

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

PROBIÓTICO EM DIETAS DE SUÍNOS

Rizal Alcides Robles Huaynate

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Thomaz

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia – Área de Concentração em Produção Animal.

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

Fevereiro – 2008

Robles-Huaynate, Rizal Alcides
R658p Probiótico em dietas de suínos / Rizal Alcides Robles Huaynate. –
– Jaboticabal, 2008
ix, 65 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008

Orientadora: Maria Cristina Thomaz

Banca examinadora: Vera Maria Barbosa de Moraes, Fábio
Enrique Lemos Budiño, Danísio Prado Munari, Jacinta Diva Ferrugem
Gomes.

Bibliografia

1. *Bacillus spp.* 2. Células sangüíneas. 3. Desempenho. 4. Estresse.
5. Minerais. 6. Leitões. I. Título. II. Jaboticabal – Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.4:636.087.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RIZAL ALCIDES ROBLES HUAYNATE – Nascido em 02 de julho de 1972, em Yanahuanca – Cerro de Pasco, Peru. Graduou-se em Zootecnia pela Faculdade de Zootecnia da Universidad Nacional Agrária de la Selva UNAS, Tingo Maria, em agosto de 1997. No período de janeiro de 1998 a setembro de 1999 foi Chefe de produção da granja de suínos Santa Rosa SLtda. em Huaral, Lima. Em março de 2002, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia na área de Produção Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal, obtendo o título de Mestre em fevereiro de 2004. Em março de 2004, ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia, na área de Produção Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal, submetendo-se à defesa de Tese no dia 21 de fevereiro de 2008.

*“Lo importante no es tener, ser o parecer, lo importante es hacer, construir y
desarrollar.”*

Adolfo Bloch

A mis padres y hermanos

DEDICO

A mi familia y a todos aquellos que hicieron parte de mi convivencia en estos seis años
en Jaboticabal

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal, pela oportunidade.

À professora Maria Cristina Thomaz, pela valiosa orientação, amizade e confiança durante a realização do curso.

À Empresa Agropecuária Nunes, pelo financiamento da pesquisa.

Ao amigo Gabriel Peruca de Melo e sua equipe, pela amizade, solidariedade, colaboração e orientação nas análises laboratoriais.

Ao professor Áureo Evangelista Santana e ao técnico de laboratório Eugênio pela colaboração nas análises de sangue.

Ao Zé Mauro Monteiro e sua família, pela maravilhosa amizade.

Ao Guido e sua família, mãe Denise e avó “Oma” pela grande amizade e solidariedade; obrigado a vocês pelos belos momentos.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura, Wilson e José Antônio pelo auxílio nos experimentos de campo e pela amizade.

Aos irmãos “Paraca” Nilton Massuo Ishikawa, Leonardo Cericato, Alexandre Oba, Fabio Enrique Lemos Budiño, Fabiano Dalhke, Orlanda e família pela força e apoio inestimável no percurso destes anos no Brasil.

Aos estagiários e amigos Marcielli Ferrari, Susana Zaneti da Silva e Henrique Gonzales Faria pelo inestimável auxílio na condução dos experimentos.

Aos irmãos em orientação, Alessandro Luís Fraga “*in memoriam*”, José Cristani, Urbano dos Santos Ruiz, Leonardo Fonseca Pascoal, Vivian Maia dos Santos, Pedro Watanabe e Alessandro Amorin pelo auxílio na condução da pesquisa e pela grande amizade.

À minha Família pelo eterno apoio e à amiga e eterna companheira Isabel.

Aos integrantes das novas repúblicas onde morei, Guido, Jeferrson, Luchiano “Bixo”, Rusbel Raúl Aspilcueta Borquis e Rafael Viegas Campos, pela amizade e companheirismo.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desta conquista.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	
RESUMO	viii
ABSTRACT.....	ix
1.1. INTRODUÇÃO.....	1
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	8
CAPÍTULO 2 – EFEITO DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO E DE DESEMPENHO	
RESUMO.....	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	19
CONCLUSÕES.....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO 3 – PROBIÓTICO EM DIETAS DE SUÍNOS SOBRE OS PARÂMETROS SANGÜÍNEOS E DIGESTIBILIDADE DE RAÇÕES	
RESUMO	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

CAPÍTULO 4 – MÉTODOS DE COLHEITA DE FEZES E BALANÇO DE MINERAIS EM SUÍNOS ALIMENTADOS COM DIETAS SUPLEMENTADAS OU NÃO COM PROBIÓTICO	
RESUMO	49
ABSTRACT	50
INTRODUÇÃO.....	51
MATERIAL E MÉTODOS.....	52
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
CONCLUSÕES.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
CAPÍTULO 5 – IMPLICAÇÕES.....	66

PROBIÓTICO EM DIETAS DE SUÍNOS

RESUMO – Com o objetivo de estudar o uso de probiótico em dietas de suínos foram realizados cinco ensaios. No ensaio 1 foi avaliado a adição de diferentes concentrações de probiótico (0, 200 e 300 mg/kg de ração) em rações de leitões recém desmamados e em diferentes idades, sobre as características do sistema digestório e desempenho zootécnico, nos ensaios 2 e 3, os objetivos foram determinar os parâmetros sanguíneos em diferentes idades dos leitões e a digestibilidade de rações para suínos, alimentados com rações contendo ou não probiótico, nos ensaios 4 e 5, foram comparadas a composição das fezes de suínos obtidas por dois métodos de colheita e foi determinado o balanço de minerais em rações contendo ou não probiótico para suínos em fase de crescimento. As diferentes concentrações de probiótico nas dietas de suínos não alteraram a maioria das variáveis estudadas, afetadas apenas pela idade dos animais. O ganho de peso e a conversão alimentar dos animais suplementados com 200 mg de probiótico foi melhor que o grupo com 300 mg de probiótico. A adição do probiótico nas rações diminuiu as quantidades de leucócitos, globulinas e beta + gama globulinas e melhorou a utilização da matéria mineral da dieta pelos suínos. Colheitas de fezes do reto ou da caixa coletora da gaiola, em estudos de balanço de minerais podem ser realizadas sem alterar a composição das fezes e a adição de probiótico nas rações de suínos melhorou a utilização da matéria mineral.

Palavras-Chave: *Bacillus spp.*, células sanguíneas, desempenho, estresse, minerais, leitões.

PROBIOTIC IN SWINE DIETS

ABSTRACT – With the objective of studying the probiotic use in diets of swine five assays were accomplished. In the assay 1 the addition of different probiotic concentrations was evaluated (0, 200 and 300 mg/kg of ration) in rations of pigs recently weaned and in different ages, on the characteristics of the digesting system and performance, in the assays 2 and 3, the aims were to determine the blood parameters in age different piglets and the ration digestibility for swine fed with rations containing or no probiotic, in the assays 4 and 5, were compared the composition of the feces of swine obtained by two collection methods and was determiner the minerals balance in rations containing or no probiotic for growth swine phase. The different probiotic concentrations in the diets of swine did not alter most of the studied variables, just affected by the age of the animals. The gain weight and feed:gain ratio of the animals supplemented with 200 mg of probiotic was better than the group with 300 mg of probiotic. The addition of the probiotic in the rations reduced the amounts of leukocytes, globulins and beta + gama globulins and it improved the use of the mineral matter of the diet for the swine. Collect of feces of the rectum or of the collector cage box, in studies of minerals balance can be accomplished without altering the feces composition and the probiotic addition in the rations of swine improved the use of the mineral matter.

Keywords: *Bacillus spp.*, blood cells, minerals, performance, piglets, stress.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

Por ocasião do desmame, os fatores estressores como a troca do tipo de alimento de líquido para sólido, ambientes com temperatura e umidade diferentes da maternidade bem como misturas de animais de leitegadas distintas, podem acarretar mudanças estruturais do trato gastrintestinal dos leitões, prejudicando o aproveitamento de nutrientes da ração o desempenho zootécnico.

Foi estimado que milhares de espécies de microrganismos habitam o trato digestório dos animais, incluindo bactérias, protozoários e fungos, sendo que no lúmen intestinal do mamífero, o número de microrganismos presentes estimado é de aproximadamente 10^{14} (MENTEN, 2001).

ROY e GIBSON (1998) ressaltaram que a microbiota benéfica auxilia na digestão e absorção de nutrientes, produz vitaminas que serão utilizadas pelo hospedeiro e inibe a proliferação de microrganismos patogênicos. Entretanto, condições de estresse desenvolvidos no momento e após o desmame, podem alterar a microbiota intestinal, provocando diminuição das bactérias benéficas e aumento das patogênicas que geram metabólitos tóxicos ao hospedeiro, causando inflamações na mucosa intestinal, além de se estabelecer uma condição mais propícia para o surgimento de enfermidades. Estas alterações provocam quedas imediatas nos parâmetros de desempenho animal (SILVA e NÖRNBERG, 2003).

Antibióticos e quimioterápicos são considerados os promotores de crescimento tradicionais para aves e suínos. Porém, o uso desses microingredientes como promotores de crescimento nas dietas animais vem sendo questionado em vários países desde a década de 90. A razão desta discussão está relacionada com a possibilidade deles serem tóxicos e/ou cancerígenos, comprometendo a saúde humana, quando seus resíduos estiverem presentes em produtos alimentícios de origem animal, causando também problemas de resistência bacteriana aos antibióticos (PENZ Jr., 2003).

Baseando-se em novos conceitos de segurança alimentar, produtos alternativos aos antibióticos foram pesquisados e desenvolvidos (MILTENBURG, 2000). O uso destes visa, igualmente, obter o máximo desempenho produtivo animal, com o diferencial de disponibilizar ao mercado um produto final saudável (ausência de resíduos de drogas), sem representar riscos à saúde do consumidor (SILVA e NÖRNBERG, 2003). Nesta nova geração de produtos encontram-se os probióticos, os prebióticos e os simbióticos.

HAVENAAR e HUIS IN'T VELD (1992) consideraram que os probióticos são culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados aos animais, produzem efeitos benéficos por meio da simbiose com a microbiota nativa. O modo de ação dos probióticos ainda não foi completamente esclarecido, embora, tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados. Um deles consiste no princípio da exclusão competitiva, ou seja, ao utilizar um grupo de microrganismos “benéficos”, outros patogênicos, não colonizam e são levados junto com o bolo alimentar (FULLER, 1989).

O mecanismo de ação por “exclusão competitiva” ainda não está totalmente elucidado, e podem-se enumerar algumas formas de atuação destes microrganismos: competição por nutrientes, competição física, produção de ácidos, secreção de bacteriocinas, imunidade cruzada, desintoxicação causada por endotoxinas, produção de enzimas digestivas, síntese de vitaminas do complexo B e interações com os sais biliares (FOX, 1988; JIN et al., 1997).

A exclusão competitiva se aplica a probióticos à base de microrganismos dos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, pois são bactérias que, como os principais patógenos, colonizam o trato gastrintestinal, aderindo-se por meio de fimbrias ao epitélio intestinal. No entanto, os *Bacillus spp.* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* são microrganismos não colonizadores, que apenas transitam pelo intestino juntamente com o conteúdo intestinal e não se aderem ao epitélio BERTECHINI e HOSSAIN, 1993).

A prevalência dos microrganismos probióticos no intestino dificulta a fixação dos patogênicos, mediante a exclusão competitiva e/ou antagonismo direto, desta forma,

haverá menor produção de amônia, toxinas e amins pelos microrganismos patogênicos, o que contribui na integridade do epitélio intestinal, sugerindo-se que os probióticos afetam a permeabilidade do epitélio intestinal, proporcionando maior eficiência na digestão (secreção de enzimas) e absorção de nutrientes (enterócitos íntegros). Além de proteger o epitélio intestinal, os probióticos competem com os patógenos pelo uso de aminoácidos, minerais e carboidratos (GUILLOT, 2000). Dessa maneira, espera-se que os animais que consumiram o probiótico apresentem melhorias de desempenho.

O comportamento do animal em resposta ao uso de probióticos é influenciado pela variedade de probióticos, componentes químicos da ração, dose utilizada, idade e raça do animal, uso de antibióticos e ambiente de criação. As respostas mais expressivas da administração do probiótico são notadas nos animais estressados e nos recém desmamados.

Portanto, os objetivos do presente trabalho foram:

- Avaliar os efeitos da adição de diferentes concentrações de probiótico (0, 200 e 300 mg/kg de ração) em rações de leitões recém desmamados e em diferentes idades, sobre a densidade de vilosidades, pesos de órgãos, peso de carcaça, rendimento de carcaça, incidência de diarreia e desempenho;
- Determinar e comparar a eritroleucometria, trombograma, teor e composição das proteínas séricas e a digestibilidade de rações de suínos alimentados com e sem adição de probiótico;
- Comparar a composição das fezes de suínos obtidas por dois métodos de colheita e determinar o balanço de minerais em rações com e sem probiótico para suínos em crescimento.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Microbiota intestinal e desmame de leitões

Os leitões nascem livres de contaminação microbiológica, mas, em questão de horas, o trato gastrintestinal se coloniza, principalmente, por *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Bacteróides*, correspondendo a 90% da microbiota normal de um suíno em aleitamento. Outros 5% da microbiota são representados por microrganismos anaeróbios facultativos (*E. coli* e *Enterococcus*) e menos de 1% por microrganismos como *Clostridium* e *Staphylococcus* (HUYGHEBAERT, 2003). Após a desmama há queda na população de bactérias lácticas e aumento da população de *E. coli* e outros microrganismos patogênicos oportunistas. Estas bactérias patogênicas, principalmente a *E. coli*, podem se aderir ao epitélio intestinal por meio de fímbrias, se multiplicar e desequilibrar a microbiota, causando as diarréias pós desmame.

Fatores fisiológicos e ambientais têm importantes papéis na estabilização da microbiota intestinal e no estabelecimento da população nativa. O pH relativamente alto do estômago de leitões logo após o nascimento deve-se à insuficiente secreção do ácido clorídrico, o que permite que as bactérias tolerantes ao pH elevado colonizem diferentes seções do trato intestinal. Em leitões lactentes, o pH decresce devido à produção de ácido láctico e apenas bactérias tolerantes ao ambiente ácido persistem e proliferam no intestino proximal, ocorrendo maior proteção contra a penetração de patógenos sensíveis ao meio ácido (RADECKY e YOKOYAMA, 1991).

Parte da seleção da microbiota do intestino é química, devido a agentes inibitórios como ácidos graxos de cadeia curta, ácido sulfídrico, bile, lisozimas, lisolectinas e imunoglobulinas. Quando as bactérias sobrepõem estas barreiras, devem ainda combater o fluxo constante resultante dos movimentos peristálticos. As bactérias permanecem no intestino pela adesão às células epiteliais que revestem o intestino, crescendo mais rapidamente do que são removidas pela renovação celular (BERTECHINI e HOSSAIN, 1993).

A microbiota normal e em equilíbrio no trato gastrintestinal atua como barreira defensiva do animal, aderindo às paredes intestinais e impedindo a fixação dos

patógenos. Todavia, os microrganismos benéficos competem por nutrientes e locais de ligação no epitélio do trato intestinal, produzindo metabólitos como os ácidos láctico e acético, capazes de reduzir seletivamente o número de patógenos (RUIZ, 1992), sendo que alguns gêneros de bactérias intestinais, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, estão diretamente relacionados ao aumento da resposta imune.

Condições de desequilíbrio microbiano, como, o estresse, troca de alimento e transporte, que são situações comuns ao desmame, podem criar um ambiente favorável à fixação de microrganismos patogênicos, levando à modificações estruturais, como o encurtamento das vilosidades. Essa redução na área de absorção resulta em menor produção de enzimas e transporte de nutrientes, predispondo aos animais à má absorção, à possível desidratação e às condições de infecções entéricas (CERA et al., 1988).

A desmama no período de 14 a 28 dias de idade é um grande desafio aos leitões. Normalmente, há queda do desempenho nos dias posteriores a este evento, devido à perda do contato com a mãe, adaptação à dieta sólida, mudança do ambiente (comedouros, bebedouros, temperatura e adaptação hierárquica do grupo) e maior desafio imunológico (MORES et al., 1998). Além do ambiente da creche ter estes desafios, soma-se o fato do leitão apresentar o sistema imune imaturo, levando-os a estarem mais susceptíveis a enfermidades (MELLOR, 2000; VIOLA e VIEIRA, 2003).

