

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

AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E  
ACIDIFICANTES ORGÂNICOS NA DIETA DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

LETICIA GARBIN RIBEIRO DA SILVA

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

BOTUCATU – SP  
Novembro de 2023



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

AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) E  
ACIDIFICANTES ORGÂNICOS NA DIETA DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

LETICIA GARBIN RIBEIRO DA SILVA

Orientador: Prof. Ass. Dr. Marcos Livio Panhoza Tse

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

BOTUCATU – SP  
Novembro de 2023

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Leticia Garbin Ribeiro da Silva - natural de Taboão da Serra/SP, filha de Sônia Juçara Garbin da Silva e Soli Ribeiro da Silva, nascida no dia 28 de outubro de 1996. Ingressou na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, no curso de Zootecnia em fevereiro de 2014, e graduou-se em dezembro de 2018. Em agosto de 2020 ingressou no Curso de Mestrado em Zootecnia, pelo Programa de Pós Graduação da mesma instituição, sob orientação do Prof. Ass. Dr. Marcos Livio Tse, onde foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq, atuando na área de nutrição e produção de suínos.

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu irmão, Vitor Garbin Ribeiro da Silva, o qual me acompanhou desde o início dessa jornada, porém, infelizmente não estará presente na conclusão.

Que descanse em paz, te amo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, que me apoiaram de diversas formas durante toda minha vida, e ao meu irmão Vitor, por ter servido de inspiração em muitos momentos, e também por ter me enxergado da mesma forma.

Agradeço ao meu orientador, o qual foi muito paciente e compreensivo no momento que mais precisei, assim como outros docentes e membros do programa.

Agradeço também ao órgão de fomento onde fui bolsista, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq, e à empresa ANPARIO, a qual financiou o experimento.

Agradeço à minha psicóloga Isabela, a qual me guiou e procurou encontrar soluções para que eu continuasse caminhando e concluísse o que tinha me proposto.

Agradeço às minhas amigas Catarina e Larissa, que estiveram comigo nos melhores e piores momentos da minha vida, me apoiando, me acalmando, me dando força e confiança.

Agradeço a todas as pessoas que já passaram pela República Topa Tudo. Sem a companhia delas, eu não teria conseguido sair da posição que me encontrei por diversos dias.

Agradeço a todos os meus amigos que de alguma forma me ajudaram, mesmo quando não era a intenção.

Agradeço a todos que acreditaram em mim, até quando eu mesma desacreditava.

E por fim, agradeço até aos meus cães, que me fizeram sorrir quando eu já tinha esquecido como fazer isso.

## EPÍGRAFE

“...uma nova mudança em breve vai  
acontecer  
O que há algum tempo era novo, jovem  
Hoje é antigo  
E precisamos todos rejuvenescer”

Antonio Carlos Belchior

## RESUMO GERAL

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão da mistura de AO (acético, butírico e propiônico) e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (OEO) na dieta de leitões recém-desmamados como alternativas ao antimicrobiano sobre o desempenho, morfometria do intestino delgado e microbiota intestinal). As dietas experimentais foram: H = dieta controle com 120 ppm de Halquinol; OE = dieta controle com 1,0kg/ton (pré-inicial I) e 0,5kg/ton (nas demais fases) óleo essencial de orégano; AO = dieta controle com 3,0kg/ton (pré-inicial I e II) e 1,5kg/ton (inicial) de mistura de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico); OEAO = dieta controle com 0,5kg/ton (todas as fases) de óleo essencial de orégano e 1,5kg/ton (todas as fases) de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico). Não houve diferença entre os tratamentos sobre as variáveis de desempenho em nenhum dos períodos avaliados. Para morfometria intestinal, comprando-se por contraste ortogonal, os animais alimentados com OE ou AO tiveram maior relação altura de vilosidade:profundidade de cripta do duodeno ( $P=0,0439$ ) e menor profundidade de cripta do jejuno ( $P=0,0262$ ) em relação ao tratamento com halquinol. Com relação à microbiologia intestinal, os animais alimentados com OEAO tiveram menor contagem de coliformes totais, *Escherichia coli* e lactobacilos ( $P<0,05$ ) em relação à dieta controle. Também, comparando-se por contrastes ortogonais, consistentemente os animais alimentados com os aditivos testados individualmente ou não, apresentaram menor contagem desses microrganismos ( $P<0,0220$ ). Conclui-se, portanto, que a inclusão dos ácidos orgânicos e óleo essencial na dieta dos leitões manteve o desempenho animal, com efeito positivo na contagem de *E. coli*, coliformes totais e melhora na morfometria intestinal, mostrando ser alternativas promissoras aos antibióticos na alimentação de leitões.

**Palavras-chave:** ácidos orgânicos, antibióticos, leitões desmamados, fitogênico.



**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the effects of including a blend of AO (acetic, butyric and propionic) and oregano essential oil (*Origanum vulgare*) (OE) in the diet of weaned pigs as alternatives to antimicrobials on performance, intestinal morphometry and microbiota. The experimental diets were: H = control diet with 120 ppm Halquinol; OE = control diet with 1.0kg/ton (pre-initial I) and 0.5kg/ton (in the other phases) oregano essential oil; AO = control diet with 3.0kg/ton (pre-initial I and II) and 1.5kg/ton (initial) of a mixture of short-chain fatty acids (acetic, propionic and butyric); OEAO = control diet with 0.5kg/ton (all phases) of oregano essential oil and 1.5kg/ton (all phases) of short-chain fatty acids (acetic, propionic and butyric). Growth performance was not affected by the treatments in any evaluated period. For intestinal morphometry, comparing by orthogonal contrast, the animals fed OE or AO had higher villous height:crypt depth ( $P=0,0439$ ) and lower crypt depth ( $P=0,0262$ ) than halquinol treatment. Regarding intestinal microbiota, animals fed OEAO had lower counting of total coliforms, *Escherichia coli* and lactobacilos than control diet. Also, comparing by orthogonal contrast, consistently the animals fed tested additives, alone or in combination, showed lower counting of these microorganisms. ( $P<0,020$ ). It is concluded that organic acids and essential oil in pig diets kept the performance, with positive effect in *E.coli*, total coliforms and improvement in intestinal morphometry, showing be promising alternatives to in-feed antibiotics for piglets.

**Keywords:** organic acids, antibiotics, weaned piglets, phytogenic.

## LISTA DE TABELAS

1  
2  
3  
  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24

## CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1.</b> Composição percentual das dietas experimentais (na base de matéria natural).....	22
<b>Tabela 2.</b> Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões durante o período experimental (36 dias).....	26
<b>Tabela 3.</b> Microbiologia cecal dos leitões aos 55d de idade (log 10 UFC/g).....	27
<b>Tabela 4.</b> Microbiologia cecal dos leitões aos 55d de idade (log 10 UFC/g).....	29

1  
2**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

%	Porcentagem
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGMC	Ácidos graxos de cadeia média
AO	Ácidos orgânicos
APT	Água peptonada tamponada
AV	Altura de vilosidades
C	Dieta controle
CA	Conversão alimentar
CDR	Consumo diário de ração
CEUA	Comitê de Ética para o Uso Animal
CV	Coefficiente de variação
d	Dias
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
g	Gramas
GDP	Ganho de peso diário
H	Dieta controle com adição de Halquinol
HE	Hematoxilina-eosina
LPS	Lipossacarídeo
m <sup>2</sup>	Metros quadrados
mg	Miligramas
mg/L	Miligramas por litro
mL	Microlitros
mm	Milímetros
°	Graus
°C	Graus Celcius
OE	Óleos essenciais
OEAO	Combinação do óleo essencial e ácidos orgânicos
OEO	Óleo essencial de orégano
PC	Profundidade das criptas
PP	Placa de Peyer

RPM	Rotação por minuto
TCA	Ácidos tricarboxílicos
TGI	Trato gastrointestinal
uL	Microlitro
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
UNIPEX	Unidade de Pesquisa Experimental
W	Watts

1

2

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	1
1. Considerações iniciais.....	2
2. Revisão de Literatura.....	3
2.1. Aspectos nutricionais e fisiológicos relacionados à fase pós desmame.....	3
2.2. Microbiota intestinal e sua interação com o hospedeiro.....	4
2.3. Ácidos orgânicos em suínos.....	6
2.4. Óleos essenciais em suínos.....	8
Referências.....	11
 <b>CAPÍTULO 2. “Avaliação do óleo essencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>) e acidificantes orgânicos na dieta de leitões recém-desmamados” .....</b>	 17
Resumo.....	19
1. Introdução.....	20
2. Materiais e Métodos.....	21
2.1. Instalação experimental e animais.....	21
2.2. Delineamento e dietas experimentais.....	22
2.3. Variáveis Analisadas.....	24
2.3.1. Desempenho animal.....	24
2.3.3. Morfometria e microbiologia.....	24
2.4. Análises estatísticas.....	25
3. Resultados e Discussão.....	25
4. Conclusões.....	39
Referências.....	30
 <b>IMPLICAÇÕES</b> .....	 36



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33

**CAPÍTULO 1**

## 1        **Considerações Iniciais**

2  
3        Na fase pós-desmame o leitão possui trato gastrintestinal imaturo e a brusca mudança na  
4 forma do alimento, pode levar esse animal a um quadro de diarreia severa (MO et al., 2022).  
5 Para contornar essa situação, os antibióticos em doses subterapêuticas têm sido usados como  
6 promotores do crescimento, por garantirem boa eficiência alimentar e, conseqüentemente,  
7 bom ganho de peso aos animais que estes são administrados (HELM et al., 2019).

8        Entretanto, existe preocupação por parte dos consumidores com a questão da resistência  
9 bacteriana cruzada, ou até então sobre o aparecimento de novas estirpes prejudiciais à saúde  
10 humana, provenientes até mesmo de microrganismos que não ofereciam risco aos humanos  
11 (VERSTEGEN e WILLIAMS, 2002). Devido à essa questão, estudos vêm sendo conduzidos  
12 com aditivos alternativos aos antibióticos para manter ou superar o desempenho dos animais,  
13 tais como ácidos orgânicos (AO) (TUGNOLI et al., 2020) e óleos essenciais (OE) (YANG et  
14 al., 2018).

15        Os ácidos orgânicos de cadeia curta (AGCC) são produzidos pela fermentação  
16 microbiana de aminoácidos e açúcares no intestino delgado dos animais, formados por ao  
17 menos um átomo de oxigênio e até 5 de carbono (TUGNOLI et al., 2020). Eles possuem  
18 ação acidificante no intestino, que resulta em maior potencial de digestibilidade dos  
19 nutrientes (KOVANDA et al., 2019), e propriedades antimicrobianas, que devido ao seu  
20 caráter lipofílico reduzem a viabilidade bacteriana, o que por fim leva a sua morte (GÓMEZ-  
21 GARCÍA et al. e KOVANDA et al., 2019).

