usadas em nosso trabalho foram semelhantes às reportadas por outros autores. A suplementação de 120g/ton de *Yucca schidigera* na dieta de leitões desmamados, favoreceu o aumento das vilosidades da mucosa do jejuno e íleo [36, 42] e a adição de 250g/ton de extrato de semente de uva na forma de proantocianidinas na dieta de leitões pós-desmame proporcionou melhora na morfologia de todas as porções do intestino delgado [43]. Assim, com base nos achados do nosso trabalho, sugere-se que as menores dosagens de fitogênicos já são suficientes em melhorar a morfometria intestinal dos leitões.

Em relação as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), os animais alimentados com a dieta contendo a menor dosagem dos aditivos proporcionou maior produção de ácido butírico. Outros estudos mostraram resultados semelhantes com maior produção de ácido butírico quando incluíram 50g/ton β-glucano [44], 120 g/ton de *Yucca schidigera* [42], 250 g/ton de proantocianidinas da semente de uva [43] e 8% de farinhas de sementes de uva [17].

Com isso, os aditivos utilizados nas dietas, podem ter influenciado no desenvolvimento da microbiota benéfica, por estarem disponíveis para serem fermentados por microrganismos produtores de AGCC, sendo estes, as bactérias do filo *Firmicutes* de diferentes gêneros, como o gênero *Oscillospira* e *Clostridium*, ambos da ordem *Clostridiales*, responsáveis pela produção de ácido butírico [45]. Isso pode ser vantajoso para o animal, pois os AGCC, além de serem utilizados pelos enterócitos como fonte de energia, atuam sobre os tecidos local, podendo agir na redução dos processos inflamatórios e restringir o desenvolvimento de microrganismos patógenos [46].

Os valores observados sobre as análises sanguíneas em relação a todos os tratamentos neste trabalho, ficaram dentro dos limites fisiológicos classificados como normais para suínos [47, 48]. No entanto, não houve influência entre os tratamentos nos períodos avaliados. Resultados similares foram encontrados por outros autores quando trabalharam com β-glucano [49], extrato de yucca [50] e sementes de uva [51]. Entretanto, o real mecanismo de como esses aditivos influenciam as variáveis sanguíneas de suínos ainda é desconhecido.

Nesse estudo, era esperado a diminuição dos valores séricos de hematócrito, hemoglobina, hemácias. Entretanto, houve aumento desses valores, o que pode sugerir uma situação de desidratação, o que leva a maior concentração de hemácias na amostra, devido a diminuição da parte aquosa do sangue. Devido a isso, aconteça a elevação na proporção de hemoglobina na amostra [52, 53].

Foi demonstrado que o LPS de *E.coli* tem capacidade de ligar-se ao TLR4 (do inglês, toll-like receptor 4) das plaquetas, ativando-as [54]. Ratos com lesões epiteliais tiveram migração dos leucócitos aos trombos plaquetários, mostrando que esse processo é mediado pelas plaquetas [55]. Assim, a redução na proporção de plaquetas e de leucócitos para todos os grupos após o desafio, mostrou que o desafio com LPS foi eficiente e possivelmente severo, para provocar uma reação celular nos animais. Isso ocorre por causa da reação inflamatória aguda gerada pela LPS, que leva a queda imediata das concentrações dos leucócitos nos leitões [56] e de plaquetas. Os leucócitos atuam em processos infecciosos, o que indica possível migração dessas células para o local lesionado [57]. Entretanto, os aditivos testados não foram capazes de minimizar essa resposta celular, possivelmente pela severidade do desafio imunológico imposto aos animais

Após o desafio com LPS houve redução nos valores séricos de proteína total, o que era esperado, pois a redução destas proteínas é esperada nos casos de reação

inflamatória aguda [58]. As concentrações encontradas para proteínas séricas podem ser classificadas como normais para os parâmetros da espécie suína [47]. Não houve diferença de concentração do PCR antes e pós-desafio com LPS, entretanto, os animais alimentados com 300β/200F apresentaram maior concentração dessa proteína. O aumento da concentração de PCR durante a resposta imune, é bom para os animais, devido as ações pró e anti-inflamatórias dessa proteína durante o processo inflamatório [59].