Trato gastrintestinal

Intimamente ligadas à fase de retardo no crescimento após a desmama, alterações estruturais ocorrem no intestino delgado, como o encurtamento das vilosidades, o alongamento das criptas e a redução nas atividades de certas enzimas digestivas, com conseqüente redução das capacidades digestiva e absorptiva intestinais (PLUSKE, 2001). Fisiologicamente, o processo dinâmico do desenvolvimento celular intestinal é função da taxa de proliferação das células da cripta, migração das células ao longo do eixo cripta-vilosidade e renovação celular da vilosidade (ZIEGLER et al., 1999).

Em leitões, a atrofia das vilosidades após a desmama é causada pelo aumento da taxa de perda celular e/ou redução da taxa de renovação celular. Se a vilosidade se reduz em decorrência do aumento da taxa de perda celular, conseqüentemente ocorrerá aumento da produção de células da cripta e, geralmente, aumento de sua profundidade. A atrofia das vilosidades pode ser resultante também da diminuição da taxa de renovação celular (CERA et al., 1988), quando há redução da divisão celular nas células da cripta, como ocorre quando os animais são submetidos a restrição de alimento.

Probióticos em suínos

Dentre os microingredientes que alteram a digestão, podem ser citados os probióticos, que são microrganismos vivos acrescidos na dieta, que após ingeridos, encontram meio adequado para multiplicação, bem como colonizam o trato digestório e, por exclusão competitiva, se estabelecem sobre outros microrganismos aí presentes. Uma vez estabilizada, a microbiota do trato previne a colonização por outras bactérias (EDENS et al., 1997).

O FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION (FDA) definiu probiótico como fonte de microrganismos viáveis que ocorrem naturalmente, podendo ser utilizados diretamente na ração de animais, sendo classificados como substâncias GRAS (Generally Regarding As Safe). Alguns autores preferiram o termo genérico em inglês Direct-Feed Microbial Products, também incluindo neste conceito componentes como *Bacillus spp.* e algumas leveduras, que não são habitantes normais do trato gastrintestinal, enzimas e sub-produtos da indústria da fermentação (BERTECHINI e HOSSAIN, 1993).

WALKER e DUFFY (1998) definiram os probióticos como suplementos microbianos vivos formados por bactérias e/ou fungos específicos, capazes de melhorar o equilíbrio microbiano no intestino, uma vez que provocam a redução de agentes patogênicos e estimulam o sistema imune do hospedeiro, atuando como preventivo de desordens intestinais e promovendo melhora do desempenho animal.

Dentre as características desejáveis dos probióticos, destaca-se que estes não são destruídos pelo suco gástrico, sendo eficazes nos diferentes segmentos do trato digestório e compostos por grupos de bactérias, que propiciam efeitos benéficos na absorção de nutrientes (VASSALO et al., 1997).

Os probióticos têm sido testados em dietas para suínos recém desmamados como potenciais alternativas aos antibióticos e quimioterápicos como promotores do crescimento. Os probióticos podem atuar por diferentes mecanismos: supressão da produção de amônia e neutralização de enterotoxinas (JIN et al., 1997); estímulo ao sistema imune e efeito nutricional (LEEDLE, 2000), exclusão competitiva e antagonismo direto (MENTEN, 2001). Embora alguns efeitos tenham sido demonstrados, há ainda grande desconhecimento dos mecanismos envolvidos nos processos.

POLLMAN e BANDYCK (1984) relataram que animais alimentados com produtos à base de *Lactobacillus* e desafiados por *E. coli* não tiveram diferença na morfologia do intestino delgado. Também, JONSSON e HENNINGSSON (1991) observaram que os suínos alimentados com rações contendo probiótico apresentaram semelhante diminuição no tamanho das vilosidades comparados àqueles que não receberam o produto, embora, tivesse ocorrido maior densidade de vilosidades intestinais nos animais alimentados com probiótico.

No entanto, os probióticos produzem resultados de desempenho inconsistentes, provavelmente, devido à espécie de microrganismo utilizado no produto, o histórico de doenças e a condição sanitária da granja e a temperatura das instalações, que podem interferir na ação dos probióticos (WILLIAMS et al., 1997, NRC, 1998). Além disso, o probiótico pode não fazer parte da microbiota natural do hospedeiro, ou ainda, não ser inoculado em quantidades adequadas (COLLINS e GIBSON, 1999).

A maioria dos estudos demonstrou que bactérias ácido-lácticas, utilizadas como probióticos, têm efeito imunoestimulante em animais, apesar de ainda não estarem esclarecidos os mecanismos pelos quais isto ocorre (CROSS, 2002). Esse efeito pode estar relacionado à capacidade dos microrganismos do probiótico interagirem com as placas de Peyer e as células epiteliais intestinais, estimulando as células B produtoras de imunoglobulinas A e a migração de células T do intestino (PERDIGÓN e HOLGADO,

2000). Também tem sido demonstrado que os probióticos favorecem a atividade fagocítica inespecífica dos macrófagos alveolares, sugerindo uma ação sistêmica por secreção de mediadores que estimulariam o sistema imune (CROSS, 2002).

ABE et al. (1995) estudaram a adição de *Bifidobacterium pseudolongum* ou *Lactobacillus acidophilus* em rações de leitões e observaram melhores ganho de peso e conversão alimentar e menor incidência de diarreia. CRISTANI et al. (1999) relataram melhora de 6 a 8% na conversão alimentar de leitões na fase de creche e de 6 a 11% na fase de crescimento, quando alimentados com rações contendo *Lactobacillus acidophilus*. Estes resultados podem estar relacionados com a produção enzimática dos probióticos que melhoram a digestão dos nutrientes por meio da produção de lactase e galactosidase que hidrolisam a lactose permitindo sua absorção (FULLER, 1989).

A eficácia dos probióticos depende da concentração bacteriana na ração. ROTH e KIRCHGESSNER (1988) observaram que o ganho de peso total e a conversão alimentar de leitões melhoraram quando o probiótico foi fornecido nas concentrações de 5×10^8 ou 1×10^9 UFC por kg de ração, mas não em concentrações menores. EIDELSBURGER et al. (1992) utilizaram o mesmo probiótico na concentração de $2,5 \times 10^8$ UFC por kg de ração e o ganho de peso e o consumo de ração caíram 8,1% e 9,0%, respectivamente, enquanto que a conversão alimentar melhorou em 5,6%. Também, KYRIAKIS et al. (1999) relataram que *Bacillus licheniformes* foi mais efetivo no controle de *Escherichia coli* enterotoxigênica em leitões na concentração de 1×10^7 UFC por kg de ração que a uma concentração dez vezes menor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of *bifidobacteria* and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.12, p.2838-2846, 1995.

BERTECHINI, A.G.; HOSSAIN, S.M. **O fantástico mundo dos probióticos**, Manual técnico: Biotecnal, Campinas, 1993, 97p.

- CERA, K.R.; MAHAN, D.C.; CROSS, R.F.; REINHART, G.A.; WHITMOYER, R.E. Effects of age, weaning and postweaning diets of small intestine growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, n.2, p.574-584, 1988.
- COLLINS, M.D.; GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, Suppl. 1, p.1052s, 1999.
- CRISTANI, J.; WHITE, C.; SABINO, N. Efeitos do uso de *Lactobacillus acidophilus* como aditivo alimentar na produção de suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9., 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, ABRAVES, p.433-434, 1999.
- CROSS, M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic *lactobacilli* and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v.34, n.4, p.245-253, 2002.
- EDENS, F.W.; PARKHURST, C.R.; CASA, I.A.; DOBROGOSZ, W.J. Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. **Poultry Science**, v.76, p.179-196, 1997.
- EIDELSBURGER U.; KIRCHGESSNER M.; ROTH F.X. Influence of fumaric acid, hydrochloric acid, sodium formate, tylosin and toyocerin on daily weight gain, feed intake, feed conversion rate and digestibility. II. Investigations about the nutritive efficacy of organic acids in the rearing of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.68, n.4-5, p.82-92, 1992.
- FOX, S.M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Veterinary Medicine**, v.83, n.8, p.806-829, 1988.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, p.365-378, 1989.
- GUILLOT, J.F. The pros and cons of probiotics – make probiotics work poultry. **Feed Mix**, v.23, n.8, p.28-30, 2000.
- HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, M.J.H. **Probiotics: A general view**. In: WOOD, B.J.B. Lactic acid bacteria in health and disease 1. Amsterdam: Elsevier Applied Science, 1992. p.151-170.

- HUYGHEBAERT, G. Replacement of antibiotics in poultry In: EASTERN NUTRITION CONFERENCE, 2003. Quebec City. **Anais...** Quebec City: OUN, p.1-23, 2003.
- JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v.53, p.351-363, 1997.
- JONSSON, E.; HENNINGSSON, S. Establishment in the piglet gut of lactobacilli capable of degrading mixed-linked beta-glucans. **Journal Applied Bacteriology**, v.70, n.6, p.512-516, 1991.
- KYRIAKIS, S.C.; TSILOYIANNIS, V.K.; VLEMMAS, J.; SARRIS, K.; TSINAS, A.C.; ALEXOPOULOS, C.; JANSEGGERS, L. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. **Research in Veterinary Science**, v.67, n.3, p.223-228, 1999.
- LEEDLE, J. Probiotics and DFMs – Mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL. 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.25-40, 2000.
- MELLOR, S. Alternatives to antibiotic. **Pig Progress**, v.16, p.18-21, 2000.
- MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos em nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: SBZ, p.141-157, 2001.
- MILTENBURG, G. Promotores e aditivos de crescimento em avicultura: Estado da Arte.... In: CONFERÊNCIA APINCO'2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas, FACTA, v.2, 2000, p.205-215.
- MORES, N.; SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; MORENO, A.M. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S.; SESTI, L.A.C. (Ed). **Suinocultura intensiva**. Concórdia: EMBRAPA, p.135-162, 1998.
- NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 10th. ed. Washington, National Academic Science, 1998. 198p.
- PENZ Jr., A.M. A produção animal brasileira frente às exigências dos mercados importadores atuais e futuros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, SBZ, 2003, CD-ROM.

- PERDIGÓN, G.; HOLGADO, A.P.R. Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria. In: FULLER, R.; PERDIGÓN, G. **Probiotics 3: Immunodulation by the Gut Microflora and Probiotics**. Dordrecht : Kluwer Academic, p.213-233, 2000.
- POLLMAN, D.S.; BANDYCK, C.A. Stability of Lactobacillus products. **Animal Food Science Technology**, v.11, p.261-267. 1984.
- PLUSKE, J. R. Morphological and functional changes in the small intestine of the newly weaned pigs. In: PIVA, A.; BACH KNUDSEN, K.E.; LINDBERG, J.E. **Gut Environment of Pigs**. Nottingham: Nottingham University Press, p.1-28, 2001.
- RADECKY, S.V.; YOKOYAMA, M.T. Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In: MILLER, E.R.; ULLREY, D.E.; LEWIS, A. (Ed). **Swine Nutrition**. Stoneham: Butterworth-Heinemann, p.439-447, 1991.
- ROTH, F.X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive effects of toyocerin 1. **Piglet Feeding**, v.41, p.58-62, 1988. (abstract).
- ROY, M.; GIBSON, G.R. **Probiotics and prebiotics – microbial in menu. C-H-O Carbohydrates**, v.9, n.3, p.6, 1998. Disponível em: <http://www.babelfish.altavista.com/cgi-bm>. Acesso em 16 de abril de 2007.
- RUIZ, R.L. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo: (Ed). Roca, p.314, 1992.
- SILVA, L.P.; NÖRNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Revista Ciência Rural**, v.33, n.4, p.55-65, 2003.
- VASSALO, M.; FIALHO, E.T.; OLIVEIRA, A.I.G.; TEIXEIRA, A.S.; BERTECHINI, A.G. Probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.1, p.131-138, 1997.
- VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Ácidos orgânicos e suas misturas nas dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, Campinas, 2003. **Anais...** Campinas: CBNA, p.255-284, 2003.
- WALKER, W.A.; DUFFY, L.C. Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotics. **Journal Nutrition Biochemical**, v.9, p.669-675, 1998.
- WILLIAMS, N.H. STAHLY, T.S. ZIMMERMAN, D.R. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 a 112 kg. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1463-1471, 1997.

ZIEGLER, T.R.; ESTÍVARIZ, C.F.; JONAS, C.R.; GU, L.H.; JONES, D.P.; LEADER, L.M. Interactions between nutrients and peptide growth factors in intestinal growth, repair, and function. **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v.23, n.3, p.174-183, 1999.

CAPÍTULO 2 – EFEITO DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO EM DIETAS DE LEITÕES DESMAMADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO E DE DESEMPENHO

RESUMO – Os objetivos foram avaliar os efeitos da adição de diferentes concentrações de probiótico (0, 200 e 300 mg/kg de ração) em rações de leitões recém desmamados e em diferentes idades de abate, sobre as características do sistema digestório e desempenho zootécnico. Foram utilizados 35 leitões desmamados, distribuídos em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2+1 (três concentrações de probiótico x duas idades de abate + grupo abatido ao desmame). Cinco leitões foram abatidos no dia da desmama e os demais aos 31 e 41 dias de idade. Foram amostrados segmentos do duodeno e jejuno para a contagem de vilosidades, pesados o pâncreas e fígado e calculado o rendimento de carcaça. Para incidência de diarreia e desempenho, foram utilizados 30 animais e as avaliações foram realizadas nos seguintes períodos: P1– 0 a 10, P2– 11 a 20 e Período Total– 0 a 20 dias pós desmame. Não houve efeito ($P>0,05$) das concentrações do probiótico sobre as características do sistema digestório e a incidência de diarreia, no entanto o ganho de peso e a conversão alimentar foram afetados ($P<0,05$). Concluiu-se que o ganho de peso e a conversão alimentar de leitões suplementados com 200 mg de probiótico/kg de ração foi melhor do que o grupo suplementado com 300 mg de probiótico/kg de ração. As diferentes concentrações de probiótico adicionadas na ração de leitões não alteraram as características do sistema digestório, mostrando-se alterações apenas em relação à idade do abate.

Palavras-Chave: *Bacillus spp.*, densidade de vilosidades, incidência de diarreia, suíno.

EFFECT OF THE PROBIOTIC ADDITION IN DIETS OF WEANED PIGLETS ON THE CHARACTERISTICS OF THE DIGESTING SYSTEM AND OF PERFORMANCE

ABSTRACT – The aims were to evaluate the effects of the addition of different probiotic concentrations (0, 200 and 300 mg/kg of ration) in rations of pigs recently weaned and in different ages of slaughter, on the characteristics of the digesting system and performance. 35 weaned pigs were used, distributed in blocks randomized design in 3x2+1 (three probiotic concentrations x two ages of slaughter + group slaughter to the weaning). Five pigs were slaughter in the weaning day and the others to the 31 and 41 days of age. Were sampled segments of the duodenum and jejunum for counting villous, weighs the pancreas and liver and calculated the yield carcass. For diarrhea incidence and performance, 30 animals were used and the evaluations were accomplished in the following periods: P1 - 0 to 10, P2 - 11 to 20 and Total Period - 0 to 20 days after wean. There was not effect ($P>0.05$) of the probiotic concentrations on the characteristics of the digesting system and the diarrhea incidence, however the weight gain and the feed:gain ratio were affected ($P<0.05$). The conclusion are: The gain weight and feed:gain ratio of piglets supplemented with 200 mg of probiotic/kg of ration was better than the group supplemented with 300 mg of probiotic/kg of ration. The different probiotic concentrations added in the piglets rations did not alter the characteristics of the digesting system, being showed alterations just in relation to the slaughter age.

Keywords: *Bacillus spp.*, diarrhea incidence, swine, villous density.

INTRODUÇÃO

Na suinocultura, a fase pós-desmame apresenta-se como um momento crítico para o leitão, acarretando ingestão insuficiente de alimentos, digestão incompleta, alterações na estrutura do epitélio intestinal, ocorrência de diarreias e diminuição da imunidade. Essas modificações podem ser causadas pelo desequilíbrio da microbiota intestinal (BELLAVÉ, 2000). Assim, VENTE-SPREEUWENBERG et al. (2004) concluíram que essas alterações explicam a grande queda no desempenho zootécnico dos leitões nos primeiros dias após o desmame. Todavia, ausências de agentes patogênicos concomitantemente de produtos tóxicos na mucosa intestinal possibilitam a integridade e desenvolvimento normal do epitélio. Desta forma, a mucosa íntegra representa a possibilidade de digestão dos alimentos e a absorção dos nutrientes de forma normal.