22        Os principais ácidos usados na alimentação de suínos são o acético, propiônico e  
23 butírico, que se mostram eficientes para diminuir concentração de microrganismos  
24 patogênicos, melhorar desempenho e controlar diarreia pós-desmame (SUIRYANRAYNA e  
25 RAMANA, 2015; DENCK et al., 2017; REN et al., 2019; PEARLIN et al., 2020;).  
26 Entretanto, os estudos com leitões mostram efeitos variados (GÓMEZ-GARCÍA et al., 2019;  
27 TUGNOLI et al., 2020).

28        Por sua vez, os OE são substâncias formadas de terpenóides e fenóis, solúveis em  
29 lipídios, o que lhes conferem potencial de romper a membrana celular bacteriana (GÓMEZ-  
30 GARCÍA et al., 2019). Além do potencial antimicrobiano capaz de contornar gastroenterites  
31 e melhorar a saúde intestinal (MO et al., 2022), também é anti-inflamatório e antioxidante  
32 (HALL, H. N et al., 2021) e melhorador de desempenho de suínos (SHAO et al., 2023).  
33 Dentre os óleos essenciais usados na alimentação animal, o óleo essencial de orégano



1 (*Origanum vulgare L.*) (OEO) tem mostrado ação antioxidante, atividade antifúngica,  
2 antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e bacteriostática, abrangendo grande espectro  
3 contra patógenos Gram-positivos e negativo e ação antioxidante (FORTE et al., 2017;  
4 MADIOUNI et al., 2020; YONCHEVA et al., 2021).

5 Porém, esses resultados podem variar de acordo com o ambiente de criação, manejo  
6 aplicado, genética dos animais, sistema de alimentação, além da composição do OEO  
7 utilizado (FORTE et al., 2017; MADIOUNI et al., 2020).

8 Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de AO (acético,  
9 butírico e propiônico) e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (OEO) na dieta de  
10 leitões recém-desmamados em substituição ao antimicrobiano sobre o desempenho,  
11 incidência de diarreia, saúde intestinal (morfometria do intestino delgado, concentração de  
12 ácidos graxos de cadeia curta) e sobre os parâmetros sanguíneo quando desafiados com  
13 Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS).

14

## 15 **1. Revisão de Literatura**

### 16 *1.1 Aspectos nutricionais e fisiológicos relacionados à fase pós desmame*

17 Na produção em larga escala, os leitões são desmamados de forma prematura,  
18 geralmente entre a segunda e a quarta semana de vida, ao contrário do que ocorre na  
19 natureza, em que o desmame é gradual e ocorre por volta de 10 a 12 semanas de idade. No  
20 entanto, devido ao desmame precoce, os leitões acabam apresentando alterações  
21 morfológicas no trato gastrintestinal (TGI), resultando em menor capacidade de absorção de  
22 nutrientes e, conseqüentemente, em menor disponibilidade de energia (MODINA et al.,  
23 2019).

24 Durante as primeiras duas semanas após o desmame, ocorrem momentos críticos nos  
25 quais a função protetora da barreira epitelial é comprometida e o sistema imunológico do  
26 trato gastrintestinal é ativado, o que pode resultar em diminuição do consumo de ração e  
27 distúrbios intestinais (MOESER et al., 2017). Esse processo é altamente estressante, não  
28 apenas devido à separação abrupta dos filhotes de sua mãe, mas também devido ao  
29 transporte, à mistura de grupos, que causa conflitos para estabelecer nova hierarquia, ao  
30 estresse relacionado à administração de vacinas e à introdução de uma nova fonte de  
31 alimento (CAMPBELL et al., 2013).

32 A transição da alimentação líquida para sólida pode levar à diminuição na produção  
33 de ácido clorídrico (HCl) no estômago, o que pode ter efeitos adversos. O HCl desempenha

1 funções essenciais, como a ativação da pepsina, a desnaturação de proteínas e o estímulo à  
2 produção de outras enzimas digestivas (HEO et al., 2009). Durante esse período, a  
3 morfologia intestinal também sofre alterações, visto que com a redução da ingestão de  
4 alimentos, as vilosidades diminuem de tamanho, a cripta é alongada, comprometendo a  
5 função da barreira mucosa intestinal, levando a uma piora na digestão e absorção de  
6 nutrientes, resultando em menor ganho de peso dos animais (Hedemann et al., 2006; Wang  
7 et al., 2021)

8 Além disso, Campbell et al. (2013) notaram que ocorre insuficiência das enzimas  
9 digestivas, como proteases, lipases e amilases, que são necessárias para digerir os novos  
10 alimentos introduzidos na dieta, fazendo com que esses fatores contribuam para os  
11 problemas gastrintestinais mencionados anteriormente.

12

### 13 1.2 Microbiota intestinal e sua interação com o hospedeiro

14 A microbiota intestinal dos suínos é uma comunidade complexa e semelhante à de  
15 outras espécies. Ela começa a se desenvolver desde o nascimento e varia ao longo do trato  
16 gastrintestinal (TGI) e de acordo com o crescimento e a fase em que os animais se  
17 encontram. No entanto, o período de desmame é particularmente crítico e requer atenção  
18 especial. Essa colonização microbiana inicia-se a partir do momento em que os leitões  
19 entram em contato com as fezes da matriz, e são alimentados com seu leite, o qual tem alta  
20 relação com a composição da dieta da mãe e favorece a população de bactérias ácido lácticas  
21 dos leitões (GRESSE et al., 2017; KARASOVA et al., 2021).

22 O período de troca de alimentação, do leite para a ração, é altamente relacionado com  
23 o aparecimento de diarreias e doenças intestinais, que podem levar à morte do leitão, devido  
24 as mudanças causadas na microbiota durante este momento (GRESSE et al., 2019).

25 Um dos primeiros microrganismos a se alojar no TGI dos leitões é a *Escherichia coli*,  
26 a qual sempre está presente, e juntamente com a *Streptococcus sp.* criam um ambiente sem  
27 oxigênio, favorecendo as demais bactérias, como as gram-negativas, dos filos Bacteroidetes  
28 e Fusobacterium, e as gram-positivas dos filos Actinobacteria, e também do filo Firmicutes,  
29 o qual faz parte da flora benéfica (GRESSE et al., 2017; KARASOVA et al., 2021).

30 Esses grupos bacterianos desempenham uma variedade de funções benéficas para o  
31 hospedeiro. Um exemplo disso é a sua capacidade de proteger contra bactérias patogênicas  
32 (GRESSE et al., 2019). Quando há redução significativa na contagem de *Lactobacillus spp.*

1 no TGI, o risco dos animais contraírem diarreia aumenta, pois esses grupos bacterianos são  
2 os principais responsáveis pela prevenção de doenças intestinais (GRESSE et al., 2017).

3 Conforme mencionado por Lee e Kim (2019) e Gao et al. (2021), o *Lactobacillus*  
4 *spp.* exibe não apenas notável capacidade de preservar a integridade da barreira epitelial,  
5 restaurando a função das junções de oclusão e reduzindo a permeabilidade intracelular, mas  
6 em experimento realizado em leitões, Yang et al. (2014), também demonstraram sua eficácia  
7 na inibição da diarreia, melhoria do desempenho, redução do estresse, fortalecimento da  
8 imunidade e modulação da microbiota em animais submetidos a desafios com *E. coli*; além  
9 de possuir outras aplicações, como conservante, aditivo para silagem, estabilizador da flora  
10 intestinal e várias outras funções na alimentação animal (DELL'ANNO et al, 2021).

11 Outro fator que pode ocasionar alteração na microbiota intestinal do leitão recém  
12 desmamado, é o uso de doses subterapêuticas antibióticos na dieta como promotor de  
13 crescimento, pois devido ao seu amplo espectro, mesmo em baixas doses, podem matar ou  
14 reduzir o crescimento de microrganismos patogênicos ou benéficos (LOOFTA et al., 2011;  
15 LEVESQUE et al., 2014;), o que pode aumentar as chances de bactérias patogênicas, como a  
16 *Salmonella* e a *E. coli*, ocuparem o espaço das benéficas e desencadear doenças  
17 (SCHOKKER et al., 2014; FOUHSE, ZIJLSTRA, WILLING, 2016).

18 Outro ponto que a dieta influencia na microbiota intestinal de um leitão se diz  
19 respeito a mudança brusca de alimentação, ou seja, quando um leitão estritamente lactente é  
20 desmamado e submetido a dieta sólida com outras fontes proteicas e inclusão de fibras  
21 (ZHANG; PIAO, 2022). Essa troca reflete no espectro bacteriano da flora intestinal, visto  
22 que diferentes alimentos servem como fonte de energia para diferentes microrganismos, e ao  
23 interromper ou diminuir o acesso a certo tipo de alimento, e aumentar para outro, a  
24 microbiota tende a se moldar, porém, durante esse período de desregulação, bactérias  
25 oportunistas podem se favorecer, levando o leitão a um quadro de enfermidade, geralmente a  
26 diarreia pós-desmame (BEAUMONT et al., 2020).

27 O TGI de leitões desmamados tende a ser menos ácido, e por isso mais suscetível a  
28 doenças intestinais, já que esse tipo de ambiente promove rápido aumento na população  
29 bacteriana, como por exemplo, a de *Escherichia coli* (XIONG, et al. 2019). Sabendo disso,  
30 uma alternativa para controlar desarranjos intestinais em leitões, é regular o pH do TGI, pois  
31 este não é responsável apenas pela digestão e absorção de nutrientes, mas também está  
32 profundamente envolvido com a saúde dos animais, visto que a acidez ideal tem a

1 capacidade de manter as funções fisiológicas normais do leitão, garantindo sua saúde  
2 (WANG et al., 2021).

3 Sabendo disso, podem ser usados aditivos que tenham a capacidade de acidificar a  
4 digesta e contornar os problemas causados pelo desmame. Diversos autores mostraram que a  
5 acidificação e a modulação da microbiota podem ser alcançadas com o uso de probióticos  
6 (YANG et al., 2016), ácidos orgânicos (WEI et al., 2021) e óleos essenciais (HALL et al.,  
7 2021) entre outros produtos naturais, os quais apresentam grande potencial em substituir o  
8 uso de antimicrobianos como promotores de crescimento.

9

### 10 *1.3 Ácidos orgânicos em suínos*

11 Segundo Chahardoli et al. (2020) os AO são compostos naturais, que possuem acidez  
12 e são produzidos em plantas e animais, e para sua classificação levam em conta o número de  
13 grupos funcionais hidroxila ou carboxila e também as estruturas de carbono-carbono da  
14 molécula, e de forma geral são classificados em monocarboxílicos, dicarboxílicos, alfa-  
15 hidroxílicos e ácidos de açúcar. Gomis (2000) difere os AO quanto a natureza da cadeia  
16 carbônica, suas propriedades saturadas ou insaturadas e o número de grupos funcionais  
17 (mono, di ou tri-carboxílicos).

