

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

INGREDIENTES FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE
LEITÕES

Doutoranda: Juliana Stocco Martins
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Alice Eiko Murakami

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho/2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

INGREDIENTES FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE
LEITÕES

Doutoranda: Juliana Stocco Martins
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Alice Eiko Murakami

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal”

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho/2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação
(CIP)(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR,
Brasil)

M386i	<p>Martins, Juliana Stocco</p> <p>Ingredientes funcionais na alimentação de leitões / Juliana Stocco Martins. -- Maringá, PR, 2023.</p> <p>157 f.: il. color., figs., tabs.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza. Coorientadora: Profa. Dra. Alice Eiko Murakami.</p> <p>Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2023.</p> <p>CDD 23.ed. 636.4</p>
-------	---

Márcia Regina Paiva - CRB-9/1267



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INGREDIENTES FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES

Autora: Juliana Stocco Martins
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 05 de julho de 2023.

Prof.ª Dr.ª Tatiana Carlesso dos
Santos

Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilha

Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira
Carvalho

Dr.ª Adriana Helena do
Nascimento Ferreira

Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Orientador

É justo que muito custe o que muito vale

Santa Teresa D'Avila

Aos meus pais, Marco e Ronise, e meu irmão Alexandre e ao meu noivo Felipe pelo apoio, alicerce e todo amor dedicado a mim. Responsáveis por eu chegar até aqui.

DEDICO.

v

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa;

A todos os professores e funcionários da Universidade do Estado de Maringá, pelos conhecimentos na formação acadêmica;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza, pela paciência, dedicação e por todo conhecimento repassado, pelo auxílio e por disponibilizar a estrutura do setor de suinocultura para realização do experimento;

A minha coorientadora, Prof. Dr^a. Alice Eiko Murakami, por disponibilizar a estrutura do laboratório de avicultura.

À Prof. Dr^a. Magali Soares dos Santos Pozza, pela ajuda, dedicação, auxílio e por disponibilizar a estrutura do laboratório de Microbiologia na realização do experimento.

À Prof. Dr^a. Eliane Gasparino, pela ajuda, e por disponibilizar a estrutura do laboratório de Genômica na realização do experimento.

À Prof. Dr^a. Tatiana Carlesso dos Santos, pela ajuda, e por disponibilizar a estrutura do laboratório de Anatomia na realização do experimento.

Aos meus orientadores da graduação e pós-graduação Maria Marta Loddi, Paulo Levi de Oliveira Carvalho, Luis Daniel Giusti Bruno e Paulo Cesar Pozza, me incentivaram e fortaleceram durante todos esses anos, me proporcionaram conhecimento e admiração pela Zootecnia.

Aos colegas do grupo de pesquisa em suínos em especial: Isabela Ferreira Leal, Suelen Maria Einsfeld, Paula Carina de Oliveira, Vitória Trintade dos Santos, Gabriel Araujo, Felipe Cancian e todos os integrantes do grupo pela atenção e contribuição dedicadas a este trabalho.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi pela ajuda e comprometimento na realização deste trabalho;

A todos os amigos de graduação e pós-graduação, pela convivência, ajuda e momentos compartilhados;

A todos os familiares, pelo incentivo e por torcerem pelo meu sucesso;

Obrigada.

BIOGRAFIA

JULIANA STOCCO MARTINS, filha de Marco Antonio Struminsky Martins e Ronise Stocco Martins, nasceu na cidade de Ponta Grossa, no Paraná, no dia 8 de novembro de 1993.

Em fevereiro de 2012, ingressou no curso de graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa, concluindo em Agosto de 2016. Em março de 2017, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, na área de concentração de Produção e Nutrição Animal, na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Candido Rondon, concluindo em fevereiro de 2019.

Em março de 2019, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, na área de concentração de Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá. Submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação e em 5 de julho de 2023, submeteu-se à defesa da Tese.

Sumário

I. INTRODUÇÃO	5
I. Influência da fisiologia e alimentação no pós-desmame de leitões.....	6
II. Plasma sanguíneo “spray dried”	9
III. Plasma sanguíneo “spray dried” na alimentação de leitões	11
IV. Diferentes fontes animais de plasma sanguíneo “spray dried” na alimentação de leitões	16
V. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” na morfologia intestinal.....	17
VI. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” na saúde intestinal	18
VII. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” na concentração de imunoglobulinas	20
VIII. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” nas citocinas inflamatórias	21
IX. Ácidos e sais orgânicos	22
X. Butirato de sódio	25
XI. Leveduras	26
XII. β -glucanos	28
XIII. Mananligossacarídeos (MOS).....	29
XIV. Nucleotídeos.....	31
XV. Zinco	32
XVI. Referências.....	33
II. Plasmas sanguíneos “spray dried” de origem suína, bovina e misto apresentam variações na composição nutricional e diferentes respostas em dietas para leitões no período pré inicial	58
I. Introdução	59
II. Material e Métodos	60
Experimento I - Avaliação nutricional de diferentes plasmas sanguíneos spray dried ..	60
2.1. Animais e instalações.....	60
2.2. Delineamento experimental e dietas	60
2.3. Procedimentos experimentais e análises laboratoriais	60
2.4. Análises estatísticas.....	62
Experimento II – Desempenho, indicadores sanguíneos e microbioma intestinal	62
2.5. Animais e instalações.....	62
2.6. Delineamentos e dietas experimentais	62
2.7. Desempenho produtivo	63
2.8. Indicadores de imunidade no sangue	63
2.9. Sequenciamento do DNA, Bioinformática e análise de alfa e beta diversidade do microbioma intestinal dos leitões.....	64
2.10. Análise estatística.....	66
III. Resultados	66

Experimento 1 - Avaliação nutricional de diferentes PSSD	66
Experimento II – Desempenho, indicadores sanguíneos e microbioma do conteúdo fecal	67
3.1. Desempenho produtivo	67
3.2. Indicadores de imunidade no sangue	67
3.3. Diversidade do microbioma intestinal dos leitões.....	69
IV. Discussão	70
V. Considerações finais.....	77
VI. Referências bibliográficas.....	77
III. Associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco em substituição ao antibiótico promotor de crescimento em dietas para leitões pós desmame (21 aos 49 dias)¹.	99
I. Introdução	102
II. Material e Métodos	103
2.1. Animais e instalações.....	104
2.2. Delineamento e dietas	104
2.3. Desempenho produtivo	104
2.4. Contagem microbiológica e pH do conteúdo intestinal	105
2.5. Perfil genético dos isolados de <i>Clostridium perfringens</i>	106
2.6. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo intestinal	106
2.7. Expressão gênica das tight junctions intestinais	107
2.8. Translocação de bactérias para o fígado	108
2.9. Histologia intestinal do duodeno e jejuno.....	108
2.10. Indicadores de imunidade no sangue	109
2.11. Análise estatística.....	110
III. Resultados	110
3.1. Desempenho produtivo	110
3.2. Contagem microbiológica e pH do conteúdo intestinal	111
3.3. Perfil genético dos isolados de <i>Clostridium perfringens</i>	112
3.4. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo intestinal	112
3.5. Expressão gênica das tight junctions intestinais	112
3.6. Translocação de bactérias para o fígado	113
3.7. Histologia do duodeno e jejuno.....	113
3.8. Indicadores de imunidade no sangue	113
IV. Discussão	116
V. Considerações finais.....	124
VI. Referências bibliográficas.....	124

TABELAS DO APÊNDICE

Tabela 1. Composição das rações experimentais contendo plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM) para as fases pré-inicial I (21-28 dias), pré inicial II (29-35 dias), inicial I (36-49 dias), na matéria natural ¹	88
Tabela 2. Composição de macro e microminerais de diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), na matéria natural	90
Tabela 3. Composição em aminoácidos de diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), em percentagem da matéria natural.	90
Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e energia bruta (CDEB), coeficiente de metabolizabilidade (CMEB) da energia bruta (EB), valores digestíveis e de energia metabolizável (EM) de diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM) para leitões, na matéria natural	91
Tabela 5. Desempenho de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.	91
Tabela 6. Proteinograma de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.	92
Tabela 7. Valores de hematócrito e fibrinogênio no plasma de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.	92
Tabela 8. Valores de proteínas totais, albuminas, globulinas e a relação albumina: globulina de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade	93
Tabela 9. Valores de linfócitos, monócitos e eosinófilos de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.	94
Tabela 10. Valores de basófilos, bastonetes, segmentados de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.	95
Tabela 11. Composição centesimal das rações experimentais para leitões dos 21 aos 35 dias de idade ¹	129
Tabela 12. Composição centesimal das rações experimentais para leitões dos 36 aos 41 dias de idade ¹	130
Tabela 13. Sequência dos primers utilizados nas reações de qPCR.	131
Tabela 14. Desempenho de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.	132

Tabela 15. Contagem microbiológica e pH do conteúdo do jejuno e ceco de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idades, expressos em UFC (Log ₁₀).....	13133
Tabela 16. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no jejuno e ceco de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade	13133
Tabela 17. Expressão gênica das junções estreitas “tigh junctions” do epitélio intestinal de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade, expresso em UA ¹	11344
Tabela 18. Translocação de microrganismos para o fígado de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade, expressos em UFC (Log ₁₀).....	11344
Tabela 19. Altura das vilosidades, profundidade de criptas (cm) e a relação vilo:cripta de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde odesmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade	11355
Tabela 20. Indicadores de imunidade no sangue de leitões, aos 35 dias de idade, recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade).....	11366
Tabela 21. Indicadores de imunidade no sangue de leitões, aos 49 dias de idade, recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade).....	11377
Tabela 22. Proteinograma de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.....	11388

FIGURAS DO APÊNDICE

- Figura 1.** Processo de obtenção do plasma sanguíneo “spray dried”. 11
- Figura 2.** Concentração de bastonetes (B) (%) de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade. 97
- Figura 3.** Frequência relativa (%) dos principais filos (A), famílias (B), gêneros (C) e espécies (D) de bactérias encontradas em leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade 98
- Figura 4.** Ganho de peso diário (GPD) de leitões, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), desde o desmame (21 dias de idade) até 35 dias de idade. 11399
- Figura 5.** Contagem microbiológica (UFC Log10) de enterobactérias no jejuno (A) e clostrídios no ceco (B) de leitões com 49 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade 11399
- Figura 6.** Gene cpa em soritipos de *Clostridium perfringens* de leitões, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), desde o desmame (21 dias de idade) até 35 dias de idade 140
- Figura 7.** Junções oclusivas do epitélio intestinal referentes a zônula ocludina 2 (A), claudina 2 (B), claudina 3 (C) e claudina 5 (D) de leitões com 49 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), expressos em UA..... 141
- Figura 8.** Metabólitos plasmáticos da relação albumina: globulina (A), monócitos (%) (B), eritrócitos (mil/ μ L) (C) de leitões com 35 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) 142
- Figura 9.** Metabólitos plasmáticos da relação albumina: globulinas (A), hemoglobina (g/dL) (B), C.H.C.M (%) (C), leucócitos (μ L) (D), hematócrito (%) (E) de leitões com 49 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP)..... 143
- Figura 10.** Proteinograma no soro (mg/dL) de imunoglobulinas IgA (A) com 35 dias de idade e (B) com 49 dias de idade, ceruloplasmina (C), haptoglobina (D) e glicoproteína ácida (E) com 49 dias de idade de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP)..... 144

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos, onde o primeiro experimento avaliou o valor nutritivo e os efeitos da utilização de diferentes plasmas sanguíneos spray dried PSSD (suíno, bovino e misto) em dietas para leitões desmamados, e o segundo experimento avaliou a substituição do antibiótico melhorador de desempenho pela associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) sobre o desempenho e saúde intestinal de leitões desmamados. Os experimentos foram realizados no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá, nos laboratórios de Análises de Sangue, de Nutrição Animal e no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa. Experimento 1: Foram utilizados 24 leitões, machos castrados, mestiços, de linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain), com alto potencial genético e desempenho superior. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas de metabolismo em um delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, seis repetições e um animal por unidade experimental. Foi realizada coleta total de fezes e urina. Foram determinados os valores de energia digestível (ED) e metabolizável (EM) assim como os coeficientes de digestibilidade (CDEB) e metabolizabilidade (CMEB) da energia bruta do PSSD. Para o experimento de desempenho foram utilizados 64 leitões de 21 a 49 dias de idade, fêmeas e machos castrados, com peso inicial de $6,61 \pm 0,48$ kg e final de $14,95 \pm 1,70$ kg, distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, constituídos de três diferentes PSSD (inclusões de 6; 4 e 2% nas fases Pré-Inicial I e II e na fase Inicial I, respectivamente) e uma ração controle (sem PSSD), aos 21 a 28 dias de idade, aos 29 a 35 dias de idade, aos 36 a 49 dias de idade, respectivamente. Foram utilizadas oito repetições, sendo a unidade experimental representada por um macho castrado e uma fêmea. Foram determinados o desempenho, variáveis sanguíneas bioquímicas, a cada troca de fase, proteinograma e determinação da variedade da microbiota dos animais ao final do experimento. Experimento 2: Foram utilizados 80 leitões, com peso corporal inicial de $6,69 \pm 0,19$ kg e final de $15,01 \pm 2,54$ kg, distribuídos em delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos (0, 0,10; 0,14 e 0,18%) de BLP (butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco) e um tratamento controle positivo (com antibiótico 0,02% Halquinol 60%), com oito repetições e dois animais por unidade experimental (macho e fêmea). Foram determinados o desempenho, variáveis sanguíneas bioquímicas, pH de jejuno e ceco, proteinograma, translocação bacteriana, microbiota e histologia intestinal, avaliação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Os resultados do experimento 1 foi observada uma variação na composição mineral e de aminoácidos entre os PSSD avaliados. Os PSSDB, PSSDS e PSSDM apresentaram valores de EM de 3535, 3520 e 3419 kcal/kg, respectivamente, em que o maior CMEB foi observado para o PSSDB (76,63%), seguido do PSSDS (73,68%) e PSSDM (72,95%). O PSSDS proporcionou um desempenho superior para os leitões no período (21-49 dias de idade) com 504,96 de CDR e 1,65 de CA. Os PSSD não estimularam as proteínas de fase aguda assim como demonstraram uma maior diversidade da microbiota com a maior frequência de Firmicutes acima de 89% com o uso de diferentes PSSD. O uso de PSSD em rações para leitões foi efetivo, devendo estar presente em dietas de leitões nas fases pré-iniciais

e inicial I, justificando o uso em dietas para leitões, com melhores resultados para o PSSDS. Para os resultados do experimento 2 O desempenho produtivo foi afetado, demonstrando que os aditivos podem ser utilizados em substituição aos antibióticos promotores de crescimento sem comprometer o desempenho dos animais. Não houve efeito ($P > 0,05$) sobre o pH do conteúdo de jejuno e ceco, assim como na translocação das bactérias para o fígado, no entanto, foi observado efeito ($P < 0,05$) para aumento de bactérias benéficas e redução de bactérias patogênicas com o uso dos diferentes níveis do aditivo. Foi observado efeito ($P < 0,05$) para as proteínas de fase aguda e imunoglobulinas aos 49 dias de idade, onde os níveis crescentes de BLP não reduziram em relação ao uso de antibióticos promotores de crescimento, assim como, foi observado efeito ($P < 0,05$) para as junções oclusivas, demonstrando maior expressão dos genes responsáveis pela defesa do organismo utilizando o BLP. Houve efeito ($P < 0,05$) da histologia, demonstrando maior altura das vilosidades no duodeno e jejuno, profundidade de cripta no duodeno e a maior relação vilo:cripta no jejuno com 0,18% de BLP. Para as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta não foi observado efeitos significativos ($P > 0,05$). A associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco na dieta de leitões pode substituir o uso dos antibióticos promotores de crescimento (halquinol) na alimentação sem comprometer o desempenho zootécnico, favorecendo a microbiota benéfica para *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, e reduzindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas como *Clostridium*, sem influenciar o pH assim como, a concentração de ácidos graxos de cadeia curta. Melhorou a barreira intestinal da expressão dos genes das junções estreitas, sem afetar a translocação de bactérias para o fígado, a altura das vilosidades foram melhoradas no duodeno e jejuno, e a melhor relação vilo:cripta no jejuno, sinalizando a melhora na saúde intestinal dos leitões à medida que os níveis desta associação aumentaram em até 0,18%

Palavras-chave: antimicrobianos; diversidade microbiota; modulação intestinal; plasma sanguíneo, ácidos orgânicos, proteínas sanguíneas; translocação bacteriana.

ABSTRACT

Two experiments were carried out, the first experiment evaluated the nutritive value and the effects of using different SBP spray-dried blood plasmas (pork, bovine and mixed) in diets for weaned piglets, and the second experiment evaluated the replacement of the performance-enhancing antibiotic by association of sodium butyrate, dehydrated hydrolyzed yeast and zinc proteinate on the performance and intestinal health of weaned piglets. The experiments were carried out in the Pig Breeding Sector of the Iguatemi Experimental Farm, at the State University of Maringá, in the Blood Analysis and Animal Nutrition laboratories and in the Research Support Centers Complex. Experiment 1: 24 piglets, castrated males, crossbred, commercial lineage (Landrace x Large White x Pietrain), with high genetic potential and superior performance were used. The animals were housed individually in metabolism cages in a randomized block experimental design, with four treatments, six replications and one animal per experimental unit. Total collection of feces and urine was used. Digestible (DE) and metabolizable (ME) energy values and digestibility (DCGE) and metabolizability (MCGE) coefficients of gross energy were determined. For the performance experiment, 64 piglets aged between 21 and 49 days, females and castrated males, with initial weight of 6.61 ± 0.48 kg and final weight of 14.95 ± 1.70 kg, were distributed in a design in randomized blocks with four treatments, consisting of three different SBP (inclusions of 7.5 and 3% in Pre-initial phases I and II and in initial phase I, respectively) and a control diet (without SBP), at 21 to 28 days old, 29 to 35 days old, 36 to 49 days old, respectively. Eight replications were used, with the experimental unit represented by a castrated male and a female. Performance, biochemical blood variables, at each phase change, proteinogram and determination of the microbiota variety of the animals at the end of the experiment were determined. Experiment 2: 80 piglets were used, with initial body weight of 6.69 ± 0.19 kg and final body weight of 15.01 ± 2.54 kg. Distributed in a randomized block design, with five treatments (0.00, 0.10, 0.14 and 0.18%) of BLP (sodium butyrate, dehydrated hydrolyzed yeast and zinc proteinate) and a positive control treatment (with antibiotic 0.02% Halquinol 60%), with eight replications and two animals per experimental unit (male and female). Performance, biochemical blood variables, jejunum and cecum pH, proteinogram, bacterial translocation, histology and evaluation of short chain fatty acids (SCFA) were determined. The results of experiment 1, a variation in mineral and amino acid composition was observed among the evaluated SBPs, SBPB, SBPP and SBPM presented EM values of 3535, 3520 and 3419, respectively, in which the highest MCGE was observed for SBPB (76.63%), followed by SBPP (73.68%) and SBPM (72.95%). The SBPP provided a superior performance for the piglets in the period (21-49 days of age) with 504.96 of ADFI and 1.65 of FC. The SBP were effective in relation to the blood variables evaluated, there was no stimulation of acute phase proteins, as well as a greater diversity of the microbiota with the highest frequency of Firmicutes above 89% with the use of different SBP. The use of SBP in piglet diets was effective in relation to non-use, and should be present in piglet diets in the pre-initial and initial I phases, justifying its use in piglet diets, with better results for SBPP. Results of experiment 2 productive performance was affected, demonstrating that additives can be used to replace growth

promoting antibiotics without compromising animal performance. There was no effect ($P > 0.05$) on the pH of the jejunum and cecum content, as well as on the translocation of bacteria to the liver, however, an effect ($P < 0.05$) was observed for the increase of beneficial bacteria and reduction of pathogenic bacteria with the use of different levels of the additive. An effect ($P < 0.05$) was observed for acute phase proteins and immunoglobulins at 49 days of age, where increasing levels of BLP did not reduce in relation to the use of growth promoting antibiotics, as well as an effect ($P < 0.05$) for the tight junctions, demonstrating greater expression of the genes responsible for the organism's defense using the BLP. There was an effect ($P < 0.05$) of histology, demonstrating greater villus height in the duodenum and jejunum, crypt depth in the duodenum, and the highest villus:crypt ratio in the jejunum with 0.18% BLP. For concentrations of short-chain fatty acids, no significant effects were observed ($P > 0.05$). The association of sodium butyrate, dehydrated hydrolyzed yeast and zinc proteinate in the diet of piglets can replace the use of antibiotics that promote growth in the feed without compromising the zootechnical performance, favoring the beneficial microbiota for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, and reducing the development of bacteria pathogenic as *Clostridium*, without influencing the pH as well as the concentration of short chain fatty acids. It improved the intestinal barrier of tight junction gene expression without affecting the translocation of bacteria to the liver, the height of the villi were improved in the duodenum and jejunum, and the better villus:crypt ratio in the jejunum, signaling the improvement in the intestinal health of the piglets as levels of this association increased by up to 0.18%

Keywords: alternative additives; antimicrobials; blood plasma, blood proteins; bacterial translocation; intestinal modulation; microbiota diversity.

I. INTRODUÇÃO

A suinocultura atual tem como objetivo elevar a produtividade na exploração intensiva, dessa forma os leitões são desmamados entre 21 e 28 dias de idade, porém, a fase de desmame dos suínos é um período crítico, devido à imaturidade do sistema digestório e o contato com a nova dieta sólida, o que acarreta na redução da ingestão, altera a morfologia e a integridade intestinal, conseqüentemente reduz o metabolismo, a capacidade digestiva e absorção de nutrientes (Campbell et al., 2013; Lallès et al., 2004).

Um dos fatores a ser levado em consideração é a mudança na dieta dos animais, os quais se alimentavam de uma dieta à base de leite altamente digestível e logo após passam a ingerir alimentos mais sólidos, com maior utilização de produtos contendo amido e proteínas vegetais que possuem menor digestibilidade, o que promove dificuldades no aproveitamento dos nutrientes, impactando negativamente na absorção dos nutrientes (Garcia et al., 2018; Karasova et al., 2021).

O período de desmame corresponde à fase de transição entre a imunidade passiva e a imunidade ativa, porém, devido a redução da eficiência alimentar com a maior taxa de nutrientes não digeridos, principalmente de proteínas acarreta em processos indesejáveis, alterando o pH intestinal predispondo a proliferação de bactérias patogênicas e perturbações intestinais (Lallès, 2004; Heo et al., 2013). Neste sentido, a utilização de ingredientes funcionais pode favorecer a saúde intestinal, permitindo que os mesmos alcancem melhor desempenho frente aos desafios da fase de desmame (Pluske et al., 2018).

Dietas formuladas com fontes proteicas de origem animal tem sido estudadas na expectativa de que possam melhorar a digestibilidade dos nutrientes das dietas (Teixeira et al., 2003). O sangue, por muito tempo foi considerado um subproduto das indústrias frigoríficas de baixo valor nutricional, pois, o produto obtido era inconsistente quanto à qualidade, além disso, a matéria-prima estava sujeita a vários graus de contaminação por urina, pelos e fezes (Muniz et al., 2001). O plasma sanguíneo “spray dried” (PSSD) é uma fonte de proteína animal de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) ou misto (PSSDM) e tem sido utilizado em dietas de suínos para maximizar a taxa de crescimento trazendo benefícios no crescimento principalmente na fase de pós desmame, ingestão de ração, morbidade e sobrevivência (Torralardona et al., 2010; Pérez-Bosque et al., 2016).

Outros aditivos vêm sendo estudados, sugerindo que a inclusão de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco nas dietas dos animais

possuem a capacidade de modular o microbioma intestinal, favorecendo o crescimento de bactérias benéficas e conseqüentemente reduzindo a colonização dos patógenos intestinais que podem agir como fonte de energia, possibilitando maior absorção dos nutrientes (Zhang et al., 2017).

O interesse zootécnico na utilização dos ácidos orgânicos como o butirato de sódio é com base na acidificação, reduzindo o pH do meio por meio da liberação de íons de hidrogênio (prótons) e, assim, dificultando e/ou prevenindo produção de bactérias patogênicas, alterando o status nutricional e sanitário a partir do perfil microbiano no trato intestinal do animal (Corassa et al., 2012).

Os componentes da levedura hidrolisada como os beta-glucanos (β -glucanos), glucamananos e manoligossacarídeo (MOS) são considerados com ação prebiótica no hospedeiro, com efeitos positivos no sistema imune, melhorando a manutenção da eficiência digestiva, a integridade do epitélio intestinal e melhorando a absorção de nutrientes (Budiño et al., 2010). Da mesma forma o zinco possui efeito na diminuição da diarreia associado à redução da permeabilidade intestinal (Zhang e Guo, 2008) e inibição e/ou redução da atividade da *Escheria coli* ao interagir com íons de zinco (Arantes et al., 2005).