Os probióticos, pelas suas características, podem atuar no hospedeiro mediante a redução da concentração de amônia no organismo (KOZASA, 1986), diminuição de transtornos digestivos e estímulo ao sistema imunológico (FULLER e COLE, 1988), síntese de bacteriocinas e peróxido de hidrogênio, produtos que inibem o crescimento de determinadas cepas de microrganismos patogênicos (NAIDU et al., 1999), produção de ácidos graxos de cadeia curta (JIN et al., 2000) e estímulo à liberação de enzimas como a lactase (DE VRESE et al., 2001). Todavia, a manutenção de uma microbiota intestinal estável com o uso de probióticos, serve como barreira contra microrganismos potencialmente patogênicos e propicia a obtenção de bons resultados zootécnicos (MULDER, 1991), por melhorar a digestão e a absorção de nutrientes (LEEDLE, 2000).

O comportamento do animal em resposta ao uso de probióticos é influenciado pelo tipo de probiótico, concentrações utilizadas, idade e constituição genética, tipo de exploração, manejo, uso de antibióticos e o ambiente de criação. As respostas mais expressivas da administração de probióticos são notadas nos animais estressados e em recém desmamados (BERTECHINI e HOSSAIN).

Portanto, os objetivos do presente trabalho foram avaliar os efeitos da adição de diferentes concentrações de probiótico (0, 200 e 300 mg/kg de ração) em rações de

leitões recém desmamados e em diferentes idades, sobre a densidade das vilosidades, peso de órgãos, rendimento de carcaça, incidência de diarreia e desempenho zootécnico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal. Os animais foram alojados em baias individuais de 2,55 m² (1,50 x 1,70 m), separadas por divisórias de grades de ferro e vedadas com placas de madeirite, para evitar o contato entre leitões de diferentes baias. Os bebedouros eram do tipo vaso-comunicante e os comedouros do tipo semi-automático. Os animais receberam ração e água à vontade.

Durante o período experimental foram utilizados escamoteadores de madeira e lâmpadas incandescentes de 100W em cada baia, possibilitando o aquecimento individual dos leitões. O probiótico testado foi o Bacsol-vt[®] constituído por bactérias e levedura: *Bacillus subtilis*, *Bacillus natto*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus termophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Foram formuladas duas rações basais para atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, segundo ROSTAGNO et al. (2005), as quais se encontram na Tabela 1. As rações basais foram preparadas e logo divididas em três partes com pesos similares, em seguida uma das partes foi re-misturado com 200 mg de probiótico/kg de ração e a outra parte com 300 mg de probiótico/kg de ração, obtendo-se as seguintes rações experimentais:

- RB - Ração basal (controle);
- RB200 - Ração basal + 200 mg de probiótico/kg de ração;
- RB300 - Ração basal + 300 mg de probiótico/kg de ração.

Tabela 1. Composições centesimal e nutricional das rações inicial 1 e 2, fornecidas aos leitões dos 21 aos 31 e dos 32 aos 41 dias de idade, respectivamente.

Ingredientes (%)	Rações basais	
	Inicial 1	Inicial 2
Milho	60,07	57,82
Farelo de soja (46% PB)	24,05	28,48
Nuklospray *	11,00	10,00
Fosfato bicálcico	2,36	1,74
Calcário calcítico	0,53	0,75
Sal comum	0,55	0,44
Suplemento vit. min. **	0,10	0,10
L-Lisina. HCl (78,4%)	0,78	0,42
DL-Metionina (99 %)	0,16	0,08
L-Treonina (98 %)	0,31	0,14
L-Triptofano (99 %)	0,07	0,01
Antioxidante	0,02	0,02
Total	100,00	100,00

Valores calculados		
Matéria seca, %	89,07	88,91
Energia metabolizável, kcal/kg	3.377	3.361
Proteína bruta, %	20,00	21,00
Cálcio, %	0,89	0,83
Fósforo total, %	0,75	0,65
Fósforo disponível, %	0,56	0,45
Lactose, %	4,40	4,00
Lisina digestível, %	1,52	1,33
Metionina digestível, %	0,43	0,37
Triptofano digestível, %	0,26	0,23
Treonina digestível, %	0,96	0,84

* Nuklospray k10-40% Lactose;

** O suplemento mineral e vitamínico, não continha qualquer tipo de promotor de crescimento ou antibiótico. Concentrações de garantia por kg do produto: Ácido fólico-500 mg; Selênio-150 mg; Cobre-10000 mg; Pantotenato de cálcio-15000 mg; Biotina-100 mg; Manganês-23000 mg; Iodo-400 mg; Niacina-20000 mg; Antioxidante-100 mg; Vitamina A-6000000 UI; Vitamina B1-1257 mg; Vitamina B12-15000 µg; Vitamina B2-3336 mg; Vitamina B6-1257 mg; Vitamina D3-1500000 UI; Vitamina E-13000 mg; Vitamina K-2000 mg e Zinco-80000 mg.

Características do sistema digestório

Foram utilizados 35 leitões machos castrados da linhagem Topigs, desmamados aos 21 dias de idade, com pesos de $5,51 \pm 0,36$ kg e distribuídos em delineamento de blocos casualizados, que controlaram o peso inicial dos leitões, em esquema fatorial 3 x 2 + 1 (três concentrações de probiótico x duas idades de abate e um grupo abatido ao desmame), sendo a unidade experimental representada por um leitão.

No dia do desmame foram abatidos cinco leitões, sendo os demais abatidos aos 31 e 41 dias de idade (0, 10 e 20 dias pós desmame, respectivamente), após jejum alimentar de 12 horas, sem restrição de água.

O abate foi realizado mediante desensibilização e sangramento. Após o abate, retiraram-se as vísceras, amostrando-se duas porções de três centímetros do duodeno e jejuno para a avaliação da densidade das vilosidades. Também, foram pesados o fígado, o pâncreas e a carcaça. O cálculo do rendimento de carcaça foi realizado segundo (ABCS, 1973).

Posteriormente, as porções do duodeno e jejuno foram fixadas em glutaraldeído a 3%, lavadas em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2 e fixadas em tetróxido de ósmio a 1%. Na seqüência, as amostras foram desidratadas em série crescente de álcoois e logo mergulhadas em solução de acetato de isoamila por três horas. As amostras foram secas em secador de ponto crítico modelo SEM 850, utilizando CO₂ líquido e metalizadas com 32 nm de ouro paládio, utilizando-se o aparelho DENTON VACUM modelo Desk II. Realizaram-se três elétrônmicrografias por amostra em microscópio eletrônico de varredura JEOL, JSM 5410, operado a 15 kv. Os valores das densidades de vilosidades foram as médias aritméticas das quantidades de vilosidades de três fotografias que corresponderam a cada unidade experimental.

As pressuposições básicas e as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o pacote computacional SAS (1998) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%).

Desempenho e incidência de diarreia

O desempenho e a incidência de diarreia foram avaliados nos mesmos leitões utilizados anteriormente, à exceção dos cinco abatidos no dia do desmame, sendo, portanto, 30 leitões. As avaliações foram realizadas em períodos: P1– 0 a 10, P2– 11 a 20 e Período Total– 0 a 20 dias pós desmame.

Durante os 20 dias do ensaio, foi realizada a avaliação dos escores fecais dos leitões. Uma vez por dia, no período da manhã, foi verificada a característica física das fezes, mediante análise visual com os seguintes critérios: fezes de consistência dura

(1), fezes pastosas (2) e fezes líquidas (3). Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarréicas e o escore 3 foi considerado diarréia.

Foram avaliados o consumo diário de ração, o ganho diário de peso e a conversão alimentar a partir dos valores de peso corporal e consumo de ração, determinados no dia do desmame e aos 10 e 20 dias pós desmame.

Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, para controlar as diferenças iniciais no peso, com covariável (peso dos animais no início do segundo período), com três tratamentos e dez repetições por tratamento no P1 e cinco repetições por tratamento no P2, sendo que a unidade experimental foi representada por um leitão. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para a avaliação da incidência de diarréia foi utilizada a estatística não paramétrica, sendo as médias comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis (5%). Ambas as análises foram feitas com o pacote estatístico computacional SAS (1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características do sistema digestório

As médias e erro padrão das médias da densidade de vilosidades/cm² avaliados no duodeno e jejuno de leitões recém desmamados são apresentados na Tabela 2.

As diferentes concentrações de probiótico utilizadas nas rações não afetaram ($P>0,05$) a densidade de vilosidades. Entretanto, esta variável foi influenciada ($P<0,05$) pela idade dos leitões.

No duodeno, observou-se similar ($P>0,05$) densidade de vilosidades nos dias 0 e 10 pós desmame, no entanto, nessas idades as densidades foram significativamente maiores ($P<0,05$) em relação ao dia 20 pós desmame. No jejuno houve progressiva diminuição ($P<0,05$) da densidade de vilosidades conforme aumentou a idade dos leitões. TUCCI (2003) também observou diminuição progressiva da densidade de vilosidades no duodeno e jejuno de leitões desmamados e abatidos aos 0, 7 e 14 dias pós desmame. A autora argumentou que a diminuição na densidade de vilosidades ocorre em razão do aumento em sua largura. Essa relação foi confirmada no estudo de

SCANDOLERA et al. (2005), que observaram maior densidade de vilosidades (7841 vilosidades/cm²) e pequena largura de vilosidades (115 mm) no jejuno de leitões abatidos aos 7 dias pós desmame.

Tabela 2. Médias observadas e erro padrão das médias da densidade de vilosidades (vilosidades/cm²) do duodeno e jejuno em função da concentração de probiótico (mg/kg) e idade dos leitões.

Fatores	Segmentos do intestino delgado	
	Duodeno	Jejuno
Concentração do probiótico	P=0,63	P=0,75
Idade pós desmame	P=0,0004	P=0,0001
Interação	P=0,69	P=0,62
CV (%)	22,78	16,34
Concentração do probiótico		
0	8319±641	8851±644
200	8066±642	9002±753
300	7687±504	8528±447
Idade pós desmame		
0	10756±980 ^a	13208±700 ^a
10	9226±498 ^a	10118±443 ^b
20	6542±274 ^b	7249±339 ^c

^{abc} Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Os resultados obtidos neste trabalho foram discordantes com as observações de HANNAS (2003), BUDIÑO et al. (2005) e SCANDOLERA et al. (2005), em que observaram aumento e redução na densidade de vilosidades aos 7 e 14 dias pós desmame, respectivamente, comparado ao dia do desmame.

Na Tabela 3, estão apresentadas as médias e erro padrão das médias dos pesos absolutos e relativos do fígado e pâncreas e o rendimento de carcaça, em função dos fatores estudados.

As diferentes concentrações do probiótico adicionadas nas rações de leitões recém desmamados não afetaram (P>0,05) os pesos absolutos e relativos do fígado e pâncreas e a percentagem do rendimento de carcaça. Entretanto, as idades dos animais influenciaram (P<0,05) todas as variáveis estudadas.

Tabela 3. Médias e erro padrão das médias dos pesos absolutos e relativos (g/kg de carcaça) do fígado e pâncreas e rendimento de carcaça (RC) de leitões em função de diferentes concentrações do probiótico (mg/kg) e idade.

Fatores	Fígado		Pâncreas		RC (%)
	Peso absoluto (g)	Peso Relativo (g/kg)	Peso absoluto (g)	Peso Relativo (g/kg)	
Cc. do Probiótico*	P=0,73	P=0,52	P=0,72	P=0,83	P=0,65
Idade pós desmame	P=0,0001	P=0,0001	P=0,0001	P=0,013	P=0,0032
Interação	P=0,63	P=0,90	P=0,68	P=0,70	P=0,75
CV (%)	14,73	11,39	17,94	17,22	3,58
Cc. do Probiótico					
0	111,0±4	29,1±0,1	7,4±0,2	1,9±0,1	76,6±0,5
200	142,8±5	33,9±0,9	14,6±0,6	3,5±0,1	68,5±0,4
300	255,3±7	44,6±0,9	24,0±1,1	4,2±0,2	64,3±0,6
Idade pós desmame					
0	198,9±16 ^c	40,4±2,1 ^c	19,2±1,9 ^c	3,9±0,3 ^c	65,8±1,1 ^a
10	204,4±23 ^b	39,4±2,0 ^b	20,0±1,0 ^b	3,9±0,2 ^b	66,6±0,8 ^b
20	193,9±22 ^a	38,1±2,1 ^a	18,7±1,8 ^a	3,7±0,2 ^a	66,8±0,8 ^c

^{abc} Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);

* Cc. do probiótico= Concentração do probiótico.

Os pesos absolutos e relativos do fígado e pâncreas aumentaram progressivamente (P<0,05) com o aumento da idade dos leitões, indicando maior desenvolvimento e maturação da capacidade digestiva dos animais com as novas dietas fornecidas após o desmame, semelhantes. VENTE-SPREEUWENBERG et al. (2003) também verificaram aumento do peso absoluto do pâncreas entre três e sete dias após o desmame. Da mesma forma, SCANDOLERA et al. (2005), estudando cinco dietas e três idades de abate dos leitões observaram progressivo aumento dos pesos com a maior idade dos animais.

O rendimento de carcaça apresentou diminuição (P<0,05) progressiva com o aumento da idade dos animais, possivelmente, devido ao pequeno aumento de peso corporal observado nessa idade e ao maior desenvolvimento do sistema digestório.

Desempenho e incidência de diarreia

Os escores fecais observados e a porcentagem de diarreia calculada nos Períodos 1, 2 e Total são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Escores fecais e porcentagem de diarreia de leitões alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de probiótico (mg/kg), avaliados nos Períodos 1, 2 e Total por tratamento.

Fezes/concentração do probiótico	0	200	300	% Total
P1- 0 a 10 dias pós desmame (P=0,96)*				
Fezes não diarreicas	59	63	62	76,67
Fezes diarreicas	21	17	18	23,33
% de Diarreia	26,25	21,25	22,50	
P2- 11 a 20 dias pós desmame (P=0,26)*				
Fezes não diarreicas	22	25	26	49,32
Fezes diarreicas	28	23	24	50,68
% de Diarreia	56,00	47,92	48,00	
P Total- 0 a 20 dias pós desmame (P=0,72)*				
Fezes não diarreicas	81	84	88	66,58
Fezes diarreicas	49	36	42	33,42
% de Diarreia	37,69	30,00	32,31	

* Teste de Kruskal-Wallis

As diferentes concentrações do probiótico utilizadas nas rações dos leitões não influenciaram ($P>0,05$) a incidência de diarreia, concordando com o estudo de UTIYAMA et al. (2006), em que observaram que a suplementação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* nas rações de leitões desmamados não controlaram a diarreia quando comparado com leitões alimentados sem suplementação de probiótico.

Estudo realizado no ano de 2003, com o mesmo probiótico, com as mesmas concentrações e com diferente constituição genética de leitões recém desmamados, indicou que a suplementação do produto nas rações dos leitões controlou ($P<0,05$) a incidência de diarreia (HUAYNATE et al., 2006). Portanto, a diferença do resultado pode ser devido à constituição genética dos animais e ao ambiente em que foram alojados, considerando que os desafios sanitários do ambiente de criação foram diferentes nesses dois estudos.

Da mesma forma, SHU et al. (2001) observaram menor incidência de diarreia, menor número de *E. coli* e Rotavírus e maiores títulos de imunoglobulinas, nas fezes de leitões suplementados com *Bifidobacterium lactis* em relação ao grupo controle sem suplementação, no período de cinco dias antes e nove dias depois do desmame. Os autores concluíram também que o controle da incidência de diarreia possivelmente seja devido ao mecanismo do aumento da proteção imunológica acarretada pelo microrganismo do probiótico. Também, KRITAS et al. (2006) observaram menor incidência de diarreia em leitões nas fases de aleitamento e pós desmame suplementados com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*, comparados àqueles do grupo controle sem suplementação de probiótico.

Os leitões sem suplementação do probiótico apresentaram aproximadamente 8% a mais de diarreia no Período Total em relação àqueles suplementados com 200 mg do probiótico/kg de ração, indicando que o probiótico tenha acionado seus mecanismos de ação, para restabelecer o desequilíbrio microbiano intestinal acarretado pela desmama.

As médias e erro padrão das médias do consumo diário de ração, ganho diário de peso e conversão alimentar dos leitões nos Períodos 1, 2 e Total estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Médias e erro padrão das médias de ganho diário de peso (GDP), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA) dos leitões em função da concentração de probiótico (mg/kg) e períodos.