Durante o processo da inflamação aguda, observa-se elevação da concentração de proteínas de fase aguda, com picos de 24 e 48 horas após início do processo inflamatório, sendo que a proteína C-reativa (PCR) e haptoglobina são as mais relevantes em suínos [60].

Os resultados sobre a resposta imune no presente estudo, foram similares em estudos com adição de β-glucano nas concentrações com 150g/ton, 300g/ton [61], 500g/ton e 1000g/ton [62] da dieta, em que este aditivo não apresentou efeito sobre os leitões desmamados. No entanto, outros autores relataram que a suplementação com β-glucano, aumentou significativamente na atividade de proliferação de linfócitos e resposta imune em leitões pós-desmame com suplementação de 50g/ton [33] e com 1.000g/ton de β-glucano [32].

Os resultados apresentam-se controversos sobre ação dos aditivos e proporções utilizadas, isso talvez possa estar atribuído à fonte de obtenção, as variações de peso molecular, os graus de ramificação da molécula, configuração e relações intermoleculares, que possam influenciar nas funções e ações biológicas do β-glucano [63].

Houve aumento das concentrações das citocinas séricas após o desafio com LPS evidenciando o efeito do desafio realizado, uma vez que induziu a resposta inflamatória mediada pelo aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias [64]. No entanto, após o desafio, as concentrações de 300β e 300β/200F de β-glucano na dieta, foram mais eficientes em diminuir a liberação de TNF-α do que em relação aos animais do grupo 150β/100F, que tiveram maior liberação dessa citocina.

O TNF-α é uma citocina pró-inflamatória com função de modular a imunidade, regular a utilização de nutrientes e deprime o crescimento de animais no período pós-natais [64]. Assim sugere-se que a proporção de 300β/200F na dieta foi capaz de modular a resposta imunológica, minimizando os efeitos pró-inflamatórios, após apresentaram menor liberação dessa citocina.

Estudos mostraram que as concentrações de 100 e 200g/ton de β-glucanos

adicionados nas dietas de leitões desmamados e desafiados com LPS *Escherichia coli*, também apresentaram aumento nas concentrações de TNF-α [65] e que a inclusão de β-glucano na dieta em determinadas doses podem estimular ou suprimir a liberação de TNF-α. [66]. Então, é possível que possa ter ocorrido o estimulo da liberação de TNF-α nos tratamentos dos grupos 300β, 450β/300F e 150β/100F, devido terem apresentado concentrações maiores de TNF-α antes do desafio e da concentração ainda maior do grupo 150β/100F após o desafio.

Apenas houve diferença de temperatura retal entre os períodos analisados, demonstrando que houve reação inflamatória no período após da aplicação da LPS. Isso acontece, pois no desafio imunológico, a resposta aguda da inflamação leva a síntese de citocinas, o aumento das taxas de metabolismo para a produção de proteínas de fase aguda e elevação da temperatura corporal [59]. Apesar dos animais alimentados com o tratamento 300β/200F terem minimizado a liberação de TNF-α, nenhuma das dosagens testadas foi capaz de controlar ou reduzir a elevação da temperatura corporal dos animais desafiados, ocasionada pela fase aguda da resposta inflamatória.

Conclusão

Conclui-se que, de maneira geral, que combinação dos aditivos na proporção de 300β/200F pode ser eficiente em reduzir possíveis danos causados por reações inflamatórias do sistema imunológico; entretanto, a dosagem menor de 150β/100F foi suficiente para promover ambiente intestinal favorável aos leitões com maior produção de ácido butírico pela microbiota intestinal.

Referências bibliográficas

1. García GR, Dogi CA, Ashworth GE, et al. Effect of breast feeding time on physiological, immunological and microbial parameters of weaned piglets in an intensive breeding farm. Vet Immunol Immunopathol. Ago 2016;176:44-9. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.02.009
2. Cranwell PD. The development of acid and pepsin (EC 3. 4. 23. 1) secretory capacity in the pig; the effects of age and weaning. Br J Nutr. Jul 1985;54(1):305-20. https://doi.org/10.1079/bjn19850113