Portanto, a qualidade das dietas pré-iniciais e iniciais, o consumo e o conhecimento das necessidades fisiológicas do trato digestório do leitão são aspectos essenciais para a superação dos desafios inerentes ao desmame. Dessa forma, os objetivos dos estudos foram avaliar o valor nutritivo e os efeitos da incorporação de diferentes plasmas sanguíneos (suíno, bovino e misto) na dieta de leitões e avaliar a influência da inclusão de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco como modulador do estado de saúde de leitões recém-desmamados.

I. Influência da fisiologia e alimentação no pós-desmame de leitões

A fim de elevar a produtividade na exploração intensiva, pratica-se o desmame dos leitões entre 21 e 28 dias de idade, para reduzir o intervalo entre partos por porca/ano, reduzir o número de dias não reprodutivos por fêmea e aumentar o número de leitões produzidos por porca/ano. No entanto, o desmame é considerado um período crítico para o desenvolvimento desses animais, pois ocorrem mudanças como, nutricionais (mudança brusca tanto na estrutura física como na composição das dietas), sociais (separação das suas mães, disputas para a formação de nova hierarquia social devido a mistura de leitões

de várias leitegadas), sanitário (exposição a agentes patogênicos e antigênicos contidos na ração ou ambiente) e de manejo (transferência dos leitões a um novo ambiente) (Campbell et al., 2013; Heo et al., 2013; Pluske, 2018).

Durante o período de lactação, o sistema enzimático dos leitões está adaptado para a digestão de nutrientes do leite, a caseína (proteína), lactose (carboidrato) e os ácidos graxos de cadeia curta, em contrapartida, a secreção de enzimas pancreáticas é limitada pois, os leitões não estão aptos para produzirem de forma significativa, as enzimas capazes de digerir os nutrientes presentes nas rações pós desmame (Chamone et al., 2010; Halas et al., 2012).

O desenvolvimento do sistema gastrointestinal dos leitões pode ser dividido em três fases, sendo, a fase pré-natal no qual ocorre o mínimo estímulo do lúmen intestinal; a fase neonatal, que está associada com alterações causadas principalmente pelo colostro e a ingestão de leite; e a fase pós-desmame, caracterizada pelas alterações do sistema gastrointestinal na adaptação ao fornecimento de alimentação sólida (Pluske, 2018).

A imaturidade fisiológica do sistema digestivo ao desmame é um dos maiores transtornos à nutrição dos leitões, o desenvolvimento do sistema enzimático se completa até a oitava semana de idade, sendo dependente do tipo de dieta fornecida, e a retomada da ingestão normal de alimento pode ser variável entre os animais, podendo levar até duas semanas para recuperar os níveis pré-desmame de ingestão de energia (Le Dividich; Sève, 2000).

Com isso, o trato gastrointestinal (TGI) necessita identificar as mudanças de maneira rápida para adaptar-se a nova condição alimentar com alterações no pH, secreção enzimática, motilidade, digestão e a absorção intestinal, porque durante o desmame ocorre a redução na produção de ácido láctico, simultaneamente com a inadequada secreção endógena de ácido clorídrico (HCl) no estômago, o que pode prejudicar o início do processo digestivo das proteínas, dificultando a acidificação do conteúdo gástrico, aumentando a susceptibilidade às bactérias patogênicas responsáveis por perturbações intestinais (Lallès et al., 2007; Heo et al., 2013).

Todas as alterações que os leitões são submetidos, acarretam na diminuição na ingestão e absorção, afetando diretamente o consumo de alimento, a morfologia e, conseqüentemente, a integridade intestinal devido a atrofia dos vilos e hiperplasia das criptas, reduzindo assim, o metabolismo e a capacidade digestiva e de absorção de

nutrientes, levando a alterações na estrutura e função do intestino (Campbell et al., 2013; Lallès et al., 2004).

Durante a fase de creche o consumo alimentar de um leitão representa apenas 2,6% do total de ração durante toda a fase de criação. No entanto, o desempenho nessa fase pode influenciar em até 30% do ganho de peso dos animais até o período de abate (Cole e Varley, 2000). O déficit nutricional deve ser complementado devido a mudança da dieta líquida para sólida após o desmame, sendo necessário que o leitão consiga ingerir e utilizar adequadamente os nutrientes da ração. Desta forma, o estímulo ao consumo de ração, a inclusão de ingredientes específicos e o fornecimento de dietas com alta digestibilidade para os leitões podem melhorar a digestão e a absorção pelo epitélio intestinal (Budiño et al., 2010).

A primeira alimentação pós-desmame pode ocorrer após 24 horas aproximadamente em 50% dos leitões, mas em 10% só ocorre após 48 horas (Brooks et al., 2001). Leitões mais jovens podem demorar até três dias para atingir seus requerimentos de energia, e de 8 a 14 dias para recuperar os níveis energéticos consumidos anteriormente ao desmame, estando mais predispostos às alterações intestinais (Le Dividich e Séve, 2000).

A queda no desempenho logo após o desmame ocorre porque os leitões não conseguem atingir um consumo adequado de energia, em comparação quando estavam recebendo do leite da porca, pois aos 21 dias de lactação o leite possui teores de 5,62% de proteína bruta; 7,62% de gordura e 5,27% de lactose e proporcionando uma concentração energética de 1.205 kcal/kg, na matéria natural (Le Dividich e Seve, 2000). A necessidade energética de manutenção para suínos é de 106 kcal EM/kg PV^{0,75} por dia, atualmente as rações utilizadas dos 21 aos 32 dias, devem conter de 3.400 Kcal/Kg EM (Rostagno et al., 2017). Nessas condições, um animal com 6,5 kg de peso vivo necessita ingerir no mínimo 414 g de ração por dia, para atingir suas necessidades diárias de manutenção.

Leitões recém desmamados são alimentados com dietas ricas em amido, lipídios e proteínas de origem vegetal que podem causar alterações metabólicas e fisiológicas na mucosa intestinal, devido ao baixo desenvolvimento que apresentam nesta fase, o que causa estresse digestivo e diminui o consumo alimentar (Pluske, 2018). Além disso, a secreção de enzimas digestivas, principalmente α -amilase e lipase, são limitadas nessa

fase, afetando a capacidade digestiva e a absorção de amido e lipídios presentes nos alimentos (Souza et al., 2012).

Em vista disso, para se obter o máximo desempenho na fase de creche as dietas devem conter fontes de energia prontamente disponíveis ou de fácil utilização, composta por gorduras, cereais processados ou açúcares simples, para que os animais possam atender as suas necessidades energéticas até que sejam capazes de utilizar o amido dos alimentos de origem vegetal (Bünzen et al., 2008). Consideram-se os ingredientes de alta qualidade e digestibilidade como alternativas para a melhoria dos processos digestivos e absorptivos pelo epitélio intestinal, além de inibir distúrbios funcionais e estruturais (Budiño et al., 2010).

Alguns produtos utilizados em dietas de leitões na fase pós-desmame incluem o leite em pó, soro de leite, farinha de sangue, plasma sanguíneo desidratado, além de aditivos como probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, cobre e zinco, que podem modificar a microbiota intestinal e melhorar o desempenho.

Aditivos alimentares ou dietéticos podem ser definidos de acordo com a legislação brasileira que regulamenta a utilização de aditivos alimentares na alimentação animal os define como substância, microrganismo ou produto formulado que é adicionado intencionalmente dietas, que pode ter valor nutritivo ou não, com o intuito de melhorar as características dos produtos utilizados na alimentação animal, que melhore o desempenho produtivo e atenda às necessidades nutricionais, definida pela instrução normativa nº 44 de 2015 (MAPA, 2015).

A composição da dieta e o manejo alimentar parecem ser críticos para solucionar os distúrbios pós-desmame. Deve-se buscar o uso de aditivos, alimentos funcionais e microrganismos benéficos que favoreçam a microbiota intestinal dos animais, permitindo que os mesmos consigam um melhor desempenho frente aos desafios da fase de desmame (Pluske et al., 2018).

II. Plasma sanguíneo “spray dried”

Dentre os subprodutos de origem animal, o sangue vem sendo aproveitado ao longo dos últimos anos, no entanto, por muito tempo foi considerado um subproduto das indústrias frigoríficas com baixo valor nutricional. O produto obtido era inconsistente quanto à qualidade, a digestibilidade, solubilidade e com diferentes graus de

contaminação por pelos, urina e material fecal, limitando a sua utilização nas rações animais (Muniz et al., 2001).

Atualmente, os métodos de processamento evoluíram e dentre eles estão a extrusão, micronização, “jet sploder” e desidratação por “spray-dried”, o que possibilitaram a adequada utilização de produtos de origem animal nas rações de animais, principalmente os hemoderivados.

A técnica de secagem pelo processamento “spray dried” é o mais utilizado para produtos derivados de sangue, proporcionando materiais sólidos a partir de líquidos, possibilitando a proteção de compostos bioativos contra processos de degradação, mantendo a qualidade do produto e as suas propriedades físico-químicas (Gharsallaoui et al., 2007). Dentre as fontes proteicas, o plasma sanguíneo “spray dried” (PSSD) é um subproduto da indústria frigorífica, obtidos à partir do fracionamento industrial do sangue de animais saudáveis, oriundo do sangue proveniente do abate de suínos ou bovinos (Pérez-Bosque et al., 2016).

A extração do plasma tem início na sangria dos animais abatidos, na qual o sangue é coletado com anticoagulante. Após a coleta, ocorre a centrifugação, havendo a separação e fracionamento celular entre eritrócitos (hemácias) e plasma, sendo posteriormente resfriado a 4°C. Em seguida, as frações plasmáticas passam pelo processo de ultra filtração para reduzir a umidade em baixa temperatura, até que tenham aproximadamente 30% de sólidos (Pérez-Bosque et al., 2016) (Figura 1).

Após a obtenção, o plasma é então concentrado e desidratado por um sistema de secagem por aspersão (spray-dried) que consiste em micronizar o plasma em gotas de 10 a 100 µm, através da passagem rápida por uma torre em alta pressão (200 atm) e temperatura mínima de 80°C, originando um produto em pó uniforme e de aspecto fino, com as características nutricionais preservadas (Pérez-Bosque et al., 2016) (Figura 1).

Durante a secagem por pulverização, as proteínas presentes no plasma sanguíneo conseguem preservar a maior parte da sua atividade biológica, pois são expostas a altas temperaturas por um período muito curto de tempo, com a vantagem sobre a secagem convencional para que as proteínas não sejam desnaturadas e preservem sua atividade biológica, dos quais se destacam as imunoglobulinas, pois cerca de 20% das imunoglobulinas se mantêm funcionais após o processamento (Borg et al., 2002; Pierce et al., 2005).

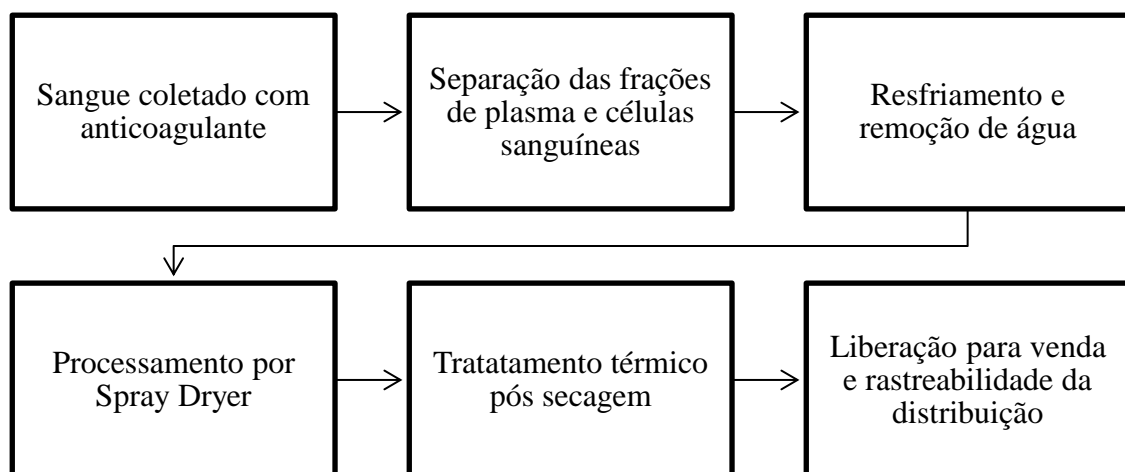


Figura 1. Processo de obtenção do plasma sanguíneo “spray dried”.

Fonte: Adaptado Pérez-Bosque et al., 2016

III. Plasma sanguíneo “spray dried” na alimentação de leitões

O plasma animal é composto por componentes funcionais, contendo aproximadamente 70 a 80% de proteínas e é uma excelente fonte de proteína de alto valor nutricional, e esta fração proteica é composta por cerca de 50% de albuminas e 25% globulinas (incluindo α -, β - e γ - globulinas), 5% fibrina e 20% de outras proteínas, como haptoglobinas, transferrinas, fatores de crescimento e peptídeos (Weaver et al., 2014). As imunoglobulinas (Ig) correspondem a 15-20% do PSSD, sendo que as IgG representam seu maior componente e estimulam o crescimento (Pierce et al., 2005).

A primeira vez que o PSSD foi proposto como fonte proteica para uso em dietas para suínos foi no final de 1980 (Zimmerman, 1987). Desde então, os produtos de origem animal e derivados do sangue, como o plasma sanguíneo, têm-se demonstrado o aumento da ingestão de ração após o desmame, melhorando o desempenho dos leitões na fase inicial (Gattás et al., 2008; Torralardona, 2010; Pérez-Bosque et al., 2016).

O aproveitamento do sangue suíno; bovino e de suas frações são interessantes pelas propriedades funcionais e nutricionais de suas proteínas, podendo apresentar potencial de utilização na alimentação animal, além da redução da poluição ambiental inerente à exploração econômica. Uma dieta formulada com fontes proteicas de origem animal, como o PSSD, tem sido estudada na expectativa de que possa melhorar a digestibilidade dos nutrientes das dietas (Teixeira et al., 2003). Devido ao processo de desidratação, o produto é estabilizado mantendo seus componentes íntegros com teores equilibrados de aminoácidos e vários componentes fisiológicos, como imunoglobulinas, peptídeos e glicoproteínas, incluindo albumina e globulinas (Pierce et al., 2005; Pettigrew et al., 2006; Pérez-Bosque et al., 2016).

Após o desmame, a transição do leite para alimentos sólidos tem importantes consequências nutricionais, como a mudança de gordura para carboidratos como principal fonte de energia digestível e a mudança de proteína animal altamente digerível para proteínas menos digeríveis de origem vegetal (Everts et al., 1999). O tipo de proteína utilizada na dieta de leitões desmamados manifesta consequências para a ingestão de alimentos, ganho de peso, digestibilidade e atividade das enzimas pancreáticas (Peiniau et al., 1996).

A adição de PSSD em comparação ao uso de proteína vegetal em dietas para leitões desmamados pode melhorar o desempenho pós-desmame, pois, a composição de aminoácidos e a digestibilidade proteica do PSSD é mais semelhante as proteínas presentes no leite da porca (Darragh e Moughan, 1998). Em experimentos onde a soja constituiu a principal fonte proteica da dieta, as respostas para o desempenho foram melhoradas com a inclusão do PSSD (Van Dijk et al., 2001).

O teor de proteínas do PSSD é menor que o da caseína e apresenta menor digestibilidade ileal aparente de aminoácidos, entretanto, o conteúdo de aminoácidos essenciais do PSSD é superior à proteína da soja, sendo rico em lisina, triptofano e treonina, com menores concentrações de isoleucina e metionina (Kats et al., 1994b; Van Dijk et al., 2001). A metionina é o primeiro aminoácido limitante em dietas com inclusões superiores a 6,0% de PSSD (NRC, 2012).

Dessa maneira, respostas positivas no desempenho dos leitões foram obtidas com utilização de altas concentrações de plasma quando a metionina sintética foi adicionada às dietas (Owen et al., 1993b; Kats et al., 1994a, Chae et al., 1999). Dietas sem a suplementação de metionina, foi estabelecido limite entre 6,0 e 8,5% de PSSD em

dietas pós-desmame (Gatnau e Zimmerman, 1991; 1992; Gatnau et al., 1993; Kats et al., 1994b).

A avaliação da suplementação de PSSD comparado com proteína extrusada de soja na dieta de leitões, foram observados que ao fornecer PSSD com consumo restrito, ocorreu melhora na eficiência de utilização proteica para o crescimento de tecido magro e que essa resposta é mediada em parte pela diminuição do catabolismo de aminoácidos (Jiang et al., 2000a, 2000b).

A suplementação dietética com o PSSD tem efeitos positivos nos vários aspectos ligados ao intestino, sendo que em inclusões acima de 6% mostraram efeitos estimuladores no crescimento (+27%) e no consumo de ração (+25%), no entanto, essas melhorias foram mais discretas quando havia grande presença de ingredientes de origem vegetal na dieta (Van Dijk et al., 2001). A melhora de desempenho ao utilizar o PSSD, em relação às fontes proteicas vegetais, provavelmente se deve à similaridade da composição de aminoácidos, e da digestibilidade proteica, em relação ao leite materno (Darragh e Moughan, 1998).

Em relação a outras fontes de proteína animal, o PSSD incluído de 4-6% na ração inicial é o ingrediente mais interessante, por estimular o crescimento e o consumo de ração, com conseqüente redução das alterações intestinais (Van Dijk et al., 2001; Torralardona et al., 2003).

A menor digestibilidade da matéria seca e de proteína nos leitões foram encontradas quando consumiram dietas com PSSD em relação a dietas que continham soro de leite em pó (Hansen et al., 1993). O PSSD é uma fonte efetiva de proteína em dietas de leitões recém-desmamados por aumentar o consumo de ração e o ganho de peso (Hansen et al., 1993; Kats et al., 1994a). No entanto, foi observada a baixa digestibilidade ileal aparente em dietas com PSSD (Knabe, 1994).

O PSSD foi avaliado em estudos sobre a substituição a diversos ingredientes, como leite em pó (Kats et al., 1994b), o farelo de soja (Coffey e Cromwell, 1995), o soro de leite (Hansen et al., 1993) e a farinha de sangue (Hansen et al., 1993; Rodas et al., 1995), demonstrando que o PSSD pode estimular o consumo de ração e melhorar o desempenho de leitões na fase de creche. Outro ponto bem definido é a alta palatabilidade do PSSD, devido a esta característica resulta em maior consumo de ração e conseqüentemente, uma melhoria no ganho de peso (Gattás et al., 2008; Ermer et al. 1994; Pujols et al., 2016).

Vários autores atribuíram a melhora de desempenho à presença de imunoglobulinas e proteínas de alta qualidade (Ermer et al., 1994; Gatnau et al., 1995; Jiang et al., 2000a; Pierce et al., 2005). Adicionalmente, o citrato de sódio é frequentemente utilizado como anticoagulante para a obtenção do PSSD e o ácido cítrico é considerado um promotor de crescimento para suínos, portanto, as concentrações de citrato no PSSD poderiam influenciar no desempenho (Van Dijk et al., 2001).

A magnitude na resposta, bem como a taxa de inclusão do PSSD tem variado entre 4%, 6%, 8%, 10% e 13% (Gatnau e Zimmerman, 1992; Kats et al., 1994a; Hansen et al., 1993; Coffey e Cromwell, 2001; Torralardona, 2010). No entanto, a máxima resposta da inclusão varia de acordo com sistema de manejo (Touchette et al., 1996), o nível de contaminação do ambiente (Gatnau e Zimmerman, 1991), composição da dieta (Owen et al., 1993a; Touchette et al., 1996), ou ainda fontes e métodos de processamento do plasma (condições de temperatura, pressão e armazenamento) (Russel, 1994; Gatnau e Zimmerman, 1994).

Respostas mais consistentes com uso de PSSD na dieta são relativas ao maior consumo de ração, imediatamente nos primeiros 10 dias após o desmame (Dalto et al., 2013). Coffey e Cromwell (2001) e Corl et al. (2008) relataram melhora no ganho de peso médio, no consumo de alimento e na eficiência alimentar devido ao consumo do PSSD por leitões recém desmamados.

No entanto, leitões alimentados com 1,5% de PSSD, por 8 dias após o desmame, observaram uma redução no consumo, no ganho de peso e piora da conversão alimentar (Guzik et al., 2002). O fornecimento de 3,0% de PSSD na fase de pós desmame não foi observado diferença no CDR, GPD e CA entre os dias 0 e 7, mas houve melhoria desses índices no intervalo entre os dias 8 e 21 dias e entre 0 e 21 dias (Van Dijk et al., 2002).

Animais desmamados com baixo peso receberam dietas com 10g e 20g/animal/dia de PSSD fornecido diretamente no cocho, apesar do CDR não ter sido observado diferença entre os tratamentos, os animais com 10 e 20g/animal/dia de PSSD apresentaram 12% e 14% de aumento no consumo, respectivamente (Dalto et al., 2011).

Níveis de até 6% de PSSD na dieta de leitões aumentaram tanto o ganho de peso médio diário quanto a ingestão de ração nas primeiras duas semanas, de forma dependente da dose e melhoraram a conversão alimentar dos leitões. Níveis de inclusão de 4 a 8% foram recomendados para proporcionar melhor desempenho (Coffey e Cromwell, 2001;

Torrallardona, 2010). Leitões desmamados com menos de 5 kg, a inclusão de PSSD é de 5-7%, e de 2-3% para animais entre 5-7 kg (Dritz et al., 1996)

A melhora no desempenho, com maior ganho de peso com a inclusão de até 8,0% de plasma sanguíneo nas dietas, foi descrita por Barbosa et al., (2007), ao trabalhar com suínos desmamados dos 21 aos 28 dias de idade. Resultado semelhante foi descrito por Gattás et al. (2008), que ao incluir níveis de até 8,0% de plasma sanguíneo em rações para suínos desmamados com 14 dias, e criados até os 28 dias, observaram maior ganho de peso e consumo de ração.

O PSSD beneficia a taxa de sobrevivência, ou seja, leitões desmamados com maior peso apresentam +3,1% chances de sobreviver em relação a animais com menor peso ao desmame (Dewey, et al., 2006). Com o uso de PSSD na primeira dieta de creche os animais apresentaram uma taxa de sobrevivência de 13,4% e somando à primeira e segunda dieta na creche, apresentaram 5,0% de sobrevivência, sendo assim, o PSSD pode reduzir a mortalidade dos leitões. O PSSD apresenta efeitos positivos para GPD com ganhos de 22 e 28g/dia, CDR 20 e 27 g e a CA -0,28 e 0,06g/g.

O desempenho de suínos, desde a fase de creche até ao abate recebendo diferentes quantidades de PSSD, demonstrou que animais que receberam PSSD na fase de creche apresentaram melhora no peso de saída de creche, 1,43kg a mais em relação aqueles que não receberam o PSSD na fase de creche, assim como, apresentaram maior ganho de peso e consumo de ração, não havendo diferenças significativas para conversão alimentar (Silva et al., 2022). Na fase de crescimento e terminação, os animais que receberam PSSD apresentaram ganhos de até 3kg a mais, em comparação à dieta sem PSSD. A resposta dos leitões é dependente da função da composição da dieta (tipo de proteína), nível de inclusão, período de oferecimento ao animal, idade e peso dos leitões, sanidade e condições do local de criação (Van Dijk et al., 2001).

Os mecanismos pelos quais o PSSD promove esta melhoria no desempenho dos animais ainda não estão bem elucidados, contudo, considera-se que podem estar relacionados à alta palatabilidade, baixa concentração de aminas biogênicas e a sua composição, por apresentar excelente relação de aminoácidos e alto nível de proteínas globulares (incluindo as imunoglobulinas), que estimulam o crescimento e o consumo de ração durante a fase do pós-desmame (Pujols et al., 2016).

IV. Diferentes fontes animais de plasma sanguíneo “spray dried” na alimentação de leitões

Dentre os diferentes métodos de processamento e secagem, com a finalidade de melhorar a qualidade e a utilização dos ingredientes pelos leitões (Gatnau et al., 1992), e os diferentes tipos de plasma de origem animal (suíno/bovino), observa-se que a resposta dos leitões utilizando os diferentes tipos de PSSD demonstram resultados positivos, no entanto, a eficácia pode ser diferente entre os PSSD (Russel, 1994; Pierce et al., 2005).

O plasma de origem suína demonstra ter maior eficácia do que as outras fontes, devido as diferenças significativas obtidas para o consumo (Torrallardona, 2010). Do mesmo modo, estudos com a comparação direta das duas fontes apresentou maiores produtividades para o plasma suíno em relação ao plasma bovino (Hansen et al., 1993; Gatnau e Zimmerman, 1994; Smith et al., 1995; Pierce et al., 2005). A resposta ao plasma proveniente de sangue suíno também foi melhor para ganho médio diário de peso quando comparada ao plasma bovino, o que pode ter sido responsável pelo envolvimento do sistema imune do animal e de imunoglobulinas, obtendo-se melhor resposta devido ao efeito de imunoglobulinas específicas. (Van Dijk et al., 2001).

As diferenças no conteúdo de imunoglobulinas (quantitativamente e qualitativamente) pode influenciar a eficácia dos diferentes tipos de PSSD (Bosi et al., 2001). Dentre as três fontes disponíveis, relata-se o aumento no desempenho de leitões desmamados, no entanto, o PSSD suíno tem demonstrado eficácia devido a presença de imunoglobulinas suína na sua fração, contra patógenos suínos que podem se alojar no intestino dos leitões desmamados (Torrallardona et al., 2010).