	0	200	300	CV (%)	P
Período 1: 0 a 10 dias pós desmame					
CDR, g	189±16	157±11	171±17	26,30	0,43
GDP, g	81±13 ^a	57±12 ^{ab}	44±9 ^b	60,89	0,04
CA, g/g	2,97±0,56 ^a	3,29±0,32 ^{ab}	4,20±0,65 ^b	47,68	0,01
Período 2: 11 a 20 dias pós desmame					
CDR, g	360±12	366±12	381±15	8,26	0,58
GDP, g	261±18 ^b	337±16 ^a	299±25 ^{ab}	15,40	0,03
CA, g/g	1,39±0,07 ^b	1,09±0,05 ^a	1,30±0,09 ^{ab}	13,14	0,02
Período Total: 0 a 20 dias pós desmame					
CDR, g	290±11	277±3	286±17	8,86	0,79
GDP, g	191±8 ^{ab}	211±9 ^a	185±15 ^b	11,62	0,02
CA, g/g	1,53±0,09 ^{ab}	1,33±0,04 ^a	1,57±0,05 ^b	10,83	0,04

^{ab} Médias com letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

O consumo diário de ração não foi afetado ($P>0,05$) pela suplementação de diferentes concentrações do probiótico, em nenhum dos períodos estudados. Entretanto, o ganho diário de peso e a conversão alimentar foram influenciados ($P<0,05$) pela suplementação de diferentes concentrações do probiótico.

No Período 1, os animais que consumiram rações sem suplementação do probiótico apresentaram melhores ($P<0,05$) ganho diário de peso e conversão alimentar em relação àqueles suplementados com 300 mg do probiótico/kg de ração, enquanto os leitões que consumiram rações suplementadas com 200 mg do probiótico/kg de ração, mostraram similares ($P>0,05$) ganho diário de peso e conversão alimentar aos dos demais tratamentos.

No Período 2, os leitões suplementados com 200 mg do probiótico/kg de ração apresentaram melhores ($P<0,05$) ganho diário de peso e conversão alimentar em relação aos alimentados sem suplementação do probiótico. No entanto, o ganho diário de peso e a conversão alimentar dos leitões suplementados com 300 mg de probiótico/kg de ração, foram semelhantes ($P>0,05$) aos demais.

No Período Total, os leitões suplementados com 200 mg de probiótico/kg de ração apresentaram melhores ($P<0,05$) ganho diário de peso e conversão alimentar em relação àqueles suplementados com 300 mg de probiótico/kg de ração, enquanto, os animais sem suplementação do produto, apresentaram ganho diário de peso e conversão alimentar semelhantes ($P>0,05$) aos demais, estando de acordo com os resultados obtidos por BUDIÑO et al. (2006) que estudou o *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*, HUAYNATE et al. (2006) que trabalhou com o mesmo probiótico utilizado neste estudo e UTIYAMA et al. (2006) que avaliou o *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*.

Os coeficientes de variação no Período 1 foram elevados, diminuindo no Período 2 e estabilizando-se a valores normais no Período Total. Essas mudanças, possivelmente sejam devidas às condições fisiológicas, comportamentais e ao grau de adaptação inerentes dos leitões desmamados, principalmente nos primeiros dias pós desmame, caracterizado por falta de consumo de alimento, perda de peso e ocorrência de desarranjos intestinais.

Neste trabalho foi observado que a eficácia do probiótico depende também da dosagem utilizada. Assim, ROTH e KIRCHGESSNER (1988) observaram que o ganho de peso total e a conversão alimentar de leitões melhoraram quando o probiótico foi fornecido nas concentrações de 5×10^8 ou 1×10^9 UFC de *Bacillus spp.* por kg de ração, mas não em concentrações menores. EIDELSBUERGER et al. (1992) utilizaram o mesmo probiótico na concentração de $2,5 \times 10^8$ UFC por kg de ração e o ganho de peso e o consumo de ração caíram 8,1 e 9,0%, respectivamente, enquanto a conversão alimentar melhorou 5,6%. Da mesma forma, KYRIAKIS et al. (1999) observaram que *Bacillus Licheniformis* foi mais efetivo no controle da *E. coli* enterotoxigênica em leitões na concentração de 1×10^7 UFC por kg de ração que uma concentração dez vezes menor. Essas observações são discordantes com os resultados deste estudo, visto que o desempenho dos leitões foi melhor quando se adicionou a menor concentração de probiótico às rações, provavelmente pela falta de proporção adequada entre os microrganismos que compõem o probiótico.

Neste estudo, foram observadas melhorias de 10% e 15% no ganho diário de peso e na conversão alimentar, respectivamente, nos leitões suplementados com probiótico, em relação ao grupo sem suplementação de probiótico. Estes resultados foram superiores aos encontrados por CRISTANI et al. (1993), de 7,3% para ganho diário de peso; STEWART e CHESSON (1993), de 4,8% para ganho diário de peso e CLOSE (2000), de 2,5% e 6,8% para ganho diário de peso e conversão alimentar, respectivamente. Essa variabilidade de resultados pode estar associada à diferença das espécies dos microrganismos do probiótico, concentração do probiótico, e pelas condições imunológicas do animal e sanitárias do ambiente de criação.

Notou-se que nos primeiros dez dias, as inclusões de 200 e 300 mg de probiótico/kg de ração, provocaram pioras no desempenho, apresentando, no entanto, recuperação e melhora nos dez dias subsequentes. Uma possível explicação para o ocorrido é que pode ter havido adaptação da microbiota intestinal do hospedeiro aos microrganismos do probiótico. Outra hipótese refere-se aos efeitos dos microrganismos do probiótico sobre o sistema imunológico do hospedeiro nos primeiros dias, que

podem acarretar baixo desempenho (WILLIAMS et al., 1997; SAUBER et al., 1999). Semelhantes resultados foram observados por UTIYAMA et al. (2006).

CONCLUSÕES

- O desempenho e a incidência de diarreia em leitões recém desmamados não foram alterados pela suplementação de diferentes concentrações do probiótico, quando comparados aos animais que não receberam o probiótico. No entanto, leitões suplementados com 200 mg do probiótico/kg de ração mostraram melhor desempenho que leitões suplementados com 300 mg do probiótico/kg de ração.
- As características do sistema digestório não foram alteradas pelas diferentes concentrações do probiótico utilizado, as quais foram afetadas apenas pela idade dos animais.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS (ABCS). **Método Brasileiro de Classificação de Carcaça**, Estrela, 1973. 16p.

BELLAVER, C. O uso de micro ingredientes (aditivos) en la formulación de dietas para cerdos e sus implicaciones en la producción y en la seguridad alimentar. In: CONGRESO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 2000, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires, p.93-108, 2000.

BERTECHINI, A.G.; HOSSAIN, S.M. **O fantástico mundo dos probióticos**, Manual técnico: Biotecnal, Campinas, 1993, 97p.

BUDIÑO, F.E.L.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; NAKAGUI, L.S.O.; TUCCI, F.M.; FRAGA, A.L.; SCANDOLERA, J.A.; ROBLES-HUAYNATE, R.A. Effect of probiotic and prebiotic inclusion in weaned piglets diets on structure and ultra-structure of small intestine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n.6, p.921-929, 2005.

BUDIÑO, F.E.L.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; TUCCI, F.M.; FRAGA, A.L.; SCANDOLERA, J.A.; ROBLES-HUAYNATE, R.A.; NADAI, A.; CORREIA, R.C. Efeito da

adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre o desempenho, incidência de diarreia e contagem de coliformes totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, p.59-67, 2006.

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

CRISTANI, J.; WHITE, C.; SABINO, N. Efeitos do uso de *Lactobacillus acidophilus* como aditivo alimentar na produção de suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9, 1993, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte. ABRAVES, p.433-434, 1993.

DE VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAU, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIR. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.2, p.421S-429S, 2001.

EIDELSBURGER U.; KIRCHGESSNER M.; ROTH F.X. Influence of fumaric acid, hydrochloric acid, sodium formate, tylosin and toyocerin on daily weight gain, feed intake, feed conversion rate and digestibility. II. Investigations about the nutritive efficacy of organic acids in the rearing of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.68, n.4-5, p.82-92, 1992.

FULLER, R.; COLE, C.V. The scientific basis of the probiotic concept. In: STARK, B.A.; WILKINSON, E.; JONSSON, P.; CONWAY, T. 1992. **Probiotics for pigs**. Chapman and Hall, London, p.259-315, 1988.

HANNAS, M.I. **Plasma suíno e ovo inteiro desidratados em substituição à proteína bruta do leite em pó nas rações de leitões**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2003. 149p. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2003.

JIN, L.Z.; MARQUARDT, R.R.; BAIDOO, S.K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.5, p.619-624, 2000.

KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. **Microbiology Aliments Nutrition**, v.4, p.121-135, 1986.

- KRITAS, S.K.; ALEXOPOULOS, C.; KYRIAKIS, S.C. The effect of an eu-registered probiotic on the health status and performance of sows and their litters. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Fóz de Iguaçu, **Anais...** Fóz de Iguaçu, p.737-740, 2006.
- KYRIAKIS, S.C.; TSILOYIANNIS, V.K.; VLEMMAS, J.; SARRIS, K.; TSINAS, A.C.; ALEXOPOULOS, C.; JANSEGGERS, L. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. **Research in Veterinary Science**, v.67, n.3, p.223-228, 1999.
- LEEDLE, J. Probiotics and DFMs – Mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL. 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.25-40, 2000.
- MULDER, R.W.A.W. Probiotics as a tool against Salmonella contamination. **Misset World Poultry**, v.7, p.36-37, 1991.
- NAIDU, A.S.; BIDLACK, W.R.; CLEMENS, R.A. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.38, n.1, p.13-126, 1999.
- HUAYNATE, R.A.R.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; FRAGA, A.L.; SCANDOLERA, A.J.; BUDIÑO, F.E.L. Uso de probiótico em dietas de suínos: Incidência de diarréia, desempenho zootécnico e digestibilidade de rações. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, n.5, p.664-673, 2006.
- ROSTAGNO, H.S.; TEIXEIRA, L.F.A.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, P.F.; LOPES, C.D.; FERREIRA, A.S.; TOLEDO, S.L.B. **Tabelas brasileiras para aves e suínos composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. Viçosa: UFV, 2005, 186p.
- ROTH, F.X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive effects of toyocerin 1. **Piglet Feeding**, v.41, p.58-62, 1988. (abstract).
- SAUBER, T.E.; STAHLY, T.S.; NONNECKE, B.J. Effect of level of chronic immune system activation on the lactational performance of sows. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1985-1993, 1999.
- SCANDOLERA, A.J.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; FRAGA, A.L.; BUDIÑO, F.E.L.; ROBLES-HUAYNATE, R.A.; RUIZ, U.S.; CRISTANI, J. Efeito de fontes protéicas na

dieta sobre a morfologia intestinal e o desenvolvimento pancreático de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2355-2368, 2005.

SHU, Q.; QU, F.; GILL, H.S. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.33, p.171- 177, 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. SAS users guide: Statistics. SAS. Cary, 1998.

STEWART, C.S.; CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Veterinary Journal**, v.31, p.11-33, 1993.

TUCCI, F.M. **Efeitos da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a renovação celular da mucosa intestinal, enzimas digestivas e desempenho**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2003. 84p. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Universidade Estadual Paulista, 2003.

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

VENTE-SPREEUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; BEYNEN, A.C.; VERSTEGEN, M.W.A. Interrelationships between gut morphology and faeces consistency in newly weaned piglets. **Animal Science**, v.77, n.3, p.85-94, 2003.

VENTE-SPREEUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; BAKKER, G.C.M.; BEYNEN, A.C.; VERSTEGEN, M.W.A. Effect of dietary protein source on feed intake and small intestinal morphology in newly weaned piglets. **Livestock Production Science**, v.86, n.1, p.169-177, 2004.

WILLIAMS, N.H.; STAHLY, T.S.; ZIMMERMAN, D.R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention partial efficiency of lysine utilization and lysine needs of pigs. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2472-2480, 1997.

CAPÍTULO 3 – PROBIÓTICO EM DIETAS DE SUÍNOS SOBRE OS PARÂMETROS SANGÜÍNEOS E DIGESTIBILIDADE DE RAÇÕES

RESUMO – Foram realizados dois ensaios sendo: Ensaio 1. O objetivo foi avaliar os parâmetros sangüíneos de leitões recém desmamados, em diferentes idades e recebendo rações com 200 mg de probiótico/kg de ração e sem probiótico. Foram utilizados 20 leitões desmamados e de cada leitão foram colhidas amostras de dois mL de sangue, aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias pós desmame, para determinações das concentrações de hemácias, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos e plaquetas e quatro mL de sangue, nos mesmos dias, para as análises das proteínas séricas totais, albumina e eletroforese convencional das frações protéicas. Ensaio 2. O objetivo foi determinar a digestibilidade de rações para suínos em crescimento suplementados ou não com probiótico nas rações. Foram calculados os coeficientes de digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, matéria mineral, energia bruta e o coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta. As concentrações de probiótico e as idades dos animais influenciaram ($P < 0,05$) a maioria das variáveis dos parâmetros sangüíneos. O probiótico não alterou a digestibilidade das rações, com exceção da matéria mineral ($P < 0,06$). Concluiu-se que a concentração de 200 mg de probiótico, diminuiu as quantidades de leucócitos e da fração beta+gama globulinas demonstrando a capacidade do probiótico em reduzir os desafios infecciosos dos animais após o desmame. A inclusão de probiótico nas dietas de suínos em crescimento melhorou a absorção da matéria mineral.

Palavras-Chave: *Bacillus spp.*, células sangüíneas, estresse, matéria mineral, leitões.

PROBIOTICO IN SWINE DIETS ON THE BLOOD PARAMETERS AND RATIONS DIGESTIBILITY

ABSTRACT – Two assays were accomplished being: Assay 1. The objective was to evaluate the blood parameters of weaned recently piglets, in different ages and receiving rations with 200 mg of probiotic/kg of ration and without probiotic. 20 weaned piglets were used and of each piglet were collected samples of two mL of blood, to the 0, 7, 14, 21 and 28 days after wean, for determinations of erythrocytes, hemoglobin, leukocytes, eosinophil, cane neutrophil, segmented neutrophil, lymphocytes, monocytes and trombocytes concentrations and four mL of blood, in the same days, for analyzes of the serum proteins totals, albumin and conventional electrophoresis of the fractions proteins. Assay 2. The objective was to determine the ration digestibility for growth swine supplemented or not with probiotic in the rations. The digestibility coefficients the dry matter, gross protein, neutral fiber detergent, acid fiber detergent, mineral matter, gross energy and the metabolism coefficient of gross energy. The probiotic concentrations and the ages of the animals influenced ($P<0.05$) most of the variables of the blood parameters. The probiotic did not alter the ration digestibility to except for the mineral matter ($P<0.06$). The conclusions were: The concentration of 200 mg of probiotic, reduced the amounts of leukocytes and beta+gama globulins fraction demonstrating the capacity of the probiotic in reducing the infectious challenges animals after wean. The probiotic inclusion in the diets of growth swine improved the absorption of the mineral matter.

Keywords: *Bacillus spp.*, blood cells, mineral matter, piglets, stress.

INTRODUÇÃO

O uso de antibióticos como promotores de crescimento permitem melhorar o desempenho dos animais, mas está sendo banido da suinocultura, devido principalmente aos riscos representados pelas bactérias resistentes, que podem trazer problemas tanto para a saúde animal como para a humana (CORPET, 1995).

Os nutricionistas têm buscado novas alternativas visando atingir bons índices produtivos, e com base neste conceito surgiram os probióticos, que são suplementos microbianos vivos constituídos por bactérias, fungos ou leveduras, capazes de melhorar o equilíbrio microbiano no intestino, levando à conseqüente redução nos agentes patogênicos, além de estimular o sistema imunológico do hospedeiro (WALKER e DUFFY, 1998) e melhorar a digestibilidade da ração e a absorção de nutrientes (FULLER, 1992; LEEDLE, 2000).

O sangue é responsável pela oxigenação dos tecidos e pelo transporte de nutrientes, produtos de excreção, hormônios, anticorpos, e também é responsável pela defesa do organismo animal. Apresenta uma fase líquida, em que se dissolvem proteínas, açúcares, sais e íons, e uma parte sólida, formada por diferentes tipos celulares, representados por hemácias, leucócitos e plaquetas. Nos animais, as quantidades dos elementos figurados do sangue podem ser alteradas por diversos fatores, tais como a idade, condições fisiológica e sanitária, ocorrência de desordens clínicas, condições de estresse, temperatura ambiental e nutrição (FELDMAN et al., 2000).