3. Pluske JR. Feed- and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs. J Anim Sci Biotechnol. 7 jan 2013;4(1). https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-1
4. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. J Nutr. 1 jun 1995;125(6):1401-12. https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401
5. Park JH, Lee SI, Kim IH. Effect of dietary β-glucan supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and characteristics of feces in weaned pigs. J Appl Anim Res. 1 jan 2018;46(1):1193-7. https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1481855
6. Stuyven E, Cox E, Vancaeneghem S, Arnouts S, Deprez P, Goddeeris BM. Effect of β-glucans on an ETEC infection in piglets. Vet Immunol Immunopathol. Mar 2009;128(1-3):60-6. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.311
7. Williams DL, Mueller A, Browder W. Glucan-Based Macrophage Stimulators. Clin Immunother. Maio 1996;5(5):392-9. https://doi.org/10.1007/bf03259335
8. Peric L, Zikic D, Lukic M. Application of alternative growth promoters in broiler production. Biotehnol U Stocarstvu. 2009;25(5-6-1):387-97. https://doi.org/10.2298/bah0906387p
9. Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry1. J Anim Sci. 1 abr 2008;86(suppl_14):E140—E148. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0459
10. Chedea VS, Braicu C, Chirilă F, Ober C, Socaciu C. Antibacterial action of an aqueous grape seed polyphenolic extract. Afr J Biotechnol. 2011;10(33):6276-6280. https://doi.org/10.5897/AJB10.2373
11. Amiot MJ, Riva C, Vinet A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. Obes Rev. 15 abr 2016;17(7):573-86. https://doi.org/10.1111/obr.12409
12. Wang H, Xue Y, Zhang H, et al. Dietary grape seed extract ameliorates symptoms of inflammatory bowel disease in IL10-deficient mice. Mol Nutr Amp Food Res. 21 ago 2013;57(12):2253-7. https://doi.org/10.1002/mnfr.201300146
13. Gessner DK, Fiesel A, Most E, et al. Supplementation of a grape seed and grape marc meal extract decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF-κB and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs. Acta Vet Scand. 2013;55(1):18. https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-18

14. Hao R, Li Q, Zhao J, Li H, Wang W, Gao J. Effects of grape seed procyanidins on growth performance, immune function and antioxidant capacity in weaned piglets. Livest Sci. Ago 2015;178:237-42. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.06.004
15. Adámez JD, Samino EG, Sánchez EV, González-Gómez D. In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (Vitis vinifera L.). Food Control. Mar 2012;24(1-2):136-41. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.09.016
16. Tsuda T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. Mol Nutr Amp Food Res. 21 nov 2011;56(1):159-70. https://doi.org/10.1002/mnfr.201100526
17. Grosu IA, Pistol GC, Marin DE, Cişmileanu A, Palade LM, Ţăranu I. Effects of Dietary Grape Seed Meal Bioactive Compounds on the Colonic Microbiota of Weaned Piglets With Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Used as an Inflammatory Model. Front Vet Sci. 26 fev 2020;7. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00031
18. Arabski M, Węgierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W. Effects of Saponins against ClinicalE. coliStrains and Eukaryotic Cell Line. J Biomed Biotechnol. 2012;2012:1-6. https://doi.org/10.1155/2012/286216
19. Duffy CF, Killeen GF, Connolly CD, Power RF. Effects of Dietary Supplementation withYucca schidigeraRoezl ex Ortgies and Its Saponin and Non-saponin Fractions on Rat Metabolism. J Agric Food Chem. Jul 2001;49(7):3408-13. https://doi.org/10.1021/jf010149+
20. Giffard CJ, Collins SB, Stoodley NC, Butterwick RF, Batt RM. Administration of charcoal, Yucca schidigera, and zinc acetate to reduce malodorous flatulence in dogs. J Am Vet Med Assoc. Mar 2001;218(6):892-6. https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.892
21. Katsunuma Y, Nakamura Y, Toyoda A, Minato H. Effect of Yucca shidigera Extract and Saponins on Growth of Bacteria Isolated from Animal Intestinal Tract. Nihon Chikusan Gakkaiho. 2000;71(2):164-70. https://doi.org/10.2508/chikusan.71.164
22. Rostagno HS, Albino LFT, Hannas MI, et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4ª ed. Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV; 2017.
23. Marquardt RR, Jin LZ, Kim JW, Fang L, Frohlich AA, Baidoo SK. Passive protective effect of egg-yolk antibodies against enterotoxigenicEscherichia coliK88+

infection in neonatal and early-weaned piglets. FEMS Immunol Amp Med Microbiol. Abr 1999;23(4):283-8. https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.1999.tb01249.x