O efeito biológico do PSSD parece ser mais pronunciado em leitões em condições de desafio sanitário (Coffey e Cromwell, 1995). É possível que imunoglobulinas específicas (IgG) contra patógenos suínos em comparação direta de duas fontes de plasmas (suíno e bovino), proporcionaram maiores produtividades para PSSD suíno do que para PSSD bovino (Hansen et al., 1993; Gatnau e Zimmerman, 1994; Gatnau et al., 1995; Smith et al., 1995; Pierce et al., 2005).

No entanto, estudos contrários avaliaram o desempenho dos animais obtendo resultados semelhantes quando alimentados com plasma suíno e bovino com a inclusão de 6% na dieta, aos 14 dias após o desmame, sugerindo que a origem animal dos plasmas poderia ser usados alternadamente em formulações com a mesma concentração na dieta (Crenshaw et al., 2015).

Assim como, diferenças no desempenho de leitões alimentados com as duas diferentes fontes de plasma (suíno/bovino) não foram encontradas, sugerindo que não existe evidência de um efeito específico das imunoglobulinas do plasma proveniente de suínos (Rodas et al., 1995).

Leitões alimentados com PSSD bovino e PSSD suíno, quando comparados com PSSD misto resultaram em maior consumo de ração e ganho de peso. No entanto, o PSSD bovino e suíno não apresentaram diferenças estatísticas (Balan et al., 2020). De outro modo, foi sugerido que o plasma suíno é melhor que o plasma de origem mista (Owusu-Asiedu et al., 2003).

Portanto, nota-se diferentes respostas com base nas diferentes origens dos PSSD, em relação ao desempenho dos leitões após o desmame, mas alguns trabalhos demonstram que a resposta do PSSD bovino é menor para ganho de peso médio diário em relação ao PSSD suíno (Van Dijk et al., 2001). Os resultados de pesquisas indicam que os efeitos positivos dos diferentes tipos de PSSD podem ser afetados pela qualidade do produto, do seu nível de inclusão, da idade e do peso dos leitões, status sanitário e ambiente dentro da instalação (Campbell et al., 1998).

V. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” na morfologia intestinal

No período pré-desmame, as vilosidades intestinais são altas e bem estruturadas, o que assegura eficiência na absorção de nutrientes. No entanto, devido ao estresse do desmame, o tamanho das vilosidades pode ser afetado, reduzindo as vilosidades e as criptas mais profundas, causando a má absorção e maior secreção, o que predispõe o leitão à diarreia pós desmame (Hampson, 1986).

As principais vantagens atribuídas ao PSSD, durante o período pós-desmame, se referem à sua capacidade de manter a integridade da mucosa intestinal e reduzir a resposta inflamatória, ajudando na resistência à ação de patógenos (Bosi et al., 2004), além de modificar de forma benéfica a morfologia intestinal e a ocorrência de células imune na lâmina própria das vilosidades de leitões desmamados, associando esse efeito a menor ativação imune (Nofrarías et al., 2006).

Pesquisas com leitões desmamados aos 21 dias de idade indicam que o uso de PSSD aumenta a secreção das enzimas digestivas, melhora a integridade do epitélio intestinal, melhora a digestão, absorção e utilização dos nutrientes, especialmente na primeira semana após o desmame, aos 21 dias de idade (Campbell, 2003).

Leitões alimentados com rações contendo PSSD, apresentaram melhor desenvolvimento das estruturas intestinais e atividade enzimática, evidenciado por aumento da superfície das vilosidades (Gatnau et al., 1995; Owusu-Asiedu et al., 2003), aumento e manutenção da altura das vilosidades e relação altura de vilosidade: profundidade de cripta (Spencer et al., 1997; Touchette et al., 1997, 2002), e aumento na atividade da maltase e lactase da mucosa (Cain et al., 1992; Gatnau et al., 1995).

É evidenciado que o uso de PSSD para leitões desmamados aos 21 dias de idade, ocorre o aumento da secreção de enzimas digestivas, melhorando a integridade do epitélio intestinal e aumentando a digestão, absorção e utilização dos nutrientes (Campbell, 2003).

O efeito do plasma sanguíneo na dieta de leitões, desmamados aos 35 dias de idade, foi evidenciado maior altura de vilosidade no intestino delgado (Barbosa et al., 2012). Diante disto, o PSSD possui efeito protetor no intestino delgado, estimula o sistema imunológico (Owusu-Asiedu et al., 2003; Torralardona et al., 2003)

O PSSD pode oferecer proteção contra o desenvolvimento de lesões na mucosa e, portanto, deve permitir a redução da passagem de grandes moléculas inertes através da parede intestinal melhorando a saúde intestinal (Van Dijk et al., 2001).

VI. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” na saúde intestinal

O PSSD é uma excelente fonte de proteínas na alimentação animal, e além dos seus efeitos sobre o desempenho animal, há vários trabalhos demonstrando efeitos benéficos sobre a saúde intestinal, principalmente devido as frações de imunoglobulinas que previnem a ligação de patógenos na parede intestinal, prevenindo danos das bactérias e vírus, resultando em um epitélio intestinal mais funcional (Coffey e Cromwell, 1995; Lalles et al., 2007).

O PSSD auxilia na manutenção da integridade da mucosa intestinal e por reduzir a resposta inflamatória no intestino, o que auxilia os leitões a superarem os desafios sanitários (Bosi et al., 2004). Devido ao PSSD reduzir a adesão e proliferação de patógenos na mucosa intestinal, ocorre a diminuição da estimulação do sistema imunológico local e sistêmico, resultando em maior disponibilidade de nutrientes para o crescimento (Campbell et al., 2008).

Além disso, outros mecanismos estão relacionados com a melhoria da saúde intestinal, através da modificação da composição da microbiota intestinal. O uso do PSSD

tem sido sugerido para reduzir a incidência ou a gravidade da diarreia pós-desmame (Hansen et al., 1993; Touchette et al., 2002; Adewole et al., 2016).

Utilizar a inclusão correta é fundamental para obter os benefícios do PSSD. Nos primeiros 14 dias após o desmame o mínimo de 5% de PSSD foi fundamental para reduzir o escore de diarreia aos 7 e aos 14 dias de idade, reduzir as citocinas pró inflamatórias e melhorar a barreira intestinal (Peace et al., 2011).

A utilização do plasma aumentou o consumo de ração em 1,5 kg/leitão, ganho de peso superior a 1 kg e reduziu a incidência de diarreias na primeira quinzena após o desmame, quando comparado aos animais que não receberam PSSD na dieta e os resultados foram associados a melhor digestibilidade e substituição parcial das proteínas de origem vegetal por proteínas de origem animal na dietas com PSSD (Muller et al., 2017).

Os efeitos positivos do PSSD envolvem a atividade das glicoproteínas que reforçam a proteção contra *Escherichia coli*, e das imunoglobulinas adquiridas (Van Dijk et al., 2001). O PSSD demonstrou ser eficaz contra toxinas bacterianas e vírus, e estimula o crescimento de lactobacilos no íleo e ceco (Torrallardona et al., 2003) e reduzir as colônias de *Escherichia coli* no intestino delgado (Ferreira et al., 2009; Bosi et al., 2004; Corl et al., 2008). Adicionalmente, reduz a frequência de proteobacteria e estimula Firmicutes, triplicando a população de lactobacilos em amostras fecais de leitões desmamados (Che et al., 2020).

O PSSD apresenta efeito sistêmico, melhorando os índices de pneumonia e reduzindo as lesões pulmonares (Silva et al., 2022). Outra ferramenta importante da utilização de PSSD refere-se à redução de dependência de antimicrobianos para suínos na fase de terminação (Lima et al., 2019).

Embora o número de peptídeos no plasma sanguíneo seja relativamente escasso em relação ao número de proteínas com PM > 10 kDa, alguns autores sugerem que peptídeos bioativos presentes nas proteínas plasmáticas podem ter efeito benéfico após a hidrólise enzimática a nível intestinal e podem explicar parcialmente o melhor desempenho e benefícios para a saúde ao se incluir o PSSD nas dietas dos animais (Bah et al., 2013).

VII. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” na concentração de imunoglobulinas

Os leitões recém-nascidos têm a capacidade de absorver imunoglobulinas do colostro, no entanto, essa capacidade é perdida logo após o nascimento, e durante a maior parte da lactação as imunoglobulinas no leite não são absorvidas pelo lúmen intestinal.

O PSSD pode melhorar a saúde intestinal por meio de vários modos de ação, incluindo influenciar diretamente a resposta inflamatória imune e a imunomodulação local ou sistêmica, como também, através da modificação indireta de populações microbianas (Campbell et al., 2019). Resultando em redução da inflamação intestinal, por apresentar imunoglobulinas ativas que atuam na barreira intestinal que impedem a adesão de bactérias patogênicas à parede do intestino (Hedegaard et al., 2016).

As albuminas são responsáveis pela manutenção da pressão osmótica do plasma e fornecimento de tamponamento do sangue (Balan et al., 2020). As globulinas têm função imunológica, o conteúdo de globulinas no plasma pode variar entre 20% e 30%. Dentre as gamaglobulinas as imunoglobulinas G (IgG) são as principais constituintes do plasma sanguíneo, outros tipos (IgM, IgA, IgD e IgE) são encontrados em menores concentrações no plasma sanguíneo (Balan et al., 2020).

O mecanismo de ação do PSSD ainda não está totalmente compreendido, alguns autores sugerem que as imunoglobulinas são as principais proteínas envolvidas no crescimento e aumento do consumo de ração, juntamente com uma melhor função imune e intestinal (Pierce et al., 2005; Petschow et al., 2014). Além disso, o plasma sanguíneo contém mais de 695 proteínas em sua composição (Schenk et al., 2008), e provavelmente algumas dessas proteínas também estão envolvidas no mecanismo de ação do PSSD.

As imunoglobulinas podem prevenir danos causados por patógenos na parede intestinal e manter as propriedades digestivas e absorptivas do intestino (Coffey e Cromwell, 1995). Devido à relação positiva com o conteúdo de imunoglobulinas do PSSD, algumas fontes do PSSD podem apresentar conteúdo de IgG padronizado, assim como o enriquecimento para algumas imunoglobulinas específicas, que podem ser obtidos de animais que são vacinados contra patógenos específicos para este fim (Torrallardona et al., 2010).

Um estudo comparando o plasma suíno com duas fontes de plasma sanguíneo (com ou sem conteúdo padronizado de IgG), evidenciaram uma melhor eficácia para o plasma sanguíneo padronizado de IgG quanto ao conteúdo de imunoglobulinas em

relação as outras fontes, indicando a relevância da padronização das imunoglobulinas no conteúdo das diferentes fontes de plasma (Bosi et al., 2001).

Estudos avaliando o fornecimento de 10 e 20 g de PSSD/animal/dia para leitões desmamados com baixo peso, durante 14 dias, os animais foram favorecidos com a maturação dos órgãos linfoides, devido ao aumento dos níveis de IgA. Especificamente para a dose de 20 g/dia de PSSD, encontrando melhorias na morfologia intestinal, além de igualar o desempenho dos animais leves aos pesados (21 a 70 dias de criação) (Dalto et al., 2013).

Leitões suplementados com PSSD desenvolveram níveis baixos de ativação imune, tanto localmente (Jiang et al., 2000b; Bosi et al., 2004) quanto sistematicamente (Touchette et al., 2002). É provável que, em decorrência das imunoglobulinas ativas, o PSSD forneça alguma imunidade local no trato gastrointestinal do leitão na primeira semana pós-desmame (Gatnau e Zimmerman, 1991; Nofrarias et al., 2006). As imunoglobulinas do PSSD poderiam prevenir os danos causados por patógenos à parede intestinal, mantendo as características digestivas e absorptivas do intestino (Coffey e Cromwell, 1995). Portanto, as diferenças no conteúdo de IgG, tanto em qualidade como em quantidade, pode influenciar a eficácia das diferentes origens de PSSD (Bosi et al., 2001).

VIII. Influência do plasma sanguíneo “spray dried” nas citocinas inflamatórias

Os benefícios do PSSD em dietas de leitões desmamados são diversos, aumentando a secreção de enzimas digestivas, melhorando a integridade do epitélio intestinal e aumentando a digestão, absorção e utilização dos nutrientes, especialmente na primeira semana após o desmame, aumentando ainda a resposta imune através da redução de citocinas pró inflamatórias e diminuição de patógenos, em comparação com suínos sem acesso ao PSSD (Coffey e Cromwell, 2001; Campbell, 2003).

Dentre as propriedades relacionadas ao PSSD, relata-se a redução na expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) no tecido intestinal (Touchette et al., 2002) e a infiltração de células inflamatórias na mucosa intestinal (Jiang et al., 2000a), assim como o PSSD também apresenta efeitos sobre o estresse oxidativo, no intestino e em nível sanguíneo, com aumento da quantidade de antioxidantes enzimáticos, como a catalase (CAT), e redução de malondialdeído (Gao et al., 2011)

O PSSD pode atuar como fator anti-estressante, alterando os níveis de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) dos leitões, possibilitando melhores respostas aos desafios, em decorrência do estresse do desmame (Gatnau e Zimmerman, 1994).

Evidentemente, esta resposta está associada a propriedades anti-inflamatórias de proteínas presentes no PSSD (Mueller et al., 2012). Em processos inflamatórios, é comum o aumento dos níveis séricos de NOx; porém, a suplementação com 8% de PSSD foi capaz de reduzir o óxido nítrico sérico, níveis e a magnitude do processo inflamatório (Maijó et al., 2012).

Em um trabalho com leitões recém-nascidos, classificados como de baixo peso, Schuh et al., (2016) verificaram que a administração de 10 g de PSSD melhorou a concentração séria de Gama glutamiltransferase (GGT), sugerindo menor potencial de lesão hepática dos leitões em relação ao grupo controle. A concentração de Nox (óxido nítrico) em leitões de baixa viabilidade foi maior em leitões que receberam o PSSD, indicando que a presença de óxido nítrico é relacionada com o crescimento muscular (Hayashi et al., 2004).

O PSSD contém proteínas funcionais, incluindo as transferrinas com o objetivo de reduzir o ferro livre e impedir a sobrevivência bacteriana, lisozima que apresenta ação antimicrobiana, fatores de crescimento responsáveis pela regeneração celular, citocinas com efeitos anti ou pró-inflamatório e imunoglobulinas que reagem antígenos anticorpos de bactérias e vírus, de maneira geral o PSSD apresenta efeito na resposta imunológica e inflamatória.

A resposta imune com a utilização de PSSD no período pós desmame é eficiente, reduzindo o estresse, conservando os nutrientes para o crescimento, ou seja, animais que não recebem PSSD utilizam mais eficientemente os nutrientes para manter o sistema imune em respostas a processos inflamatórios, em contrapartida, o PSSD faz com que se utilizem menos nutrientes para a resposta imune, utilizando esses nutrientes para o crescimento.

IX. Ácidos e sais orgânicos

Os ácidos orgânicos possuem estrutura geral caracterizado por R-COOH, em que R representa o grupo funcional monovalente que apresentam um ou mais grupos carboxila, denominados ácidos carboxílicos, gerando grupos de compostos como os

aminoácidos, ácidos graxos, coenzimas e metabólitos intermediários (Lehninguer et al., 2007).

Na nutrição animal, os ácidos orgânicos mais utilizados são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que contém até sete carbonos como, por exemplo, os ácidos acético, propiônico, butírico, fumárico, fórmico, benoico, cítrico, entre outros (Lehninguer et al., 2007), podem ser produtos intermediários ou finais do metabolismo microbiano, resultado da fermentação microbiana de carboidratos no intestino grosso de suínos (Brumano e Gattás, 2009).

Na sua forma livre podem ser altamente voláteis e corrosivos, o que dificulta sua manipulação e na palatabilidade da ração (PARTANEN; MROZ, 1999). Também, podem estar disponíveis na forma de sais, denominados sais de ácidos orgânicos, que são compostos resultantes da associação de formas aniônicas dos ácidos orgânicos (RCOO-) com cátions, normalmente metálicos, tendo como vantagem maior estabilidade, facilidade de manuseio e menos odores indesejáveis (Mroz, 2005).

Existem várias hipóteses sobre o modo de ação dos ácidos orgânicos e seus sais, alguns efeitos são mais conhecidos:

1. Induz a redução do pH gástrico, resultando em um tempo mais curto para alcançar o pH ótimo, necessário para ativar o pepsinogênio em pepsina, melhorando a digestibilidade de proteínas (Schöner, 2001);
2. São produtos intermediários dos ácidos tricarboxílicos e podem agir como fonte de energia no intestino dos suínos, estimulando o desenvolvimento da mucosa e o crescimento de células epiteliais, levando à maior capacidade de absorção (Suryanarayana et al., 2015);
3. Regulação do esvaziamento gástrico, que se torna mais lento devido aos produtos resultantes da digestão das proteínas, estimulando a secreção de enzimas pancreáticas e bicarbonato (Rocha et al., 2008).
4. Alteração na microbiota intestinal, através de controle bactericida ou bacteriostático, devido à capacidade de acidificação do meio em que as bactérias estão inseridas, inibindo a invasão e colonização por patógenos e favorecendo a proliferação de alguns microrganismos benéficos (Suryanarayana et al., 2015);
5. Utilizados em diversas vias metabólicas para geração de energia, como o ácido láctico, que fornece piruvato; ácido cítrico e fumarato que participam como

intermediários no ciclo de Krebs e o butirato de sódio, que pode ser utilizado como fonte energética (Luckstadt, 2008; Lehninger, 2007).

6. Atuam como agentes quelatantes, que se ligam a metais, prevenindo a formação de radicais livres e, conseqüentemente, danos oxidativos às células e tecidos, além disso, podem se ligar a cátions e formar complexos minerais ao longo do intestino, que resultam em maior absorção de minerais pelo epitélio intestinal (Ravindran et al., 1993).

O interesse zootécnico na utilização dos ácidos orgânicos é com base na acidificação, sendo considerados como acidificantes. Os ácidos orgânicos podem se apresentar em duas formas: não dissociada (RCOOH) ou dissociada (RCOO). Os acidificantes agem sobre os microrganismos de duas maneiras, a primeira é através de ácidos na forma dissociada que acidificam o meio extracelular, e a acidificação do meio pela ação de ácidos na forma não dissociada agindo diretamente sobre os microrganismos (Chiquieri et al., 2009).

A ação bacteriostática dos ácidos, na forma dissociada, é devido que o microrganismo ter um pH ótimo de crescimento, e um intervalo de pH em que são incapazes de crescerem e multiplicarem, referindo-se tanto ao pH do meio extracelular quanto do intracelular (Rodriguez-Palenzuela, 2000). Para os acidificantes na forma não dissociada são considerados lipofílicos e podem difundir-se livremente através da membrana semipermeável de bactérias gram-negativas (Partanen, 2001).

A eficiência de um ácido orgânico na inibição do crescimento de um microrganismo depende do seu valor pKa (potencial de dissociação), que descreve o valor do pH em que o ácido está disponível, é a medida quando o ácido se encontra 50% dissociado e 50% indissociado em solução aquosa com o mesmo valor de pH. Quanto mais próximo o valor de pKa a 1 mais forte é o ácido (Vilas Boas, 2014).

A ação antimicrobiana é somente na sua forma não associada, quando pode passar através das paredes de bactérias e fungos e alterar seus metabolismos. Isto significa que a eficácia antimicrobiana do ácido orgânico é maior em condições ácidas, como no estômago, e é reduzida em pH neutro, como no intestino.

Assim, os ácidos orgânicos com alto valor de pKa são ácidos mais fracos e, por isso, são mais eficazes para a ração uma vez que, presentes nos ingredientes da dieta em sua forma indissociada em maior proporção, podem proteger a ração contra fungos e micróbios (Ettle e Roth, 2005). Por isto, quanto menor o pKa do ácido orgânico (maior a proporção da forma dissociada) maior será seu efeito sobre a redução do pH e menor o

seu efeito antimicrobiano nas porções mais distais durante o trânsito através do trato digestivo. Um ácido forte (com pKa baixo) irá acidificar a ração e o estômago, mas não terá fortes efeitos diretos sobre a microflora intestinal.

X. Butirato de sódio

Os ácidos orgânicos podem estar na forma de sais, com a vantagem de serem inodoros e proporcionam facilidade, devido a sua forma sólida e menos volátil, sendo menos corrosivos e podem ser mais solúveis em água do que os ácidos livres (Partanen e Mroz, 1999).

O butirato de sódio ($\text{NaC}_4\text{H}_7\text{O}_2$) é um sal derivado ácido butírico ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), o qual pode ser obtido através da fermentação microbiana anaeróbica no intestino grosso, ou através de enzimas e descamações do epitélio, podendo ser utilizado tanto na forma livre quanto na protegida (micro encapsuladas), sendo assim, a sua forma influencia o local de absorção (Tonel, 2009). Caracteriza-se por apresentar maior solubilidade aos lipídios que os demais ácidos orgânicos, portanto, possuindo maior dissociação que os demais ácidos de cadeia curta (pKa 4,82), podendo melhorar a ação antimicrobiana (Janssens e Nollet, 2002).

A inclusão de butirato de sódio, em dietas de leitões na fase de creche, podem reduzir os microorganismos patogênicos, como *Escherichia coli* e *Clostridium spp.*, sem causar diminuição no número de microrganismos benéficos, como lactobacilus e bifidobactérias (Lu et al., 2008).

Embora alguns estudos demonstrem uma diminuição no desempenho de leitões na creche, alimentados com dietas contendo butirato de sódio durante alguns ou todos os período de tratamento (Boas et al., 2016; Costa et al., 2011), outros pesquisadores observaram efeitos positivos com o seu uso exclusivo ou associado sobre o desempenho dos leitões (Mazzoni et al., 2008; Piva et al., 2007).

A adição de butirato de sódio na alimentação de leitões proporciona alterações no trato digestório dos animais, com diminuição de pH no intestino delgado e grosso, inibindo a colonização de bactérias patogênicos e estimulando as benéficas, e também com ação letal deste ácido atuando diretamente no metabolismo dos patógenos (Manzanilla, 2006). Sua utilização na alimentação de leitões proporciona alterações no trato digestório dos animais, diminuindo o pH intestinal, evitando a colonização de bactérias patogênicas e estimulando a proliferação de bactérias benéficas e proporcionam

melhor eficiência alimentar quando comparado com a utilização de avilamicina (Manzanilla, 2006). Estes autores sugerem que a melhora na eficiência alimentar dos animais pode ser devido à maior saúde intestinal e a melhor eficiência no uso dos nutrientes da ração.

O fornecimento do butirato de sódio para leitões, reduziu a presença de *Clostridium* e *Escherichia coli* no intestino, além disso, aumentou as vilosidades do intestino, aumentando a absorção dos nutrientes, além de melhorar o desempenho dos animais (Lu et al., 2008). Da mesma forma, isso ocorre, quando o butirato de sódio é avaliado comparando com o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho, resposta semelhante sobre o desempenho no período pós-desmame (Manzanilla, 2006).

Outro modo de ação destes aditivos estaria relacionado com aumento no tempo de retenção gástrica (baixo esvaziamento gástrico) (Manzanilla et al., 2006) e, conseqüentemente, aumento da ação de enzimas. Devido a isso, os carboidratos, lipídios e proteínas podem ser melhor hidrolisados promovendo efeito benéfico sobre a digestão e absorção dos nutrientes (Gaber e Sauer, 1994).

As diferenças entre as doses de inclusão de butirato de sódio e respostas positivas/negativas sobre o desempenho produtivo podem estar ligadas com a forma em que é adicionado às dietas. Por exemplo, se o butirato de sódio é adicionado na sua forma protegida ou não, o que influencia na absorção deste composto, uma vez que o butirato de sódio não protegido, é rapidamente absorvido na primeira porção do intestino, sendo utilizado como fonte energética (Roediger, 1980). Por outro lado, em sua forma protegida há uma liberação gradual por todo o intestino, aumentando a energia ao longo do epitélio intestinal (Jesus et al., 2019).

XI. Leveduras

As leveduras são microrganismos eucariotos unicelulares, pertencentes ao reino Fungi, as quais são oriundas do processo de fermentação, apresentam em sua constituição membranas celulares bem definidas e resistentes (Russel, 2006). São consideradas as fontes mais antigas de proteínas unicelulares, sendo amplamente usadas na alimentação humana e animal, destacando-se a espécie *Saccharomyces cerevisiae* (Garcia et al., 2018).

As leveduras são constituídas por estruturas imunoestimulantes, como β -glucanas, mananoglicosacarídeos, ácidos nucleicos e quitina. De acordo com o processamento, pode-se obter:

1. Levedura-seca, que é obtida por evaporação a vácuo ou pelo método de spray-dried. É a forma íntegra das células da levedura, é uma fonte rica em proteína, aminoácidos e carboidratos (Zanutto, 1997). No entanto a sua utilização em não ruminantes não é preconizada, devido à resistência da parede celular à ação das enzimas digestivas, dificultando a utilização dos nutrientes (Vananuvat, 1997).
2. Levedura em sua forma ativa, como o extrato de levedura, utilizada como probiótico
3. Levedura hidrolisada, obtida através da hidrólise da parede celular, expondo o citoplasma e disponibilizando uma grande quantidade de nucleotídeos, polipeptídios, vitaminas e os compostos da parede celular (β -glucanos, mananoglicosacarídeos e quitina) (Sauer et al., 2011).