Especialmente nos suínos, o estresse provocado por ocasião da desmama estimula respostas fisiológicas e metabólicas, que podem alterar o quadro eritroleucométrico, trombométrico e seu padrão seroprotéico (HANNAS, 2003; BUDIÑO et al., 2004). Determinados nutrientes, elementos ou fatores presentes nas dietas, também podem interferir nestes ajustes ou estimular reações inflamatórias, em virtude da presença de fatores antinutricionais e/ou alergênicos.

Em resposta a essas modificações, ocorre redução no desempenho, normalmente associada a alterações bioquímicas no sistema imunológico, o que

acarreta desbalanço do quadro seroprotéico causado pela reação do sistema imune do leitão, reação esta a nutrientes da dieta, patógenos e agentes físico-ambientais (LI et al., 1990).

Os probióticos possuem ação na imunomodulação do hospedeiro, devido à produção de glicopeptídeos ou outros metabólitos (CHESSON, 1994). Pesquisas demonstraram que o número de leucócitos no sangue e a concentração plasmática de imunoglobulinas G em leitões desmamados, aumentaram após a administração de *Lactobacillus acidophilus* (PULLMAN et al., 1980; CHESSON, 1994). Também, o efeito nutricional dos probióticos mostrou-se mediante o estímulo à produção de enzimas como a lactase e pela manutenção saudável das vilosidades intestinais, as quais melhoram a digestibilidade de alimentos e a absorção de nutrientes (REDDY et al., 1988, FULLER, 1992).

Foram realizados dois ensaios com os objetivos de Ensaio 1: Avaliar o eritroleucograma, trombograma e teores das proteínas séricas de leitões recém desmamados e suplementados ou não com probiótico. Ensaio 2: Determinar a digestibilidade de rações para suínos em crescimento suplementados ou não com probiótico.

MATERIAL E MÉTODOS

Nos dois ensaios foi utilizado o probiótico, constituído por bactérias e levedura: *Bacillus subtilis*, *Bacillus natto*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus termophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Ensaio 1: Parâmetros sangüíneos

O experimento foi conduzido na Unidade de Creche do Setor de Suinocultura, do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal e as análises sangüíneas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal.

Foram utilizados 20 leitões machos castrados, da mesma composição genética ($\frac{1}{2}$ Duroc x $\frac{1}{4}$ Landrace + $\frac{1}{4}$ Large White), desmamados aos 21 dias de idade com peso corporal de $6,99 \pm 0,42$ kg.

Quatro grupos de cinco animais foram distribuídos e alojados segundo o peso corporal e grau de parentesco em baias de $2,71 \text{ m}^2$, sendo cada baia equipada com aquecedores elétricos, bebedouros tipo chupeta e comedouros tipo cocho.

Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, de acordo com o peso do animal, em esquema fatorial 2×5 (duas concentrações de probiótico x cinco idades de colheita). As pressuposições básicas e a análise de variância foram realizadas utilizando-se o programa estatístico (SAS, 1998), com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey (5%).

Foram formuladas duas rações basais (Tabela 1), de modo a atender as exigências nutricionais mínimas de acordo com as idades dos leitões e recomendações mínimas do NRC (1998). A composição das rações foi calculada a partir das tabelas de ROSTAGNO et al. (2000). Durante o experimento os animais receberam ração e água à vontade e iguais condições de manejo. As rações basais foram preparadas e logo divididas em duas partes com pesos similares, em seguida uma parte foi re-misturado com 200 mg de probiótico/kg de ração, obtendo-se as seguintes rações experimentais:

- Ração sem probiótico;
- Ração com probiótico.

Colheita de sangue

Para o monitoramento do quadro sanguíneo foram colhidas amostras de dois mL de sangue (EDTA – 1mg/mL sangue), por punção do *sinus orbital* dos leitões aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias pós desmame, para determinações do eritrograma, leucograma e trombograma. Foram analisadas as concentrações de hemácias – He ($\text{mm}^3 \times 10^3$), hemoglobina – Hb (g%), hematócrito – Ht (%) e leucócitos – Le (mm^3). Também foi realizada a contagem diferencial de leucócitos, calculando-se as porcentagens de: eosinófilos – EOS, neutrófilos bastonetes (jovens) – NBas, neutrófilos segmentados

(maduros) – NSeg, linfócitos – LINF, monócitos – MON e a contagem de plaquetas – Plaq.

Tabela 1. Composições centesimal e nutricional das rações Inicial 1 e 2, fornecidas aos leitões dos 21 aos 35 e dos 36 aos 49 dias de idade, respectivamente.

Ingredientes (%)	Inicial 1	Inicial 2
Milho	66,21	67,53
Farelo de soja	17,57	21,26
Leite em pó desnatado	5,16	6,00
Proteína isolada de soja	5,00	-
Fosfato bicálcico	1,35	1,07
Calcário calcítico	0,77	0,68
Açúcar	3,00	2,74
Sal comum	0,33	0,25
Suplemento mineral e vit.*	0,10	0,10
L-Lisina. HCl (78,4%)	0,37	0,32
DL-Metionina (99,0%)	0,09	0,04
L-Treonina (98%)	0,05	0,01
Valores calculados		
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.265	3.265
Proteína bruta (%)	19,33	17,23
Lisina (%)	1,35	1,15
Cálcio (%)	0,80	0,70
Fósforo disponível (%)	0,40	0,32
Lactose (%)	2,63	3,06

* O suplemento mineral e vitamínico não continha qualquer tipo de promotor de crescimento ou antibiótico. Concentrações de garantia por kg de ração: Vit. A – 4.000 U.I.; Vit. D₃ – 220 U.I.; Vit. E – 22 mg; Vit. K – 0,5 mg; Vit. B₂ – 3,75 mg; Vit. B₁₂ – 20 µg; Pantotenato de Cálcio – 12 mg; Niacina – 20 mg; Colina – 60 mg; Iodo – 140 µg; Selênio – 300 µg; Manganês – 10mg; Zinco – 100 mg; Cobre – 10 mg; Ferro – 99 mg.

Para determinar o teor de proteínas séricas, foram colhidas amostras de quatro mL de sangue (sem anticoagulante), por meio de punção do *sinus orbital* dos leitões nos mesmos dias após o desmame. Foram analisadas as proteínas séricas totais (método do biureto), albumina (método do verde bromocresol) e eletroforese convencional das frações protéicas. A eletroforese convencional do soro sanguíneo separa, normalmente, a albumina e frações de alfa, beta e gama-globulinas. Nos suínos, as frações beta e gama dificilmente separam-se, formando uma fração única (beta + gama) e analisadas desta forma (KANEKO, 1989). O fracionamento

eletroforético das proteínas do soro foi realizado de acordo com o procedimento descrito por SEVELIUS e ANDERSSON (1995).

Ensaio 2: Digestibilidade de rações

O experimento foi conduzido na Unidade de Digestibilidade do Setor de Suinocultura e as análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal, ambos do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal. Utilizaram-se oito gaiolas para estudos de metabolismo, semelhantes às descritas por PEKAS (1968).

Os animais foram distribuídos no delineamento em blocos casualizados, para controlar o peso corporal, com dois tratamentos e quatro repetições para cada tratamento, sendo a unidade experimental representada por um animal. As pressuposições básicas e a análise estatística foram realizadas utilizando-se o pacote computacional (SAS, 1998).

Com a finalidade de microrganismos do probiótico colonizassem o trato digestório dos suínos, 23 dias antes de iniciar o ensaio, oito suínos machos castrados de linhagem genética Topigs, com 50 dias de idade (20 kg de peso médio), foram mantidos em duas baias, sendo que quatro deles receberam a ração sem probiótico e os restantes a ração com probiótico. Após estes 23 dias, os animais foram transferidos para as gaiolas para estudos de metabolismo, onde receberam as mesmas rações.

Foi formulada uma ração basal para atender as exigências mínimas nutricionais dos animais segundo ROSTAGNO et al. (2005), a qual está apresentada na Tabela 2. A ração basal foi preparada e logo dividida em duas partes com pesos similares, em seguida uma parte foi re-misturada com 200 mg de probiótico/kg de ração, obtendo-se as seguintes rações experimentais:

T1 - Ração sem probiótico;

T2 - Ração com probiótico.

Utilizou-se o método da colheita total de fezes e urina, com o óxido férrico como marcador fecal na proporção de 1%. Os animais permaneceram nas gaiolas por um período de 12 dias, sendo os sete primeiros para adaptação às gaiolas e às rações e os

cinco dias restantes para a colheita de fezes e urina. A quantidade de ração fornecida durante o período de colheita foi de 2% do peso corporal do animal, sendo o peso médio corporal no início da colheita de 40,2±1,7 kg.

Tabela 2. Composições centesimal e nutricional da ração basal da fase de crescimento.

Ingredientes	%
Milho	73,90
Farelo de soja	23,15
Óleo de soja	0,24
Fosfato bicálcico	1,27
Calcário calcítico	0,63
Sal comum	0,41
Suplemento min. e vit.*	0,10
L-Lisina. HCl (78,4%)	0,22
DL-Metionina (99 %)	0,036
L-Treonina (98 %)	0,031
Antioxidante	0,010
Total	100,00
<hr/>	
Valores calculados	
Matéria seca, %	87,80
Energia metabolizável, kcal/kg	3.230
Proteína bruta, %	16,82
Matéria mineral, %	4,60
Cálcio, %	0,63
Fósforo total, %	0,54
Fósforo disponível, %	0,33
Lisina digestível, %	0,90
Metionina digestível, %	0,28
Triptofano digestível, %	0,17
Treonina digestível, %	0,58

* O suplemento mineral e vitamínico, não continha qualquer tipo de promotor de crescimento ou antibiótico. Concentrações de garantia por kg do produto: Ácido fólico-500 mg; Selênio-150 mg; Cobre-10000 mg; Pantotenato de cálcio-15000 mg; Biotina-100 mg; Manganês-23000 mg; Iodo-400 mg; Niacina-20000 mg; Antioxidante-100 mg; Vitamina A-6000000 UI; Vitamina B1-1257 mg; Vitamina B12-15000 mcg; Vitamina B2-3336 mg; Vitamina B6-1257 mg; Vitamina D3-1500000 UI; Vitamina E-13000 mg; Vitamina K-2000 mg e Zinco-80000 mg.

Rações e fezes foram analisadas quanto a: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e matéria mineral (MM), segundo SILVA (2002), e energia bruta (EB), em bomba calorimétrica do tipo Parr. Na urina foi determinado o nitrogênio, seguindo a metodologia descrita por SILVA (2002), e a energia bruta determinada em bomba calorimétrica do tipo Parr. Os

cálculos do coeficiente de digestibilidade da energia, dos nutrientes e de metabolizabilidade da energia foram realizados segundo ADEOLA (2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros sangüíneos

As médias e o erro padrão das médias do eritroleucograma e trombograma são apresentados na Tabela 3. As concentrações de hemoglobina, hematócrito e plaquetas foram maiores ($P < 0,05$) nos animais que consumiram ração com probiótico. No entanto, os valores de leucócitos foram maiores ($P < 0,05$) nos animais recebendo ração sem probiótico em relação àqueles que consumiram ração com probiótico.

A trombocitopenia desenvolve-se como resultado da diminuição do número de plaquetas sobreviventes ou do decréscimo na sua produção. Ambos os processos podem ocorrer nos animais que têm infecções bacterianas. A redução das plaquetas no sangue foi reconhecida como a anormalidade hematológica mais comum em animais que têm riquetsias e, especialmente, em infecções causadas por *E. coli* (STOCKHAM, 2000).

As quantidades de linfócitos no sangue de suínos alimentados com adição de probiótico foi 5,6% maior ($P > 0,05$) comparado àqueles que consumiram rações sem probiótico. Esses resultados podem estar relacionados com as situações de estresse a que os leitões foram submetidos, nos quais ocorre a liberação do hormônio corticotrófico (ACTH) que determina a redução da quantidade de linfócitos circulantes (MACARI e LUQUETTI, 2002).

As idades dos leitões afetaram ($P < 0,05$) as variáveis estudadas. Os valores de hemácias, leucócitos, hemoglobina e hematócrito aumentaram ($P < 0,05$) uma semana após a desmama, mantendo-se até a segunda semana. Há que se ressaltar, que os leucócitos aumentaram linearmente até a terceira semana após a desmama.

Tabela 3. Médias e erro padrão das médias das características eritroleucométricas e trombométricas¹ dos leilões, em função da ração e do número de dias pós desmame.

Fatores ²	He 10 ³ µL	Le µL	Hb g/dL	Ht %	EOS %	NBast %	NSeg %	LINF %	MON %	Plaq. µL
Ração	P=0,44	P=0,001	P=0,035	P=0,017	P=0,86	P=0,20	P=0,130	P=0,22	P=0,97	P=0,002
Idade	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,001
Interação	P=0,74	P=0,13	P=0,87	P=0,89	P=0,81	P=0,37	P=0,90	P=0,86	P=0,93	P=0,540
CV (%)	7,65	21,26	8,40	8,67	24,24	26,13	21,94	23,83	28,33	25,00
Ração										
Sem Prob.	6614±87	16456±782 ^a	11,84±0,16 ^b	38,04±0,51 ^b	1,06±0,17	1,50±0,44	50,14±1,71	44,5±1,74	2,72±0,38	425280±15796 ^b
Com Prob.	6749±88	14080±622 ^b	12,32±0,16 ^a	39,41±0,49 ^a	1,10±0,14	1,44±0,25	47,70±1,88	47,0±1,90	2,74±0,36	477780±17474 ^a
Idade: dias pós desmame										
0	5922±84 ^c	9105±465 ^d	11,29±0,24 ^c	37,44±0,65 ^b	2,05±0,27 ^a	0,45±0,15 ^b	48,70±2,44 ^b	45,15±2,65 ^b	3,20±0,47 ^a	595700±23325 ^a
7	7086±117 ^a	12430±586 ^c	12,94±0,24 ^a	41,90±0,80 ^a	0,90±0,25 ^b	1,50±0,46 ^{ab}	45,90±2,36 ^{bc}	46,70±2,48 ^b	4,75±0,71 ^a	418750±19042 ^b
14	7134±87 ^a	19395±911 ^a	12,70±0,17 ^{ab}	40,52±0,55 ^a	0,55±0,15 ^b	0,80±0,65 ^b	61,40±2,50 ^a	33,50±2,72 ^c	3,50±0,52 ^a	410950±26874 ^b
21	6689±109 ^{ab}	19335±784 ^a	11,91±0,23 ^{bc}	36,97±0,85 ^b	1,05±0,20 ^b	2,00±0,28 ^{ab}	50,10±1,38 ^b	45,90±1,45 ^b	0,95±0,21 ^b	455250±19795 ^b
28	6572±101 ^b	16075±853 ^b	11,57±0,18 ^c	36,82±0,65 ^b	0,85±0,22 ^b	2,60±0,83 ^a	38,50±2,37 ^c	56,50±2,61 ^a	1,25±0,34 ^b	377000±20056 ^b

¹ He = hemácia, Le = leucócito, Hb = hemoglobina, Ht = hematócrito, EOS = eosinófilo, NBast = neutrófilo bastonete, NSeg = neutrófilo segmentado, LINF = linfócito, MON = monócito, Plaquetas = Plaq.

² Não houve interação significativa entre os fatores;

³ Médias seguidas da mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). As variáveis EOS, NBast e MON foram transformados pela equação (Y+1)².

No caso das hemácias, hemoglobina e hematócrito, tais modificações podem ser devidas à liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), causando aumento na pressão sanguínea e contração esplênica, que redundam em uma descarga de hemácias na corrente circulatória (SWENSON, 1996). Além disso, a adrenalina liberada em resposta à excitação ou estresse, mobiliza as células leucocitárias marginais para a circulação, o que concorre também para o aumento na contagem total dos leucócitos quando o animal está estressado (FELDMAN et al., 2000).

Estes fenômenos podem explicar o aumento no número de células brancas no sangue dos leitões após a desmama, em função do estresse naturalmente presente neste período, bem como da manipulação do animal no momento da colheita.

Os valores de linfócitos foram mantidos constantes ($P > 0,05$) nos dias 0 e 7 após a desmama. Porém, no dia 14 reduziram-se significativamente, voltando a aumentar ($P < 0,05$) e atingindo valores máximos no dia 28 após a desmama. Estes resultados podem ser explicados devido à grande redução na quantidade de linfócitos circulantes quando o animal é submetido a situações de estresse, pois migram para regiões afetadas do organismo como mucosas, intestinos, útero e pulmões (SWENSON, 1996).

Os linfócitos têm papel fisiológico muito importante na imunidade do animal, pois produzem anticorpos, principalmente imunoglobulina G. Quando os linfócitos são produzidos, passam ao sangue por via linfática, permanecendo por poucas horas. Em seguida, passam aos tecidos por diapedese, retornam à corrente sanguínea pelos vasos linfáticos e recirculam.