24. Heo JM, Kim JC, Hansen CF, Mullan BP, Hampson DJ, Pluske JR. Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of Escherichia coli1. J Anim Sci. 1 set 2009;87(9):2833-43. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1274
25. Behmer OA, Tolosa EMC, Neto AGF. Manual de técnicas para histologia normal e patológica: EDART. São Paulo: Livraria Editora Ltda; 1976.
26. Ferreira EM, Pires AV, Susin I, et al. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. Anim Feed Sci Technol. Jun 2016;216:30-9. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.007
27. Dacie JD, Lewis SM. Practical Hematology. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1995.
28. Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Official methods of analysis of AOAC international. 16ª ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists; 1976.
29. Statistical Analysis System. User's Guide: Statistics, Version 8.2. SAS Institute, NC, USA. 2001.
30. Ledur VS, Ribeiro AM, Kessler AM, et al. Respostas fisiológicas e de desempenho de leitões suplementados com B-glucanos e desafiados imunologicamente. Arq Bras Medicina Vet Zootec. Abr 2012;64(2):443-50. https://doi.org/10.1590/s0102-09352012000200025
31. Luna UV, Caramori Júnior JG, Corrêa GS, et al. Mananoligossacarídeo e ß-glucano em dietas de leitões desmamados. Arq Bras Medicina Vet Zootec. Abr 2015;67(2):591-9. https://doi.org/10.1590/1678-7146
32. Zhou TX, Jung JH, Zhang ZF, Kim IH. Effect of dietary β-glucan on growth performance, fecal microbial shedding and immunological responses after lipopolysaccharide challenge in weaned pigs. Anim Feed Sci Technol. Jan 2013;179(1-4):85-92. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.10.008
33. Wang Z, Guo Y, Yuan J, Zhang B. Effect of Dietary β-1,3/1,6-glucan Supplementation on Growth Performance, Immune Response and Plasma

Prostaglandin E2, Growth Hormone and Ghrelin in Weanling Piglets. Asian Australas J Anim Sci. 6 maio 2008;21(5):707-14. https://doi.org/10.5713/ajas.2008.70559

34. Mendes CB, Fontes DO, Guedes RM, et al. Suplementação de betaglucano a dietas de leitões de 21 a 60 dias de idade. Arq Bras Medicina Vet Zootec. Jun 2010;62(3):696-705. https://doi.org/10.1590/s0102-09352010000300026
35. Fiesel A, Gessner DK, Most E, Eder K. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. BMC Vet Res. 4 set 2014;10(1). https://doi.org/10.1186/s12917-014-0196-5
36. Yang Z, Wang Y, He T, et al. Effects of Dietary Yucca Schidigera Extract and Oral Candida utilis on Growth Performance and Intestinal Health of Weaned Piglets. Front Nutr. 26 maio 2021;8. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.685540
37. Mowat AM. The regulation of immune responses to dietary protein antigens. Immunol Today. Jan 1987;8(3):93-8. https://doi.org/10.1016/0167-5699(87)90853-x
38. Volman JJ, Ramakers JD, Plat J. Dietary modulation of immune function by β-glucans. Physiol Amp Behav. Maio 2008;94(2):276-84. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.045
39. Kwon CH, Lee CY, Han SJ, et al. Effects of dietary supplementation of lipid-encapsulated zinc oxide on colibacillosis, growth and intestinal morphology in weaned piglets challenged with enterotoxigenicEscherichia coli. Anim Sci J. 5 maio 2014;85(8):805-13. https://doi.org/10.1111/asj.12215
40. Manzanilla EG, Nofrarías M, Anguita M, et al. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs1. J Anim Sci. 1 out 2006;84(10):2743-51. https://doi.org/10.2527/jas.2005-509
41. Costa LB, Almeida VV, Berenchtein B, Tse MLP, Andrade C, Miyada VS. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como alternativas aos antibióticos para leitões desmamados. Arch Zootec. Set 2011;60(231):733-44. https://doi.org/10.4321/s0004-05922011000300061
42. Fan X, Xiao X, Chen D, et al. *Yucca schidigera* extract decreases nitrogen emission via improving nutrient utilisation and gut barrier function in weaned piglets. J Anim Physiol Anim Nutr . 19 out 2021. https://doi.org/10.1111/jpn.13647
43. Han M, Song P, Huang C, et al. Dietary grape seed proanthocyanidins (GSPs)