Neste sentido, componentes da levedura hidrolisada, como os beta-glucanos (β -glucanos), glucamanos e manoglicosacarídeo (MOS), são considerados prebióticos provenientes da parede celular de leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae*. Assim, uma característica destes carboidratos é ser resistente a degradação enzimática na porção inicial do trato gastrointestinal (TGI), favorecendo suas funções benéficas ao longo do trato (Brow et al., 2005).

Resultados positivos com o uso da levedura hidrolisada foram associados à melhora do equilíbrio da microflora no trato gastrointestinal (TGI), participação da maturação de tecidos no TGI, modulação da resposta imune, reduzindo conseqüentemente patógenos, redução da diarreia pós-desmame e melhora na taxa de crescimento dos animais (Vohra et al., 2016). No entanto, um estudo avaliando o efeito da utilização de 1,2g/kg de levedura hidrolisada e extrato de levedura, em relação a 20mg/kg de colistina, sobre o desempenho, fisiologia intestinal e saúde de leitões recém desmamados, não apresentou diferença significativa no desempenho dos animais.

Diferentes resultados são encontrados na literatura e podem estar associados com a variabilidade dos produtos à disposição, uma vez que, a cultura, extrato e o processamento, podem influenciar no modo de ação das leveduras (Fu et al., 2019).

XII. β -glucanos

Os β -glucanos são polissacarídeos de cadeia longa, que também podem ser encontrados na parede celular de plantas, algas e bactérias. Os β -glucanos oriundos da levedura são do tipo β -1,3/1,6-glucanos (Ringoe et al., 2012; Barman et al., 2013).

Os β -glucanos são originalmente utilizados por seu potencial imunomodulador, podendo melhorar a saúde intestinal através do aumento das funções de barreira da mucosa, de maneira a contribuir para o crescimento dos animais, uma vez que os nutrientes necessários ao crescimento são digeridos e absorvidos pelo organismo através da mucosa intestinal. Esses polissacarídeos ainda podem influenciar a composição da microbiota intestinal, a qual não só ajuda na digestão, mas pode apoiar direta e indiretamente as atividades imunológicas do tecido linfoide associado ao intestino (GALT), representando o maior órgão imune em mamíferos (Vetvicka, et al., 2014).

Os β -glucanos são conhecidos como moduladores do sistema imune, ativando células de defesa, especialmente macrófagos e neutrófilos, uma vez quando se ligam a células fagocitárias ou macrófagos, reconhecem as ligações do tipo β -1,3 e β -1,6 estimulando a produção de citocinas, portanto, uma reação em cadeia é realizada induzindo a imunomodulação e melhorando a capacidade de resposta do sistema imune inato, ou seja, onde ocorre a primeira resposta imune à contaminação patogênica, evitando maior gasto energético durante um processo inflamatório prolongado e mobilizando mais rapidamente o sistema imune adaptativo, o que evitará perdas de produção e altas taxas de mortalidade (Vetvicka, et al., 2014).

O efeito mais frequentemente observado a partir da inclusão de β -glucanos na dieta de leitões, especialmente aquelas obtidas de leveduras, é a modulação da produção de citocinas pro-inflamatórias, induzidas pela infecção por patógenos (Vetvicka e Oliveira, 2014). Estas citocinas inflamatórias são muito importantes no início de qualquer processo inflamatório e/ou infeccioso devido ao seu efeito quimiostático sobre macrófagos e neutrófilos para o local agredido (Abbas et al., 2012).

Alguns trabalhos relatam ainda a ação dos β -glucanos sobre a morfologia intestinal, reduzindo a atrofia de vilosidades em leitões recém desmamados, causada pela mudança brusca na dieta ou pela infecção por patógenos intestinais comuns nesta fase. Este efeito protetor, sobre a principal estrutura de absorção de nutrientes no intestino dos leitões, não necessariamente tem resultado em um incremento no desempenho dos animais (Jiang et al., 2015; Waititu et al., 2016).

Quanto à ação dos β -glucanos sobre a microbiota intestinal de leitões, além do efeito sobre o sistema imune, ocorre aumento da atividade fagocítica e produção de espécies reativas de oxigênio contra patógenos (Vetvicka e Oliveira, 2014). O caráter prebiótico dos β -glucanos também tem sido explorado. Alguns β -glucanos conseguem escapar da hidrólise no trato digestório superior e podem ser fermentados no ceco e cólon, favorecendo a proliferação de microrganismos benéficos e consequentemente reduzindo microrganismos patogênicos comuns na fase de desmame (Sweeney et al., 2012; Zhou et al., 2013). Por sua vez, a fermentação de glucanos no intestino pode ser mensurada pelo aumento na produção de ácidos graxos voláteis, produtos do processo fermentativo que servem ainda como suprimento energético para os enterócitos, possibilitando maior renovação das células que compõem a barreira intestinal (Sweeney et al., 2012).

XIII. Mananoligossacarídeos (MOS)

Os mananoligossacarídeos são derivados da parede celular de leveduras, que se fraciona em porção interna e externa, sendo então a porção externa composta de manose fosforilada e glicoproteína, é um carboidrato complexo não digestível, portanto não sofre hidrólise no intestino, sendo assim, não é absorvido pelo TGI (Geron et al., 2013).

Assim como os β -glucanos, os MOS possuem ação prebiótica no hospedeiro, melhorando a manutenção da eficiência digestiva, integridade do epitélio intestinal, melhorando a absorção de nutrientes e proporcionando efeitos positivos no sistema imune (Budiño et al. 2010).

A ação indireta dos prebióticos sobre o sistema imune está relacionada com a sua capacidade de fermentação seletiva por bactérias benéficas, que além de produzirem ácidos orgânicos, secretam substâncias com propriedades imunomodulatórias, interagindo com o sistema imune, estimulando a produção de citocinas, a proliferação de células mononucleares, a fagocitose macrófaga e a produção elevada de imunoglobulinas (Ig), especialmente IgA, IgM e IgG (Yasui e Ohwaki, 1991; Silva e Nörnberg, 2003).

O MOS age principalmente no intestino grosso, nas regiões de ceco e cólon e serve de substrato seletivo principalmente para *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Silva 2012). A microbiota benéfica fermenta o MOS e produz ácido lático e AGV, que acidificam o meio e diminuem a proliferação de bactérias patogênicas (Kritas et al., 2018).

Os AGV que são produzidos no intestino grosso são utilizados, uma vez que o acetato e o propionato são absorvidos e seguem para a corrente sanguínea, e o butirato é utilizado como fonte de energia para os enterócitos, os quais são estimulados a proliferar, mantendo a integridade da mucosa (Kritas et al., 2018).

Desta forma, ocorre o desenvolvimento das células intestinais, que aumentam o tamanho das vilosidades e, assim, a superfície de absorção dos nutrientes, proporcionando melhor desenvolvimento dos leitões (Vondruskova et al., 2010;).

Junto a isso, um número maior de microrganismos nativos compete diretamente pelo sítio de ligação nos enterócitos. O MOS também age como ligante de alta afinidade, por meio de aglutinação competitiva, que bloqueia as fímbrias das bactérias patogênicas. Estas possuem sítios de adesão de lectinas sensíveis a manose, que causam ligações fortes a algumas bactérias Gram-negativas, e impedem que estas se liguem a receptores nos enterócitos. Além disso, o MOS também pode ser capaz de remover patógenos recentemente aderidos à mucosa intestinal (Blatchford et al., 2013, Tran et al., 2016).

A imunomodulação pela administração do MOS ocorre através do reconhecimento pelas células dendríticas e macrófagos, que possuem o receptor de manose, gerando uma reação em cascata que ativa a resposta imune, principalmente os macrófagos, células fagocíticas e citocinas (Carbone e Faggio, 2016).

O MOS é capaz de se ligar aos enterócitos, que reveste a superfície da mucosa e bloqueia a adesão de bactérias patogênicas. Através disso, o MOS pode entrar em contato direto com células imunes, por meio de receptores de manose na superfície de algumas destas células, que atua como um “antígeno não-patogênico” e desencadeia reações moleculares. Estas levam à secreção de citocinas, com mobilização e ativação de outras células de defesa, que pode atuar de maneira pró-inflamatória ou anti-inflamatória na resposta imunológica (Blatchford et al., 2013; Tran et al., 2016). Além disso, o MOS influencia indiretamente o sistema imune, em que a microbiota nativa benéfica tem capacidade de produzir substâncias imunoestimulantes, que desencadeiam várias reações, como a proliferação de macrófagos e linfócitos, produção de citocinas diversas e até a indução de síntese de imunoglobulinas, principalmente IgA, mais presentes em região de mucosa (Kritas, 2018).

O escore de diarreia em suínos alimentados com a dieta contendo mananoligossacarídeos foi reduzido em comparação com suínos alimentados com a dieta controle (Zhao et al., 2012). Em outro estudo, os autores também observaram uma menor

ocorrência de diarreia em animais que receberam uma mistura de β -glucanos e mananoligossacarídeos em comparação com os animais do grupo controle negativo (Thitui et al., 2016).

XIV. Nucleotídeos

Os nucleotídeos são compostos formados por bases nitrogenadas (púricas ou pirimídicas), grupo fosfato e pentoses (2-desoxirribose para o DNA e ribose para o RNA) (Nelson; Cox, 2014). As principais bases purinas são a adenina (A) e a guanina (G), enquanto a citosina (C), timina (T) e uracila (U) são as principais bases pirimidinas (Champe et al., 2009). Sua síntese pode acontecer nos animais pela via “de novo”, a partir de seus precursores metabólicos, como a glutamina, no citosol hepático (Yu et al., 2002), porém tem um alto custo metabólico e de energia (Rossi et al., 2007).

Os animais, durante o período pós desmame, não sintetizam nucleotídeos em quantidade suficiente, portanto outra forma de obtenção é pela “via de salvamento”, que utiliza nucleotídeos fornecidos na dieta, através do citosol hepático e através desta via ocorre a reciclagem de bases livres e nucleosídeos que são liberados dos nucleotídeos e ácidos nucleicos, gerando um gasto menor de energia (Pelícia, 2008).

A incorporação dos nucleotídeos na dieta pode ocorrer por serem considerados essenciais quando a produção endógena é insuficiente para garantir a função normal do organismo, (Mateo et al., 2004). No desmame, em situações de estresse, os animais podem ser beneficiados com a suplementação de nucleotídeos, melhorando o desempenho produtivo com maior ganho de peso, consumo de ração (Sauer et al., 2012), e ainda favorecem a morfologia intestinal (Sauer et al., 2012), a microbiota intestinal e o sistema imune dos animais (Andrés-Elias et al., 2007).

A melhoria da mucosa intestinal e do sistema imune pode ser explicada, pois os nucleotídeos são constituintes de coenzimas e participam do processo de divisão e crescimento celular (Domeneghini et al., 2006), sendo importantes para as células de rápida proliferação (Sauer et al., 2011). O aumento da relação vilo:cripta e altura das vilosidades intestinais na utilização de nucleotídeos para leitões recém-desmamados têm sido demonstrado (Domeneghini et al., 2004). Entretanto, ainda há controvérsias sobre a atuação dos nucleotídeos em leitões recém-desmamados sobre as melhorias na microbiota intestinal (Andrés-Elias et al., 2007) e ativação do sistema imune em relação às respostas inflamatórias (Jiao e Kim, 2019), e em situações de desafio sanitário (Waititu et al., 2016).

XV. Zinco

O zinco (Zn) é um elemento químico essencial para os animais, está envolvido em processos fisiológicos que desempenham funções cruciais para o crescimento normal e para a saúde dos animais, devido à sua importância como componente estrutural, além de atuar como cofator específico para várias enzimas, em várias vias metabólicas na proliferação celular e em sistemas de reparo e sinalização em processos fisiológicos para o equilíbrio homeostático (Kambe et al., 2015; Li et al., 2016).

Está envolvido no metabolismo das proteínas, dos carboidratos, dos nucleotídeos e da vitamina A, sendo necessário na calcificação dos ossos e no desenvolvimento do sistema imunológico (Yagüe, 2009) e também na produção e secreção de hormônios de crescimento, insulina e hormônios sexuais (Li et al., 2016).

No processo de proliferação celular, o zinco destaca-se por atuar diretamente sobre as células imunológicas, com capacidade de interferir na ação citolítica das células T, no processo de fagocitose de macrófagos e neutrófilos, na atividade de células “natural killer” e na maturação de linfócitos (Cruz e Soares, 2011).

O que influencia a exigência nutricional dos minerais é sua fonte de inclusão, que pode ser inorgânica ou orgânica. As fontes inorgânicas são comumente utilizadas pela indústria, e geralmente os valores de inclusão são maiores que a exigência nutricional da espécie, já que estas fontes são menos biodisponíveis (NRC, 2012). Por outro lado, as fontes orgânicas são mais estáveis estruturalmente e têm maior biodisponibilidade, resultando em melhor absorção e metabolização (Miles e Henry, 2000).

Os tecidos musculares e ósseos são os principais tecidos de reserva de zinco e possuem capacidade de liberação em condições de deficiência na dieta (Underwood e Suttle, 1999). O local de absorção de zinco em animais não ruminantes é o intestino delgado sendo o duodeno o local mais ativo de absorção (Underwood e Suttle, 1999). As maiores concentrações deste elemento são encontradas no fígado e a produção do zinco é induzida pela presença do elemento no fígado (Mcdowell, 1992).

A deficiência de zinco afeta principalmente o crescimento, funções cerebrais e atividade imunológica (Zhang et al., 2021). Em suínos, os principais sinais de deficiência se caracterizam por crescimento retardado, diminuição do apetite, piora na conversão alimentar e paraqueratose (Macdonald, 2000).

À medida que se eleva a concentração de zinco na dieta, aumenta a quantidade de zinco ligado à metalotioneína intestinal, envolvida na homeostase desse mineral e nas alterações fisiológicas do trato gastrointestinal, podendo resultar em aumento na absorção dos nutrientes e alteração da morfologia do intestino, podendo, ser um possível mecanismo de ação responsável pelo aumento do desempenho dos leitões desmamados suplementados com doses farmacológicas de zinco (Carlson et al., 1999). E, é possível que a absorção de zinco no intestino possa ocorrer por difusão passiva, e, indiretamente, eleve a função de barreira intestinal como mecanismo de proteção do epitélio.

As formas mais comuns de suplementação em suínos é a inorgânica através do sulfato de zinco e do óxido de zinco, principalmente devido ao seu baixo custo (Liu et al., 2021). O uso de fontes inorgânicas é uma alternativa aos antimicrobianos sintéticos para o controle e prevenção de problemas entéricos como a diarreia e como melhorador de desempenho durante o pós-desmame (Muniz et al., 2010).

Os mecanismos de ação do zinco como agente antimicrobiano não estão bem esclarecidos, embora alguns autores afirmem que atuam inibindo o transporte ativo de succinato na célula de *Escherichia coli*, ou impedindo a atividade do sistema oxidase, inibindo a atividade da cadeia respiratória da bactéria ou impedindo a sua aderência na mucosa intestinal (Arantes et al. 2005, Menin et al. 2006). Também foi verificado efeito na diminuição da diarreia associado à redução da permeabilidade intestinal (Zhang e Guo, 2009) e inibição e/ou redução da atividade da *E. coli* ao interagir com íons de zinco (Arantes et al., 2005).

A metalotioneína induzida pelo acúmulo de zinco no tecido intestinal também pode proteger o tecido do dano oxidativo (Chai et al., 2014). Rostagno et al., (2017) estabelecem uma necessidade de Zn de 155 mg por kg de ração para leitões desmamados; 138 e 113 mg por kg de ração para suínos de 12 e 22 kg de peso corporal, respectivamente. O uso excessivo de zinco inorgânico pode estimular a resistência na microbiota intestinal e, devido às chances de uma interação adversa entre minerais, aumentar os níveis excretados dos mesmos (Leeson, 2008; Rutz; Murphy, 2009).

XVI. Referências

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2012). *Imunologia Celular e Molecular*, Rio de Janeiro, 7^a ed. Elsevier.

Adewole, D.I., I.H. Kim, Nyachoti, C. M. (2016). Gut health of pigs: challenge models and response criteria with a critical analysis of the effectiveness of selected feed additives—a review. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.29, p.909–924. (DOI:10.5713/ajas.15.0795).

Andrés-Elias, N., Pujols, J., Badiola, I., Torrallardona, D. (2007). Effect of nucleotides and carob pulp on gut health and performance of weanling piglets. *Livestock Science, Amsterdam*, v. 108, p. 280-283. (DOI: 10.1016/j.livsci.2007.01.080).

Arantes, V. M., Thomaz, M. C., Kronka, R. N., Malheiros, E. B., Barros, V. M., Pinto, E. S., Budiño, F. E. L., Fraga, A. L., Ruiz, U. dos S., Huaynate, R. A. R. (2005). Níveis de zinco na dieta de leitões recém-desmamados: desempenho, incidência de diarreia, isolamento de *E. coli* e análise econômica. *Boletim de Indústria Animal*, v.62, n.3, p.189-201.

Bah, C. S. F., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A., and McConnell, M. A. (2013). Slaughterhouse blood: an emerging source of bioactive compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.12, p.314–331. (DOI: 10.1111/1541-4337.12013).

Balan, P., Staincliffe, M., Moughan, P. (2020). Effects of spray-dried animal plasma on the growth performance of weaned piglets—A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.105, n.4., p.699-714. (DOI:10.1111/jpn.13435).

Barbosa, F. F., Ferreira, A. S., Gattás, G., Silva, F. C. de O., Donzele, J. L., Brustolini, P. C., Lopes, D. C. (2007). Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. *Revista Brasileira De Zootecnia*, v.36, n.4, p.1052–1060. (DOI:10.1590/S1516-35982007000500010).

Barbosa, F. F., Silva, F. C. de O., Ferreira, A. S., Pupa, J. M. R., Brustolini, P. C., Campos, P. F. (2012). Efeitos de plasma sanguíneo sobre vilosidades, desenvolvimento bacteriano e desempenho de leitões criados em condições de desafio pós-desmame aos 35 dias. *Revista Brasileira De Saúde E Produção Animal*, v.13, n.2, p.469–479.

Barman D., Nen P., Mandal S.C., Kumar V. (2013). Immunostimulants for Aquaculture Health Management. *Journal of Marine Science: Research and Development*. v.134, n.3.

Beaumont, M., Cauquil, L., Bertide, A., Ahn, I., Barilly, C., Gil, L., Canlet, C., Zemb, O., Pascal, G., Samson, A., & Combes, S. (2021). Gut Microbiota-Derived Metabolite Signature in Suckling and Weaned Piglets. *Journal of proteome research*, v.20, n.1, p.982–994. (DOI:10.1021/acs.jproteome.0c00745).

Blatchford, R., Ansell, J., Megodoy, M. R. C., Fahey, G., Gardamazcorro, J. F., Gibson, G. R., Goh, Y. J., Hotchkiss, A. T., Hutkins, R., Lacroix, C., Rastall, R. A., Reimer, R. A., Schotennan, M., Vansindeien, D., Venema, K., Whelan, K. (2013) Prebiotic mechanisms, functions and applications: A review. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. New Zealand, v.8, n.4, p.109- 132.

Boas, A. D. C. V., Budiño, F. E. L., T. Neto, M. A., Schmidt, A., Dadalt, J. C., Monferdini, R. P., Sitanaka, N. Y., Moraes, J. E., Pizzolante, C. C. (2016). Organic acids in diets of weaned piglets: performance, digestibility and economical viability. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, v.68, n.4, p.1015–1022. (DOI:10.1590/1678-4162-8501).

Borg, B.S., Campbell, J.M., Polo, J., Russell, L.E., Rodríguez, C., Rodenas, J. (2002). Avaliação das características químicas e biológicas da proteína plasmática seca por pulverização coletada em vários locais do mundo. *Processo AASV*. Kansas City, Missouri, p.97–100.

Bosi, P., Han, I.K., Jung, H.J., Heo, K.N., Perini, S., Castellazzi, A.M., Casini, L., Creston, D., Cremokilini, C. (2001). Effect of different spray dried plasmas on growth, ileal digestibility, nutrient deposition, immunity and health of early-weaned pigs challenged with *E. coli* K88. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.14, p.1138–1143. (DOI: 10.5713/ajas.2001.1138).

Bosi, P., Casini, L., Finamore, A., Cremokolini, C., Merialdi, G., Trevisi, P., Nobili, F., Mengheri, E. (2004). Spray-dried plasma improves growth performance and reduces inflammatory status of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Journal of Animal Science*, v.82, p.1764–72. (DOI:10.2527/2004.8261764x).

Brooks, P., Beal, J., Niven, S. (2001). Liquid feeding of pigs: potential for reducing environmental impact and for improving productivity and food safety. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, v.13, p.49–63.

Brumano, G., Gattás, G. (2009). Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento em rações de aves e suínos. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.6, p.856-875.

Budiño, F.E.L., Castro Júnior, F.G., Otsuk, I.P. (2010). Adição de frutoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados: desempenho, incidência de diarreia e metabolismo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.10, p.2187-2193. (DOI: 10.1590/S1516-35982010001000013).

Bünzen, S., Rostagno, H., Lopes, D., Hashimoto, F., Gomes, P., Apolônio, L. (2008). Digestibilidade do fósforo de alimentos de origem vegetal determinada em suínos em crescimento e terminação. *Revista Brasileira De Zootecnia*, v.37, p.7, p.1236-1242. (DOI:10.1590/S1516-35982008000700014).

Cain, C., Gatnau, R., Arentson, R., Zimmerman, D. (1992). Effects of spray-dried porcine plasma on intestinal function and morphology in weanling pigs. *Iowa State Swine*. Iowa State University, Ames, p.7-10.

Campbell, J. M, Crenshaw, J. D, Polo, J. (2013). The biological stress of early weaned piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. v. 4, n. 1, p. 19. (DOI: 10.1186/2049-1891-4-19).

Campbell, J.M. (2003). The use of plasma in swine feeds. Disponível em: www.americanprotein.com/discoveres/summer98/plasma.html. Acesso em: 11/9/2022.

Campbell, J.M., Crenshaw, J.D., González-Esquerro, R., Polo, J. Impact of Spray-Dried Plasma on Intestinal Health and Broiler Performance. (2019). *Microorganisms*, v.7, p.219. (DOI:10.3390/microorganisms7080219).

Campbell, J.M., Crenshaw, J.D., Russell, L.E., Hayes, S. (2008) Influence of Dietary Plasma Proteins on Supporting Animal Immunity 55 Systems. APC Inc., Florida Ruminant Nutrition Symposium Ankeny, IA January 29-30.

Carbone, D., Faggio, C. (2016). Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish & shellfish immunology*, v.54, p.172–178. (DOI:10.1016/j.fsi.2016.04.011).

Carlson, M. S., Hill, G. M., Link, J. E. (1999). Early- and traditionally weaned nursery pigs benefit from phase-feeding pharmacological concentrations of zinc oxide: effect on metallothionein and mineral concentrations. *Journal of Animal Science*, v.77, n.5, p.1199-1207. (DOI: 10.2527/1999.7751199x).

Chae, B.J., Han, I.K., Kim, J.H, Anderson, D.A.D. (1999). Effects of dietary protein sources on ileal digestibility and growth performance for early-weaned pigs. *Livestock Production Science*, v.58, p.45-54. (DOI: 10.1016/S0301-6226(98)00184-5).

Chai, W., Zakrzewski, S. S., Günzel, D., Pieper, R., Wang, Z., Twardziok, S., Janczyk, P., Osterrieder, N., & Burwinkel, M. (2014). High-dose dietary zinc oxide mitigates infection with transmissible gastroenteritis virus in piglets. *BMC veterinary research*, v.10, p.75. (DOI:10.1186/1746-6148-10-75).

Chamone, J.M.A., Melo, M.T.P., Arouca, C.L.C., Barbosa, M.M., Souza, F.A., Santos, D. (2010). Fisiologia digestiva de leitões. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.7, n.5, p.1353-1363.

Champe, P. C., Harvey, R. A., Ferrier, D. R. (2009). *Bioquímica Ilustrada*. Porto Alegre: Artmed, p.528.

Che, L., Hu, L., Zhou, Q., Peng, X., Liu, Y., Luo, Y., Fang, Z., Lin, Y., Xu, S., Feng, B., Li, J., Tang, J., Wu, D. (2020). Microbial insight into dietary protein source affects intestinal function of pigs with intrauterine growth retardation. *European journal of nutrition*, v.59, n.1, p.327–344. (DOI:10.1007/s00394-019-01910-z).

Coffey, R.D., Cromwell, G.L. (1995). The impact of environment and antimicrobial agents on the growth response of early-weaned pigs to spray-dried porcine plasma. *Journal of Animal Science*, v.73, n.9, p.2532-2539. (DOI: 10.2527/1995.7392532x).