18 Diante da busca de novas alternativas para a substituição dos antimicrobianos na  
19 alimentação animal, os AO podem ser alternativas viáveis, pois agem diminuindo o pH do  
20 TGI, que desencadeia ação bactericida modulando a microbiota intestinal, a qual leva à  
21 melhor utilização dos nutrientes disponíveis e conseqüentemente melhora no desempenho  
22 animal (LEI et al., 2017).

23 Os AO fracos, aqueles com o valor pKa maior, são os mais utilizados para contornar  
24 os problemas causados pelo desmame, sendo eles ácidos graxos de cadeia curta, como o  
25 ácido propiônico, butírico e acético, além do ácido fórmico, cítrico e málico  
26 (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; NGUYEN; SEOK; KIM, 2020).

27 Antibióticos e AO possuem algumas funções semelhantes (LEI et al., 2018), como a  
28 habilidade antimicrobiana e agir como promotor de crescimento, por isso se mostram como  
29 boa alternativa. O modo de ação dos AO consiste em penetrar na parede celular bacteriana e  
30 com isso prejudicar as atividades das mesmas, levando à diminuição da população das  
31 principais bactérias intestinais, e conseqüentemente à competição por nutrientes com o  
32 animal hospedeiro, logo melhorando o desempenho final, diminuindo o risco de infecções e  
33 resposta imunológica intestinais (GÓMEZ-GARCÍA et al. e KOVANDA et al., 2019). Além

1 disso, os AO também apresentam outros fatores positivos, como melhora na digestão de  
2 proteínas devido à diminuição do pH da digesta, em especial no estômago, o que leva à  
3 menor taxa de esvaziamento do mesmo, além de melhorar a produção da enzima pancreática  
4 melhorando a atividade e integridade da mucosa intestinal (MA et al., 2021).

5 Segundo Suiryanrayna e Ramana (2015), nos leitões, a principal fonte de acidez no  
6 estômago é o ácido láctico, proveniente da fermentação bacteriana do leite ingerido, porém,  
7 esse ácido faz com que a produção de HCl seja diminuída. Com a ingestão de ração sólida, a  
8 quantidade de ácido láctico tende a diminuir, em consequência da diminuição do pH  
9 estomacal, porém, na realidade, nas primeiras semanas após o desmame, os leitões tendem a  
10 apresentar baixo consumo de alimentos. Esse baixo consumo, combinado com a baixa  
11 produção de ácido clorídrico devido à falta de matéria-prima, juntamente com a ingestão  
12 excessiva de alimentos em momentos não específicos, resulta em aumento do pH do trato  
13 gastrintestinal para 5,0 ou mais. Isso leva à diminuição na digestão adequada dos alimentos,  
14 que acabam sendo fermentados no intestino, resultando em quadros de diarreia e criando  
15 ambiente favorável para a proliferação e sobrevivência de organismos patogênicos no trato  
16 gastrintestinal (PEARLIN et al., 2020).

17 O pH mais baixo no TGI de um leitão é benéfico de várias formas, visto que em  
18 leitões ele estimula a atividade da pepsina, muda benéficamente a relação entre altura e  
19 profundidade das vilosidades intestinais aumentando o aproveitamento dos nutrientes  
20 (NGUYEN; SEOK; KIM, 2020). Segundo Ma et al. (2021), o pH ideal para leitões  
21 apresentarem máxima eficiência fica entre 2,0 e 3,5, o qual é facilmente alcançado quando  
22 inserido os AO nas dietas.

23 Os AO podem ser classificados em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), ácidos  
24 graxos de cadeia média (AGCM) e os ácidos tricarbóxicos, sendo que os principais AGCC  
25 são os ácido acético, propiônico e butírico, benéficos para a mucosa intestinal e organismo  
26 em geral e são resultados da fermentação microbiana de aminoácidos e açúcares não  
27 digestíveis (TUGNOLI et al., 2020).

28 Em suínos, esses compostos foram capazes de aumentar a contagem de *Lactobacillus*  
29 nas fezes, ao passo que diminuíram a contagem de bactérias patogênicas, criando eubiose, e  
30 consequentemente diminuíram a diarreia (KNARREBORG et al., 2002; YANG, LEE, e  
31 KIM, 2019). Além disso, o ácido butírico fornece energia às células intestinais, favorece  
32 microrganismos benéficos e controla agentes patogênicos (DENCK et al. 2017), por isso  
33 pode ser importante na minimização da diarreia pós-desmame. O ácido propiônico pode ser

1 utilizado como fonte de energia pelas células intestinais (BESTEN et al., 2013), e é  
2 frequentemente adicionado às dietas de leitões desmamados para compor a acidez estomacal  
3 e assim ativar a pepsina inibindo a proliferação de patógenos no TGI (SUIRYANRAYNA e  
4 RAMANA, 2015). O ácido acético, por sua vez, abaixa o pH e aumenta a viscosidade da  
5 digesta, criando uma barreira microbiana no TGI dos animais (NDELEKWUTE et al, 2019),  
6 agindo como melhorador de desempenho, aumentando a digestibilidade e absorção dos  
7 nutrientes, tornando a alimentação mais eficiente (VALENCIA e CHAVEZ, 2002).

#### 10 1.4 Óleos essenciais em suínos

11 Os OE são compostos fitogênicos obtidos de diferentes plantas, que melhoram a  
12 palatabilidade do alimento, e com isso agem beneficemente sobre o desempenho, além de  
13 estimular as secreções digestivas, e ter ação antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória,  
14 antiviral, coccidiostáticas, antiparasitária, diminuição o pH da digesta, manutenção do  
15 equilíbrio da microflora do TGI, a qual auxilia na saúde intestinal dos leitões (MAENNER,  
16 VAHJEN e SIMON, 2011; GRESSE et al., 2017; YANG et al., 2018; CHOI et al., 2020).

17 As características mencionadas tornam os OE potenciais substitutos dos  
18 antimicrobianos, uma vez que apresentam meia-vida curta e são metabolizados rapidamente.  
19 Isso indica um baixo risco de acúmulo e resistência cruzada (AHMED et al., 2013), uma das  
20 questões associadas ao uso de antibióticos.

21 Em experimento com leitões recém desmamados, Wei et al. (2017) observaram que a  
22 suplementação dietética de OE com carvacrol e timol para leitões propiciou aumento de  
23 *Lactobacillus* e diminuição *E. coli*, no entanto, teve efeitos limitados sobre a inflamação  
24 intestinal induzida pelo desmame e a disfunção da barreira intestinal, indicando que a  
25 caracterização e o modo de ação desses princípios ativos ainda necessita de mais estudos.

26 Experimentos também mostraram uma associação entre o efeito antiespasmódico e  
27 antidiarreico que os OE possuem, pois possuem a capacidade de relaxar a musculatura  
28 intestinal e por isso diminuem o fluxo de fezes e influenciam na interação do alimento  
29 ofertado aos leitões e as enzimas endógenas no TGI (HAJHASHEMI et al., 2000; ZHAI et  
30 al., 2018). Para que isso ocorra, há três mecanismos conhecidos, sendo eles: inibição de  
31 canais de cálcio dependentes de tensão, modulação de canais de potássio e modulação do  
32 cAMP intracelular (HEGHES et al., 2019).

1 Além de os OEs proporcionarem bom desempenho em leitões em fase de creche  
2 (RODRIGUES et al., 2020), outros indicativos de possível substituição dos antimicrobianos  
3 por estas substâncias seria o fato de terem a capacidade de danificar a estrutura celular de  
4 patógenos, modular os parâmetros imunológicos, regular a microbiota intestinal (YANG et  
5 al., 2018), aumentar a digestibilidade do alimento ingerido, diminuir o pH fecal, entre outras  
6 melhorias nas fezes, como por exemplo, reduzir a diarreia (HUANG, et al, 2010; CHO e  
7 KIM, 2015).

8 Os principais princípios ativos utilizados são a vanilina (principal OE da baunilha), o  
9 eugenol (composto principal do OE do manjeriço e cravo), e o timol (OE encontrado  
10 principalmente no orégano, e no tomilho), utilizados frequentemente com a função de  
11 antimicrobianos, antioxidantes e anti-inflamatórios em animais de produção e na saúde  
12 humana (CHOI et al., 2020).

13 O OEO (*Origanum vulgare*) é bem conhecido desde a antiguidade, por seus efeitos  
14 antissépticos, antiespasmódicos, anti-inflamatórios, antibacterianos e antioxidativos, sendo  
15 composto principalmente pelos fenóis isômeros timol e carvacrol, porém, sua composição  
16 pode variar de acordo com alguns fatores, como a espécie utilizada, qualidade do solo, época  
17 de plantio e colheita, local, clima, pragas, crescimento, método de secagem e extração, e a  
18 parte utilizada da planta (LEYVA-LÓPEZ et al., 2017; SAKKAS e PAPADOPOULOU,  
19 2017; CUI et al., 2019).

20 Pesquisas utilizando o OEO (*Origanum vulgare*) apresentam diferentes resultados  
21 entre si. Em Luchese et al. (2011), a administração oral de 1 mL de OE de orégano  
22 (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por quilo de peso corporal para  
23 leitões nos primeiros dias pós nascimento não foi capaz de prevenir diarreia neonatal. Outro  
24 trabalho, o uso da planta inteira de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta de leitões  
25 desmamados em diferentes dosagens (2, 4 e 8g/kg de ração) não melhorou o desempenho,  
26 porém foi possível observar pequenas alterações nos parâmetros imunológicos,  
27 especialmente nos linfócitos (STELTER et al., 2013); em outro estudo, Ariza-Nieto et al.  
28 (2010) sugeriram avaliação de maiores concentrações de OEO (*Origanum vulgare*), visto  
29 que ao suplementarem matrizes suínas em gestação e lactação com 250 mg/kg de OEO não  
30 encontraram melhor desempenho ou resposta imunológica dos leitões lactentes.