improve weaned intestinal microbiota and mucosal barrier using a piglet model. Oncotarget. 18 nov 2016;7(49):80313-26. https://doi.org/10.18632/oncotarget.13450

44. Luo J, Chen D, Mao X, et al. Purified β-glucans of Different Molecular Weights Enhance Growth Performance of LPS-challenged Piglets via Improved Gut Barrier Function and Microbiota. Animals. 24 ago 2019;9(9):602. https://doi.org/10.3390/ani9090602
45. Gophna U, Konikoff T, Nielsen HB. Oscillospiraand related bacteria - From metagenomic species to metabolic features. Environ Microbiol. 3 fev 2017;19(3):835-41. https://doi.org/10.1111/1462-2920.13658
46. Blaut M, Clavel T. Metabolic Diversity of the Intestinal Microbiota: Implications for Health and Disease. J Nutr. 1 mar 2007;137(3):751S—755S. https://doi.org/10.1093/jn/137.3.751s
47. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's veterinary hematology/editors Feldman, Joseph G. Zinkl, Nemi C. Jain. 5ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
48. Meyer DJ, Harvey JW. Evaluation of erythrocytic disorders. In: _____. Veterinary laboratory medicine. 3ª ed. Philadelphia: Elsevier; 2004
49. Anjos CM, Gois FD, Anjos CM, et al. Effects of dietary beta-glucans, glucomannans and mannan oligosaccharides or chlorohydroxyquinoline on the performance, diarrhea, hematological parameters, organ weight and intestinal health of weanling pigs. Livest Sci . Maio 2019;223:39-46. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.02.018
50. Hong JW, Kim IH, Moon TH, Kwon OS, Lee SH, Kim YG. Effects of Yucca Extract and (or) Far Infrared Emitted Materials Supplementation on the Growth Performance, Serum Characteristics and Ammonia Production of Growing and Finishing Pigs. Asian Australas J Anim Sci. 1 set 2001;14(9):1299-303. https://doi.org/10.5713/ajas.2001.1299
51. Taranu I, Habeanu M, Gras MA, et al. Assessment of the effect of grape seed cake inclusion in the diet of healthy fattening-finishing pigs. J Anim Physiol Anim Nutr. 1 mar 2017;102(1):e30-e42. https://doi.org/10.1111/jpn.12697
52. Barger AM. The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. Vet Clin North Am. Nov 2003;33(6):1207-22. https://doi.org/10.1016/s0195-5616(03)00100-1
53. Gallagher PG. Disorders of erythrocyte hydration. Blood. 21 dez

2017;130(25):2699-708. https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-590810