Coffey, R.D., Cromwell, G.L. (2001). Use of spray-dried animal plasma in diets for weanling pigs. *Pigs News Information*, v.22, p.39–48.

Cole, M., Varley, M. (2000) Recent advances in the feeding and nutrition of the piglet. 5° Seminário Internacional de Suinocultura, p. 37-52.

Corassa, A., Lopes, D.C., Bellaver, C. (2012) Mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos e probióticos para leitões de 21 a 49 dias de idade. *Archivos de Zootecnia*, v.61, n.235, p.467-476. (DOI:10.4321/S0004-05922012000300015).

Corl, B.A., Harrell, R.J., Moon, H.K., Phillips, O., Weaver, E.M., Campbell, J.M., Arthington, J.D., Odle, J. (2008). Effect of animal plasma proteins on intestinal damage and recovery of neonatal pigs infected with rotavirus. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v.18, n.12, p.778–784. (DOI:10.1016/j.jnutbio.2006.12.011).

Costa, L.B., Almeida, V.V., Berenchtein, B., Tse, M.L.P., Andrade, C., Miyada, V.S.. (2011). Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como alternativas aos antibióticos para leitões desmamados. *Archivos de Zootecnia*, v.60, n.231, p.733-744. (DOI:10.4321/S0004-05922011000300061).

Crenshaw, J.D., Campbell, J.M., Polo J. (2015). Comparison of spray dried bovine plasma and spray dried porcine plasma in diets for weaned pigs [poster]. *Journal Animal Science*, v.93, p.138–139.

Crenshaw, J.D., Campbell, J.M., Polo, J., Stein, H.H. (2017). Effects of specialty proteins as alternatives to bovine or porcine spray-dried plasma in non-medicated diets fed to weaned pigs housed in an unsanitary environment. *Translational Animal Science*, v.1, n.3, p.333–342. (DOI:10.2527/tas2017.0040).

Cruz, J. B. F., Soares, H. F. Uma revisão sobre o zinco. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 15, n. 1, p. 207–222, 2011.

Dalto, D.B., Gavioli, D.F., Oliveira, E.R., Silva, R.A.M., Tarsitano. M. A., Altmann, Á.H.S., Braz, D.B., Kobayashi, R.K.T., Venâncio, E.J., Bridi A.M., Bracarense, A.P.F.R.L., Silva, C.A. (2013). Efeito de dietas contendo plasma sanguíneo desidratado sobre características microbiológicas, imunológicas e histológicas de leitões leves ao desmame. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.65, n.1, p.189-197. (DOI: 10.1590/S0102-09352013000100028).

Darragh, A.J.E., Moughan, P.J. (1998) The composition of colostrum and milk. In: *The Lactating Sow*. 1 Vol. Eds. Verstegen, M.W.A., Moughan, P.J., Schrama, J.W., Wageningen Press: Wageningen, The Netherlands. p. 3-21.

De Rodas, B. Z., Sohn, K. S., Maxwell, C. V., & Spicer, L. J. (1995). Plasma protein for pigs weaned at 19 to 24 days of age: effect on performance and plasma insulin-like growth factor I, growth hormone, insulin, and glucose concentrations. *Journal of animal science*, v.73, n.12, p.3657–3665. (DOI:10.2527/1995.73123657x).

Dewey, C. E., Johnston, W. T., Gould, L., Whiting, T. L. (2006). Postweaning mortality in Manitoba swine. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, v.70, n. 3, p.161–167.

Domeneghini, C., Di Giancamillo, A., Arrighi, S., Bosi, G. (2006). *Histology Histopathol*, v.21, 273–283.

Domeneghini, C., Di Giancamillo, A., Savoini, G., Paratte, R., Bontempo, V., & Dell'Orto, V. (2004). Structural patterns of swine ileal mucosa following L-glutamine and

nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrical study. *Histology and histopathology*, v.19, n.1, p.49–58. (DOI:10.14670/HH-19.49).

Dritz, S. S., Owen, K. Q., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Chengappa, M. M., & Blecha, F. (1996). Influence of lipopolysaccharide-induced immune challenge and diet complexity on growth performance and acute-phase protein production in segregated early-weaned pigs. *Journal of animal science*, v.74, n.7, p.1620–1628. (DOI:10.2527/1996.7471620x).

Ermer, P.M., Miller, P.S., Lewis, A.J. (1994). Diet preference and meal patterns of weanling pigs offered diets containing either spray-dried porcine plasma or dried skim milk. *Journal of Animal Science*, v.72, n.6, p.1548-1554. (DOI: 10.2527/1994.7261548x).

Ettle, T., Roth, F.X. (2005) A comparative evaluation of the nutritive efficacy of sorbic acid, probiotic or prebiotic additives and of combinations of these substances in the weanling piglet. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, v.14, p.71.

Ferreira, A.S., Barbosa, F.F., Tokach, M.D., Santos, M. (2009). Plasma spray-dried para leitões desmamados em diferentes idades. *Pat. recente Alimentos Nutrição Agrícola*, v.1, 231-235.

Fu, R., Daiwen, C., Gang, T., Ping, Z., Xiangbing, M., Jie, Y., Jun, H., Zhiqing, H., Yuheng, L., Bing, Y. (2019). Effect of dietary supplementation of *Bacillus coagulans* or yeast hydrolysates on growth performance, antioxidant activity, cytokines and intestinal microflora of growing-finishing pigs. *Journal Animal Nutrition*, v.5, p.366-372. (DOI:10.1016/j.aninu.2019.06.003).

Gao, Y. Y., Jiang, Z. Y., Lin, Y. C., Zheng, C. T., Zhou, G. L., & Chen, F. (2011). Effects of spray-dried animal plasma on serous and intestinal redox status and cytokines of neonatal piglets. *Journal of animal science*, v.89, n.1, p.150–157. (DOI:10.2527/jas.2010-2967).

Garcia, G.R., Dogi, C.A., Poloni, V.L., Fochesato, A.S., Leblanc, A.M., Cossalter, A.M., Payros, D., Oswald, I. P., Cavaglieri, I.R. (2018). Beneficial effects of *Saccharomyces cerevisiae* RC016 in weaned piglets: in vivo and ex vivo analysis. *Beneficial Microbes*, v.10, issue 1, p.33-42. (DOI:10.3920/BM2018.0023).

Gatnau, R., Cain, C., Drew, M., Zimmerman, D.R. (1995). Mode of action of spray-dried porcine plasma in weanling pigs. *Journal Animal Science*, v.73(Suppl. 1):82.

Gatnau, R., Zimmerman, D.R. (1991). Spray dried porcine plasma (SDPP) as a source of protein for weanling pigs in two environments, *Journal Animal Science*, v.69, p.103 (Suppl.1).

Gatnau, R., Zimmerman, D.R. (1992). Determination of optimum levels of inclusion of spray-dried porcine plasma (SDPP) in diets for weanling pigs fed in practical conditions. *Journal Animal Science*, v.70, n.1, p.60.

Gatnau, R., Zimmerman, D.R. (1994). Effects spray dried plasma of different sources and process on growth performance of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, v.72, suppl. 1, p.166.

Gattás, G., Ferreira, A.S., Barbosa, F.F. Silva, F. C. de O., Donzele, J. L., Lopes, D. C. (2008). Plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 14 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.2, p.278-285. (DOI:10.1590/S1516-35982008000200014).

Geron, L.J.V., Machado, R.J.T., Garcia, J., Haymora F.S. (2013). Aditivos promotores de crescimento (antibióticos, ionóforos, probióticos, prebióticos e própolis) utilizados na alimentação animal. *Pubvet*, v.7, n.14, p.1563. (DOI:10.22256/pubvet.v7n14.1563).

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International*, v.40, n.9, p.1107- 1121. (DOI:10.1016/j.foodres.2007.07.004).

Grönlund, U., Hultén, C., Eckersall, P. D., Hogarth, C., & Persson Waller, K. (2003). Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *The Journal of dairy research*, v.70, n.4, p.379–386. (DOI:10.1017/s0022029903006484).

Halas, V., Nocht, I. (2012). Mannan Oligosaccharides in Nursery Pig Nutrition and Their Potential Mode of Action. *Animals : an open access journal from MDPI*, v.2, n.2, p.261–274. (DOI:10.3390/ani2020261).

Hampson, D. J. Alterations in piglet small intestinal structure at weaning. (1986). *Research in Veterinary Science*, v.40, n.1, p.32–40. (DOI:10.1016/S0034-5288(18)30482-X).

Hansen, J. A., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., Weeden, T. L. (1993). Evaluation of animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. *Journal of animal science*, v.71, n.7, 1853–1862. (DOI:10.2527/1993.7171853x).

Hayashi, T., Sumi, D., Juliet, P. A., Matsui-Hirai, H., Asai-Tanaka, Y., Kano, H., Fukatsu, A., Tsunekawa, T., Miyazaki, A., Iguchi, A., & Ignarro, L. J. (2004). Gene transfer of endothelial NO synthase, but not eNOS plus inducible NOS, regressed atherosclerosis in rabbits. *Cardiovascular research*, v.61, n.2, p.339–351. (DOI:10.1016/j.cardiores.2003.09.027).

Hedegaard, C. J., Heegaard, P. M. (2016). Passive immunisation, an old idea revisited: Basic principles and application to modern animal production systems. *Veterinary immunology and immunopathology*, v.174, p.50-63. (DOI: 10.1016/j.vetimm.2016.04.007).

Heo, J. M., Opapeju, F. O., Pluske, J. R., Kim, J. C., Hampson, D. J., Nyachoti, C. M. (2013). Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, v.97, n.2, p.207–237. (DOI:10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x).

Jesus, G. F. A., Pereira, S. A., Owatari, M. S., Addam, K., Silva, B. C., Sterzelecki, F. C., Sugai, J. K., Cardoso, L., Jatobá, A. Mouriño, J. L. P. Martins, M. L. (2019). Use of protected forms of sodium butyrate benefit the development and intestinal health of Nile tilapia during the sexual reversion period. *Aquaculture*, v.504, p.326-333. (DOI:10.1016/J.AQUACULTURE.2019.02.018).

Jiang, R., Chang, X., Stoll, B., Ellis, K. J., Shypailo, R. J., Weaver, E., Campbell, J., Burrin, D. G. (2000b). Dietary plasma protein is used more efficiently than extruded soy protein for lean tissue growth in early-weaned pigs. *The Journal of nutrition*, v.130, n.8, p.2016–2019. (DOI:10.1093/jn/130.8.2016).

Jiang, R., Chang, X., Stoll, B., Fan, M. Z., Arthington, J., Weaver, E., Campbell, J., Burrin, D. G. (2000a). Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early weaned pigs. *The Journal of nutrition*, v.130, n.1, p.21–26. (DOI:10.1093/jn/130.1.21).

Jiang, Z., Wei, S., Wang, Z., Zhu, C., Hu, S., Zheng, C., Chen, Z., Hu, Y., Wang, L., Ma, X., & Yang, X. (2015). Effects of different forms of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. *Journal of animal science and biotechnology*, v.6, p.47. (DOI:10.1186/s40104-015-0046-8).

Jiao, Y., Kim, I.H. (2019). Effects of nucleotide supplementation on growth performance, nutrient digestibility, and immune blood profiles related to foot-and-mouth disease in vaccinated growing pigs. *Canadian Journal Animal Science*, v.99, p.326–331. (DOI: 0.1139/cjas-2018-008).

Kambe, T., Tsuji, T., Hashimoto, A., & Itsumura, N. (2015). The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiological reviews*, v.95, n.3, p.749–784. (DOI:10.1152/physrev.00035.2014).

Karasova, D., Crhonova, M., Babak, V., Jerabek, M., Brzobohaty, L., Matesova, Z., Rychlik, I. (2021). Development of piglet gut microbiota at the time of weaning influences development of postweaning diarrhea – A field study. *Research in Veterinary Science*, v.135, n.3, p.59-65, 2021. (DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.12.022).

Kats, L. J., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Goodband, R. D., Hansen, J. A., & Laurin, J. L. (1994b). The effect of spray-dried porcine plasma on growth performance in the early-weaned pig. *Journal of Animal Science*, v.72, n.8, p.2075- 2081. (DOI: 10.2527/1994.7282075x).

Kats, L. J., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Goodband, R. D., Weeden, T. L., Dritz, S. S., Hansen, J. A., & Friesen, K. G. (1994a). The effects of spray-dried blood meal on growth performance of the early- weaned pig. *Journal of Animal Science*, v.72, n.11, p.2860-2869. (DOI: 10.2527/1994.72112860x).

Kritas, Spyridon. (2018). Probiotics and Prebiotics for the Health of Pigs and Horses. (DOI:10.1007/978-3-319-71950-4_4).

Lallès, J. P., Bosi, P., Smidt, H., Stokes, C. R. (2007). Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *The Proceedings of the Nutrition Society*, v.66, n.2, p.260–268. (DOI:10.1017/S0029665107005484).

Lalles, J. P., Boudry, G., Favier, C., Floch, N., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I., Pié, S., Piel, C., Sève, B. (2004). Gut function and dysfunction in young pigs: Physiology. *Animal Research*, v.53, n.4, p. 301-316. (DOI: 10.1051/animres:2004018).

Le Dividich, J., Sève, B. (2000). Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. *Domestic animal endocrinology*, v. 19, n.2, p. 63–74. (DOI: 10.1016/s0739-7240(00)00067-9).

Lehninger A.L., Nelson D.L. Cox M.M. (2007). *Princípios de Bioquímica*. 4ª ed. Sarvier, São Paulo, p.1232.

Li, M. Z., Huang, J. T., Tsai, Y. H., Mao, S. Y., Fu, C. M., & Lien, T. F. (2016). Nanosize of zinc oxide and the effects on zinc digestibility, growth performances, immune response and serum parameters of weanling piglets. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, v.87, n.11, p.1379–1385. (DOI:10.1111/asj.12579).

Lu, J. J.; Zou, X. T.; Wang, Y. M. (2008). Effects of sodium butyrate on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences*.v.17, p.568-570. (DOI:10.22358/jafs/66685/2008).

Lückstädt, C. (2008). The use of acidifiers in fish nutrition. *CAB Reviews: perspectives in agriculture, veterinary science, Nutrition and natural resources*, v. 3, n. 044, p. 1-8. (DOI: 10.1079/PAVSNR20083044).

Manzanilla, E. G., Nofrarías, M., Anguita, M., Castillo, M., Perez, J. F., Martín-Orúe, S. M., Kamel, C., Gasa, J. (2006). Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of animal science*, v.84, n.10, p.2743–2751. (DOI:10.2527/jas.2005-509).

Mateo, C. D., Peters, D. N., & Stein, H. H. (2004). Nucleotides in sow colostrum and milk at different stages of lactation. *Journal of animal science*, v.82, n.5, p.1339–1342. (DOI:10.2527/2004.8251339x).

Mcdowell, L. R. (2003). Zinc. In: *B.V. Minerals in Animal and Human Nutrition*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science. p. 357–396.

Miles, R. D., Henry, P. R. (2000). Relative trace mineral bioavailability. *Ciência Animal Brasileira*, v. 1, n. 2, p. 73–92.

Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 44 de 15 de dezembro de 2015. *Diário Oficial*, 2015.

Mroz, Z. (2005). Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. *Advances in Pork Production*, v.16, p.169-182.

Muller, L.K.F., Da Silva, A.S., Baldissera, M.D., Santurio, J.M., Glombowsky, P., Gugel, J., Campigotto, G., Gloria, E.M., Paiano, D. and Machado, G. (2017). Effect of supplementation with spray-dried porcine plasma on blood variables on piglets feed with diet contaminated by mycotoxins. *Microbial Pathogenesis*, v.110, n.3, p.464-470. (DOI:10.1016/j.micpath.2017.07.028).

Muniz, M. H. B., Berto, D. A., Wechsler, F. S., Lopes, A.B.R.C. (2001). Plasma bovino desidratado na dieta de leitões desmamados. *Acta Scientiarum*, v. 23, n. 4, p. 1003-1010.

National Research Council – NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine*. Washington, D.C., 11^a ed.

Nelson, D. L., Cox, M. M. (2011). *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre: Artmed, 6^a ed.

Nofrarías, M., Manzanilla, E. G., Pujols, J., Gibert, X., Majo, N., Segales, J., Gasa, J. (2006). Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. *Journal Animal Science*, v.84, p.2735–2742. (DOI:10.2527/jas.2005-414).

Owen, K. Q., Nelssen, J. L., Goodband, R. D. (1993a). Effects of various fractions of spraydried plasma on performance of early weaned pigs. *Journal of Animal Science*, v. 73, p.81, (Suppl. 1).

Owen, K.Q., Kats, L.J., Nelssen, Jim L., Tokach, Michael D., Goodband, Robert D., Dritz, Steven S. (1993b). Spray-dried egg protein in diets for early-weaned starter pigs. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, v.0, n.10. (DOI:10.4148/2378-5977.6380).

Owusu-Asiedu, A., Nyachoti, C., Baidoo, S., Marquardt, R., Yang, X. (2003). Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Esherichia coli* (K88) challenge when fed diets

containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody. *Journal of animal Science*, v.81, p.1781-9. (DOI:10.2527/2003.8171781x).

Partanen, K. (2001). Organic acids – their efficacy and modes of action in pigs. In: Piva, A., Knudesen, K.E.B., Lindberg, J.E. (Eds.) *Gut environment of pigs*. Nottingham: Nottingham University Press, p.201-217.

Partanen, K., Mroz, Z. (1999). Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews*, v.12, n.1, p.117-145. (DOI:10.1079/095442299108728884).

Peace, R.M., Campbell, J., Polo, J., Crenshaw, J., Russell, L., Moeser, A. (2011). Spray-dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation, and diarrhea in weaned pigs. *Journal Nutrition*, v.141, n.7, p.1312–1317. (DOI: 10.3945/jn.110.136796).

Peiniau, J., Aumaitre, A., Lebreton, Y. (1996). Effects of dietary protein sources differing in solubility on total tract and ileal apparent digestibility of nitrogen and pancreatic enzymes activity in early weaned pigs. *Livestock Production Science, Amsterdam*, v. 45, n.2-3, p. 197-208. (DOI:10.1016/0301-6226(95)00089-5).

Pelícia, V.C. (2008). Nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no sistema alternativo. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – - Universidade Estadual Paulista, 76f, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

Pérez-Bosque, A., J. Polo, and D. Torralardona. (2016). Spray dried plasma as an alternative to antibiotics in piglet feeds, mode of action and biosafety. *Porcine Health Manage*, v.2, n.16. (DOI:10.1186/s40813-016-0034-1).

Petschow, B. W., Blikslager, A. T., Weaver, E. M., Campbell, J. M., Polo, J., Shaw, A. L., et al. (2014). Bovine immunoglobulin protein isolates for the nutritional management of enteropathy. *World Journal Gastroenterol*, v.20, p.11713–11726. (DOI:10.3748/wjg.v20.i33.11713).

Pettigrew, J.E., Gaskins, H.R., Nava, G. (2006). A critical review of functional animal proteins. Research Report No: NPB #04–142 in Animal Science. Des Moines, IA, USA: National Pork Board. <http://old.pork.org/filelibrary/researchdocuments/04-142-pettigrew-uofill.pdf>.

Pierce, J. L., Cromwell, G. L., Lindemann, M. D., Russell, L. E., and Weaver, E. M. (2005). Effects of spray-dried animal plasma and immunoglobulins on performance of early weaned pigs. *Journal Animal Science*, v.83, p.2876–2885. (DOI: 10.2527/2005.83122876x).

Piva, A., Pizzamiglio, V., Morlacchini, M., Tedeschi, M., & Piva, G. (2007). Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. *Journal of animal science*, v.85, n.2, p.486–493. (DOI:10.2527/jas.2006-323).

Pluske, J. R., Turpin, D. L., Kim, J. C. (2018). Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Animal nutrition (Zhongguo xu mu shou yi xue hui)*, v.4, n.2, p.187–196. (DOI:10.1016/j.aninu.2017.12.004).

Pujols, J., Segalés, J., Polo, J., Rodríguez, C., Campbell, J., & Crenshaw, J. (2016). Influence of spray dried porcine plasma in starter diets associated with a conventional vaccination program on wean to finish performance. *Porcine health management*, v.2, p.4. (DOI:10.1186/s40813-016-0021-6).

Ravindran, V., Kornegay, E.T. (1993). Acidification of weaner pig diets: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.62, p.313-322. (DOI: 10.1002/jsfa.2740620402).

Ringoe, E., Rolf, R.E., Vecino, J.L.G., Wadsworth, S., Song, S.K. (2012). Use of immunostimulants and nucleotides in Aquaculture: a review. *Journal of Marine Science: Research e Development*, v.2, n.1, p.1000104. (DOI: 10.4172/2155-9910.1000104).

Rocha, E.V.H.; Lima, J.A.F.; Fialho, E.T, Zangeronimo, M.G., Bertechini, A.G., Rodrigues, P.B. (2008). Utilização de ácidos orgânicos e fitase em dietas para leitões na creche. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.3, p.719-724. (DOI:10.1590/S0102-09352008000300029).

Rodriguez-Palenzuela, P. (2000). Los ácidos orgânicos como agentes antimicrobianos. In: *Avances in nutrición y alimentación animal*, p.16, Barcelona. Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, 2000, p. 155- 167.

Roediger, W. E. (1980). Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*, v.21, n.9, p.793–798. (DOI:10.1136/gut.21.9.793).

Rossi, P., Xavier, E.G., Rutz, F. (2007). Nucleotídeos na nutrição animal. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 13, n. 1, p. 5–12. (DOI:10.18539/cast.v13i1.1303).

Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Hannas, M.I., Donzele, J.L., Sakomura, N.K., Perazzo, F.G., Saraiva, A., Teixeira, M.L., Rodrigues, P.B., Oliveira, R.F., Barreto, S.L.T., Brito, C.O. (2017). Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4aed. Viçosa: UFV, p.488.

Sauer, N., Mosenthin, R., & Bauer, E. (2011). The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. *Nutrition research reviews*, v.24, n.1, p.46–59. (DOI:10.1017/S0954422410000326).

Schenk, S., Schoenhals, G. J., de Souza, G., Mann, M. (2008). A high confidence, manually validated human blood plasma protein reference set. *BMC Med. Genomics*, v.1, p.41. (DOI: 10.1186/1755-8794-1-41).

Schöner, F.J. Nutritional effects of organic acids. (2001). In: Brufau, J. (Ed). *Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: From feed to food. Conference of Feed. Manufacturers of the Mediterranean, 2000/03/22-24, Reus (Spain)*. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, p.55-61.

Schuh, S., Muller, L. K. F., Campos, L. P., Moresco, R. N., Baldissera, M. D., Oliveira, S. C. de, Campigotto, G., Silva, A. S. da, Paiano, D. (2016). Effect of supplementation of newborn piglets with spray dry blood plasma on weight gain and serum biochemical variables. *Comparative Clinical Pathology*, Londres, v. 25, n. 5, p 1029-1033. (DOI: 10.1007/s00580-016-2302-5).

Silva, L. P.; Nörnberg, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. (2003). *Ciência Rural*, v.33, n.4, p. 55-65. (DOI: 10.1590/S0103-84782003000500029).

Silva, S. Z., Thomaz, M. C., Watanabe, P. H., Robles Huaynate, R. A.; Ruiz, U. S., Pascoal, L. A. F., Santos, V. M., Masson, G. C. I. H. (2012). Mananoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 49, n. 2, p. 102-110. (DOI:10.11606/issn.2318-3659.v49i2p102-110).

Smith, J.W., Richert, B. T., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., Tokach, M. D. (1995). The effect of spray-dried plasma source on starter pig performance. *Journal of Animal Science*, Madison, v. 73, p. 80.

Souza, T. C., Landín, G. M., Escobar-García, K., Aguilera-Barreyro, A. Magné-Barrón, A. (2012). Cambios nutrimentales en el lechón y desarrollo morfofisiológico de su aparato digestivo. *Veterinaria México*, v.43, n.2, p.155-173.

Spencer, J. D., Touchette, K. J., Liu, H., Allee, G. L., Newcomb, M. D., Kerley, M. S., Pace., L.W. (1997). Effect of spray dried plasma and fructooligosaccharide on nursery performance and small intestinal morphology of weaned pigs. *Journal Animal Science*, v.75(Suppl. 1):199. (Abstr.).

Sweeney, T., Collins, C. B., Reilly, P., Pierce, K. M., Ryan, M., O'Doherty, J. V. (2012). Effect of purified β -glucans derived from *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* and *Saccharomyces cerevisiae* on piglet performance, selected bacterial populations, volatile fatty acids and pro-inflammatory cytokines in the gastrointestinal tract of pigs. *The British journal of nutrition*, v.108, n.7, p.1226–1234. (DOI:10.1017/S0007114511006751).

Teixeira, A.O., Lopes, D.C., Ferreira, A.S. (2003). Efeito de dietas simples e complexas sobre a morfofisiologia gastrintestinal de leitões até 35 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.4, p.926-934, 2003.

Tonel, I.S.P.A. (2009). Efeito da utilização de butirato de sódio na digestibilidade, atividade fermentativa e morfologia intestinal de leitões desmamados. Dissertação de mestrado em Engenharia agrônômica. Universidade técnica de Lisboa.