As variações ocorridas nos valores dos parâmetros sanguíneos, com o aumento da idade dos animais, estão de acordo com os dados reportados na literatura (FELDMAN et al., 2000; HANNAS, 2003; BUDIÑO et al., 2004). Os resultados também estão de acordo com JIANG et al. (2000), os quais verificaram aumento no número de leucócitos com o aumento da idade dos animais após a desmama.

Os valores de eosinófilos e plaquetas diminuíram ($P < 0,05$) aos 7, 14, 21 e 28 dias pós desmame em comparação ao dia 0. Estes resultados podem ser explicados devido à função primordial dos eosinófilos, que é de detoxificação do organismo e estão presentes em maior concentração nos locais onde ocorrem reações antígeno-anticorpo

e nos pontos de penetração de substâncias estranhas ao organismo, bem como em menor quantidade na corrente circulatória em situações de estresse, reaparecendo no período de recuperação (FELDMAN et al., 2000).

As alterações dos parâmetros sanguíneos se devem provavelmente ao estresse provocado pelo desmame, pela ausência materna, hierarquia social, mudança da dieta e instalações, redução no consumo de alimento e presença de microingredientes que controlam as incidências de diarreia pós desmame (HANNAS, 2003).

As médias e erro padrão das médias das proteínas séricas e eletroforese convencional das frações protéicas estão apresentados na Tabela 4. As proteínas séricas totais, a albumina e alfa globulinas não foram ($P>0,05$) afetadas pelas rações com ou sem probiótico.

Os animais que consumiram ração sem probiótico apresentaram maiores ($P<0,05$) teores de globulina e beta + gama globulinas em relação aos que receberam a ração com probiótico.

As concentrações de beta globulinas tendem a aumentar com a ocorrência de doenças inflamatórias e as de gama globulinas com doenças infecciosas (KANEKO, 1989).

As proteínas que migram na fração beta globulinas incluem aquelas de fase aguda, lipoproteína de baixa densidade, transferrina e algumas das imunoglobulinas. Maiores teores de beta globulinas freqüentemente ocorrem associados a maiores níveis de alfa e gama globulinas, sendo esta parte da resposta a inflamação crônica ou infecção. Também foi sugerido que menores teores de beta globulinas podem ocorrer secundariamente pela ação de hormônios adrenocorticais (KANEKO, 1989).

Com relação à idade, todos os parâmetros estudados foram afetados ($P<0,05$), com exceção da proteína sérica total. No caso da albumina, o valor observado no dia 0, foi maior ($P<0,05$) em relação aos demais dias de colheita, os quais não apresentaram diferença ($P>0,05$). Estes resultados estão de acordo com os citados por KANEKO (1989).

Tabela 4. Médias e erro padrão das médias de proteínas séricas totais, albumina e globulinas no sangue de leitões em função das dietas e o número de dias pós-desmame.

Fatores	Proteínas séricas				
	Totais g/dL	Albumina g/dL	Globulina g/dL	Alfa %	Beta + Gama %
Ração	P=0,096	P=0,52	P=0,010	P=0,56	P=0,030
Idade	P=0,059	P=0,001	P=0,001	P=0,001	P=0,002
Interação	P=0,056	P=0,24	P=0,30	P=0,40	P=0,700
CV (%)	6,97	9,96	16,46	13,32	13,66
Ração					
Sem probiótico	5,34±0,06	2,97±0,06	2,50±0,09 ^a	23,72±0,45	38,11±0,76 ^a
Com probiótico	5,23±0,05	3,05±0,06	2,18±0,06 ^b	24,36±0,56	35,87±0,76 ^b
Idade: dias pós desmame					
0	5,28±0,06	3,59±0,05 ^a	1,69±0,03 ^c	21,53±0,71 ^b	33,17±0,76 ^b
7	5,19±0,06	3,06±0,05 ^b	2,13±0,06 ^{bc}	24,64±0,78 ^{ab}	38,16±1,26 ^a
14	4,99±0,11	2,76±0,09 ^b	2,54±0,08 ^{ab}	26,05±0,80 ^a	36,66±1,25 ^{ab}
21	5,36±0,11	2,75±0,07 ^b	2,61±0,07 ^{ab}	23,40±0,56 ^{ab}	39,76±1,44 ^a
28	5,62±0,07	2,90±0,07 ^b	2,72±0,09 ^a	24,58±0,68 ^{ab}	37,24±0,85 ^{ab}

^{ab} Médias seguidas da mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Os valores observados para a globulina aumentaram gradativamente com a idade, enquanto que a alfa globulina teve seu menor valor ($P < 0,05$) no dia 0 e maior ($P < 0,05$) aos 14 dias após a desmama. Os maiores ($P < 0,05$) valores de beta + gama globulinas foram observados nos dias 7 e 21 após a desmama e o menor ($P < 0,05$) no dia do desmame. Os valores de todas as frações apresentaram-se normais quando comparados àqueles citados por KANEKO (1989), FRASER (1991) e BUDIÑO et al. (2004).

Digestibilidade das rações

Os coeficientes de digestibilidade aparente da energia e dos nutrientes, os coeficientes de metabolizabilidade, os teores de nutrientes digestíveis e de energias digestível e metabolizável das rações estão apresentados na Tabela 5.

Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia e o coeficiente de metabolizabilidade das rações foram semelhantes ($P > 0,05$) nos tratamentos estudados, com exceção da matéria mineral, que foi mais ($P < 0,06$) absorvida nos animais suplementados com probiótico em relação àqueles sem suplementação. Tais resultados estão de acordo com KORNEGAY e RISLEY (1996), que observaram discretas melhorias nas digestibilidades da matéria seca (0,4%) e da proteína bruta (0,4%), avaliadas em suínos em terminação, recebendo rações contendo *Bacillus spp*, comparados àqueles sem suplementação de probiótico. No entanto, no caso da matéria mineral absorvida a melhoria foi de apenas 1,7% o que diferiu dos dados obtidos no presente estudo, cuja diferença foi de 7,83%, porém não significativo a favor dos animais suplementados com probiótico. Estes resultados não estão de acordo com os obtidos anteriormente por HUAYNATE et al. (2006), os quais observaram menores excreções de certos minerais nas fezes de suínos nas fases inicial e de crescimento, quando receberam probiótico nas rações.

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e de metabolizabilidade (CMA) e valores nutricionais das rações de suínos em crescimento suplementadas ou não com probiótico.

Variável	Sem probiótico	Com probiótico	P	Dif. (%) ¹	CV (%) ²
CDA Matéria seca, %	87,19	88,52	0,37	+1,33	2,21
CDA Energia bruta, %	86,68	88,22	0,34	+1,54	2,39
CMA Energia bruta, %	83,98	85,71	0,42	+1,73	3,33
CDA Proteína bruta, %	85,35	88,34	0,16	+2,99	3,05
CDA Fibra em detergente neutro, %	80,68	83,27	0,47	+2,59	5,72
CDA Fibra em detergente ácido, %	70,45	73,43	0,68	+2,98	13,17
Matéria mineral absorvida, %	50,28	58,11	0,06	+7,83	8,78
Energia digestível, kcal/kg	3.445	3.503			
Energia metabolizável, kcal/kg	3.337	3.403			
Proteína digestível, %	15,56	16,44			
FDN digestível, %	17,09	18,43			
FDA digestível, %	3,64	4,07			
Matéria mineral retida, %	1,99	2,50			
Matéria seca digestível, %	77,22	78,44			

¹ Diferença entre as rações com e sem probiótico, em unidades percentuais.

² Coeficiente de variação.

Quanto à proteína, os resultados obtidos neste experimento, não estão de acordo daqueles observados por SILVEIRA et al. (2007), que notaram maior coeficiente de digestibilidade desse nutriente em suínos que receberam probiótico nas dietas ($P < 0,05$).

Estão de acordo com os resultados notados neste experimento, as observações de UTIYAMA (2004), que estudou a digestibilidade dos nutrientes de rações contendo probiótico para suínos de 42 dias de idade, concluindo que não houve diferença nos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, energia bruta e proteína bruta, entre os animais que consumiram rações com e sem probiótico à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*.

Os animais suplementados com probiótico, digeriram melhor os nutrientes da dieta em relação àqueles sem suplementação, porém as diferenças não foram significativas, demonstrando que o probiótico pode ter auxiliado na digestão e/ou absorção desses nutrientes, o que confirma as observações de ROWLAND (1992), JIN et al. (1997) e LEEDLE (2000), os quais afirmaram que certas espécies de

microrganismos presentes em probióticos secretam amilase, protease e lipase, que podem favorecer a digestão do alimento.

CONCLUSÕES

- Os resultados demonstraram que a adição de 200 mg de probiótico/kg de ração às rações de leitões recém desmamados diminuiu as quantidades de leucócitos, a síntese de globulinas e beta + gama globulinas, demonstrando a capacidade do probiótico em reduzir os desafios infecciosos dos animais após a desmama e a idade dos animais alterou os parâmetros sanguíneos estudados.
- A inclusão de 200 mg de probiótico/kg de ração nas dietas de suínos em crescimento melhorou a absorção da matéria mineral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEOLA, O. Digestion and balance techniques in pigs. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. **Swine Nutrition**. (Ed) Boca Raton London New York Washington DC, p.903-916, 2001.

BUDIÑO, F.E.L.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; JUNIOR, J.M.P.; SANTANA, A.E.; TUCCI, F.M.; FRAGA, A.L.; SCANDOLERA, A.J.; ROBLES-HUAYNATE, R.A. Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros sanguíneos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, n.4, p.529-536, 2004.

CHESSON, A. Probiotics and other intestinal mediators. In: Cole, D.J.A.; Wiseman, J.; Varley, M.A. **Principles of Pig Science**. Nottingham University Press, p.197-214, 1994.

CORPET, D.E. Microbiological hazards for humans of antimicrobial growth promoter use in animal production. **Revue Médecine Vétérinaire**, v.12, n.147, p.850-862, 1995.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5ed. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000, 1344p.

FRASER, C.M. **Manual Merck de Veterinária**. São Paulo: Roka, 1991, 1803p.

- FULLER R. Problems and prospects. In: FULLER, R. **Probiotics – The Scientific Basis**. London: Chapman & Hall, p.377-386, 1992.
- HANNAS, M.I. **Plasma suíno e ovo inteiro desidratados em substituição a proteína bruta do leite em pó nas rações de leitões**. Jaboticabal, 2003, 149p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista. 2003.
- HUAYNATE, R.A.R.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; FRAGA, A.L.; SCANDOLERA, A.J.; BUDIÑO, F.E.L. Effect of adding macro and micro minerals in pigs feces fed diets with different levels of probiotic. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.3, p.385-392, 2006.
- JIANG, R.; CHANG, X.; STOLL, B.; FAN, M.Z.; ARTHINGTON, J.; WEAVER, E.; CAMPBELL, J.; BURRIN, D.G. Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v.130, p.21-26, 2000.
- JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v.53, p.351-363, 1997.
- KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Academic Press, 4th Edition, California, 1989, 932p.
- KORNEGAY, E.T.; RISLEY, C.R. Nutrient digestibilities of a corn-soybean meal diet as influenced by Bacillus products fed to finishing swine. **Journal of Animal Science**, v.74, p.799-805, 1996.
- LEEDLE, J. Probiotics and DFMs – Mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL. 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.25-40, 2000.
- LI, D.F.; NELSSSEN, J.L.; REDDY, P.G.; BLECHA, F.; HANCOCK, J.D.; ALLEE, G.L.; GOODBAND, R.D.; KLEMM, R.D. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pigs. **Journal Animal Science**, v.68, p.1790-1788, 1990.
- MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Fisiologia Cardiovascular. In: **Fisiologia Aviária aplicada a Frangos de Corte**. MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLES, E. Jaboticabal SP. p.17-36, 2002.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 10. ed. Washington: National Academy Press, 1998, 198p.
- PEKAS, J.C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, v.27, n.5, p.1303-1309, 1968.
- PULLMAN, D.S.; DANIELSON, D.M.; PEO, E.R. Effects of microbial feed additives on performance of starter and growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v.51, n.3, p.577-581, 1980.
- REDDY, F; ROTH, G.H.; EIGEL, S.T.; PEIRSON, D. Probiotics. *Journal Food Protection*, v.51, p.71-72, 1988.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2000, 141p.
- ROSTAGNO, H.S.; TEIXEIRA, L.F.A.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, P.F.; LOPES, C.D.; FERREIRA, A.S.; TOLEDO, S.L.B. **Tabelas brasileiras para aves e suínos composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. Viçosa: UFV, 2005, 186p.
- ROWLAND, I.R. Metabolic interactions in the gut. In: FULLER, R. **Probiotics – the scientific basis**. London: Chapman e Hall, p.29-53, 1992.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS users guide: Statistics**. SAS. Cary, 1998.
- SEVELIUS, E.; ANDERSSON, M. Serum protein eletrophoresis as a prognostic marker of chronic liver disease in dogs. **Veterinary Record.**, v.137, p.663-667, 1995.
- SILVA, D. J. **Análise de Alimentos, Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: Editora UFV, 2 ed., 2002, 235p.
- SILVEIRA, H.; BARBOSA, C.E.T.; ALMEIDA, E.C.; PEREIRA, L.M.; CERQUEIRA, L.G.S.; SOUZA, P.F.A. Utilização de probiótico mais composto enzimático sobre a digestibilidade dos nutrientes e balanço de nitrogênio em leitões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 13, 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis. ABRAVES, p.433-434, 2007.

STOCKHAM, S.L. Hematologic changes due to bacterial infections. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, p.38-43, 2000.

SWENSON, M.J. Propriedades fisiológicas e componentes químicos e celulares do sangue – Parte 1. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. (Ed.). Dukes – **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11^a ed., Guanabara, p.9-19, 1996.

UTIYAMA, C.E. Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém desmamados. Piracicaba, 2004, 110p. Tese (Doutorado). Departamento de Zootecnia, ESALQ - Universidade Paulista de São Paulo USP.

WALKER, W.A.; DUFFY, L.C. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.9, p.668-675, 1998.

CAPÍTULO 4 – MÉTODOS DE COLHEITA DE FEZES E BALANÇO DE MINERAIS EM SUÍNOS ALIMENTADOS COM DIETAS SUPLEMENTADAS OU NÃO COM PROBIÓTICO

RESUMO – Foram realizados dois ensaios de metabolismo, utilizando-se oito suínos, machos castrados, em fase de crescimento e em cada ensaio. Ensaio 1. Foram comparados os teores de matéria seca, proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo, matéria mineral e fibra em detergente neutro nas fezes colhidas por meio de dois métodos: diretamente do reto do animal (M_R) e da caixa coletora da gaiola (M_C), realizados simultaneamente em cada suíno. Ensaio 2. Foi estudado o balanço de minerais, sendo os animais submetidos a dois tratamentos: T_1 - ração basal e T_2 - ração basal + 200 mg de probiótico/kg de ração. Os teores dos nutrientes mensurados foram similares nas fezes colhidas em ambos os métodos, com exceção da matéria seca. Para o balanço de minerais, não houve diferença ($P>0,05$) entre os animais alimentados com rações contendo ou não probiótico. Ambos os métodos de colheita de fezes podem ser realizados, simultaneamente, em ensaios de balanço de minerais. A inclusão do probiótico na dieta de suínos em crescimento não alterou o balanço de minerais. No entanto, induziram a pioras na absorção e retenção de minerais, porém, a melhores aproveitamentos dos minerais da relação retido/absorvido (%RET/ABS) Ca, P, N, Na, S, Fe e Zn, sendo pior apenas para o K.

Palavras-Chave: *Bacillus spp.*, metodologia, minerais traços, nitrogênio.

**METHODS OF FECES COLLECT AND MINERAL BALANCE OF PIGS FED DIETS
SUPPLEMENTED WITH OR WITHOUT PROBIOTIC**

ABSTRACT – Two metabolism assays were accomplished, being used eight barrow swine, in growth phase and in each assays. Assay 1. The tenors of dry matter, gross protein, gross energy, ethereal extract, mineral matter and neutral fiber detergent were compared, in the feces collected through two methods: directly of the animal rectum (M_R) and of the collector cage box (M_C), accomplished simultaneously in each swine. Assay 2. It was studied the minerals balance, being the animals submitted to two treatments: T1 - basal ration and T2 - basal ration + 200 mg of probiótico/kg of ration. The tenors of the measured nutrients were similar in the feces collected in both methods, except for the dry matter. For the minerals balance, there was not difference ($P>0.05$) among the animals fed with rations containing or no probiotic. Both methods of collect of feces could be accomplished, simultaneously, in minerals balance assays. The inclusion of the probiotic in the growth swine diet did not alter the minerals balance. However, they induced to worsening in the absorption and retention of minerals, however, to improve uses of the minerals of the relationship retention/absorbed (% RET/ABS) Ca, P, N, Na, S, Fe and Zn, being worse just for K.