54. Stahl AL, Svensson M , Morgelin M, et al. Lipopolysaccharide from enterohemorrhagic Escherichia coli binds to platelets through TLR4 and CD62 and is detected on circulating platelets in patients with hemolytic uremic syndrome. Blood. 1 jul 2006;108(1):167-76. https://doi.org/10.1182/blood-2005-08-3219
55. Ghasemzadeh M, Kaplan ZS, Alwis I, et al. The CXCR1/2 ligand NAP-2 promotes directed intravascular leukocyte migration through platelet thrombi. Blood. 30 maio 2013;121(22):4555-66. https://doi.org/10.1182/blood-2012-09-459636
56. Collier CT, Carroll JA, Ballou MA, Starkey JD, Sparks JC. Oral administration of Saccharomyces cerevisiae boulardii reduces mortality associated with immune and cortisol responses to Escherichia coli endotoxin in pigs1. J Anim Sci . 1 jan 2011;89(1):52-8. https://doi.org/10.2527/jas.2010-2944
57. LEVINSON W. Review of medical microbiology and immunology. 13ª ed: McGraw-Hill Education; 2014.
58. Silva TCP, Mota SB, Almeida MM, et al. Efeito do tamoxifeno no perfil das proteínas plasmáticas em condição de diabetes mellitus tipo 1. Acta Cir Bras. 2005;20(suppl 1):86-93. https://doi.org/10.1590/s0102-86502005000700016
59. Tizard IR. Imunologia Veterinária. 9ª ed. São Paulo: Elsevier; 2014.
60. Heegaard PM, Klausen J, Nielsen JP, et al. The Porcine Acute Phase Response to Infection with Actinobacillus pleuropneumoniae. Haptoglobin, C-Reactive Protein, Major Acute Phase Protein and Serum Amyloid A Protein Are Sensitive Indicators of Infection. Comp Biochem Physiol. Fev 1998;119(2):365-73. https://doi.org/10.1016/s0305-0491(97)00362-3
61. Hiss S, Sauerwein H. Influence of dietary ss-glucan on growth performance, lymphocyte proliferation, specific immune response and haptoglobin plasma concentrations in pigs. J Anim Physiol Anim Nutr. Fev 2003;87(1-2):2-11. https://doi.org/10.1046/j.1439-0396.2003.00376.x
62. Mao XF, Piao XS, Lai CH, Li DF, Xing JJ, Shi BL. Effects of β-glucan obtained from the Chinese herb Astragalus membranaceus and lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal, and somatotropic responses of weanling pigs1. J Anim Sci. 1 dez 2005;83(12):2775-82. https://doi.org/10.2527/2005.83122775x
63. Bohn JA, BeMiller JN. (1→3)-β-d-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. Carbohydr Polym. Jan

1995;28(1):3-14. https://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00076-3

64. Wright KJ, Balaji R, Hill CM, Dritz SS, Knoppel EL, Minton JE. Integrated adrenal, somatotropic, and immune responses of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. J Anim Sci. 2000;78(7):1892. https://doi.org/10.2527/2000.7871892x
65. Li J, Li DF, Xing JJ, Cheng ZB, Lai CH. Effects of β-glucan extracted from Saccharomyces cerevisiae on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with Escherichia coli lipopolysaccharide1. J Anim Sci. 1 set 2006;84(9):2374-81. https://doi.org/10.2527/jas.2004-541
66. Hoffman OA, Olson EJ, Limper AH. Fungal β-glucans modulate macrophage release of tumor necrosis factor-α in response to bacterial lipopolysaccharide. Immunol Lett. Jul 1993;37(1):19-25. https://doi.org/10.1016/0165-2478(93)90127-n

Implicações

O estudo contribui para a comunidade de produtores, empresas e pesquisadores da área de nutrição de suínos, por demonstrar que combinações de prebiótico e misturas fitogênicas estudadas agiram na resposta imune de leitões recém-desmamados. A avaliação de aditivos prebióticos e fitogênicos como melhoradores de desempenho e saúde dos leitões, é de grande importância na suinocultura, pois busca trazer maior eficiência e redução de custos na produção, além melhora na saúde dos animais. Porém, existem as dificuldades em se conseguir encontrar as concentrações exatas desses bioativos, que tragam os benefícios e melhorias necessárias sobre o desempenho e a saúde do animal, com melhor retorno econômico ao produtor.

No entanto, deve-se ressaltar que apenas a utilização de aditivos não será eficaz de forma isolada na melhoria do desempenho e sanidade dos animais, pois depende dos manejos produtivos, profiláticos e da condição sanitária da granja, devendo ser realizados de forma eficiente, visto que a utilização dos aditivos vem para auxiliar na produtividade do setor.

Novos estudos avaliando as combinações de prebióticos e fitogênicos, podem ser realizados, com maiores investigações sobre o modo de ação, devido ao fato de que a utilização de aditivos pode melhorar a morfometria intestinal, para assim ocorrer melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, e com isso, melhorar o desempenho dos animais, além de poderem ser utilizados em momentos de maior desafio à saúde animal, e também acompanhar os animais do desmame à terminação, tendo a hipótese que com a melhora da saúde e do desempenho dos leitões, devido a inclusão destes aditivos na sua alimentação em fase de creche, pode implicar no menor período de tempo para o abate, o que reduz os custos de permanência destes animais na propriedade.