Torrallardona, D. (2010) Spray dried animal plasma as an alternative to antibiotics in weanling pigs-A review. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.23, n.1, p.131–48. (DOI: 10.5713/ajas.2010.70630).

Torrallardona, D., Conde, M. R., Badiola, I., Polo, J., Brufau, J. (2003). Effect of fishmeal replacement with spray-dried animal plasma and colistin on intestinal structure, intestinal microbiology, and performance of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* K99. *Journal of animal science*, v.81, n.5, p.1220–1226. (DOI:10.2527/2003.8151220x).

Touchette, K. J., Allee, G. L., Newcomb, M. D. (1996). The effects of plasma, lactose, and soy protein source fed in the phase I diet on nursery performance. *Journal of Animal Science*, v.74 (Suppl. 1), p.170 (Abstr.). (DOI:10.5713/ajas.2001.1290).

Touchette, K. J., Allee, G. L., Newcomb, M. D., Pace, L.W., Ellersieck. M.R. (1997). Impact of feed intake and spray-dried plasma on nursery performance and intestinal morphology of weaned pigs. *Journal of Animal Science*. 75(Suppl. 1):199. (Abstr.).

Touchette, K. J., Carroll, J.A., Allee, G.L., Matteri, R.L., Dyer, C.J., Beausang, L.A., Zannelli, M.E. (2002). Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure weaned pigs: I. Effects on the immune axis of weaned pigs. *Journal of Animal Science*, v.80, n.2, p.494-501. (DOI:10.2527/2002.802494x.).

Tran, T. H. T., Everaert, N., Bindelle, J. (2016). Review on the effects of potential prebiotics on controlling intestinal enteropathogens *Salmonella* and *Escherichia coli* in

pig production. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, v.102, n.1, p.17–32. (DOI:10.1111/jpn.12666).

Tuoi, P.T., Assavacheep, P., Angkanaporn, K., Assavacheep, A. (2016). Effects of β -glucan and mannan-oligosaccharide supplementation on growth performance, fecal bacterial population, and immune responses of weaned pigs. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, v.46, p.589-599.

Underwood, E. J., Suttle, N. F. (1999). *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3 ed. Wallingford:CABI Publ, p.614.

Van Dijk, A.J, Everts, H., Nabuurs, M.J.A, Margry, R.J.C.F e Beynen, A.C . (2001). Growth performance of weanling pigs fed spray-dried animal plasma: a review. *Livestock Production Science*, v.68, p.263-274, 2001. (DOI: 10.1080/10495390600956946).

Vananuvat, P., Kinsella, J.E. (1975). Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces fragilis*. *Journal Food Science*, v.40, n.2, p.336-341. (DOI:10.1590/S0103-84782000000300025).

Vetvicka, V., Vannucci, L., Síma, P. (2014). The Effects of β -Glucan on Pig Growth and Immunity. *The open biochemistry jornal*, v.8, p.89-93. (DOI:10.2174/1874091X01408010089).

Vetvicka, V.,Oliveira, C. (2014). $\beta(1,3)(1,6)$ -D-glucans modulate immune status and blood glucose levels in dogs. *British Journal of Pharmaceutical Research*, n.4, v.8, p.981-991. (DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.01.04).

Vohra, A., Syal, P., Madan, A. (2016). Probiotic yeasts in livestock sector. *Animal Feed Science and Technology*, v.219. p. 31-47. (DOI:10.1016/j.anifeedsci.2016.05.019).

Vondruskova, H., Slamova, R., Trckova, M., Zraly, Z., Pavlik, I. (2010). Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: A review. *Veterinarni Medicina*, v. 55, n. 5, p. 199-224. (DOI:10.17221/2998-VETMED).

Waititu, S.M., Heo, J.M., Patterson, R., Nyachoti, C.M. (2016). Dietary yeast-based nucleotides as an alternative to in-feed antibiotics in promoting growth performance and nutrient utilization in weaned pigs. *Canadian Journal Animal Science*, v.96, p.289–293. (DOI: 10.1139/cjas-2015-0067).

Weaver, A.C., Campbell, J.M., Crenshaw, J.D., Polo, J., and Kim, S.W. (2014). Efficacy of dietary spray dried plasma protein to mitigate the negative effects on performance of pigs fed diets with corn naturally contaminated with multiple mycotoxins. *Journal of Animal Science*, v.92, issue 9, p.3878-3886. (DOI:10.2527/jas.2013-6939).

Yagüe, A. P. 2009. Normatização do uso de minerais na alimentação suína. *Suínos & Cia.* n. 32, p. 11-18.

Yasui, H., Ohwaki, M. (1991). Enhancement of immune response in Peyer's patch cells cultured with *Bifidobacterium breve*. *Journal of dairy science*, v.74, n.4, p.1187–1195. (DOI:10.3168/jds.S0022-0302(91)78272-6).

Yu L.T., Wu J.F., Yang P.C., Liu C.Y., Lee D.N., Yen H.T. (2002). Roles of glutamine and nucleotides in combination in growth, immune responses and FMD antibody titres of weaned pigs. *Animal Science*, v.75, n.3, p. 379–385. (DOI:10.1017/S1357729800053157).

Zanutto, C. (1997). A utilização de levedura de recuperação (*Saccharomyces sp*) seca por “spray dryer” ou por rolo rotativo na alimentação de leitões na fase inicial. Maringá, 53f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Maringá.

Zhang, B., Guo, Y. (2008). The Growth-promoting Effect of Tetrabasic Zinc Chloride is Associated with Elevated Concentration of Growth Hormone and Ghrelin. *Asian-*

Australasian Journal of Animal Sciences, v.21, p.1473-1478. (DOI:10.5713/ajas.2008.80057).

Zhang, B., Guo, Y. (2009). Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. The British journal of nutrition, v.102, n.5, p.687–693. (DOI:10.1017/S0007114509289033).

Zhang, Y.T.L. Ward, F. Ji, C. Peng, L. Zhu, L. Gong, B. (2017). Dong Effects of zinc sources and levels of zinc amino acid complex on growth performance, hematological and biochemical parameters in weanling pigs Asian-Australas. Journal Animal Science, v.31, issue 8, p. 1267-1274. (DOI: 10.5713/ajas.17.0739).

Zhao, Y., Yang, L., Xiang, Y., Liu, L., Huang, G., Long, Z., Li, X., Leslie, R. D., Wang, X., & Zhou, Z. (2014). Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin maintains β -cell function in patients with recent-onset latent autoimmune diabetes in adults: one year prospective study. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, v.99, n.5, E876–E880. (DOI:10.1210/jc.2013-3633).

Zhou, T.X., Jung, J.H., Zhang, Z.F., Kim, I.H. (2013). Effect of dietary β -glucan on growth performance, fecal microbial shedding and immunological responses after lipopolysaccharide challenge in weaned pigs. Animal Feed Science and Technology, v. 179, n. 1–4, p. 85–92. (DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.10.008).

Zimmerman, D.R. (1987). Porcine plasma proteins in diets of weanling pigs. Swine Research Reports. Ames, Iowa: Iowa State University.

I. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

✓ Avaliar a inclusão de diferentes plasmas sanguíneos *spray dried* (PSSD) na alimentação de leitões em fase pré inicial e inicial, e a substituição do antibiótico melhorador de desempenho por associação de ácidos graxos, prébióticos e oligoelementos essenciais na alimentação de leitões em fase pré inicial no período de pós desmame.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar os coeficientes de digestibilidade e metabolizabilidade da energia bruta em diferentes plasmas sanguíneos *spray dried*;
- ✓ Avaliar o efeito dos diferentes plasmas sanguíneos *spray dried* sobre o desempenho produtivo; a saúde intestinal e parâmetros plasmáticos; e a microbiota intestinal;
- ✓ Avaliar o efeito de ácidos graxos, prébióticos e oligoelementos essenciais sobre o desempenho produtivo; a saúde intestinal; quantificar a microbiota intestinal e translocação bacteriana; regulação do pH; integridade intestinal e a presença do gênero *Clostridium perfringens* tipo A.

II. ARTIGO 1

Plasmas sanguíneos “spray dried” de origem suína, bovina e misto apresentam variações na composição nutricional e diferentes respostas em dietas para leitões no período pré inicial¹.

Juliana Stocco Martins^{a*}, Magali Soares dos Santos Pozza^a, Alice Eiko Murakami^a, Gabriel Amaral de Araujo^a; Vitória Trindade dos Santos^a, Paulo Cesar Pozza^a

^aDepartamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, CEP: 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

¹ Artigo redigido seguindo as normas da revista Livestock Science (ISSN: 1871-1413).

*Autor para correspondência

E-mail: justocco1993@hotmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7525-1205>

Conflito de interesse

Os autores declaram que não existem conflitos de interesse em relação ao conteúdo do artigo.

Highlights

- 1- Plasma sanguíneo “*spray dried*” (PSSD) na alimentação de leitões proporciona benefícios no período pós desmame.
- 2- Desempenho e indicadores imunológicos de leitões apresentam variações, mesmo se conhecendo adequadamente o valor nutricional dos PSSD suíno, bovino e misto.
- 3 - As proteínas de fase aguda melhoram com o uso de PSSD em dietas pós-desmame.
- 4 - A microbiota intestinal apresenta melhor perfil com o uso de PSSD em dietas para leitões
- 5 - Os diferentes PSSD apresentam distintas diversidades microbianas intestinais.

II. Plasmas sanguíneos “spray dried” de origem suína, bovina e misto apresentam variações na composição nutricional e diferentes respostas em dietas para leitões no período pré inicial

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o valor nutricional e os efeitos da utilização de plasmas sanguíneos spray dried (PSSD) de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e misto (PSSDM) em dietas para leitões no período pós desmame. Foram realizados dois experimentos. Experimento 1: Foram determinadas as composições de minerais e aminoácidos dos PSSD avaliados, assim como estimados os valores de SID aminoácidos. Foram utilizados 24 leitões, machos castrados, mestiços, de linhagem comercial (Landrace x Large White x Pietrain), alojados individualmente em gaiolas de metabolismo em um delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, seis repetições e um animal por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de uma ração referência e 3 diferentes PSSD (PSSDS, PSSDB e PSSDM) que substituíram em 20% a ração referência. Foi utilizada coleta total de fezes e urina. Foram determinados os valores de energia digestível (ED) e metabolizável (EM) assim como, os coeficientes de digestibilidade (CDEB) e metabolizabilidade (CMEB) da energia bruta. Experimento 2: a composição nutricional e energética obtida no experimento 1 foi utilizada para formular as rações do experimento 2. Foram utilizados 64 leitões, dos 21 (desmame) aos 49 dias de idade, com peso inicial de $6,61 \pm 0,48$ kg, distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, constituídos de uma ração controle (sem PSSD) e três diferentes PSSD, oito repetições e dois animais por unidade experimental (macho e fêmea). Os diferentes PSSD foram incluídos em 6, 4 e 2%, dos 21 aos 28, 29 aos 35 e dos 36 aos 49 dias de idade, respectivamente. Foram determinados o desempenho e indicadores sanguíneos de estimulação imune, em cada fase acima descrita. O proteinograma e avaliação do microbioma das fezes foram realizados ao final do experimento. Foi observada uma variação na composição mineral e de aminoácidos entre os PSSD avaliados. Os PSSDB, PSSDS e PSSDM apresentaram valores de EM de 3535, 3520 e 3419, respectivamente, em que o maior CMEB foi observado para o PSSDB (76,63%), seguido do PSSDS (73,68%) e PSSDM (72,95%). O PSSDS proporcionou um desempenho superior para os leitões no período (21-49 dias de idade) com 504,96 de CDR e 1,65 de CA. Os PSSD mostraram-se efetivos em relação às variáveis sanguíneas avaliadas, não houve estímulo das proteínas de fase aguda assim como demonstrou uma maior diversidade da microbiota com a maior frequência de Firmicutes acima de 89% com o uso de diferentes PSSD. O uso de PSSD em rações para leitões foi efetivo, devendo estar presente em dietas de leitões nas fases pré-iniciais e inicial I, justificando o uso em dietas para leitões, com melhores resultados para o PSSDS.

Palavras-chave: microbiota intestinal; pós-desmame, proteinograma

41 I. Introdução

42 Devido às características desejáveis, o PSSD tem sido utilizado em dietas de
43 suínos para maximizar a taxa de crescimento, com efeitos benéficos principalmente na
44 fase pós desmame, melhorando a ingestão de ração, morbidade, taxa de crescimento e
45 sobrevivência (Torrallardona et al., 2010; Pérez-Bosque et al., 2016). Os benefícios do
46 uso de PSSD em dietas para leitões no período pós desmame são considerados uma
47 prática nutricional de grande expressão nos últimos anos. No entanto, existem PSSD
48 obtidos de diferentes espécies animais, que podem ser de origem suína (PSSDS), bovina
49 (PSSDB) ou misto (PSSDM), e observa-se que os leitões consumindo dietas com
50 diferentes PSSD apresentam resultados positivos, contudo, a eficácia pode ser diferente
51 entre os PSSD (Russel, 1994; Pierce et al., 2005).

52 Dentre as três fontes disponíveis, o PSSDS é com maior eficácia, devido as
53 diferenças observadas para o consumo (Torrallardona, 2010). Estudos com a comparação
54 direta mostraram maior produtividade ao se utilizar o PSSDS em relação ao PSSDB
55 (Hansen et al., 1993; Gatnau e Zimmerman, 1994; Smith et al., 1995; Pierce et al., 2005).
56 No entanto, leitões alimentados com PSSDS e PSSDB apresentaram maior consumo de
57 ração e ganho de peso em relação ao PSSDM, mas o PSSDS e PSSDB foram semelhantes
58 (Balan et al., 2020). Em outro estudo, foi sugerido que o PSSDS é melhor do que o
59 PSSDM (Owusu-Asiedu et al., 2003).

60 De acordo com os estudos realizados, notam-se diferentes respostas para os
61 PSSD utilizados, principalmente em relação ao desempenho dos leitões após o desmame
62 (Van Dijk et al., 2001). Os resultados indicam que os efeitos positivos dos diferentes tipos
63 de PSSD podem ser afetados pela qualidade do produto, nível de inclusão, idade e peso
64 dos leitões, status sanitário e ambiente dentro da instalação (Campbell et al., 1998).

65 Desta forma, o entendimento dos diferentes modos de ação de diferentes PSSD
66 na dieta dos leitões no período pós desmame pode auxiliar na tomada de decisão de
67 diferentes estratégias nutricionais, considerando ainda um adequado conhecimento da
68 composição dos diferentes PSSD para se formular as rações. De acordo com o exposto, o
69 objetivo deste estudo foi de avaliar o valor nutricional e os efeitos da incorporação de
70 diferentes PSSD na dieta de leitões no período pós desmame.

71

72 II. Material e Métodos

73 Foram realizados dois experimentos no Setor de Suinocultura da Fazenda
74 Experimental de Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá. Os
75 protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de
76 Animais em Experimentação (protocolo nº 4342060420).

77

78 **Experimento I - Avaliação nutricional de diferentes plasmas sanguíneos spray dried**

79 2.1. Animais e instalações

80 No experimento I foi conduzido um ensaio de digestibilidade, sendo utilizados
81 24 leitões, machos castrados, mestiços de linhagem comercial com alto potencial genético
82 e desempenho superior com 21 dias de idade e peso corporal inicial médio de
83 $10,58 \pm 1,43$ kg. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas de metabolismo,
84 localizadas em sala de alvenaria, dotadas de equipamento de ar condicionado para
85 controle parcial da temperatura ambiente.

86

87 2.2. Delineamento experimental e dietas

88 Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental de blocos ao
89 acaso, com quatro tratamentos, seis repetições e um animal por unidade experimental. Os
90 blocos foram formados de acordo com o período de alojamento dos animais nas gaiolas.

91 Os tratamentos consistiram de uma ração basal, constituída à base de milho e
92 farelo de soja, formulada para atender às exigências nutricionais dos animais, de acordo
93 com as recomendações descritas por Rostagno et al. (2017), e três plasmas sanguíneos
94 “spray dried” (PSSD), PSSD de origem suína (PSSDS), PSSD de origem bovina (PSSDB)
95 e PSSD misto, de origem suína e bovina (PSSDM); que substituíram em 20% a ração
96 basal.

97

98 2.3. Procedimentos experimentais e análises laboratoriais

99 O período experimental foi de 12 dias, sendo sete dias de adaptação dos animais
100 às gaiolas de metabolismo e às rações, e cinco dias de coleta de fezes e urina. O consumo
101 de ração, durante o período de coleta, foi estabelecido com base no peso metabólico
102 ($\text{kg}^{0,75}$) de cada suíno e no consumo médio registrado no período de adaptação.

103 Para evitar perdas e facilitar a ingestão, as rações foram umedecidas com água,
104 em aproximadamente 30% da ração, o arraçoamento foi dividido em aproximadamente
105 52% pela manhã e 48% à tarde (proporção obtida com base nos consumos de ração entre
106 manhã e tarde, durante o período de adaptação) e fornecidas quatro vezes ao dia (7h30,
107 10h30, 13h30 e 16h00). Após cada refeição, a água foi fornecida no próprio comedouro
108 na proporção de 5 mL de água/g de ração, para evitar excesso de consumo de água e não
109 comprometer o consumo de ração.

110 Para determinar o início e final do período de coleta total de fezes foram
111 acrescentados 2% de óxido de ferro (Fe_3O_2) nas rações. As fezes excretadas foram
112 coletadas duas vezes ao dia, pesadas e acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e
113 armazenadas em congelador (-18 °C). Ao final deste período, cada amostra foi
114 descongelada, homogeneizada e uma alíquota de 300g foi retirada e seca em estufa de
115 ventilação forçada (55 °C), pelo período de 72 horas. Após a secagem, as amostras foram
116 moídas em moinho de facas tipo Willey e armazenadas em potes de polietileno, para
117 análises laboratoriais de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e energia bruta (EB)

118 A urina foi filtrada e colhida diariamente em baldes plásticos contendo 20 mL
119 de HCl 1:1, para evitar volatilização de nitrogênio e proliferação bacteriana. Ao término
120 das coletas, foram retiradas alíquotas de 10% do volume total e acondicionadas em
121 frascos plástico, identificados por animal, armazenadas e congeladas (-5°C) até o final do
122 período de coleta. Posteriormente ao período de coleta, as urinas foram descongeladas,
123 filtradas, pesadas, homogeneizadas e uma alíquota de 10 mL foi utilizada para
124 determinação de EB.

125 As determinações de EB dos diferentes PSSD, ração referência, fezes e urina
126 foram realizadas no Complexo de Centrais de Apoio a Pesquisa – COMCAP, por meio
127 de calorímetro adiabático (Parr ® Instrument Co. AC6200) seguindo os procedimentos
128 descritos por Silva e Queiroz (2009). De posse dos dados foram determinados os valores
129 de energia digestível (ED) e metabolizável (EM), os coeficientes de digestibilidade
130 (CDEB) e metabolizabilidade da energia bruta (CMEB), coeficientes de digestibilidade
131 da matéria seca (CDMS), e a relação EM:ED de cada PSSD.

132 As amostras de PSSD foram submetidas à análise de minerais, realizada no ABC
133 laboratórios (Castro – PR, Brasil), pelo método espectrometria de absorção atômica.

134 As concentrações de aminoácidos totais dos diferentes PSSD foram
135 determinadas no laboratório CBO (Campinas – SP, Brasil) por meio de cromatografia

136 líquida de alta performance (HPLC). Posteriormente, foram aplicados os coeficientes de
137 digestibilidade ileal standarizados específicos para cada PSSD, a fim de calcular os
138 aminoácidos digestíveis standarizados.

139

140 2.4. Análises estatísticas

141

142 O CDEB, CMEB e CDMS foram submetidos à ANOVA e, em caso de
143 significância, foi aplicado o teste de Student Newman Keuls, a 5% de probabilidade. O
144 software utilizado para estas análises foi o Statistical Analysis System – SAS (2007).

145

146 **Experimento II – Desempenho, indicadores sanguíneos e microbioma intestinal**

147 2.5. Animais e instalações

148 Foram utilizados 80 Leitões (Piétrain × Landrace × Large White) de 21
149 (desmame) a 49 dias de idade, machos e fêmeas, com peso inicial de $6,61 \pm 0,48$ kg,
150 alojados em creche de alvenaria com forro de polietileno e piso de concreto. O galpão
151 contava com janelas, ventiladores e lâmpadas incandescentes individuais por baia, para
152 controle da temperatura ambiente. As baias da creche eram suspensas ($1,25 \text{ m}^2$) com piso
153 parcialmente ripado de polietileno, contendo comedouros automáticos e bebedouros do
154 tipo “chupeta”, proporcionando livre acesso à água e ração durante todo o período
155 experimental.

156

157 2.6. Delineamentos e dietas experimentais

158 Os animais foram distribuídos em delineamento de blocos ao acaso, com quatro
159 tratamentos, dez repetições e oito unidades experimentais, sendo um macho e uma fêmea
160 por unidade experimental. O critério para formação dos blocos foi o peso inicial e o
161 período em que cada bloco foi implementado.

162 As dietas consistiram de uma ração basal (dieta controle); e 3 rações contendo
163 diferentes PSSD (PSSDS, PSSDB e PSSDM), com inclusões de 6, 4 e 2% nas fases pré-
164 inicial I, pré inicial II e na fase inicial I (Tabela 1), respectivamente. As rações foram
165 formuladas seguindo as recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2017).
166 A dieta pré-inicial I, pré-inicial II e inicial foram fornecidas aos animais dos 21 aos 28,
167 29 aos 35 e dos 36 a 49 dias de idade, respectivamente.

168

169 2.7. Desempenho produtivo

170 Os animais foram pesados no início e no final de cada fase de produção para
171 determinação do ganho de peso diário (GDP), a ração fornecida aos animais foi pesada
172 para calcular o consumo diário de ração (CDR), e conversão alimentar foi calculada a
173 partir destas variáveis (CA).

174

175 2.8. Indicadores de imunidade no sangue

176 Ao final de cada fase, os animais ficaram em jejum alimentar por 6 horas e
177 amostras de ± 10 mL de sangue foram obtidas através da punção da veia cava cranial, com
178 o auxílio de agulhas com medidas de 40 x 1,20 mm. Parte do sangue coletado foi
179 transferido para tubos com a presença ou não de anticoagulante (ácido
180 etilenodiaminotetracético-EDTA) e centrifugados a 3.000 rpm por 15 minutos, para a
181 obtenção do soro e plasma sanguíneos, que foram armazenados em tubos de tipo
182 “ependorf”, para realização das análises.

183 Tubos sem anticoagulantes foram utilizados para determinar a concentração de
184 albumina no soro, assim como, para determinar as proteínas totais. A quantificação das
185 globulinas foi realizada pela diferença entre albuminas e proteínas totais, e a relação entre
186 albuminas e globulinas (AB: GL) também foi calculada. As análises dos parâmetros
187 bioquímicos do sangue foram realizadas com utilização de kits específicos e a leitura da
188 absorvância realizada em Analisador Bioquímico (Bioplus® 2000).

189 Adicionalmente, foram utilizados tubos contendo EDTA, para determinar a
190 porcentagem de hematócrito e fibrinogênio. A concentração de hematócrito foi
191 determinada pelo método manual, utilizando uma centrífuga de microhematócrito
192 (Microspin Spin 1000), em que os microcapilares foram preenchidos de sangue até $\frac{3}{4}$ de
193 sua capacidade e submetidos à centrifugação do sangue (10.000 rpm, por cinco minutos),
194 a concentração foi determinada através da altura da coluna dos eritrócitos usando uma
195 escala de porcentagem do sangue total.

196 A concentração do fibrinogênio foi determinada pela técnica de precipitação
197 pelo calor (Schalm et al., 1975), após a centrifugação (10.000 rpm, por cinco minutos),
198 sendo que um dos tubos foi aquecido em banho-maria a 56°C, durante 3 minutos, e
199 novamente centrifugado (10.000 rpm, durante 5 minutos) para a separação do
200 fibrinogênio das demais proteínas. Do plasma resultante, foi retirada uma alíquota que foi
201 colocada sobre o prisma do refratômetro de Goldberg (Conteck CT032SG), para a leitura

202 direta da concentração das proteínas. Os valores da concentração do fibrinogênio foram
203 obtidos pela diferença entre os resultados das proteínas plasmáticas totais, obtidas a partir
204 dos dois tubos, com e sem aquecimento.

205 Outra amostra de sangue foi utilizada para o fracionamento de leucócitos,
206 utilizando corantes de panóticos rápido e método de esfregaço sanguíneo (Laborclin,
207 2018). Foram utilizadas lâminas de vidro, em que uma gota de sangue foi adicionada a
208 lâmina e com auxílio da lâmina distensora foi realizado o esfregaço, depois iniciaram-se
209 os processos de coloração, após o processo de coloração, realizou-se a leitura da lâmina
210 (Kasvi, 2019).