31 Por outro lado, em estudos mais recentes, Pu et al. (2018) observaram que a  
32 combinação de 400g de OEO com 400g de *bacillus coagulans* e 3.000g de ácido benzóico  
33 por tonelada de ração melhorou o desempenho e diminuiu a diarreia de leitões desafiados,

1 pois promoveu melhoria da integridade da barreira da mucosa intestinal. Os mesmos autores  
2 em outro trabalho futuro, usando os mesmos tratamentos anteriores nas mesmas dosagens  
3 (ácido benzóico, *Bacillus coagulans* e OEO) indicaram que esses aditivos foram benéficos  
4 para melhorar o estado imunológico e a integridade da barreira intestinal e a microflora dos  
5 leitões (PU et al., 2020). Serrano-Jarra et al. (2022) observaram que a inclusão de 1,2% de  
6 OEO encapsulado na dieta de leitões desmamados foi capaz de melhorar a integridade  
7 estrutural e imunológica da mucosa intestinal sem afetar negativamente o desempenho dos  
8 animais, além de sugerir que em maiores dosagens esse composto pode agir como anti-  
9 inflamatório e aumentar a produção de células de cálice e reduzir o número de linfócitos  
10 intraepiteliais.

11 Como observado em trabalhos anteriores, os resultados do uso desses aditivos ainda  
12 são muito variáveis. Também, possivelmente, a mistura desses aditivos (EOAO), poderia ter  
13 benefício sobre o desempenho, melhorando ou mantendo os parâmetros intestinais em  
14 relação aos antimicrobianos.

15 Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar os efeitos da inclusão da  
16 mistura de AO (acético, butírico e propiônico) e OE de orégano (*Origanum vulgare L.*) na  
17 dieta de leitões recém-desmamados como alternativas ao antimicrobiano sobre o  
18 desempenho e parâmetros intestinais (morfometria e microbiota intestinal).

19 No Capítulo 2 encontra-se o trabalho intitulado: “A combinação de óleo essencial de  
20 orégano (*Origanum vulgare*) e mistura de ácidos orgânicos na dieta de leitões recém-  
21 desmamados diminui a contagem de coliformes totais e *E.coli* cecal”, o qual foi redigido  
22 segundo as normas do periódico **Translational Animal Science**.



## Referências

AHMED, S.T.; HOSSAIN, M.E.; KIM, G.M.; HWANG, J.A.; JI, H.; YANG, C.J. Effects of resveratrol and essential oils on growth performance, immunity, digestibility and fecal microbial shedding in challenged piglets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.26, p.683-690, 2013.

ARIZA-NIETO, C.; BANDRICK, M.; BAIDOO, S.K.; ANIL, L.; MOLITOR, T.W.; HATHAWAY, M.R. Effect of dietary supplementation of oregano essential oils to sows on colostrum and milk composition, growth pattern and immune status of suckling pigs. **Journal of Animal Science**, v.89, p.1079-1089, 2011.

BEAUMONT, M.; CAUQUIL, L.; BERTIDE, A.; AHN, I.; BARILLY, C.; GIL, L.; CANLET, C.; ZEMB, O.; PASCAL, G.; SAMSON, A. Gut microbiota-derived metabolite signature in suckling and weaned piglets. **Journal of Proteome Research**, v.20, p.982-994, 2020.

BESTEN, G.D.; LANGE, K.; HAVINGA, R.; VAN DIJK, T.H.; GERDING, A.; VAN EUNEN, K.; MÜLLER, M.; GROEN, A.K.; HOOIVELD, G.J.; BAKKER, B.M. Gut-derived short-chain fatty acids are vividly assimilated into host carbohydrates and lipids. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.305, p.G900-G910, 2013.

CAMPBELL, J.M.; CRENSHAW, J.D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.19, p.1-4, 2013.

CHAHARDOLI, A.; JALILIAN, F.; MEMARIANI, Z.; FARZAEI, M.H.; SHOKOOHINIA, Y. Analysis of organic acids. **Recent advances in natural products analysis**, p.767-823, 2020.

CHO, J.H.; KIM, I.H. Effects of microencapsulated organic acids and essential oils on growth performance and intestinal flora in weanling pigs. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.28, p.1-9, 2015.

CHOI, J.; WANG, L.; LIU, S.; LU, P.; ZHAO, X.; LIU, H.; LAHAYE, L.; SANTIN, E.; LIU, S.; NYACHOTI, M. Effects of a microencapsulated formula of organic acids and essential oils on nutrient absorption, immunity, gut barrier function, and abundance of enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 in weaned piglets challenged with *E. coli* F4. **Journal of Animal Science**, v.98, p.1-73, 2020.

CUI, H.; ZHANG, C.; LI, C.; LIN, L. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. **Industrial Crops and Products**, v.139, p.111498-111507, 2019.

DENCK, F.M.; HILGEMBERG, J.O. E LEHNEN, C.R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de Zootecnia**, v.66, p.629-638, 2017.

DELL'ANNO, M.; CALLEGARI, M.L.; REGGI, S.; CAPRARULO, V.; GIROMINI, C.; SPALLETTA, A.; CORANELLI, S.; ROSSI, C.A.S.; ROSSI, L. Lactobacillus plantarum

and *Lactobacillus reuteri* as functional feed additives to prevent diarrhea in weaned piglets. **Animals**, v.11, p.1766-1785, 2021.

FOUHSE, J.M.; ZIJLSTRA, R.T.; WILLING, B.P. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. **Animal Frontiers**, v.6, p.30-36, 2016.

FORTE, C.; RANUCCI, D.; BEGHELLI, D.; BRANCIARI, R.; ACUTI, G.; TODINI, L.; CAVALLUCCI, C.; TRABALZA-MARINUCCI, M. Dietary integration with oregano (*Origanum vulgare L.*) essential oil improves growth rate and oxidative status in outdoor-reared, but not indoor-reared, pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.101, p.352-361, 2017.

GAO, Y.; LIU, Y.; MA, F.; SUN, M.; SONG, Y.; XU, D.; MU, G.; TUO, Y. *Lactobacillus plantarum* Y44 alleviates oxidative stress by regulating gut microbiota and colonic barrier function in Balb/C mice with subcutaneous d-galactose injection. **Food & Function**, v.12, p.373-386, 2021.

GÓMEZ-GARCÍA, M.; SOL, C.; NOVA, P.J.G. DE; PUYALTO, M.; MESAS, L.; PUENTE, H.; MENCÍA-ARES, Ó.; MIRANDA, R.; ARGÜELLO, H.; RUBIO, P. Antimicrobial activity of a selection of organic acids, their salts and essential oils against swine enteropathogenic bacteria. **Porcine Health Management**, v.5, p.1-8, 2019.

GOMIS, B.D. HPLC analysis of organic acids. In: NOLLET, L.M.L. **Food analysis by HPLC**. Nova Iorque: Marcel Dekker, 2000. p.477-492.

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

GRESSE, R.; DURAND, F. C.; DUNIÈRE, L.; BLANQUET-DIOT, S.; FORANO, E. Microbiota composition and functional profiling throughout the gastrointestinal tract of commercial weaning piglets. **Microorganisms**, v.7, p.343-366, 2019.

HALL, H.N.; WILKINSON, D.J.; BON, M.L. Oregano essential oil improves piglet health and performance through maternal feeding and is associated with changes in the gut microbiota. **Animal Microbiome**, v.3, p.1-17, 2021.

HEDEMANN, M.S., JENSEN, B.B.; POULSEN, H.D. Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.84, p.3310-3320, 2006.

HELM, E.T.; CURRY, S.; TRACHSEL, J.M.; SCHROYEN, M.; GABLER, N.K. Evaluating nursery pig responses to in-feed sub-therapeutic antibiotics. **Plos One**, v.14, p.1-16, 2019.

HUANG, Y.; YOO, J.S.; KIM, H.J.; WANG, Y.; CHEN, Y.J.; CHO, J.H.; KIM, I.H. Effects of dietary supplementation with blended essential oils on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal characteristics in weanling pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.23, p.607-613, 2010.

KARASOVA, D.; CRHANOVA, M.; BABAK, V.; JERABEK, M.; BRZOBOHATY, L.; MATESOVA, Z.; RYCHLIK, I. Development of piglet gut microbiota at the time of weaning influences development of postweaning diarrhea – A field study. **Research in Veterinary Science**, v.135, p.59-65, 2021.

KNARREBORG, A.; MIQUEL, N.; GRANLI, T.; JENSEN, B.B. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v.99 p.131-140, 2002.

KOVANDA, L.; ZHANG, W.; WEI, X.; LUO, J.; WU, X.; ATWILL, E.R.; VAESSEN, S.; LI, X.; LIU, Y. In vitro antimicrobial activities of organic acids and their derivatives on several species of gram-negative and gram-positive bacteria. **Molecules**, v.24, p.3770-3784, 2019.

LEE, C.S.; KIM, S.H. Anti-inflammatory and anti-osteoporotic potential of *Lactobacillus plantarum* A41 and *L. fermentum* SRK414 as probiotics. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.12, p.623-634, 2019.

LEI, X.J.; LEE, S.I.; LEE, K.Y.; NGUYEN, D.H.; KIM, I.H. Effects of a blend of organic acids and medium-chain fatty acids with and without *Enterococcus faecium* on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters, and meat quality in finishing pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.98, p.852-859, 2018.

LEI, X.J.; PARK, J.W.; BAEK, D.H.; KIM, J.K.; KIM, I.H. Feeding the blend of organic acids and medium chain fatty acids reduces the diarrhea in piglets orally challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **Animal Feed Science and Technology**, v.224, p.46-51, 2017.

LEVESQUE, C.L.; HOODA, S.; SWANSON, K.S.; LANGE, K. Alterations in ileal mucosa bacteria related to diet complexity and growth performance in young pigs. **Plos One**, v.9, p.e108472, 2014.

LEYVA-LÓPEZ, N.; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E.; VAZQUEZ-OLIVO, G.; HEREDIA, J. Essential oils of Oregano: biological activity beyond their antimicrobial properties. **Molecules**, v.22, p.989-1013, 2017.

LOOFTA, T.; JOHNSON, T.A; ALLEN, H.K.; BAYLES, D.O.; ALT, D.P.; STEDTFELD, R.D.; SUL, W.J.; STEDTFELD, T.M.; CHAI, B.; COLE, J.R.; HASHSHAM, S.A.; TIEDJE, J.M.; STANTON, T.B. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. **PNAS**, v.109, p.1691-1696, 2011.

LUCHESI, F.C; CECIM, M.; SOARES, M. Avaliação de óleos essenciais de orégano e alecrim na prevenção da diarréia neonatal em leitões. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, p.17-22, 2011.

MA, J.; PIAO, X.; SHANG, Q.; LONG, S.; LIU, S.; MAHFUZ, S. Mixed organic acids as an alternative to antibiotics improve serum biochemical parameters and intestinal health of weaned piglets. **Animal Nutrition**, v.7, p.737-749, 2021.

MAENNER, K.; VAHJEN, W.; SIMON, O. Studies on the effects of essential-oil-based feed additives on performance, ileal nutrient digestibility, and selected bacterial groups in the gastrointestinal tract of piglets. **Journal of Animal Science**, v.89, p.2106-2112, 2011.