Keywords: *Bacillus spp.*, methodology, minerals traces, nitrogen.

INTRODUÇÃO

Os índices zootécnicos da suinocultura nacional têm melhorado sensivelmente ao longo dos últimos anos, mediante a intensificação da produção, obtendo altos níveis de produtividade, compatíveis com os produtores internacionais mais tradicionais. No entanto, a concentração de grande quantidade de animais ocasiona maior produção de dejetos por área, que pode aumentar os riscos de contaminação do ambiente e prejudicar a sustentabilidade da atividade suinícola.

Dos nutrientes ingeridos pelos suínos, 45 a 60 % do nitrogênio, 50 a 80 % do cálcio e fósforo e 70 a 95 % do potássio, sódio, magnésio, cobre, zinco, manganês e ferro são excretados pelas fezes e urina (KORNEGAY e HARPER, 1997), sendo que o nitrogênio, fósforo, cobre e zinco são os de maior preocupação ambiental, pelo risco de contaminação do solo e da água (REBOLLAR e MATEOS, 1999).

Conhecimentos no campo da nutrição têm sido desenvolvidos para reduzir a emissão de minerais nos dejetos suínos e entre esses temos a inter-relação probiótico - nutrição animal. Assim, a inclusão de probióticos (microrganismos que estabilizam a microbiota intestinal) às dietas, parece ter efeito positivo sobre a digestibilidade dos componentes dietéticos, a manutenção da homeostasia fisiológica frente aos fatores estressores, o aumento da absorção dos minerais pelos suínos e a melhora no aproveitamento dos minerais absorvidos, reduzindo assim o impacto ambiental da atividade (SCHEUERMANN, 1993; GOMBO et al., 1995; KORNEGAY e RISLEY, 1996; JIN et al., 1997; MENTEN, 2001).

A etapa experimental nos estudos de balanço de minerais pode ser realizada da mesma forma que os estudos de digestibilidade (ADEOLA, 2001), porém, são obtidos resultados não satisfatórios, sendo freqüentemente observados maiores teores de micro minerais excretados do que ingeridos (CASE e CARLSON, 2002).

A contaminação das fezes entre a eliminação pelo animal e sua colheita, bem como a pequena concentração dos micro comparados aos macro minerais, torna mais difícil sua leitura. Esses dois fatores, talvez sejam os problemas nos ensaios de balanço de minerais. Assim, técnicas de colheita de fezes diretamente do reto dos suínos

poderiam reduzir a contaminação das fezes, porém poderiam também alterar sua composição, comprometendo o ensaio de balanço.

Portanto, foram realizados dois ensaios e os objetivos foram:

Ensaio 1. Comparar a composição das fezes de suínos em crescimento, por meio de dois métodos de colheita. A composição dos teores de matéria seca (MS), energia bruta (EB), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) e fibra em detergente neutro (FDN).

Ensaio 2. Determinar o consumo de ração e o balanço de macro e micro minerais: Cálcio (Ca), Fósforo (P), Nitrogênio (N), Sódio (Na), Potássio (K), Enxofre (S), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn), em rações com e sem probiótico para suínos em crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio 1: Métodos de colheita de fezes em ensaio de metabolismo

O ensaio de campo e as análises laboratoriais foram realizados na Unidade de Digestibilidade do Setor de Suinocultura e no Laboratório de Nutrição Animal, respectivamente, ambos do Departamento de Zootecnia da FCAV–UNESP, Campus de Jaboticabal.

Foram utilizados oito suínos machos castrados da mesma constituição genética ($\frac{1}{2}$ Duroc x $\frac{1}{4}$ Landrace + $\frac{1}{4}$ Large White), com $24 \pm 0,7$ kg de peso corporal, os quais foram alojados em gaiolas para estudos de metabolismo, semelhantes às descritas por PEKAS (1968). Os animais permaneceram em experimentação por 12 dias, sendo os sete primeiros para adaptação às gaiolas e ração e os cinco restantes para a colheita de fezes. Para determinar o início (8^o dia) e o final (12^o dia) do período de colheita, foi adicionado à ração 1% de óxido férrico (Fe_2O_3) como marcador fecal.

Dois métodos de colheita de fezes foram avaliados em cada animal simultaneamente, sendo:

M_R – Colheita de fezes no reto do animal;

M_C – Colheita de fezes na caixa coletora da gaiola para estudos de metabolismo.

No método M_R, as colheitas foram efetuadas diariamente, em três horários (08h00, 11h00 e 17h00), mediante estimulação anal, e no método M_C as colheitas foram feitas seguindo os procedimentos padronizados no ensaio de digestibilidade, com intervalo de 24 horas para cada colheita.

Os oito animais receberam a mesma ração (Tabela 1), formulada de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais indicadas pelo NRC (1998). A composição nutricional dos ingredientes das rações foi baseada em ROSTAGNO et al. (2000).

Tabela 1. Composição percentual e níveis nutricionais da dieta experimental de suínos em crescimento.

Ingredientes	%
Milho	77,64
Farelo de soja	19,34
Óleo de soja	0,93
Fosfato bicálcico	0,72
Calcário calcítico	0,86
Sal comum	0,15
Suplemento min. e vit.*	0,10
L-Lisina. HCl (78,4%)	0,25
Antioxidante, BHT	0,01
Total	100,00
Valores calculados	
Energia metabolizável, kcal/kg	3.265
Proteína bruta, %	15,74
Lisina, %	0,95
Metionina + Cistina, %	0,55
Treonina, %	0,60
Triptofano, %	0,18
Cálcio, %	0,60
Fósforo disponível, %	0,23
Sódio, %	0,10

* O suplemento mineral e vitamínico utilizado não continha qualquer tipo de promotor de crescimento ou antibiótico. Concentrações de garantia por kg de ração: Vit. A – 4,000U.I.; Vit. D₃ – 220U.I.; Vit. E – 22mg; Vit. K – 0,5mg; Vit. B₂ – 3,75mg; Vit. B₁₂ – 20mcg; Pantotenato de cálcio – 12mg; Niacina – 20mg; Colina – 60mg; Iodo – 140µg; Selênio – 300µg; Manganês – 10mg; Zinco – 100mg; Cobre – 10mg e Ferro – 99mg.

A ração foi fornecida duas vezes ao dia, às 08h00 e 18h00, sendo sua quantidade determinada em função do consumo médio dos animais observado durante

o período de adaptação (3% do peso vivo do animal). A ração foi fornecida úmida (60% de ração + 40% de água) e a água à razão de 3 mL/g de ração consumida.

As fezes colhidas em ambos os métodos foram pesadas, congeladas e armazenadas para posterior análise laboratorial. Por ocasião das análises laboratoriais, as fezes foram descongeladas, pré-secas e moídas em moinho de faca (peneira com malha de 1 mm) e de bola e então determinadas a matéria seca – MS, proteína bruta – PB, extrato etéreo – EE, fibra em detergente neutro – FDN, matéria mineral – MM (SILVA, 2002) e energia bruta – EB, por meio de Bomba calorimétrica do tipo Parr.

A análise estatística foi realizada mediante o teste de hipótese para duas médias pareadas ($mé dia_1 - mé dia_2 = 0$) e para duas variâncias ($variância_1/variância_2 = 1$) com 5% de probabilidade. Cada amostra foi analisada com quatro réplicas. As pressuposições básicas para os testes de hipóteses e as análises estatísticas foram realizadas segundo (SAS, 1998).

Ensaio 2: Balanço de minerais para suínos em crescimento alimentados com dietas suplementadas ou não com probiótico

O ensaio foi conduzido na Unidade de Digestibilidade do Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Química do Departamento de Tecnologia, ambos da FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal. O galpão, construído em alvenaria, continha oito gaiolas de metabolismo semelhantes às descritas por PEKAS (1968).

Foi utilizado o probiótico constituído pelas seguintes espécies de bactérias e levedura: *Bacillus subtilis*, *Bacillus natto*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus termophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*.

A ração foi a mesma utilizada no Ensaio 1 (Tabela 1). A ração basal foi preparada e logo dividida em duas partes com pesos similares, em seguida uma parte foi re-misturada com 200 mg de probiótico/kg de ração, obtendo-se as seguintes rações experimentais:

T1 – Ração sem probiótico;

T2 – Ração com probiótico.

O ensaio foi realizado no mês de agosto, quando as temperaturas e umidade relativas médias no interior do galpão foram 21,6°C e 59,86%, respectivamente. Antes de iniciar o ensaio, os 20 suínos machos castrados de mesma genética ($\frac{1}{2}$ Duroc x $\frac{1}{4}$ Landrace + $\frac{1}{4}$ Large White) foram mantidos por 30 dias em duas baias, sendo que dez animais receberam ração sem probiótico e dez a ração com probiótico, com a finalidade de proporcionar tempo hábil para a colonização do trato digestório pelos microrganismos do probiótico.

Após os 30 dias de adaptação, de cada baia foram escolhidos quatro animais homogêneos quanto ao peso corporal ($23,3 \pm 0,7$ kg), os quais foram transferidos às gaiolas para estudos de metabolismo, sendo mantidos os tratamentos iniciais e distribuídos em delineamento em blocos casualizados para controlar as diferenças iniciais de peso, com dois tratamentos e quatro repetições por tratamento, sendo a unidade experimental representada por um animal.

Os animais foram mantidos durante 12 dias nas gaiolas, sendo os sete primeiros para adaptação e os outros cinco dias para a colheita de fezes e urina. A quantidade de ração fornecida diariamente durante o período de colheita foi baseada no consumo médio observado durante o período de adaptação. O manejo alimentar foi similar ao primeiro ensaio citado. Foi utilizado o método da colheita total de fezes e urina e para determinar o início e o final da colheita, foi adicionado à ração, 1% de óxido férrico (Fe_2O_3) como marcador fecal.

As colheitas de fezes e urina foram realizadas para duas finalidades. Durante os primeiros dois dias, as fezes foram colhidas da caixa coletora e a urina foi colhida em baldes plásticos colocados sob o funil coletor da gaiola. As colheitas foram realizadas diariamente às 08h30, sendo em seguida pesadas, mensuradas e desprezadas. Estas amostras serviram para determinar as quantidades de fezes e urina produzidas diariamente de cada animal.

Nos três últimos dias da fase de colheita, além de efetuar a colheita de fezes da caixa coletora para sua quantificação, amostras de fezes também foram colhidas diretamente do reto dos animais, às 08h00, 11h00 e 17h00, as quais foram pesadas e posteriormente enviadas ao laboratório para as análises de macro e micro minerais.

Com a finalidade de evitar qualquer contaminação as amostras foram colhidas diretamente do reto.

A urina, também foi colhida nos três últimos dias da fase de colheita, a cada 12 horas, em um balde contendo 20 mL de HCl 12N (diluído na proporção 1:1), para evitar perdas de nitrogênio e proliferação de bactérias. Sobre o funil coletor foram colocadas lãs de vidro, que foram trocadas diariamente, para a retenção de impurezas, tais como resíduos fecais e cerdas dos animais.

O volume de urina colhido a cada 12 horas foi homogeneizado e amostrada uma alíquota de 200 mL, que foi colocada em garrafas plásticas identificadas e mantidas em refrigeração até o final do período de colheita, quando as amostras foram colocadas em freezer até a realização das análises laboratoriais.

As amostras de fezes, urina, rações e água de bebida foram submetidas à digestão e análise pelo método Kjeldal para determinação do nitrogênio e pela digestão nitroperclórica para solubilização dos demais minerais, sendo realizadas análises de fósforo pelo método colorimétrico, de enxofre pelo método de turbimetria e demais minerais pelo método de absorção atômica de chama, segundo BATAGLIA (1983). Foram calculadas as percentagens de mineral absorvido (%ABS), retido (%RET) e relação retido absorvido (%RET/ABS), segundo ADEOLA (2001), conforme indicado nas expressões seguintes:

$$\%ABS = (\text{quantidade de mineral absorvido} / \text{quantidade de mineral consumido}) * 100$$

$$\%RET = (\text{quantidade de mineral retido} / \text{quantidade de mineral consumido}) * 100$$

$$\%RET/ABS = (\text{quantidade de mineral retido} / \text{quantidade de mineral absorvido}) * 100$$

Em que:

Quantidade de mineral absorvido = quantidade de mineral consumido – quantidade de mineral excretado nas fezes;

Quantidade de mineral retido = quantidade de mineral absorvido – quantidade de mineral excretado na urina.

Para o cálculo da quantidade de mineral excretado nas fezes foi considerado o teor dos minerais presentes nas amostras analisadas e multiplicado pela quantidade total de fezes colhidas durante os cinco dias. As pressuposições básicas e as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SAS (1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio 1. Métodos de colheita de fezes em ensaio de metabolismo

As pressuposições básicas para os testes de hipóteses foram atendidas (Tabela 2). As médias e erro padrão das médias da MS, PB, EB, EE, MM e FDN nas fezes dos suínos, colhidas do reto e da caixa coletora das gaiolas para estudos de metabolismo, são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Médias¹ e erro padrão das médias da composição de fezes colhidas do reto (M_R) e da caixa coletora (M_C).

Método	MS	PB	EB	EE	MM	FDN
M _R	34,5± 0,9 ^b	16,7±0,5	4995±39	14,1±1,3	12,2±0,4	32,3±1,0
M _C	36,2± 0,6 ^a	16,6±0,5	4993±55	15,1±0,8	12,6±0,4	30,8±0,6
Distribuição ²	P=0,250	P=0,250	P=0,061	P=0,250	P=0,250	P=0,250
Homog. ³	P=0,441	P=0,786	P=0,343	P=0,248	P=0,699	P=0,224
Teste t ⁴	P<0,027	P=0,798	P=0,937	P=0,142	P=0,197	P=0,082

¹ Valores com base em 100% de matéria seca;

^{ab} Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferirem entre si, pelo teste F, 5%;

² Teste de Cramer-von Mises (W) para distribuição dos erros, 5%;

³ Teste de Levene para homogeneidade de variância, 5%;

⁴ Teste de t para duas médias pareadas (média1–média2=0), 5%.

Observou-se que os teores das variáveis avaliadas nas fezes foram similares ($P>0,05$) nos dois métodos de colheita, com exceção da MS, que foi maior ($P<0,05$) nas fezes colhidas da caixa coletora do que naquelas colhidas do reto. O baixo teor de umidade nas fezes colhidas da caixa coletora da gaiola para estudos de metabolismo, foi devido a essas terem sido recolhidas em intervalos de 24 horas, tendo perdido água por evaporação.

Portanto, os dois métodos de colheita de fezes, podem ser realizados simultaneamente em ensaios de metabolismo, sendo executadas as análises laboratoriais nas fezes colhidas do reto, por estarem menos expostas aos contaminantes inerentes à caixa, como poeira ambiental, pêlos, pele entre outros e as fezes colhidas da caixa coletora da gaiola, para a quantificação da produção total de fezes.

Na Tabela 3 são apresentadas as variâncias observadas para cada uma das variáveis avaliadas em ambos os métodos estudados. A variância dos teores de MS, PB, EB, EE, MM e FDN nas fezes colhidas do reto e da caixa coletora foram similares ($P > 0,05$).

Tabela 3. Médias das variâncias da composição de fezes colhidas do reto (M_R) e da caixa coletora (M_C).

Método	MS	PB	EB	EE	MM	FDN
M_R	2,94	2,32	24298,7	5,46	1,26	3,04
M_C	5,84	1,98	12344,2	12,47	1,03	7,32
Teste de hipótese ¹	$P=0,39$	$P=0,84$	$P=0,39$	$P=0,30$	$P=0,80$	$P=0,27$

¹ Teste de Hipótese para as duas variâncias ($\text{variância}_1 / \text{variância}_2 = 1$), t (5%).

As menores variâncias observadas nas fezes colhidas do reto, com exceção da EB, pode ser uma indicação de que as variâncias experimentais durante o processamento e as análises laboratoriais das fezes colhidas do reto foram menores em relação às da caixa coletora. Nas avaliações de técnicas de processamento e determinação de nutrientes, exigem-se métodos que forneçam menores variações, indicando maior rigor nos dados obtidos.