211 As amostras de sangue também foram utilizadas para determinação do
212 proteinograma (IgA, IgG, Ceruloplasmina, Transferrina, alfa 1 antitripsina, haptoglobina
213 e alfa 1 glicoproteína), por meio de eletroforese. Uma amostra de soro foi submetida a
214 uma corrida eletroforética em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio
215 (SDS-PAGE). Foram determinadas as frações das proteínas por densitometria
216 computadorizada, usando-se como referência um marcador com pesos moleculares
217 específicos. As concentrações das proteínas foram determinadas pela proporção das
218 mesmas em relação aos valores da proteína total (Laemmli, 1970).

219

220 2.9.Sequenciamento do DNA, Bioinformática e análise de alfa e beta diversidade do
221 microbioma intestinal dos leitões

222 As amostras de fezes dos leitões foram coletadas por massagem retal, aos 49 dias
223 de idade, e encaminhadas para empresa de biotecnologia Neoprospecta Microbiome
224 Technologies (Florianópolis, Brasil). Foi realizado o sequenciamento de alto desempenho
225 das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. O preparo das bibliotecas seguiu um protocolo
226 próprio (Neoprospecta Microbiome Technologies, Brasil). A amplificação para região
227 V3-V4 do gene rRNA 16S foram feitas utilizando primers específicos: 341F
228 (CCTACGGGRSGCAGCAG) (Wang e Qian, 2009) e 806R
229 (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (Caporaso et al., 2012).

230 As bibliotecas foram sequenciadas, utilizando-se o equipamento MiSeq
231 Sequencing System (ILLUMINA Inc., USA). Para o sequenciamento paired-end os kits
232 V3 com 600 ciclos foram utilizados.

233 As sequências de bioinformática foram analisadas por meio do pipeline Sentinel,
234 em que os arquivos fastq foram avaliados quanto à qualidade Phred (QP) usando o

235 programa FastQC v.0.11.8 (Andrews, 2010). Posteriormente, os arquivos fastq foram
236 submetidos à trimagem de primers e sequências com baixa qualidade (Phred < 20). O
237 software da empresa Neopropecta® foi utilizado para tal finalidade, sendo construído
238 em Python v.3.6, sendo inspirado nas funcionalidades do projeto BioPython (Cock et al.,
239 2009). Para dados paired-end, antes da etapa de trimagem, dois pares de arquivos (R1 e
240 R2) foram unidos em um só arquivo usando pandaseq v.2.11 (Masella et al., 2012).

241 Os clusters com frequência menor do que 2 foram removidos das análises, pois
242 tais estruturas são normalmente relacionadas às sequências quimeras (Smyth et al., 2010).
243 As identificações taxonômicas foram realizadas com blastn v.2.6.0+ (Altschul et al.,
244 1990), usando como referência um banco de dados da empresa Neopropecta®. Quanto
245 a definição de uma espécie, dentre os 20 hits retornados para cada cluster, uma instrução
246 em Python avaliou se um dos três quesitos foram atendidos pelos hits, como o maior bit-
247 score, menor avaliação e taxonomias com maior representação.

248 Os hits que atenderam um dos itens anteriores, foram escolhidos como espécie
249 representante. Essas análises foram realizadas na plataforma computacional da
250 Amazon®, onde a estrutura de bioinformática da Neopropecta® está hospedada. Os
251 bancos de dados de sequências para os genes 16S rRNA e ITS, contaram com sequências
252 de genes completos (em sua maioria), os quais continham sequências recuperadas de
253 genomas, não ambíguas e filtradas para sequências quimeras.

254 Para a identificação das espécies de micro-organismos presentes nas amostras,
255 as sequências de DNA obtidas foram comparadas com um banco de dados, contendo
256 outras sequências de DNA de espécies já caracterizadas. O sequenciamento foi realizado
257 no equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina). Posteriormente às análises de
258 bioinformática, os resultados foram carregados na plataforma Neobiome® (ID
259 OS18064.1) para visualização e avaliação.

260 A tabela de taxonomia e unidade de taxonomia operacional (OTU), sequências
261 fasta (apenas os clusters) e tabela de metadados foram introduzidas no pipeline de análise
262 de diversidade alfa e beta através do software R (version 3.4.4).

263 A árvore filogenética foi feita a partir das sequências fastas dos clusters, as quais
264 foram exibidos na plataforma do perfil microbiológico da Neopropecta, usando para
265 alinhamento das sequências Clustal Omega (version 1.2.3), construção da árvore
266 filogenética FastTree (version 2.1.10) e enraizamento no ponto médio com Retree
267 (version 3.697) do pacote Phylip. Para a produção dos índices de riqueza (OTU's

268 observadas, Chao1, ACE) e diversidade (Shannon, Simpson, InvSimpson, Fisher,
269 Evennes), além de outras análises de alfa (árvore filogenética de rank's taxonômicos) e
270 beta (Principal Coordinates Analysis), foi usado o pacote de programas Phyloseq (version
271 1.22.3).

272 Estes dados foram normalizados pela mediana e rarefação. Para testar se existia
273 diferenças estatísticas entre os índices de riqueza e diversidade dos tratamentos foi usado
274 teste Wilcoxon. A identificação de espécies diferencialmente abundantes nos tratamentos
275 foi realizada com o pacote de programas DESeq2 (version 1.18.1). O teste Walt foi
276 utilizado, onde foi usado o modelo 'negative binomial' para normalização dos dados,
277 sendo que foram consideradas como diferencialmente abundantes apenas as bactérias que
278 que apresentaram P-value < 5% e |logFoldChanged| > 2.

279

280 2.10. Análise estatística

281 As análises estatísticas foram efetuadas utilizando o pacote estatístico SAS
282 (2007). O procedimento de box plot foi aplicado para avaliar a presença de outliers.
283 Posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e os efeitos
284 dos blocos, tratamentos e períodos foram incluídos no modelo. Em caso de significância
285 as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman Keuls (SNK), a 5% de
286 probabilidade.

287 As variáveis avaliadas em diferentes períodos foram submetidas a análise de
288 variância para modelos fatoriais, em que os períodos e tratamentos foram avaliados pelo
289 teste de SNK a 5% de probabilidade. O nível de significância de 5% foi adotado para
290 todos os procedimentos estatísticos.

291

292 III. Resultados

293 **Experimento 1 - Avaliação nutricional de diferentes PSSD**

294 Os diferentes PSSD apresentaram variações quanto a concentração de minerais
295 (Tabela 2), principalmente em relação ao ferro, cobre e manganês. No caso do ferro, os
296 maiores valores absolutos foram observados para o PSSDB que, por sua vez, apresentou
297 a menor concentração de cobre dentre os PSSD avaliados.

298 Em relação a composição aminoácídica (Tabela 3), pode-se observar que os
299 plasmas são ricos em aminoácidos essenciais como a arginina, leucina, lisina, treonina,

300 valina e fenilalanina e apresentaram baixa concentração de metionina. Adicionalmente,
301 as concentrações de aminoácidos totais apresentaram variação, sendo que o PSSDS e o
302 PSSDM foram os mais ricos em aminoácidos totais em relação ao PSSDB, que também
303 foi o único a apresentar concentração de triptofano abaixo de 1,00% (0,77%). No entanto,
304 são observadas variações nas concentrações de SID aminoácidos entre o PSSDS e
305 PSSDM, como resultado dos coeficientes de digestibilidade ileal standarizados utilizados.

306 O PSSDM apresentou maior CDMS ($P < 0.0001$) em relação ao PSSD que, por
307 sua vez, foi maior do que o PSSDS seguido do PSSDB (Tabela 4). No entanto, os maiores
308 CDEB ($P < 0.0001$), CMEB ($P < 0.0001$) e a relação EM:ED ($P = 0.00008$) foram
309 observados para o PSSDB, seguido pelo PSSDS, e os piores resultados foram observados
310 para o PSSDM.

311 **Experimento II – Desempenho, indicadores sanguíneos e microbioma do conteúdo** 312 **fecal**

313 3.1. Desempenho produtivo

314 A utilização dos PSSD na dieta de leitões, dos 21 aos 35 dias de idade,
315 proporcionou maior CDR ($P = 0,0018$) em relação ao tratamento controle (0,00% PSSD),
316 mas a CA foi melhor ($P < 0,0001$) ao se utilizar os PSSDS e PSSDM em relação aos demais
317 tratamentos (Tabela 5).

318 No período total, de 21 a 49 dias de idade (Tabela 5), não foram observadas
319 diferenças para o GPD, mas o CDR foi maior ($P < 0,0001$) ao se utilizar qualquer PSSD
320 nas rações. Por outro lado, os tratamentos Controle e PSSDS apresentaram melhores CA
321 ($P = 0,0001$) em relação ao PSSDM, e os leitões alimentados com rações contendo PSSDS
322 apresentaram uma CA semelhante àqueles que receberam o PSSDB na dieta.

323

324 3.2. Indicadores de imunidade no sangue

325 Dos 21 aos 49 dias de idade (Tabela 6) o tratamento PSSDS apresentou maiores
326 concentrações de albumina ($P = 0,0435$) somente em relação ao PSSDB, por sua vez, não
327 diferiu dos tratamentos controle e PSSDM. As concentrações das proteínas séricas de fase
328 aguda (antitripsina, glicoproteína ácida, ceruloplasmina, haptoglobina), gamoglobulinas
329 (IgA, IgG cadeias leve e pesada), betaglobulinas (transferrina) não foram alteradas ao se
330 incluir PSSD de diferentes origens na dieta dos leitões (Tabela 6).

331 O uso de diferentes PSSD não resultou em diferenças significativas ($P < 0,05$)
332 para hematócrito e fibrinogênio (Tabela 7), no entanto, os diferentes períodos resultaram
333 em menor concentração de hematócrito ($P = 0,0001$) aos de 21 dias de idade, em relação
334 aos outros períodos. Adicionalmente, para o fibrinogênio ($P = < 0,0001$) aos de 49 dias foi
335 obtida maior concentração de fibrinogênio, seguido pelos períodos 35 e 28 dias de idade
336 e com a menor concentração aos 21 dias de idade (Tabela 7).

337 Aos 21 a 49 dias de idade, foram observadas diferenças ($P < 0,05$) para as
338 proteínas totais e suas frações de globulinas entre os diferentes períodos avaliados (Tabela
339 8). Aos 28 dias de idade, houve maiores concentrações de proteínas totais ($P = < 0,0001$),
340 seguido pelos períodos 35, 49 e 21 dias de idade com a menor concentração. Para
341 albumina ($P = 0,0002$) a menor concentração foi observada aos 49 dias de idade, em
342 relação aos demais períodos avaliados, que apresentaram maior concentração. Os valores
343 de globulinas ($P = < 0,0001$) demonstraram aos 28 e 35 dias de idade maiores
344 concentrações, seguido aos 49 dias de idade e aos 21 dias de idade com a menor
345 concentração. A maior relação albumina:globulina ($P = < 0,0001$) foi verificado aos 21 dias
346 de idade, seguido de 35 e 28 dias que foram semelhantes, com a menor relação aos 49
347 dias de idade que não diferiu dos 28 dias de idade.

348 Não foram obtidos diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os diferentes
349 tratamentos avaliados para linfócitos, monócitos e eosinófilos (Tabela 9), no entanto, os
350 linfócitos e eosinófilos apresentaram diferenças significativas para os períodos avaliados.
351 Para linfócitos ($P = < 0,0001$) apenas o período de 21 dias foi diferente dos demais períodos
352 com a menor concentração, adicionalmente os eosinófilos ($P = 0,0539$), a menor
353 concentração apenas aos 28 dias de idade, em relação ao outros períodos avaliados.

354 Dos 21 aos 49 dias de idade, os basófilos ($P = 0,0001$) e segmentados e bastonetes
355 ($P = 0,0021$) apresentaram diferenças significativas com a maior concentração apenas aos
356 21 dias de idade, diferindo dos demais períodos avaliados (tabela 10). Os tratamentos
357 foram significativos para os segmentados ($P = 0,0239$) o tratamento controle, suíno e misto
358 foram semelhantes, no entanto, o tratamento controle e suíno diferem estatisticamente do
359 tratamento bovino que é semelhante ao misto. Os bastonetes apresentaram interação
360 significativa ($P < 0,05$) entre o período e tratamento (Tabela 10), demonstrando que o
361 período de 35 dias foi estatisticamente diferente onde os tratamentos com PSSD são
362 estatisticamente iguais, diferindo somente do tratamento controle.

363 Ao avaliar os períodos na ração de leitões, dos 21 aos 49 dias de idade, observa-
364 se que o aumento do período proporcionou uma resposta quadrática para PSSDS
365 ($P=0,0112$), proporcionando a estimativa de 36 dias com a menor concentração de
366 0,134%, assim como, PSSDM ($P=0,0219$) com 37 dias e 0,138% de bastonetes (Figura
367 2).

368

369 3.3.Diversidade do microbioma intestinal dos leitões

370 O sequenciamento dos *amplicons* da região V3-V4 do gene 16S rRNA gerou um
371 total de 171.289 mil seqüências totais para os tratamentos avaliados. O método baseado
372 em OTU (unidade taxonômica operacional) permite analisar os índices de riqueza e a
373 diversidade de uma comunidade bacteriana por uma matriz de distância. Ao traçar um
374 comparativo das comunidades bacterianas estimada, baseada nos OTUs observadas, foi
375 estimado a curva de rarefação para os animais que receberam a dieta controle e os
376 diferentes PSSD, demonstrando o aumento na quantidade de OTUs após atingir 171.289
377 mil seqüências, dessas seqüências encontradas a maior foi para o PSSDS com 54.030 mil,
378 seguido do tratamento controle com 45.827 mil, 41.600 mil do PSSDB e a menor
379 seqüência observada para o PSSDM com 29.832 de PSSDM.

380 Para os índices de diversidade avaliados (Evenness, Shannon e Simpson) não
381 houve diferença significativa na diversidade alfa para os PSSD avaliados em relação ao
382 tratamento controle. Porém, a análise de riqueza compartilhada de Ace e Chao1 e as
383 observadas avalia a frequência numérica baseada no número de OTU de uma
384 comunidade. Entre os pontos de análise foram calculados os índices de riqueza
385 compartilhada, baseando-se no número de OTU, portanto foi possível verificar que há
386 maior diversidade microbiana para os PSSD em relação ao tratamento controle.

387 Para análise de diversidade beta através dos métodos PCoA, baseados nos
388 índices Unifrac não-ponderada e Bray-Curtis, de acordo com a análise PCoA, os eixos
389 apresentados (PC1 e PC2) explicam 78,58% (Unifrac não ponderada) e 88,55% (Bray-
390 Curtis) da variância total da comunidade microbiana nos diferentes grupos avaliados.
391 Portanto, a microbiota dos grupos experimentais possui diferenças nas suas comunidades
392 bacterianas, baseado no agrupamento dos OTUs.

393 O filo Firmicutes apresentou maior predominância para todos os tratamentos,
394 com a frequência acima de 89%, enquanto os filos Actinobacteria, Bacteroides e
395 Eurycheota apresentaram resultados com frequência menores em todos os tratamentos

396 avaliados (Figura 3A). A família com maior predominância entre as amostras, foi
397 Clostridiaceae, seguido pelo Oscillospiraceae e Ruminococcaceae, demonstrando que o
398 PSSDS apresentou maiores valores de Clostridiaceae e os PSSDM maiores valores de
399 Ruminococcaceae e o tratamento sem PSSD com maiores valores de Oscillospiraceae
400 (Figura 3B). De modo geral, o gênero com maior predominância foi o *Clostridium* com
401 mais de 50% presente nos tratamentos avaliados (Figura 3C).

402 A espécie que apresentou maior frequência foi a *Clostridium cellulovorans* com
403 maiores frequências para o PSSDS, seguido com o tratamento controle e o PSSD bovino
404 e misto com resultados semelhantes, adicionalmente *Clostridium disporicum* com a maior
405 frequência para o tratamento controle e os PSSD bovino e misto, com a menor
406 concentração para PSSDS (Figura 3).

407

408 IV. Discussão

409 O tipo de proteína na dieta de leitões desmamados afeta o CDR, GPD,
410 digestibilidade do nitrogênio e atividade das enzimas pancreáticas (Peiniau et al., 1996).

411 De acordo com Van Dijk et al. (2001), a composição de macro e microminerais
412 dos PSSD apresentam variações expressivas, principalmente as concentrações cálcio,
413 fósforo, sódio, potássio e magnésio, o que também foi observado neste estudo, mas as
414 variações mais expressivas foram observadas para o ferro, cobre e manganês. Alguns
415 fatores contribuem para esta variação e, dentre estes, a origem do plasma pode ser o maior
416 contribuinte desta variação, uma vez que variações nas concentrações da matéria mineral
417 estão diretamente associadas com a composição do substrato original, além de outros
418 fatores inerentes ao processamento, o que pode causar diferentes composições de macro
419 e microminerais. Mesmo sem a distinção entre a origem do plasma, Crenshaw et al.
420 (2017) apresentaram concentrações de minerais distintas das obtidas neste trabalho, com
421 teores de cálcio, fósforo, potássio e sódio de 0,15; 1,30; 0,30 2,20%, respectivamente.

422 A composição em aminoácidos observadas para os diferentes PSSD são
423 semelhantes às apresentadas por Wu et al. (2017) e Crenshaw et al. (2017), mas o PSSDB
424 foi responsável pela menor concentração de aminoácidos em relação aos demais PSSD,
425 principalmente em relação à leucina, triptofano e ácido glutâmico.

426 Diferenças na composição de aminoácidos do PSSDS e PSSDB já foram
427 relatadas, indicando maiores concentrações de lisina, metionina, treonina e triptofano em
428 PSSDB em comparação ao PSSDS (Torrallardona, 2010), contradizendo os resultados

429 obtidos neste estudo, onde foram verificadas menores concentrações de lisina e triptofano
430 para o PSSDB. A composição em aminoácidos observada para o PSSDS é semelhante
431 àquela apresentada por Van Dijk et al. (2001), no entanto, para o PSSDB os valores
432 encontrados estão abaixo do apresentado pelos autores supracitados. De acordo com
433 Torrallardona (2010) o PSSDB pode apresentar uma certa variação na composição de
434 aminoácidos em relação ao PSSDS, no entanto, cada fonte contém perfis semelhantes de
435 globulina, albumina e outras proteínas com atividade biológica.

436 O PSSD, de maneira geral, apresentou baixa concentração de metionina e, de
437 acordo com Van Dijk et al. (2001), assume grande expressão na ordem de limitância ao
438 se utilizar PSSD nas dietas, uma vez que metionina tem sido considerada como o segundo
439 ou terceiro aminoácido limitante em dietas para leitões na fase de creche (Gaines et al.,
440 2005). Adicionalmente, a metionina pode ter se tornado o primeiro aminoácido limitante
441 em dietas contendo mais de 6% de PSSD (Owen et al., 1993a, Wu et al., 2017), o que
442 pode ser observado neste estudo, em que a deficiência percentual, ao não se incluir DL-
443 metionina na dieta, assume uma grande expressão e, dependendo da composição
444 aminoacídica do plasma esta deficiência assumirá maior importância, o que pode ser
445 observado no caso do PSSDB, que apresentou menor concentração de SID metionina
446 dentre os demais.

447 A capacidade dos suínos para digerir diferentes tipos de alimentos varia
448 conforme a idade, assim como, os valores de digestibilidade das frações dos alimentos,
449 bem como, os valores de energia digestível e metabolizável. Além disso, o processamento
450 ao qual são submetidos os subprodutos industriais é outro fator que altera a
451 disponibilidade dos nutrientes, variando o valor nutricional destes alimentos. Os plasmas
452 suíno e bovino apresentam valores próximos de energia bruta (EB) entre eles, assim
453 como, esses dois plasmas apresentam melhores CDEB, seguidos por melhores ED e EM,
454 já o plasma misto apresenta resultados inferiores de EB seguindo com baixa
455 digestibilidade da EB.

456 Os coeficientes de digestibilidade apresentaram diferenças entre os plasmas
457 estudados, em que o PSSDM apresentou maiores CDMS, seguido do PSSDS e o menor
458 CDMS com o PSSDB, já para MSD observa-se que não foram encontradas diferenças
459 entre os plasmas. Os coeficientes de digestibilidade e metabolizabilidade (CDEB e
460 CMEB), respectivamente foram inferiores para o PSSDM, seguido do PSSDS e PSSDB
461 apresentou melhores CDEB e CMEB.

462 São poucas as informações à respeito dos valores energéticos dos diferentes
463 plamas sanguíneos, principalmente o de origem bovina e misto. As principais tabelas de
464 composição de alimentos, como o Rostagno et al., (2017) e NRC (2012), consideram
465 apenas o PSSD, sem especificar a espécie animal do qual foi proveniente. Portanto,
466 nossos resultados demonstram que existem variações entre o conteúdo energético entre
467 os diferentes plamas, e devem ser considerados na formulação das rações. O NRC (2012)
468 apresenta valores superiores de ED e EM, assim como os valores propostos de Rostagno
469 et al., (2017), demonstrando os baixos CDEB e CMEB obtidos, uma vez que as EB
470 observadas no presente estudo são próximas das apresentadas nas literaturas supracitadas.

471 Portanto, a determinação dos conteúdos energéticos desses ingredientes visa
472 uma formulação mais precisa e adequada para os leitões durante a fase inicial, pois os
473 valores encontrados em tabelas da literatura não consideram a espécie animal e a origem
474 do PSSD demonstrando valores diferentes desses ingredientes.

475 Os efeitos benéficos dos PSSD sem comprometer o desempenho produtivo são
476 observados no presente estudo. O PSSDS merece destaque, pois demonstrou melhores
477 resultados de CDR e CA, principalmente no período total (21 aos 49 dias de idade),
478 corroborando outros resultados de pesquisas em que o PSSDS proporcionou um melhor
479 desempenho dos leitões no período pós-desmame (Pérez-Bosque et al., 2016).

480 De maneira geral, o presente estudo demonstrou que os PSSD avaliados podem
481 melhorar o desempenho dos leitões no pós-desmame. O mecanismo de ação do PSSD
482 para promover esta melhoria no desempenho ainda não estão bem elucidados, contudo,
483 considera-se que podem estar relacionados à alta palatabilidade, isento de fatores
484 antinutricionais e a sua composição, por apresentar excelente relação de aminoácidos e
485 alto nível de proteínas globulares (incluindo as imunoglobulinas) que estimulam o
486 crescimento e o consumo de ração durante a fase do pós-desmame (Campbell et al., 2003;
487 Pujols et al., 2016).

488 Leitões alimentados com PSSDB e PSSDS, quando comparados com PSSDM
489 apresentaram maior consumo de ração e ganho de peso, porém, o PSSD bovino e PSSDS
490 não apresentaram diferenças estatísticas (Balan et al., 2020). Ao contrário do presente
491 estudo que o PSSDM apresentou resultados semelhantes aos outros PSSD. Dentre as
492 diferentes respostas encontradas para as diferentes origens dos PSSD, pode-se observar
493 que o nível dietético de PSSD necessário para maximizar o desempenho de leitões varia,
494 sendo necessário levar em conta fatores como o método de processamento do ingrediente

495 (condições de temperatura, pressão e armazenamento), origens do PSSD, nível de
496 contaminação ambiental e manejo adotado, e os benefícios funcionais do PSSD são mais
497 evidentes quando os animais são submetidos a um elevado desafio sanitário (Campbell et
498 al., 2013).

499 O ambiente do presente estudo apresenta desafio sanitário reduzido em relação
500 ao que sugere que a resposta ao PSSD é dependente da condição sanitária do plantel e do
501 desafio que o animal se encontra, desta maneira, a resposta dos PSSD avaliados em
502 condições sanitárias adequadas com inclusão de 2-6% é capaz de melhorar o desempenho
503 dos animais no período de pós-desmame. Essas condições de não submeter a desafios
504 sanitários demonstrou que os PSSD avaliados foram eficazes, para melhorar o
505 desempenho dos animais, e a resposta poderia ser mais pronunciada caso os animais
506 estivesse com padrão sanitário baixo. Vários estudos demonstram que a formulação de
507 dietas com PSSD melhora o desempenho pós-desmame dos suínos, especialmente quando
508 as condições sanitárias permitem uma diversidade de patógenos (*Escherichia coli*,
509 *Salmonella*, Rotavírus, PRRS e PED), os animais apresentam uma saúde melhor e a
510 recuperação era mais rápida frente a estes patógenos (Bosi et al., 2001; Corl et al., 2008).

511 O processamento spray dried permite estabilizar o produto mantendo seus
512 componentes íntegros como imunoglobulinas, peptídeos, glicoproteínas, incluindo
513 albumina, globulinas (Pettigrew et al., 2006; Pérez-Bosque et al., 2016). Os animais do
514 presente estudo, devido ao baixo desafio sanitário, não houve o estímulo das proteínas
515 séricas de fase aguda (antitripsina, glicoproteína ácida, ceruloplasmina, haptoglobina),
516 gamoglobulinas (IgA, IgG cadeias leve e pesada), betaglobulinas (transferrina)
517 relacionadas ao sistema imune.