MEDIOUNI, S.; JABLONSKI, J.A.; TSUDA, S.; BARSAMIAN, A.; KESSING, C.; RICHARD, A.; BISWAS, A.; TOLEDO, F.; ANDRADE, V. M.; EVEN, Y. Oregano Oil and Its Principal Component, Carvacrol, Inhibit HIV-1 Fusion into Target Cells. **Journal of Virology**, v.94, p.34-74, 2020.

MOESER, A.J.; POHL, C.S.; RAJPUT, M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: implications for lifelong gut health in pigs. **Animal Nutrition**, v.3, p.313-321, 2017.

NDELEKWUTE, E.K.; UNAH, U.L.; UDOH, U.H. Effect of dietary organic acids on nutrient digestibility, faecal moisture, digesta pH and viscosity of broiler chickens. **Moj Anatomy & Physiology**, v.6, p.40-43, 2019.

NGUYEN, D.H.; SEOK, W.J.; KIM, I.H. Organic acids mixture as a dietary additive for pigs - A review. **Animals**, v.10, p.952-964, 2020.

PEARLIN, B.V.; MUTHUVEL, S.; GOVIDASAMY, P.; VILLAVAN, M.; ALAGAWANY, M.; FARAG, M.R.; DHAMA, K.; GOPI, M. Role of acidifiers in livestock nutrition and health: a review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.104, p.558-569, 2020.

PU, J.; CHEN, D.; TIAN, G.; HE, J.; ZHENG, P.; MAO, X.; YU, J.; HUANG, Z.; ZHU, L.; LUO, J. Protective effects of benzoic acid, *Bacillus coagulans*, and oregano oil on intestinal injury caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned piglets. **Biomed Research International**, v.2018, p.1-12, 2018.

REN, C.; ZHOU, Q.; GUAN, W.; LIN, X.; WANG, Y.; SONG, H.; ZHANG, Y. Immune response of piglets receiving mixture of formic and propionic acid alone or with either capric acid or *Bacillus Licheniformis* after *Escherichia coli* challenge. **Biomed Research International**, v.2019, p.1-9, 2019.

RODRIGUES, L.M.; LIMA NETO, T.O.A.; GARBOSSA, C.A.P.; MARTINS, C.C.S.; GARDEZ, D.; ALVEZ, L.K.S.; ABREU, M.L.T. DE; FERREIRA, R.A.; CANTARELLI, V.S. benzoic acid combined with essential oils can be an alternative to the use of antibiotic growth promoters for piglets challenged with *E. coli* F4. **Animals**, v.10, p.1978-1997, 2020.

SAKKAS, H.; PAPADOPOULOU, C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.27, p.429-438, 2017.

SCHOKKER, D.; ZHANG, J.; ZHANG, L.; VASTENHOUW, S.A.; HEILIG, H.G.H.J.; SMIDT, H.; REBEL, J.M.J.; SMITS, M.A. Early-life environmental variation affects intestinal microbiota and immune development in new-born piglets. **Plos One**, v.9, p.e100040, 2014.

SHAO, Y.; PENG, Q.; WU, Y.; PENG, C.; WANG, S.; ZOU, L.; QI, M.; PENG, C.; LIU, H.; LI, R. The effect of an essential oil blend on growth performance, intestinal health, and microbiota in early-weaned piglets. **Nutrients**, v.15, p.450-466, 2023.

STELTER, K.; FRAHM, J.; PAULSEN, J.; BERK, A.; KLEINWÄCHTER, M.; SELMAR, D.; DÄNICKE, S. Effects of oregano on performance and immunmodulating factors in weaned piglets. **Archives Of Animal Nutrition**, v.67, p.461-476, 2013.

SUIRYANRAYNA, M.V.A.N.; RAMANA, J.V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.6, p.1-11, 2015.

TUGNOLI, B.; GIOVAGNONI, G.; PIVA, A.; GRILLI, E. From Acidifiers to intestinal health enhancers: how organic acids can improve growth efficiency of pigs. **Animals**, v.10, p.134-152, 2020.

VALENCIA, Z.; CHAVEZ, E.R. Phytase and acetic acid supplementation in the diet of early weaned piglets: effect on performance and apparent nutrient digestibility. **Nutrition Research**, v.22, p.623-632, 2002.

VERSTEGEN, M.W.A.; WILLIAMS, B.A. Alternatives to the use of antibiotics as growth promoters for monogastric animals. **Animal Biotechnology**, v.13, p.113-127, 2002.

WANG, L.; ZOU, L.; LI, J.; YANG, H.; YIN, Y. Effect of dietary folate level on organ weight, digesta pH, short-chain fatty acid concentration, and intestinal microbiota of weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v.99, p.1-9, 2021.

WANG, X-L.; LIU, Z-Y.; LI, Y-H.; YANG, L-Y.; YIN, J.; HE, J-H.; HOU, D-X.; LIU, Y-L.; HUANG, X-G. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus delbrueckii* on gut microbiome and intestinal morphology in weaned piglets. **Frontiers in Veterinary Science**, v.8, p.1-12, 2021.

WEI, H.-K.; XUE, H.-X.; ZHOOU, Z.X.; PENG, J. A carvacrol–thymol blend decreased intestinal oxidative stress and influenced selected microbes without changing the messenger RNA levels of tight junction proteins in jejunal mucosa of weaning piglets. **Animal**, v.11, p.193-201, 2017.

WEI, X.; BOTTOMS, K.A.; STEIN, H.H.; BLAVI, L.; BRADLEY, C.L.; BERGSTROM, J.; KNAPP, J.; STORY, R.; MAXWELL, C.; TSAI, T. Dietary organic acids modulate gut microbiota and improve growth performance of nursery pigs. **Microorganisms**, v.9, p.110-129, 2021.

YANG, C.; ZHANG, L.; CAO, G.; FENG, J.; YUE, M.; XU, Y.; DAI, B.; HAN, Q.; GUO, X. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v.97, p.133-143, 2018.

YANG, G-Y.; ZHU, Y-H.; ZHANG, W.; ZHOU, D.; ZHAI, C-C.; WANG, J-F. Influence of orally fed a select mixture of Bacillus probiotics on intestinal T-cell migration in weaned MUC4 resistant pigs following Escherichia coli challenge. **Veterinary Research**, v.47, p.1-15, 2016.

YANG, K.M.; JIANG, Z.Y.; ZHENG, C.T.; WANG, L.; YANG, X.F. Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K881. **Journal of Animal Science**, v.92, p.1496-1503, 2014.

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.

YONCHEVA, K.; BENBASSAT, N.; ZAHARIEVA, M.M.; DIMITROVA, L.; KROUMOV, A.; SPASSOVA, I.; KOVACHEVA, D.; NAJDENSKI, H.M. Improvement of the antimicrobial activity of oregano oil by encapsulation in chitosan - alginate nanoparticles. **Molecules**, v.26, p.7017, 2021.

XIONG, X.; TAN, B.; SONG, M.; JI, P.; KIM, K.; YIN, Y.; LIU, Y. Nutritional intervention for the intestinal development and health of weaned pigs. **Frontiers in Veterinary Science**, v.6, p.1-14, 2019.

ZHAI, H.; LIU, H.; WANG, S.; WU, J.; KLUENTER, A-M. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition**, v.4, p.179-186, 2018.

ZHANG, L.; PIAO, X. Different dietary protein sources influence growth performance, antioxidant capacity, immunity, fecal microbiota and metabolites in weaned piglets. **Animal Nutrition**, v.8, p.71-81, 2022.

## **CAPÍTULO 2**

**A combinação de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) e mistura de ácidos orgânicos na dieta de leitões recém-desmamados diminui a contagem de coliformes totais e *E.coli* cecal**

**A combinação de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) e mistura de ácidos orgânicos na dieta de leitões recém-desmamados diminui a contagem de coliformes totais e *E.coli* cecal**

L. G. R. da Silva\*; G. F. Oliveira\*; S. L. Ferreira\*; D. R. A. Ramos\*, B. C. O. Rossiti\*, M. L. P. Tse\*.

\*Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu, 18618-687, São Paulo, Brasil.

---

Autor correspondente: M. L. P. Tse, Email [marcos.tse@unesp.br](mailto:marcos.tse@unesp.br)



## 1 **Resumo**

2           Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão da mistura de AO  
3 (acético, butírico e propiônico) e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (OEO) na  
4 dieta de leitões recém- desmamados como alternativas ao antimicrobiano sobre o  
5 desempenho, morfometria e microbiota intestinal). As dietas experimentais foram: H = dieta  
6 controle com 120 ppm de Halquinol; OE = dieta controle com 1,0kg/ton (pré-inicial I) e  
7 0,5kg/ton (nas demais fases) óleo essencial de orégano; AO = dieta controle com 3,0kg/ton  
8 (pré-inicial I e II) e 1,5kg/ton (inicial) de mistura de ácidos graxos de cadeia curta (acético,  
9 propiônico e butírico); OEAO = dieta controle com 0,5kg/ton (todas as fases) de óleo  
10 essencial de orégano e 1,5kg/ton (todas as fases) de ácidos graxos de cadeia curta (acético,  
11 propiônico e butírico). Não houve diferença entre os tratamentos sobre as variáveis de  
12 desempenho em nenhum dos períodos avaliados. Para morfometria intestinal, comprando-se  
13 por contraste ortogonal, os animais alimentados com OE ou AO tiveram maior relação altura  
14 de vilosidade:profundidade de cripta do duodeno ( $P=0,0439$ ) e menor profundidade de cripta  
15 do jejuno ( $P=0,0262$ ) em relação ao tratamento com halquinol. Com relação à microbiologia  
16 intestinal, os animais alimentados com OEAO tiveram menor contagem de coliformes totais,  
17 *Escherichia coli* e lactobacilos ( $P<0,05$ ) em relação à dieta controle. Também, comparando-se  
18 por contrastes ortogonais, consistentemente os animais alimentados com os aditivos testados  
19 individualmente ou não, apresentaram menor contagem desses microrganismos ( $P<0,0220$ ).  
20 Conclui-se, portanto, que a inclusão dos ácidos orgânicos e óleo essencial na dieta dos leitões  
21 manteve o desempenho animal, com efeito positivo na contagem de *E. coli*, coliformes totais  
22 e melhora na morfometria intestinal, mostrando ser alternativas promissoras aos antibióticos  
23 na alimentação de leitões.

24

25 **Palavras-chave:** ácidos orgânicos, antibióticos, leitões desmamados, fitogênico.