Ensaio 2. Balanço de minerais para suínos em crescimento alimentados com dietas suplementadas ou não com probiótico

O consumo diário médio de ração dos animais que receberam probiótico foi de 1374 g, enquanto daqueles que consumiram ração sem probiótico foi de 1131 g. Esta diferença de 21,5% ($P < 0,05$) a favor dos suínos que receberam probiótico pode ser devido à ação dos microrganismos do probiótico na manutenção do equilíbrio microbiano intestinal frente aos fatores estressores (FOX et al., 1988), que neste caso poderia ser a melhor adaptação dos animais às gaiolas para estudos de metabolismo. Além disso, sabe-se que o uso de probiótico nas dietas apresenta melhores resultados quando os animais estão sujeitos a fatores estressores, que podem ser físico, social ou psicológico. Nesta situação, observou-se que os animais que consumiram ração com probiótico, controlaram melhor os desafios da adaptação às gaiolas para estudos de

metabolismo, possivelmente auxiliados pelos microrganismos do probiótico, os quais foram adicionados 30 dias antes de iniciar o experimento.

As pressuposições para as análises de variância do balanço de minerais foram atendidas (Tabelas 4 e 5). Os valores de %ABS, %RET e %RET/ABS dos minerais Ca, P, N, Na, K e S, são apresentados na Tabela 4 e do Cr, Fe, Mn e Zn na Tabela 5. Não houve diferença ($P>0,05$) para os minerais determinados. No entanto, os animais que consumiram rações com probiótico tiveram maior %RET/ABS para o Ca - 2,5%, P - 0,59%, N - 11,4%, Na - 2,1%, S - 10,5%, Fe - 4,3% e Zn - 0,12% e menor para o K - 24,7%. Para cromo e manganês as relações não foram calculadas, pois as quantidades destes minerais na urina não foram detectadas pelo aparelho.

As %ABS e %RET de minerais, representam a eficiência dos processos de solubilização e absorção no trato gastrintestinal do animal, que podem ser afetados pela presença dos microrganismos do probiótico, agindo benéficamente no hospedeiro, podendo também ser afetados pelo consumo de ração. No caso deste estudo, o maior consumo de ração observado nos animais do tratamento com probiótico, pode ter induzido à piora nas %ABS e %RET dos minerais, como observado nas Tabelas 4 e 5.

Fisiologicamente, a eficiência de utilização de nutrientes pelo suíno decresce quando o consumo de ração aumenta (LOW, 1990). Da mesma forma, pesquisadores do INRA (1984) observaram que quando o consumo de ração foi reduzido, os animais tornaram-se mais eficientes na digestão dos alimentos e utilização dos nutrientes. Neste caso, o alto consumo de ração pelos animais alimentados com probiótico, pode ter piorado as %ABS e %RET dos minerais.

Assim, UNDERWOOD e SUTTLE (1999) mencionaram que maiores concentrações de minerais nas fezes foram determinadas por maiores concentrações dos mesmos na dieta e vice versa. Desta forma, SCHNEIDER et al. (1985), BRONNER (1987) e CRENSHAW (2001) afirmaram que a absorção do cálcio é controlada hormonalmente e BAKER (2001) concluiu que o cálcio é absorvido eficientemente quando há baixo consumo. PATIENCE (1993) mencionou que diversos hormônios trabalham em concordância para controlar as excreções do sódio, com a finalidade de manter a homeostasia deste mineral no organismo animal.

Tabela 4. Médias¹ e erro padrão das médias das percentagens de macro minerais absorvidos (%ABS), retidos (%RET) e retidos/absorvidos (%RET/ABS), para suínos em crescimento alimentados com dietas suplementadas ou não com probiótico.

	%ABS	%RET	%RET/ABS	DIF. (%) ²
Cálcio				
Com probiótico	58,63 ± 15,5	56,43 ± 15,0	96,19 ± 1,9	+ 2,50
Sem probiótico	61,52 ± 3,0	57,87 ± 13,2	93,84 ± 5,0	
CV (%)	23,8	24,8	4,0	
Distribuição ³	P=0,19	P=0,25	P=0,25	
Homogeneidade ⁴	P=0,62	P=0,71	P=0,15	
Fósforo				
Com probiótico	91,60 ± 2,9	90,34 ± 3,2	98,61 ± 0,4	+ 0,59
Sem probiótico	92,32 ± 1,3	90,59 ± 1,9	98,03 ± 0,8	
CV (%)	2,5	2,9	0,6	
Distribuição	P=0,23	P=0,25	P=0,25	
Homogeneidade	P=0,24	P=0,34	P=0,29	
Nitrogênio				
Com probiótico	85,26 ± 4,1	62,21 ± 8,9	72,74 ± 7,1	+ 11,41
Sem probiótico	83,88 ± 4,0	54,91 ± 7,5	65,29 ± 6,7	
CV (%)	4,3	14,1	10,0	
Distribuição	P=0,25	P=0,25	P=0,25	
Homogeneidade	P=0,47	P=0,68	P=0,88	
Sódio				
Com probiótico	91,72 ± 1,7	75,58 ± 8,8	82,29 ± 8,1	+ 2,07
Sem probiótico	91,92 ± 2,9	74,22 ± 7,2	80,62 ± 5,5	
CV (%)	2,6	10,8	8,5	
Distribuição	P=0,23	P=0,17	P=0,22	
Homogeneidade	P=0,06	P=0,39	P=0,08	
Potássio				
Com probiótico	76,78 ± 6,2	8,72 ± 4,3	11,29 ± 5,5	- 24,73
Sem probiótico	75,47 ± 2,8	11,28 ± 3,7	15,00 ± 5,2	
CV (%)	6,3	40,1	40,5	
Distribuição	P=0,15	P=0,25	P=0,23	
Homogeneidade	P=0,23	P=0,73	P=0,89	
Enxofre				
Com probiótico	73,24 ± 6,4	43,61 ± 7,8	59,29 ± 6,8	+ 10,49
Sem probiótico	79,28 ± 9,4	42,87 ± 9,4	53,66 ± 6,6	
CV (%)	10,6	20,0	11,9	
Distribuição	P=0,25	P=0,25	P=0,25	
Homogeneidade	P=0,36	P=0,52	P=0,93	

¹ Percentagem e erro padrão da média;

² Diferença para %RET/ABS entre a dieta com e sem probiótico;

³ Teste de Cramer-von Mises (W) para distribuição dos erros, 5%;

⁴ Teste de Levene para homogeneidade de variância, 5%.

Tabela 5. Médias¹ e erro padrão das médias das percentagens de micro minerais absorvidos (%ABS), retidos (%RET) e retidos/absorvidos (%RET/ABS), para suínos em crescimento alimentados com dietas suplementadas ou não com probiótico.

	%ABS	%RET	%RET/ABS	DIF. (%) ²
Cromo				
Com probiótico	50,57 ± 9,6	50,57 ± 9,6	-----	
Sem probiótico	52,80 ± 7,0	52,80 ± 7,0	-----	
CV (%)	16,2	16,2		
Distribuição ³	P=0,25	P=0,25		
Homogeneidade ⁴	p=0,33	p=0,33		
Ferro				
Com probiótico	27,85 ± 6,4	14,05 ± 5,3	50,4 ± 5,7	+ 4,3
Sem probiótico	29,41 ± 3,5	14,21 ± 4,0	48,3 ± 3,8	
CV (%)	18,1	33,5	24,2	
Distribuição	P=0,25	P=0,25	P=0,25	
Homogeneidade	p=0,29	p=0,52	P=0,49	
Manganês				
Com probiótico	86,61 ± 4,6	86,61 ± 4,6	-----	
Sem probiótico	88,04 ± 1,6	88,04 ± 1,6	-----	
CV (%)	4,0	4,0		
Distribuição	P=0,11	P=0,11		
Homogeneidade	p=0,23	p=0,23		
Zinco				
Com probiótico	17,04 ± 12,0	16,62 ± 12,1	97,50 ± 8,5	+ 0,12
Sem probiótico	16,06 ± 11,4	15,64 ± 11,4	97,38 ± 12,3	
CV (%)	70,5	72,7	52,4	
Distribuição	P=0,11	P=0,10	P=0,13	
Homogeneidade	P=0,91	P=0,89	P=0,76	

¹ Percentagem e erro padrão da média;

² Diferença para %RET/ABS entre a dieta com e sem probiótico;

³ Teste de Cramer-von Mises (W) para distribuição dos erros, 5%;

⁴ Teste de Levene para homogeneidade de variância, 5%.

A manutenção dos teores dos minerais no organismo animal pode ser controlada por hormônios, sendo que quando há baixa ingestão deficiente ingestão, o organismo animal age positivamente para melhorar as eficiências de absorção e retenção dos minerais. Entretanto, quando há excessiva ingestão de minerais, o organismo animal reduz a absorção e a retenção. Isto foi observado por BAKER (2001), o qual concluiu que a eficiência de absorção de Fe é maior quando este é deficiente nas rações, comparado com adequadas ingestões.

HUAYNATE et al. (2006) compararam rações sem e com adição de 200 mg/kg de ração do mesmo probiótico utilizado neste estudo e observaram consumos de ração semelhantes de 1234 e 1245 g, respectivamente, sendo notadas maiores excreções de cálcio (10,3%), fósforo (6,2%), potássio (11,4%), nitrogênio (3,4%), zinco (46%), ferro (0,64%) e manganês (3,3%) nas fezes de suínos nas fases inicial e de crescimento, quando alimentados com rações sem adição de probiótico.

Para o caso do potássio, foi verificado que as rações de suínos baseadas em milho e farelo de soja, fornecem aproximadamente o dobro do que é exigido pelo animal e a disponibilidade do potássio é de aproximadamente 95% (PATIENCE e ZIJTLSTRA, 2001). Portanto, a excessiva quantidade de potássio disponível nas rações, pode comprometer negativamente a eficiência da absorção deste mineral.

A %RET/ABS de minerais representa a eficiência da utilização dos minerais absorvidos. Neste caso seria quanto do mineral absorvido está sendo retido pelo animal. Os resultados deste estudo mostraram maior disponibilidade da maioria dos minerais quando os animais foram alimentados com ração contendo probiótico em comparação àqueles recebendo ração sem probiótico (Tabelas 4 e 5), embora de forma não significativa.

O processo fisiológico do estresse é iniciado pela secreção do hormônio corticóide, o qual provoca aumento na utilização de nutrientes para o animal defender-se do fator estressante, causando maior uso e perdas endógenas dos minerais. No caso deste estudo pode ser que os animais alimentados com ração contendo probiótico sofreram menor estresse na gaiola, tendo secretado menos corticóides, o que levou às maiores %ABS/RET, com exceção do K.

MIRELES et al. (2005) estudaram os efeitos de desafios imunológicos com resposta aguda sobre a concentração de cálcio e resistência da tíbia de frangos de corte. Em quatro ensaios, testando injeções com diferentes níveis e frequências de aplicação de lipopolissacarídeos (LPS) em frangos, observaram menores concentrações de cálcio, menor resistência da tíbia, maiores concentrações de cálcio sérico e uma relação inversa entre níveis de LPS e resistência da tíbia, comparados aos frangos sem desafio. Estes estudos confirmaram os efeitos do estresse agudo sobre a utilização dos minerais absorvidos.

CONCLUSÕES

- O valor da EB e as concentrações de PB, EE, MM e FDN nas fezes de suínos, colhidas por meio dos dois métodos foram semelhantes, portanto, colheitas de fezes do reto ou da caixa coletora da gaiola, em estudos de balanço podem ser realizadas sem alterações na composição das fezes.
- Nas condições do estudo, suínos em crescimento alimentados com dietas suplementadas com 200 mg de probiótico/kg de ração, induziram a pioras na absorção e retenção de minerais, porém, a melhores aproveitamentos dos minerais, da relação retidos absorvidos Ca, P, N, Na, S, Fe e Zn, sendo pior apenas para o K.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEOLA, O. Digestion and balance techniques in pigs. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. **Swine Nutrition**. (Ed) Boca Raton London New York Washington DC, p.903-916, 2001.
- BAKER, D.H. Bioavailability of minerals and vitamins in swine nutrition. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. **Swine Nutrition**. (Ed) Boca Raton London New York Washington DC, p.357-379, 2001.
- BATAGLIA, O.G. **Métodos de análises químicas de plantas**. Campinas, SP/Brasil: Instituto Agrônomo, 1983. 48p. (Boletim Técnico).
- BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. **Journal of Nutrition**, v.117, p.1347-1352, 1987.
- CASE, C.L.; CARLSON, M.S. Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1917-1924, 2002.
- CRENSHAW, T.D. Calcium, phosphorus, vitamin D and vitamin K in swine nutrition. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. **Swine Nutrition**. (Ed) Boca Raton London New York Washington DC, p.187-212, 2001.

- FOX, S. M. Probiotics: intestinal inoculants for production animal. **Veterinary Medicine**, v.83, n.8, p.806-830, 1988.
- GOMBO, S.; TOSSENBERGER, J.; SZABO, C. Effects of probiotics and yeast culture on the performance of pigs and dairy cows. **Krmiva**. v.37, p.13, 1995.
- HUAYNATE, R.A.R.; THOMAZ, M.C.; KRONKA, R.N.; FRAGA, A.L.; SCANDOLERA, A.J.; BUDIÑO, F.E.L. Effect of adding macro and micro minerals in pigs feces fed diets with different levels of probiotic. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.3, p.385-392, 2006.
- INSTITUTE NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA). **L'alimentation des animaux mono gastriques**: porc lapin, volailles. Paris, 1984, 282p.
- JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v.53, p.351-363, 1997.
- KORNEGAY, E.T.; HARPER, A.F. Environmental nutrition: Nutrient management strategies to reduce nutrient excretion of swine. **Professional Animal Scientist**, v.13, p.99-111, 1997.
- KORNEGAY, E.T.; RISLEY, C.R. Nutrient digestibilities of a corn-soybean meal diet as influenced by Bacillus products fed to finishing swine. **Journal of Animal Science**, v.74, p.799-805, 1996.
- LOW, A.G. Nutritional regulation of gastric secretion, digestion and emptying. **Nutrition Research Reviews**, v.3, p.229-252, 1990.
- MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos em nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: SBZ, p.141-157, 2001.
- MIRELES, A.J.; KIM, S.M.; KLASING, K.C. An acute inflammatory response alters bone homeostasis, body composition, and the humoral immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v.84, p.553-560, 2005.
- NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 10th. ed. Washington, National Academic Science, 1998. 198p.
- PATIENCE, J.F. The physiological basis of electrolytes in animal nutrition. In COLE D.G.A.; HARESING, W.; GARNSWORTHY, P.C. **Recent Developments in Pig Nutrition**. (Ed) Nottingham University Press Loughborohugh, England, p.225, 1993.

- PATIENCE, J.F.; ZIJLSTRA, R.T. Sodium, potassium, chloride, magnesium and sulfur in swine nutrition. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. **Swine Nutrition**. (Ed). Boca Raton London New York Washington DC, p.903-916, 2001.
- PEKAS, J.C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, v.27, n.5, p.1303-1309, 1968.
- REBOLLAR, P.G.; MATEOS, G.G. El fósforo en nutrición animal, necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL,15, 1999. Disponível em: <www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/99CAP2.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2005.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2000, 141p.
- SCHEUERMANN, S.E. Effect of de probiotic Paciflor (CIP 5832) on energy and protein metabolism in growing pigs. **Animal Feeds Science and Technology**, v.41, p.181-189, 1993.
- SCHNEIDER, K.M.; TERNOUTH, J.H.; SEVILLA, C.C.; BOSTON, R.C. Short-term study of calcium of phosphorus absorption in sheep feed on diets high and low in calcium and phosphorus. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.36, p.91-105, 1985.
- SILVA, D.J. **Análise de Alimentos, Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: Editora UFV, 2 ed., 2002, 235p.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Inc-SAS user's guide: Statistics**. Cary. SAS Inst., Inc. 1998, 956p.
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**, (Ed) Cabi Publishing, 1999. 601p.

CAPÍTULO 5 – IMPLICAÇÕES

A suplementação de probióticos em dietas de animais, resulta em melhorias e algumas vezes pioras no desempenho, provavelmente pelo fato, de que os produtos utilizados são compostos por microrganismos vivos que podem sofrer muitas alterações impossibilitando suas funções no hospedeiro, provocadas por fatores como o manejo, a dieta, o animal hospedeiro, o meio ambiente e propriamente os microrganismos que fazem parte do produto. Portanto, os probióticos têm funções importantes na exploração suína, e para obter esses resultados são necessários estudos básicos e detalhados.