## 1. Introdução

Devido a vários fatores, infecções bacterianas entéricas causadas por agentes patogênicos oportunistas são muito comuns em leitões no período pós-desmame (LÓPEZ-COLOM et al., 2019) e para contornar essa situação usam-se antibióticos de maneira terapêutica ou como promotor do crescimento. Entretanto, com o desenvolvimento de estirpes de bactérias resistentes aos antibióticos utilizados como promotores de crescimento, iniciou-se tendência para reduzir o uso dessas substâncias e o surgimento de bactérias super-resistentes (KICH et al., 2021).

Na tentativa de diminuir o uso de antimicrobianos como promotor do crescimento, aditivos alternativos são utilizados em dietas de leitões, tais como ácidos orgânicos (AO) (PARTANEN et al., 1999; YANG et al., 2019) e óleos essenciais (OMONIJO et al., 2018).

O ácido butírico tem mostrado efeito positivo no desempenho de leitões, promove melhor digestibilidade dos alimentos e conseqüentemente auxilia na melhora de parâmetros da saúde intestinal (Long et al., 2018). O ácido acético também age como promotor de crescimento e isso pode estar relacionado a barreira microbiana criada pela diminuição de pH do trato gastrintestinal, aumento da digestibilidade dos nutrientes e redução da capacidade de tamponamento (PEARLIN et al., 2020). Já o ácido propiônico, possui a aptidão de diminuir a concentração da bactéria patogênica *E. coli* no estômago dos animais (SUIRYANRAYNA e RAMANA, 2015).

O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) (OEO) tem em sua composição o carvacrol, e seu isômero terpenóide timol, sendo esses elementos capazes de agir como antifúngicos, antimicrobianos, anti-inflamatórios, analgésicos e antibióticos de espectro gram-negativos, como a *Escherichia coli* (MEDIOUNI et al., 2020; YONCHEVA et al., 2021).

Devido ao orégano (*Origanum vulgare L.*) ser um elemento químico de origem botânica, o seu óleo essencial pode variar na composição em virtude das variações biológicas

1 da própria planta e sua condição de crescimento (MEDIOUNI et al., 2020). Além da planta,  
2 existem outros fatores que podem interferir nos resultados, como por exemplo a genética dos  
3 animais, o método de criação, sistema de alimentação (FORTE et al., 2017) ou até mesmo o  
4 desafio sanitário imposto aos animais. E a combinação de ácidos orgânicos e óleos essenciais  
5 na dieta de suínos tem mostrado resultados controversos e inconsistentes (YANG et al., 2018;  
6 KWAK et al. 2019; XU et al., 2020).

7 Entretanto, na literatura há escassez e inconsistência de informações sobre as ações  
8 benéficas que o OE de orégano e os AO sobre desempenho produtivo e melhora ou  
9 manutenção dos parâmetros intestinais, como morfometria e integridade das vilosidades  
10 intestinais, concentração de bactérias patogênicas no trato gastrintestinal (TGI) dos leitões e  
11 concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

12 Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão da mistura  
13 de AO (acético, butírico e propiônico) e OE de orégano (*Origanum vulgare* L.) na dieta de  
14 leitões recém-desmamados sobre o desempenho e parâmetros intestinais (morfometria e  
15 microbiota intestinal).

16

## 17 **2. Materiais e Métodos**

### 18 *2.1 Instalação experimental e animais*

19 O experimento foi realizado no Laboratório de Ensino Pesquisa e Extensão de Suínos,  
20 da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus Botucatu e aprovado  
21 pelo Comitê de Ética para o Uso Animal (CEUA) da FMVZ/UNESP/Botucatu, protocolo  
22 número 0193/2019. Os animais foram alojados em baias suspensas, com piso de concretado e  
23 ripado de plástico, equipadas com bebedouro, comedouro e campânula para aquecimento.

24

25

## 2.2 Delineamento e dietas experimentais

Foram utilizados 96 leitões desmamados (machos castrados e fêmeas de genética comercial), com idade média de 21 dias e peso inicial de  $5,66 \pm 0,28$ kg, durante 36 dias (período experimental), distribuídos em delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e oito repetições e três animais por baía (unidade experimental), sendo: H = dieta controle com 120 ppm de Halquinol (todas as fases); OE = dieta com 1,0kg/ton (pré-inicial I) e 0,5kg/ton (pré-inicial II e inicial) de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*); AO = dieta com 3,0kg/ton (pré-inicial I e II) e 1. 5kg/ton (inicial) de ácidos graxos de cadeia curta (mistura de acético, propiônico e butírico); OEAO = dieta com 0,5kg/ton de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (todas as fases) + 1,5kg/ton de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) em todas as fases. As doses utilizadas foram escolhidas com base nas doses medianas encontradas na literatura. Foi utilizado o programa de alimentação de três fases: Pré-inicial I (0-11 d); Pré-inicial II (12-28d) e Inicial (29-34d). Todas as dietas, fornecidas à vontade, foram isoenergéticas, isoprotéicas e formuladas a fim de satisfazer as necessidades nutricionais mínimas dos animais, formuladas de acordo com Rostagno et al. (2017), exceto para cálcio e fósforo, para minimizar o efeito tampão das dietas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição percentual das dietas experimentais (na base de matéria natural)

Itens	Pré-Incial 1	Pré- inicial 2	Inicial
Milho, Grão	49,959	54,203	57,834
Soja, Farelo 45	19,000	23,500	29,000
Plasma sanguíneo	4,500	3,000	-
Soro de leite seco	10,400	3,500	-
Açúcar	5,000	5,000	4,000
Óleo de soja	3,100	3,000	3,000
Protenose	2,500	2,500	1,500

Calcário	0,170	0,320	0,455
Fosfato Bicálcico	2,000	1,950	1,800
Cloreto de sódio	0,160	0,430	0,715
L-Lisina HCL	0,630	0,540	0,449
DL-Metionina	0,290	0,240	0,190
L-Treonina	0,270	0,220	0,167
L-Triptofano	0,075	0,052	0,035
L-Valina	0,141	0,080	0,040
Óxido de Zinco	0,340	0,200	-
Sulfato de Cobre penta	0,060	0,060	0,060
Cloreto de colina	0,090	0,090	0,090
Adsorvente	0,250	0,250	0,250
Antioxidante	0,015	0,015	0,015
Mistura mineral <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100
Mistura vitamínica <sup>2</sup>	0,150	0,150	0,150
Sílica	0,500	0,300	0,000
Caulim	0,300	0,300	0,150
<b>Total</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>
<b>Níveis nutricionais calculados</b>			
Energia Metabolizável, kcal/kg	3.406	3.350	3.308
Proteína Bruta, %	21,770	20,370	19,370
Cálcio, %	0,700	0,700	0,700
Fósforo disponível, %	0,535	0,481	0,434
Lisina digestível, %	1,455	1,352	1,204
Metionina digestível, %	0,528	0,505	0,452
Treonina digestível, %	0,975	0,905	0,790
Triptofano digestível, %	0,279	0,257	0,233
Aminoácidos Sulfurados digestíveis, %	0,876	0,815	0,728

Valina digestível <sup>1</sup> , %	1,008	0,934	0,840
Lactose	11,988	7,020	-
Sódio	0,306	0,301	0,302

<sup>1</sup>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; <sup>2</sup>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;

<sup>3</sup>Aditivos utilizados para compor as dietas experimentais em substituição ao inerte (caulim) de acordo com cada tratamento: H = dieta controle com 120 ppm de Halquinol (todas as fases); OE = dieta com 1,0kg/ton (pré-inicial I) e 0,5kg/ton (pré-inicial II e inicial) de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*); AO = dieta com 3,0kg/ton (pré-inicial I e II) e 1. 5kg/ton (inicial) de ácidos graxos de cadeia curta (mistura de acético, propiônico e butírico); OEAO = dieta com 0,5kg/ton de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) (todas as fases) + 1,5kg/ton de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) em todas as fases.

1

## 2            2.3    Variáveis Analisadas

### 3    2.3.1   Desempenho animal

4            Para avaliar o desempenho, os animais, a alimentação fornecida, e as sobras de ração  
5 foram pesadas no início e no fim de cada fase do experimento, para determinar o ganho de  
6 peso diário (GDP), o consumo diário de ração (CDR), e a conversão alimentar (CA), sendo  
7 esta última calculada como a relação entre o consumo de ração e o ganho de peso dos  
8 animais.

9

### 10   2.3.2   Morfometria e microbiologia intestinal

11           Após a pesagem final dos animais, no 36º dia de experimento, um animal por unidade  
12 experimental (aquele com o peso vivo mais próximo da média da baia), totalizando 8 animais  
13 por tratamento (32 animais), foram insensibilizados por eletronarcole e depois abatidos por  
14 sangria.

15           Para análise de morfometria intestinal foi utilizada a metodologia descrita por Gao et  
16 al. (2013), em que após o abate, porções de aproximadamente três centímetros do duodeno,  
17 jejuno e íleo foram recolhidas e fixadas em solução tamponada de formaldeído a 10% durante  
18 48 horas e posteriormente enviadas para processamento e preparação de lâminas histológicas.

19           A histomorfometria das variáveis selecionadas, altura de vilosidades (AV),  
20 profundidade das criptas (PC) e quantificação da área da placa de Peyer (PP), foi feita com a

1 ajuda do software de análise de imagem ImageJ®, e depois, a partir dos resultados de AV e  
2 PC, foi calculada a relação AV:PC.

3 Para análise de microbiologia intestinal, após o abate, o ceco dos animais foi isolado,  
4 embalados e mantidos em caixas isotérmicas refrigeradas até a coleta de conteúdo cecal,  
5 como descrito por Hall et al. (2001). Para contagem de Lactobacilos foi utilizada o método de  
6 APHA 2001, descrita por Kornacki e Johnson (2001), e para analisar as contagens de  
7 *Escherichia coli* e *Clostridium*, a metodologia utilizada foi a descrita por Hall et al. (2001).

8

## 9 **2. Análises estatísticas**

10 Os dados de desempenho, morfometria intestinal e microbiologia intestinal foram  
11 submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando-se o PROC GLM do SAS® e as  
12 médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de significância. Considerando-se  
13 diferença significativa ou tendência ( $P < 0,10$ ) entre os tratamentos, os contrastes ortogonais  
14 foram utilizados, para comparar a dieta controle (halquinol) com a média das dietas com  
15 inclusão dos aditivos.

16

## 17 **3. Resultados e Discussão**

18 Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis de desempenho avaliadas  
19 em nenhum dos períodos avaliados (Tabela 2), mostrando que o uso dos OE, AO e a  
20 combinação entre eles podem substituir o antimicrobiano halquinol sem prejuízo ao  
21 desempenho. Outros trabalhos encontraram resultados semelhantes (HUANG et al., 2010;  
22 RODRIGUES et al., 2020).

23 Os antibióticos podem agir na proteção dos nutrientes contra a ação destrutiva das  
24 bactérias, manutenção das junções de oclusão da barreira intestinal, melhorando a absorção de  
25 nutrientes e diminuição da produção de toxinas bacterianas (FEIGHNER e DASHKEVICZ,

1 1987). Como os animais alimentados com os aditivos tiveram manutenção do desempenho,  
 2 pode-se sugerir que ao ácidos orgânicos e o óleo essencial possivelmente atuaram de forma  
 3 semelhante, sendo possível sua substituição ao antimicrobiano na dieta.

4

**Tabela 2.** Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões durante o período experimental (36 dias)<sup>1</sup>

Variáveis	C	H	OE	AO	OEAO	CV	Valor de P
<b>Dias 0 a 17</b>							
CDR (kg)	0,28	0,28	0,30	0,28	0,29	12,74	0,4837
GDP (kg)	0,24	0,25	0,26	0,25	0,06	12,69	0,7357
CA	1,15	1,10	1,14	1,12	1,13	3,6394	0,3353
<b>Dias 0 a 30</b>							
CDR (kg)	0,53	0,55	0,54	0,26	0,55	7,23	0,6772
GDP (kg)	0,39	0,39	0,39	0,38	0,39	6,46	0,8028
CA	1,38	1,42	1,41	1,40	1,41	3,07	0,8547
<b>Dias 0 a 36</b>							
CDR (kg)	0,61	0,64	0,63	0,62	0,64	6,54	0,6542
GDP (kg)	0,42	0,44	0,42	0,42	0,44	6,37	0,4689
CA	1,47	1,45	1,48	1,45	1,45	2,76	0,4043

<sup>1</sup>H (120ppm do antibiótico Halquinol); OE (óleo essencial de orégano); AO (mistura de ácidos orgânicos - acético, propiônico e butírico); OEAO (mistura do óleo essencial de orégano com ácidos orgânicos); CA (conversão alimentar); CV (coeficiente de variação).

5

6 Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis de morfometria intestinal  
 7 em nenhum dos segmentos avaliados (Tabela 3). Entretanto, por contraste ortogonal, os  
 8 animais alimentados com OE ou AO tiveram maior relação altura de vilosidade:profundidade  
 9 de cripta (AV:PC) do dueodeno (P=0,0439) e menor profundidade de cripta do jejuno  
 10 (P=0,0262) em relação ao tratamento com halquinol.

11 O desmame precoce dos leitões está associado à diminuição da altura das vilosidades e  
 12 aumento da profundidade de cripta (CERA et al., 1988) e à redução na atividade de enzimas  
 13 na borda em escova (PLUSK et al., 1995). Zou et al. (2016) mostraram que a inclusão de óleo  
 14 essencial de orégano aumentou a altura das vilosidades em relação à uma dieta sem uso de  
 15 aditivo. Em outro trabalho, o uso da combinação de ácidos orgânicos de cadeia curta e cadeia



1 média nas dietas de leitões desmamados, propiciou maior altura das vilosidades intestinais (LI  
 2 et al., 2018). Embora, o presente estudo não tenha encontrado aumento da altura das  
 3 vilosidades, a menor profundidade de cripta e indiretamente, a maior relação AV:PC do  
 4 duodeno são bons indicativos de menor injúria da mucosa intestinal, mostrando que os  
 5 aditivos testados conseguiram manter ou melhorar a morfometria intestinal.

6

**Tabela 3.** Altura média de vilos (AV), profundidade média de criptas (PC), relação AV:PC e área de Placas de Peyer (PP) dos leitões aos 57 dias de idade<sup>1,2,3</sup>

Variáveis	H	OE	AO	OEAO	CV	Valor de P
<b>Duodeno</b>						
AV, $\mu\text{m}$	332	362	349	336	15,94	0,6941
PC, $\mu\text{m}$	140	126	120	142	19,66	0,2839
AV:PC <sup>2</sup>	2,43	3,35	2,99	2,44	28,54	0,0851
<b>Jejuno</b>						
AV, $\mu\text{m}$	327	336	316	302	19	0,7084
PC, $\mu\text{m}^3$	154	122	105	144	29,81	0,0854
AV:PC	2,48	2,79	2,3	2,52	31,21	0,2415
<b>Íleo</b>						
AV, $\mu\text{m}$	303	287	311	311	20,79	0,8583
PC, $\mu\text{m}$	108	111	99	115	26,41	0,6938
AV:PC	2,87	3,25	3,45	2,7	32,67	0,4398
PP, $\mu\text{m}^2$	220	212	263	196	31,37	0,4084

<sup>1</sup>H (120ppm do antibiótico Halquinol); OE (óleo essencial de orégano); AO (mistura de ácidos orgânicos - acético, propiônico e butírico); OEAO (mistura do óleo essencial de orégano com ácidos orgânicos); CV (coeficiente de variação).

<sup>2</sup>Diferem por contraste ortogonal (H vs OE, AO, P=0,0439)

<sup>3</sup>Diferem por contraste ortogonal (H vs OE, AO, P=0,0262)

7

8 Com relação à microbiologia intestinal, não houve efeito dos tratamentos sobre a  
 9 população de clostridium (P=0,1925). Porém, os animais alimentados com a combinação de  
 10 OEAO apresentaram menor contagem cecal de coliformes totais, *Escherichia coli* e  
 11 lactobacilos (P<0,05) em relação ao controle.

12 Comparando-se os tratamentos por contraste ortogonal, observou-se diminuição na  
 13 média dos valores de contagem de coliformes totais dos animais alimentados com os aditivos  
 14 em relação aos animais alimentados com halquinol (P = 0,0058) ou quando os aditivos foram

1 usados isoladamente na deita ( $P = 0,0220$ ). O mesmo cenário aconteceu para contagem de *E.*  
2 *coli*, em que a média da contagem de *E.coli* dos animais alimentados com os aditivos foi  
3 menor em relação ao controle ( $P = 0,0007$ ) ou quando os animais foram alimentados com os  
4 aditivos isolados na dieta ( $P = 0,0131$ ).

5 O OE de orégano é composto por uma mistura de p-cimeno,  $\alpha$ -terpineno, timol e  
6 carvacrol, sendo os dois últimos os mais importantes para danificar a membrana celular das  
7 bactérias (PAVLI *et al.*, 2019). Já a ação dos AO consiste em penetrar na parede celular  
8 bacteriana, que leva a má função das mesmas, diminuindo a população das bactérias  
9 intestinais (GÓMEZ-GARCÍA *et al.* e KOVANDA *et al.*, 2019). Dessa forma, pode-se  
10 sugerir que a combinação do OEAO, teve efeito sinérgico, o que propiciou a diminuição da  
11 contagem de coliformes totais e *E.coli* no presente estudo.

12 Por outro lado, a combinação de OEAO diminuiu a contagem das bactérias ácido-  
13 lácticas em relação aos animais do grupo controle ( $P < 0,05$ ). Resultados semelhantes foram  
14 encontrados por Michiels *et al.* (2010). Isso pode ser devido à acidez presentes nesses  
15 aditivos, o que ocasiona diminuição do pH da digesta, que resulta na modulação da  
16 microbiota do TGI, já que o ambiente mais ácido se torna não propício para sua sobrevivência  
17 (LEI *et al.*, 2017; CHOI *et al.*, 2020). O grupo de bactérias que constitui as ácido-láticas é  
18 muito amplo, e contém microorganismos benéficos - *Lactococcus* e *Pediococcus*, e também  
19 patogênicos - *Enterococcus* e *Streptococcus*, por isso é possível que ao modular a microbiota  
20 as bactérias patogênicas tenham sido suprimidas ao ponto que a contagem total dessa  
21 categoria tenha sido menor, assim como encontrado por Kovanda *et al.* (2019).

22

23

24

25

**Tabela 4.** Microbiologia cecal dos leitões aos 55d de idade (log 10 UFC/g)<sup>1,2</sup>

Variáveis	H	OE	AO	OEAO	CV	Valor de P
<b>Coliformes Totais</b> †	7,39a	7,06ab	7,14ab	6,95b	4,09	0,0258
<b><i>E. coli</i></b> ††	7,15a	6,47ab	6,90ab	6,57b	5,43	0,0010
<b>Clostridium</b>	1,80	1,86	2,04	0,67	76,29	0,1925
<b>Lactobacilos</b>	5,69a	5,54ab	5,65a	4,88b	11,59	0,0123

<sup>1</sup>H (120ppm do antibiótico Halquinol); OE (óleo essencial de orégano); AO (mistura de ácidos orgânicos - acético, propiônico e butírico); OEAO (mistura do óleo essencial de orégano com ácidos orgânicos); CA (conversão alimentar); CV (coeficiente de variação).

<sup>2</sup>Letras minúsculas diferentes na linha diferem pelo Teste de Tukey (P<0,05)

† Diferem por contraste ortogonal (H vs OE, AO, OEAO, P=0,0058; H vs EO, AO, P=0,0220);

†† Diferem por contraste ortogonal (H vs OE, AO, OEAO, P=0,0007; H vs EO, AO, P=0,0024; EO, AO vs OEAO, P=0,0131) e pelo teste de Dunnet (H vs OE, P=0,0003; H vs OEAO, P=0,0036).

1

## 2 **4. Conclusões**

3 Conclui-se, portanto, que a inclusão dos ácidos orgânicos e óleo essencial na dieta  
 4 livre de antibiótico é capaz de manter o desempenho animal, com efeitos positivos na  
 5 modulação da microbiota intestinal, diminuindo a contagem de *E. coli*, coliformes totais e  
 6 melhorando a morfometria intestinal, mostrando ser alternativas promissoras aos antibióticos  
 7 na alimentação de leitões

## Referências Bibliográficas

AOAC. 1995. Official methods of the Association of the Agricultural Chemists. 6th. ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Washington, DC.

Cera, K.R.; Mahan, D.C.; Cross, R.F.; Reinhart, G.A.; Whitmoyer, R.E. 1988. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. *J. Anim. Sci.* 66(2):574-585. doi: 10.2527/jas1988.662574x.

Choi, J.; L., Wang; S., Liu; P. Lu; X., Zhao; H., Liu; L., Lahaye; E., Santin; S., Liu; M., Nyachoti. 2020. Effects of a microencapsulated formula of organic acids and essential oils on nutrient absorption, immunity, gut barrier function, and abundance of enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 in weaned piglets challenged with *E. coli* F4. *J. Anim. Sci.* 98(9):1-73. doi: 10.1093/jas/skaa259.

Feighner, S.D; Dashkevicz, M.P. 1987. Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(2):331-336. doi: 10.1128/aem.53.2.331-336.1987.

Forte, C.; D., Ranucci; D., Beghelli; R., Branciarri; G., Acuti; L., Todini; C., Cavallucci; M., Trabalza-Marinucci. 2017. Dietary integration with oregano (*Origanum vulgare L.*) essential oil improves growth rate and oxidative status in outdoor-reared, but not indoor-reared, pigs. *J. Ani. Physiol. Anim. Nutr.* 101(5):352-361. doi: 10.1111/jpn.12612.

Gao, Y.; F., Han; X., Huang; Y., Rong; H., Yi; Y., Wang. 2013. Changes in gut microbial populations, intestinal morphology, expression of tight junction proteins, and cytokine production between two pig breeds after challenge with *Escherichia coli* K88: a comparative study1. *J. Anim. Sci.* 91(12):5614-5625. doi: 10.2527/jas.2013-6528.

Gómez-García, M.; Sol, C.; Nova, P.J.G. De; Puyalto, M.; Mesas, L.; Puente, H.; Mencía-Ares, Ó.; Miranda, R.; Argüello, H.; Rubio, P. 2019. Antimicrobial activity of a selection of organic acids, their salts and essential oils against swine enteropathogenic bacteria. *Porc. Health Manag.* 5(32):1-8. doi: <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0139-4>.

Hall, P. A.; L., Ledenbach; R. S., Flowers. 2001. Acid-producing microorganisms. In: DOWNES, F. P. & ITO, K (eds.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4. ed. Washington, - DC: American Public Health Association, p. 201-207.

Heo, J. M.; J. C., Kim; C. F., Hansen; B. P., Mullan; D. J., Hampson; J. R., Pluske. 2009. 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 coli*. *J. Anim. Sci.* 87(9):2833-2843. doi: 10.2527/jas.2008-1274.

Huang, Y.;J.S., Yoo; H.J., Kim; Y., Wang; Y.J., Chen; J.H., Cho; I.H., Kim. 2010. Effects of dietary supplementation with blended essential oils on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal characteristics in weanling pigs. *Asian Australas J. Anim. Sci.* 23(5)607-613.

Kich, J. D.; G. B., Marin; A., Coldebella. 2021. Uso prudente de antimicrobianos na suinocultura: Qual é o nosso caminho? *Anais do 13º Simpósio Brasil Sul de Suinocultura e 12º Brasil Sul Pig Fair*. Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, 2021. 38-44.

Kornacki, J.L. & Johnson, J.L. (2001) Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: Downes, F.P. & Ito, K. (eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4th edition. Washington, American Public Health Association. Chapter 8, pp. 69–82.

Kovanda, L.; Zhang, W.; Wei, X.; Luo, J.; Wu, X.; Atwill, E.R.; Vaessen, S.; Li, X.; Liu, Y. 2019. In Vitro Antimicrobial Activities of Organic Acids and Their Derivatives on Several Species of Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Molecules*. 24(20):3770-3784. doi: 10.3390/molecules24203770.

Kwak, W. G.; M. H., Song; D. H., Lee; W., Yun; J. H., Lee; C. H., Lee; H. J., Oh; S., Liu; J. S., An; H. B., Kim. 2019. The effects of microencapsulated compounds supplementation on growth performance, immune cells, and rectal temperature in weaned pigs by lipopolysaccharides. *Can. J. Anim. Sci.* 99(3):505-513. doi: 10.1139/cjas-2018-0166.

Lei, X.J.; Park, J.W.; Baek, D.H.; Kim, J.K.; Kim, I.H. 2017. Feeding the blend of organic acids and medium chain fatty acids reduces the diarrhea in piglets orally challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Anim. Feed Sci. Technol.* 224(2017):46-51. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.11.016.

Li, S.; Zheng, J.; Deng, K.; Chen, L.; Zhao, X.L.; Jiang, X.M.; Fang, Z.F.; Che, L.Q.; Xu, S.Y.; Feng, B. 2018. Supplementation with organic acids showing different effects on growth performance, gut morphology and microbiota of weaned pigs fed with highly or less digestible diets. *J. Anim. Sci.* 96(8):3302-3318. doi: 10.1093/jas/sky197.

Long, S. F.; Y.T., Xu; L., Pan; Q. Q., Wang; C. L., Wang; J. Y., Wu; Y.Y., Wu; Y. M., Han; C. H., Yun; X. S., Piao. 2018. Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235:23-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.08.018>.

López-Colom, P.; L., Castillejos; A., Rodríguez-Sorrento; M., Puyalto; J. J., Mallo; S. M., Martín-Orúe. 2019. Efficacy of medium-chain fatty acid salts distilled from coconut oil

against two enteric pathogen challenges in weanling piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 10(1):1-17. doi: <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0393-y>.

Mediouni, S.; J. A., Jablonski; S., Tsuda; A., Barsamian; C., Kessing; A., Richard; A., Biswas; F., Toledo; V. M., Andrade; Y., Even. 2020. Oregano Oil and Its Principal Component, Carvacrol, Inhibit HIV-1 Fusion into Target Cells. *J. Virol.* 94(15):34-74. doi: 10.1128/JVI.00147-20.

Michiels, J.; Missotten, J.; Van Hoorick, A.; Ovyn, A.; Fremaut, D.; Smet, S.; Dierick, N. 2010. Effects of dose and formulation of carvacrol and thymol on bacteria and some functional traits of the gut in piglets after weaning. *Arch. Anim. Nutr.* 64(2):136-154. doi: 10.1080/17450390903499915.

Omonijo, F. A.; L., Ni; J., Gong; Q., Wang; L., Lahaye; C., Yang. 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Anim. Nutr.* 4(2):126-136. doi: 10.1016/j.aninu.2017.09.001.

Pavli, F.; A. A., Argyri; P., Skandamis; G. J., Nychas; C., Tassou; N., Chorianopoulos. 2019. Antimicrobial Activity of Oregano Essential Oil Incorporated in Sodium Alginate Edible Films: control of *listeria monocytogenes* and spoilage in ham slices treated with high pressure processing. *Materials*, 12(22):3726. doi: <https://doi.org/10.3390/ma12223726>.

Partanen, K. H.; Z., Mroz. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutr. Res. Ver.* 12(1):117-145. doi: 10.1079/095442299108728884.

Pearlin, B. V.; S., Muthuvel; P., Govidasamy; M., Villavan; M., Alagawany; M. R., Farag; K., Dhama; M., Gopi. 2020. Role of acidifiers in livestock nutrition and health: a review. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 104(2):558-569. doi: 10.1111/jpn.13282.

Statistical Analysis System Institute. SAS User's Guide: Statistics (Version 6.12 Ed.). SAS Inst. Inc., Cary, NC, 2001.

Suiryanrayna, M. V. A. N.; J. V., Ramana. 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6(1):1-11. doi: <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0042-z>.

Rodrigues, L.M.; T.O.A., Lima Neto; C.A.P., Garbossa; C.C.S., Martins; D., Gardez; L.K.S., Alvez; M.L.T. de, Abreu; R.A., Ferreira; V.S., Cantarelli. 2020. Benzoic acid combined with essential oils can be an alternative to the use of antibiotic growth promoters for piglets challenged with *E. coli* F4. *Animals*, 10(11):1978-1997. <http://dx.doi.org/10.3390/ani10111978>.

Rostagno, H. S.; L. F. T., Albino; M. I., Hannas; J. L., Donzele; N. K., Sakomura; F. G., Perazzo; A., Saraiva; M. L., Teixeira; P. B., Rodrigues; R. F., De Oliveira; S. L. T., Barreto; C. O., Brito. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: Imprensa Universitária/UFV, 252 p.

Tugnoli, B.; G., Giovagnoni; A., Piva; E., Grilli. 2020. From Acidifiers to Intestinal Health Enhancers: how organic acids can improve growth efficiency of pigs. *Animals*. 10(1):134-152. doi: [10.3390/ani10010134](https://doi.org/10.3390/ani10010134).

Yang, C.; L., Zhang; G., Cao; J., Feng; M., Yue; Y., Xu; B., Dai; Q., Han; X., Guo. 2018. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 97(1):133-143. doi: [10.1093/jas/sky426](https://doi.org/10.1093/jas/sky426).



Yang, Y.; K.Y., Lee; I.H., Kim. 2019. Effects of dietary protected organic acids on growth performance, nutrient digestibility, fecal microflora, diarrhea score, and fecal gas emission in weanling pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 99(3):514-520. doi: 10.1139/cjas-2018-0159.

Xu, Y.; L., Lahaye; Z., He; J., Zhang; C., Yang; X., Piao. 2020. Micro-encapsulated essential oils and organic acids combination improves intestinal barrier function, inflammatory responses and microbiota of weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 (K88+). *Anim. Nutri.* 6(3):269-277. doi: 10.1016/j.aninu.2020.04.004.

Zou, Y.; Xiang, Q.; Wang, J.; Peng, J.; Wei, H. 2016. Oregano essential oil improves intestinal morphology and expression of tight junction proteins associated with modulation of selected intestinal bacteria and immune status in a pig model. *BioMed Res. Int.* 2016:1-11. doi:10.1155/2016/5436738.

## IMPLICAÇÕES

1  
2  
3 O presente estudo terá contribuições para a comunidade de produtores de suínos e  
4 pesquisadores da área de nutrição de suínos, tendo em vista que os produtos testados, ácidos  
5 orgânicos (acético, butírico e propiônico) e o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*),  
6 foram capazes de desempenhar efeitos semelhantes ao do antimicrobiano Halquinol, o qual é  
7 amplamente utilizado como melhorador de desempenho na suinocultura no Brasil, tanto  
8 relacionado à saúde quanto ao desempenho de leitões recém-desmamados.

9 O uso exagerado de antimicrobianos trouxe uma série de problemas para a produção  
10 suínica e saúde mundial, como por exemplo a resistência bacteriana cruzada, aparecimento  
11 de novas estirpes prejudiciais à saúde humana, dificuldade de controlar surtos de doenças nas  
12 granjas, entre outros. Porém, com a retirada desses medicamentos como melhoradores de  
13 desempenho, sobretudo quando se fala sobre animais jovens, tem-se grandes problemas,  
14 como menor desempenho e possível aumento de mortalidade. Com isso, a busca por  
15 compostos naturais que possam substituir o uso de antimicrobianos é de grande importância,  
16 tendo em vista os benefícios sobre a saúde do trato gastrointestinal e no organismo como um  
17 todo, melhorias no desempenho, e conseqüentemente bom retorno econômico aos  
18 produtores.

19 Outros experimentos visando a utilização de ácidos orgânicos e óleos essenciais no  
20 ciclo completo da suinocultura podem ser realizados, com a hipótese de que esses compostos  
21 poderiam ajudar também na produção de leite da matriz, e também na imunidade passiva. Já  
22 no que diz respeito aos animais de creche e terminação, pode-se imaginar que com melhor  
23 desempenho haja redução nos dias para abate.

24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33