518 No entanto, o PSSDS apresentou maiores concentrações de albumina somente
519 em relação ao PSSDB. A diminuição da concentração de albumina pode indicar desde
520 uma síntese hepática prejudicada, assim como, processos inflamatórios agudos, onde
521 outras proteínas de fase aguda aumentam, estimulando o contrabalanço proteico. Outras
522 situações como subnutrição e má absorção interferem no decréscimo desta proteína
523 (Torres Filho, 2008). No presente estudo não houve a estimulação do sistema imune e
524 inflamação, demonstrando que os PSSD podem melhorar o desempenho ao incrementar
525 a imunocompetência do animal pelas imunoglobulinas presentes, e reduzir a exposição
526 do sistema imune aos antígenos levando à menor produção de citocinas pró-inflamatórias
527 e ao aumento do consumo de ração (Dritz et al., 1996).

528 Na primeira semana após o desmame, devido ao alto nível de estresse ao qual os
529 leitões são submetidos, há maior demanda de células de defesa do sistema imunológico
530 do animal a fim de manter a estabilidade humoral do organismo (Thomaz et al., 2011). O
531 objetivo maior da resposta imune é acelerar o processo de retorno à normalidade
532 fisiológica anterior à ativação antigênica (Machado e Fontes, 2005). Diante disso, foram
533 observadas diferenças significativas para os parâmetros do eritograma nos diferentes
534 períodos, demonstrando que os animais apresentam uma certa instabilidade para manter
535 os níveis em equilíbrio aos 21 dias de idade, comprometendo o sistema imunológico.

536 Neste sentido, conforme passa a idade, possivelmente, os animais apresentaram-
537 se mais preparados imunologicamente para enfrentar os desafios sanitários e com melhor
538 desenvolvimento do sistema imune. De acordo com Stein et al. (1996), o
539 desenvolvimento do sistema imunológico dos leitões completa-se por volta do 35º dia de
540 vida, o que explicaria a menor resposta dos diferentes PSSD na imunidade dos leitões
541 após os 35 dias de idade do leitão e, provavelmente, os animais já estavam mais adaptados
542 ao ambiente e as dietas.

543 O hematócrito é caracterizado pela porcentagem ocupada pelos glóbulos
544 vermelhos ou hemácias no volume total de sangue, valores de referência está em torno de
545 32-50% para suínos (Jain, 1993; Meyer e Harvey, 2004). No presente estudo os valores
546 estão abaixo, o que pode estar relacionando com o consumo de água, o qual está
547 diretamente relacionado ao grau de desidratação dos animais. Observa-se que aos 21 dias
548 de idade houve a menor concentração de hematócrito, sugerindo que os animais levam
549 mais tempo para se restabelecer com a fase de pós desmame.

550 O fibrinogênio é considerado uma proteína de fase aguda, e determina a
551 viscosidade do sangue estimulando a migração e proliferação de células musculares lisas.
552 Portanto, o aumento dos seus níveis está relacionado com a coagulação do sangue, ou
553 seja, atua quando se tem processo inflamatório. Foram encontrados efeitos lineares para
554 os PSSD avaliados, portanto, à medida que o período aumentou ocorreu o aumento da
555 concentração de fibrinogênio, no entanto, o valor referência de fibrinogênio para suínos
556 está de acordo com os valores preconizados 100-500 g/dL (Jain, 1993; Meyer e Harvey,
557 2004).

558 A concentração de proteínas totais no plasma ao longo do período de avaliação
559 sofreu alterações significativas com a idade dos animais. A proteína total no sangue é
560 composta por albumina, fibrinogênio e globulinas. Sua variação ao longo do tempo ocorre

561 em função da transferência passiva de anticorpos no início da vida, catabolismo e
562 anabolismo desses componentes. Os valores de referência em sangue suíno situam-se
563 entre 6,0 a 8,0 g/dL (Jain, 1993; Meyer e Harvey, 2004), deste modo, valores séricos
564 abaixo são verificados em situações de baixa proteína da dieta, insuficiência hepática,
565 aproveitamento inadequado da proteína ingerida. Por outro lado, concentrações elevadas
566 podem indicar desidratação, doenças crônica agudas.

567 Os valores médios das proteínas totais neste estudo se apresentaram de acordo
568 com o recomendados. A a menor concentração, aos 21 dias, pode ser consequência da
569 redução de anticorpos adquiridos passivamente através da ingestão de colostro nos
570 primeiros dias de vida. E após o desmame, o leitão passa a produzir endogenamente
571 imunoglobulinas e os níveis plasmáticos de proteína total tendem a aumentar conforme
572 passa a idade.

573 Os valores de referência de albumina para suínos estão dentro dos valores
574 preconizados 1,80 – 3,30 g/dL (Jain, 1993; Meyer e Harvey, 2004), no entanto, foi
575 observado que aos 49 dias de idade a concentração de albumina não se manteve. Este
576 resultados podem estar associados a um menor consumo de ração dos leitões na última
577 semana, reduzindo o aporte de aminoácidos necessários para a síntese de albumina.
578 Sugere-se que os animais que foram alimentados com PSSDS obtiveram o maior
579 consumo de ração, conseqüentemente, maior aporte de aminoácidos, respondendo a
580 melhor síntese de albumina. É esperado que a albumina reduza sua concentração e as
581 globulinas aumentem ao ter o sistema imunológico ativado conforme os animais ficam
582 mais velhos, o que foi observado no presente estudo com os PSSD avaliados, portanto, o
583 PSSD é uma fonte excelente para preparar o sistema imunológico dos animais.

584 As principais células de defesa do organismo são representadas pelos leucócitos,
585 incluindo linfócitos, monócitos, neutrófilos e eosinófilos, e são fortemente influenciadas
586 pela nutrição, estresse ou desordens clínicas (Robles-Huaynate et al., 2013). A contagem
587 de eosinófilos foi diferente conforme a idade. Segundo Lima et al. (2013), os eosinófilos
588 têm participação em reações alérgicas e na resposta aguda inflamatória, podendo induzir
589 dano tecidual (eosinofilia). Estas células migram da circulação para os locais de infecção
590 e inflamação, onde são importantes contra infecções por parasitas e/ou alérgenos. Os
591 monócitos não tiveram diferenças significativas. Embora seja observado que ao avançar
592 da idade dos animais, naturalmente, ocorre elevação nas concentrações, podendo estar

593 relacionado à imunidade adaptativa e à exposição natural a antígenos, ao ambiente ou até
594 mesmo à alimentação.

595 Foram encontradas diferenças para contagem de linfócitos segmentados para os
596 períodos, com maior estímulo ao sistema imune. Esta maior ativação do sistema imune
597 pode estar relacionada com o desenvolvimento da imunidade adaptativa dos animais. Aos
598 21 dias de idade, verificou-se efeito significativo com aumento de basófilos, bastonetes,
599 o que sugere o aumento em função do desmama ser um período crítico para os leitões, e
600 que há uma menor resposta do sistema imune quando os animais se tornam mais maduros.

601 A microbiota intestinal dos animais é dependente da idade, ou seja, a diversidade
602 e a frequência das bactérias aumentam conforme o crescimento do animal, sendo assim,
603 o primeiro colonizador na microbiota é *E. coli*, mas logo depois aparecem Firmicutes
604 Gram positivos e Actinobacteria, bem como representantes Gram-negativos dos filos
605 Fusobacteria e Bacteroidetes (Frese et al., 2015; Kubasova et al., 2018; Slifierz et al.,
606 2015). O presente estudo demonstrou que os animais que receberam PSSD aumentaram
607 a diversidade da microbiota intestinal, com a maior frequência de Firmicutes,
608 Bacteroidetes, Actinobacterias que são mais identificados em amostras de fezes de suínos
609 saudáveis (Lamendella et al., 2011). Observou-se que o filo Firmicutes demonstrou
610 frequência acima de 89% com o uso dos PSSD.

611 Suínos saudáveis após o desmame apresentam maior frequência de *Prevotella* e
612 *Ruminocacaceae*, que são responsáveis à capacidade de reduzir a inflamação intestinal e
613 melhorar a função da barreira intestinal através da produção de butirato, sugerindo que
614 independente do PSSD avaliado, podem melhorar a saúde intestinal, devido à maior
615 frequência dessas famílias (Wang et al., 2018a; Hall al., 2021). É evidente que há
616 modulação da microbiota quando são observados melhores resultados de produção,
617 geralmente há uma ligação com a colonização de bactérias benéficas como a presença de
618 Lactobacillaceae, conforme observado para o PSSDB e PSSDM.

619 A família *Clostridiaceae* apresentou maior frequência para o PSSDS com
620 66,20%, e os PSSDB e PSSDM com 52,75% e 54,99%, respectivamente. Estudos
621 demonstram que 99% das amostras fecais contêm sequências do gênero *Clostridium*,
622 *Prevotella*, *Alloprevotella* e *Ruminococcus*, pertencentes à ordem *Clostridiales* (Holmann
623 et al., 2017). Foi possível observar que a composição e estrutura da comunidade
624 bacteriana dos diferentes PSSD foram descritivamente diferentes o que indica que a
625 origem do PSSD é importante na formação da composição da microbiota do animal.

626 Dentre os gêneros e as espécies encontradas o que apresentou maior frequência em
627 relação ao demais foi o gênero *Clostridium*, sugerindo a maior frequência em todos os
628 tratamentos avaliados, devido ao estresse do desmame, os leitões remodelam sua
629 microbiota intestinal à medida que respondem à mudança, ou seja, a presença ou ausência
630 de um organismo patogênico pode não necessariamente predizer que a doença ocorrerá,
631 a menos que a população prolifere a ponto de sobrecarregar a população microbiana geral
632 (Pluske et al., 2018).

633 No geral, estudos demonstram que ocorrem ligações positivas entre a microbiota
634 dos leitões, ou uma mudança na microbiota e os parâmetros de produção, no entanto, mais
635 estudos são necessários para elucidar com mais clareza como essas bactérias têm esse
636 efeito e, então, como a microbiota pode ser alterada de forma confiável e consistente para
637 estabelecer benefícios ao longo da vida dos animais.

638

639 V. Considerações finais

640 Os diferentes PSSD apresentaram diferenças em relação à composição
641 nutricional que devem ser consideradas nas formulações de rações. O uso de PSSD em
642 rações para leitões melhorou o consumo diário de ração, dos 21 aos 35 e dos 21 aos 49
643 dias de idade, e o PSSDS apresentou melhor conversão alimentar do que o PSSDM, dos
644 21 aos 49 dias de idade, sem alterar as concentrações das proteínas de fase aguda. As
645 diferentes origens de PSSD não influenciaram os indicadores sanguíneos, mas, a
646 microbiota fecal apresentou maior diversidade ao se utilizar o PSSD, e a maior
647 comunidade bacteriana é encontrada para o PSSDS.

648

649 VI. Referências bibliográficas

650 Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. (1990). Basic local
651 alignment search tool. *Journal of molecular biology*, v.215, n.3, p.403–410.
652 (DOI:10.1016/S0022-2836(05)80360-2).

653

654 Andrews, S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
655 Acesso em: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.

656

657 Barbosa, F. F., Ferreira, A. S., Gattás, G., Silva, F. C. de O., Donzele, J. L., Brustolini, P.
658 C., Lopes, D. C. (2007). Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões

659 desmamados aos 21 dias de idade. *Revista Brasileira De Zootecnia*, v.36, n.4, p.1052–
660 1060. (DOI:10.1590/S1516-35982007000500010).

661

662 Bosi, P., Han, I.K., Jung, H.J., Heo, K.N., Perini, S., Castellazzi, A.M., Casini, L.,
663 Creston, D., Cremokilini, C. (2001). Effect of different spray dried plasmas on growth,
664 ileal digestibility, nutrient deposition, immunity and health of early-weaned pigs
665 challenged with *E. coli* K88. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.14, p.1138–
666 1143. (DOI: 10.5713/ajas.2001.1138).

667

668 Boyer, P.E.S., D’Costa, S., Edwards, L.L., Milloway, M., Susick, E., Borst, L.B., Thakur,
669 S., Campbell, J.M., Crenshaw, J.D., Polo, C.J., Moeser, A.J. (2015). Early-life dietary
670 spraydried plasma influences immunological and intestinal injury responses to later-life
671 *Salmonella typhimurium* challenge. *British Journal of Nutrition*, v.113, p.783- 793.
672 (DOI: 10.1017/S000711451400422X).

673

674 Burrough, E. R., Arruda, B. L., Plummer, P. J. (2017). Comparison of the Luminal and
675 Mucosa-Associated Microbiota in the Colon of Pigs with and without Swine
676 Dysentery. *Frontiers in veterinary science*, v.4, p.139. (DOI:10.3389/fvets.2017.00139).

677

678 Campbell, J. M, Crenshaw, J. D, Polo, J. (2013). The biological stress of early weaned
679 piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. v. 4, n. 1, p. 19. (DOI:
680 10.1186/2049-1891-4-19).

681

682 Campbell, J.M., Crenshaw, J.D., González-Esquerra, R., Polo, J. Impact of Spray-Dried
683 Plasma on Intestinal Health and Broiler Performance. (2019). *Microorganisms*, v.7,
684 p.219. (DOI:10.3390/microorganisms7080219).

685

686 Caporaso, J. G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N.,
687 Owens, S.M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M. (2012). Ultra-high-throughput microbial
688 community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME journal*, v.6,
689 n.8, p.1621-1624. (DOI: 10.1038/ismej.2012.8).

690

691 Ceron, J. J., Eckersall, P. D., & Mart3nyez-Subiela, S. (2005). Acute phase proteins in
692 dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary clinical*
693 *pathology*, v.34, n.2, p.85–99. (DOI:10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x).

694

695 Chae, B.J., Han, I.K., Kim, J.H, Anderson, D.A.D. (1999). Effects of dietary protein
696 sources on ileal digestibility and growth performance for early-weaned pigs. *Livestock*
697 *Production Science*, v.58, p.45-54. (DOI: 10.1016/S0301-6226(98)00184-5).

698

699 Cock, P. J., Antao, T., Chang, J. T., Chapman, B. A., Cox, C. J., Dalke, A., Friedberg, I.,
700 Hamelryck, T., Kauff, F., Wilczynski, B., & de Hoon, M. J. (2009). Biopython: freely
701 available Python tools for computational molecular biology and
702 bioinformatics. *Bioinformatics* (Oxford, England), v.25, n.11, p.1422–1423.
703 (DOI:10.1093/bioinformatics/btp163).

704

705 Corl, B.A., Harrell, R.J., Moon, H.K., Phillips, O., Weaver, E.M., Campbell, J.M.,
706 Arthington, J.D., Odle, J. (2008). Effect of animal plasma proteins on intestinal damage
707 and recovery of neonatal pigs infected with rotavirus. *The Journal of Nutritional*
708 *Biochemistry*, v.18, n.12, p.778–784. (DOI:10.1016/j.jnutbio.2006.12.011).

709

710 Darragh, A.J.E., Moughan, P.J. (1998) The composition of colostrum and milk. In: *The*
711 *Lactating Sow*. 1 Vol. Eds. Verstegen, M.W.A., Moughan, P.J., Schrama, J.W.,
712 Wageningen Press: Wageningen, The Netherlands. p. 3-21.

713

714 Dritz, S. S., Owen, K. Q., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Chengappa,
715 M. M., & Blecha, F. (1996). Influence of lipopolysaccharide-induced immune challenge
716 and diet complexity on growth performance and acute-phase protein production in
717 segregated early-weaned pigs. *Journal of animal science*, v.74, n.7, p.1620–1628.
718 (DOI:10.2527/1996.7471620x).

719

720 Eckersall P.D. (2008). Proteins, proteomics, and the dysproteinemias, p.117-155. In:
721 Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (Eds), *Clinical Biochemistry of Domestic*
722 *Animals*. 6a ed. Academic Press, San Diego.

723

724 Figueiredo, A. N., Miyada, V. S., Utiyama, C. E. Longo, F. A. (2003). Ovo em pó na
725 alimentação de leitões recém-desmamados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 6,
726 p.1901-1911.
727

728 Frese, S. A., Parker, K., Calvert, C. C., & Mills, D. A. (2015). Diet shapes the gut
729 microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome*, v.3, p.28.
730 (DOI:10.1186/s40168-015-0091-8).
731

732 Gaines, A. M., Yi, G. F., Ratliff, B. W., Srichana, P., Kendall, D. C., Allee, G. L., Knight,
733 C. D., & Perryman, K. R. (2005). Estimation of the ideal ratio of true ileal digestible
734 sulfur amino acids:lysine in 8- to 26-kg nursery pigs. *Journal of animal science*, v.83,
735 n.11, p.2527–2534. (DOI:10.2527/2005.83112527x).
736

737 Garcia, G.R., Dogi, C.A., Poloni, V.L., Fochesato, A.S., Leblanc, A.M., Cossalter, A.M.,
738 Payros, D., Oswald, I. P., Cavaglieri, I.R. (2018). Beneficial effects of *Saccharomyces*
739 *cerevisiae* RC016 in weaned piglets: in vivo and ex vivo analysis. *Beneficial Microbes*,
740 v.10, issue 1, p.33-42. (DOI:10.3920/BM2018.0023).
741

742 Gatnau, R., Zimmerman, D.R. (1991). Spray dried porcine plasma (SDPP) as a source of
743 protein for weanling pigs in two environments, *Journal Animal Science*, v.69, p.103
744 (Suppl.1).
745

746 Gatnau, R., Zimmerman, D.R. (1992). Determination of optimum levels of inclusion of
747 spray-dried porcine plasma (SDPP) in diets for weanling pigs fed in practical conditions.
748 *Journal Animal Science*, v.70, n.1, p.60.
749

750 Gatnau, R., Zimmerman, D.R. (1994). Effects spray dried plasma of different sources
751 and process on growth performance of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, v.72,
752 suppl. 1, p.166.
753

754 Gerzova, L., Babak, V., Sedlar, K., Faldynova, M., Videnska, P., Cejkova, D., Jensen, A.
755 N., Denis, M., Kerouanton, A., Ricci, A., Cibin, V., Österberg, J., Rychlik, I. (2015).
756 Characterization of Antibiotic Resistance Gene Abundance and Microbiota Composition

757 in Feces of Organic and Conventional Pigs from Four EU Countries. PloS one, v.10, n.7,
758 e0132892. (DOI:10.1371/journal.pone.0132892).

759

760 Hall, H. N., Wilkinson, D. J., & Le Bon, M. (2021). Oregano essential oil improves piglet
761 health and performance through maternal feeding and is associated with changes in the
762 gut microbiota. *Animal microbiome*, v.3, n.1, p.2. (DOI:10.1186/s42523-020-00064-2).

763

764 Hansen, J. A., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., Weeden, T. L. (1993). Evaluation of
765 animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. *Journal of animal science*, v.71,
766 n.7, 1853–1862. (DOI:10.2527/1993.7171853x).

767

768 Hedegaard, C. J., Heegaard, P. M. (2016). Passive immunisation, an old idea revisited:
769 Basic principles and application to modern animal production systems. *Veterinary
770 immunology and immunopathology*, v.174, p.50-63. (DOI:
771 10.1016/j.vetimm.2016.04.007).

772

773 Homma, N. (1988). Bifidobacteria as a resistance factor in human beings. *Bifidobacteria
774 and Microflora*, v.7, issue 1, p.35–43. (DOI: 10.12938/bifidus1982.7.1_35).

775

776 Isaacson, R., Kim, H. B. (2012). The intestinal microbiome of the pig. *Animal health
777 research reviews*, v.13, n.1, p.100–109. (DOI:10.1017/S1466252312000084).

778

779 Jain, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. (1993). Philadelphia: Lea & Febiger.

780

781 Janssens, G.; Nollet, L. S. (2002). Sodiumbutyrate in animal nutrition. In: II Simpósio
782 sobre ingredientes na alimentação animal. Uberlândia. Anais... Uberlândia: CBNA, p.
783 239-250.

784

785 Kasvi. (2019). Hematologia: Como é realizada a técnica de esfregaço de sangue?
786 Disponível em: <https://kasvi.com.br/esfregaco-de-sangue-hematologia/> Acesso em:
787 11/09/2021.

788

789 Kats, L. J., Nelssen, J. L., Tokach, M. D., Goodband, R. D., Hansen, J. A., & Laurin, J.
790 L. (1994b). The effect of spray-dried porcine plasma on growth performance in the early-
791 weaned pig. *Journal of Animal Science*, v.72, n.8, p.2075- 2081. (DOI:
792 10.2527/1994.7282075x).

793

794 Kim, H. B., Isaacson, R. E. (2015). The pig gut microbial diversity: Understanding the
795 pig gut microbial ecology through the next generation high throughput
796 sequencing. *Veterinary microbiology*, v.177, n.3-4, p. 242–251.
797 (DOI:10.1016/j.vetmic.2015.03.014).

798

799 Kubasova, T., Davidova-Gerzova, L., Babak, V., Cejkova, D., Montagne, L., Le-Floc'h,
800 N., Rychlik, I. (2018). Effects of host genetics and environmental conditions on fecal
801 microbiota composition of pigs. *PloS one*, v.13, n.8, e0201901.
802 (DOI:10.1371/journal.pone.0201901).

803

804 Laborclin. (2018). Coloração Panótico Rápido. Disponível em:
805 [https://www.laborclin.com.br/wpcontent/uploads/2019/06/Coloracao_panotico_rapido_](https://www.laborclin.com.br/wpcontent/uploads/2019/06/Coloracao_panotico_rapido_620259_620100_620105_620106_620107.pdf)
806 [620259_620100_620105_620106_620107.pdf](https://www.laborclin.com.br/wpcontent/uploads/2019/06/Coloracao_panotico_rapido_620259_620100_620105_620106_620107.pdf) Acesso em: 23/08/2021.

807

808 Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head
809 bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p. 680-685.

810

811 Lamendella, R., Domingo, J. W., Ghosh, S., Martinson, J., Oerther, D. B. (2011).
812 Comparative fecal metagenomics unveils unique functional capacity of the swine
813 gut. *BMC microbiology*, v.11, p.103. (DOI:10.1186/1471-2180-11-103).

814

815 Ley, R. E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P. J., Ramey, R. R., Bircher, J. S.,
816 Schlegel, M. L., Tucker, T. A., Schrenzel, M. D., Knight, R., Gordon, J. I. (2008).
817 Evolution of mammals and their gut microbes. *Science (New York, N.Y.)*, v.320, n. 5883,
818 p.1647–1651. (DOI:10.1126/science.1155725).

819

820 Masella, A. P., Bartram, A. K., Truszkowski, J. M., Brown, D. G., & Neufeld, J. D.
821 (2012). PANDAsseq: paired-end assembler for illumina sequences. BMC
822 bioinformatics, v.13, p.31. (DOI:10.1186/1471-2105-13-31).
823

824 Meyer, D.J., Harvey, J.W. (2004). Veterinary laboratory medicine: interpretation &
825 diagnosis. 2^a ed. Philadelphia: Saunders, p.351.
826

827 Muniz, M. H. B., Berto, D. A., Wechsler, F. S., Lopes, A.B.R.C. (2001). Plasma bovino
828 desidratado na dieta de leitões desmamados. Acta Scientiarum, v. 23, n. 4, p. 1003-1010.
829

830 Nacional Research Council – NRC. (2012). Nutrient Requirements of Swine.
831 Washington, D.C., 11^a ed.
832

833 Owen, K. Q., Nelssen, J. L., Goodband, R. D. (1993a). Effects of various fractions of
834 spraydried plasma on performance of early weaned pigs. Journal of Animal Science, v.
835 73, p.81, (Suppl. 1).
836

837 Peace, R.M., Campbell, J., Polo, J., Crenshaw, J., Russell, L., Moeser, A. (2011). Spray-
838 dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation, and diarrhea in
839 weaned pigs. Journal Nutrition, v.141, n.7, p.1312–1317. (DOI: 10.3945/jn.110.136796).
840

841 Peiniau, J., Aumaitre, A., Lebreton, Y. (1996). Effects of dietary protein sources differing
842 in solubility on total tract and ileal apparent digestibility of nitrogen and pancreatic
843 enzymes activity in early weaned pigs. Livestock Production Science, Amsterdam, v. 45,
844 n.2-3, p. 197-208. (DOI:10.1016/0301-6226(95)00089-5).
845

846 Pérez-Bosque, A., J. Polo, and D. Torralardona. (2016). Spray dried plasma as an
847 alternative to antibiotics in piglet feeds, mode of action and biosafety. Porcine Health
848 Manage, v.2, n.16. (DOI:10.1186/s40813-016-0034-1).
849

850 Pettigrew, J.E., Gaskins, H.R., Nava, G. (2006). A critical review of functional animal
851 proteins. Research Report No: NPB #04–142 in Animal Science. Des Moines, IA, USA:

852 National Pork Board. <http://old.pork.org/filelibrary/researchdocuments/04-142->
853 [pettigrew-uofill.pdf](http://old.pork.org/filelibrary/researchdocuments/04-142-pettigrew-uofill.pdf).
854

855 Pluske, J. R., Turpin, D. L., Kim, J. C. (2018). Gastrointestinal tract (gut) health in the
856 young pig. *Animal nutrition (Zhongguo xu mu shou yi xue hui)*, v.4, n.2, p.187–196.
857 (DOI:10.1016/j.aninu.2017.12.004).
858

859 Pujols, J., Segalés, J., Polo, J., Rodríguez, C., Campbell, J., & Crenshaw, J. (2016).
860 Influence of spray dried porcine plasma in starter diets associated with a conventional
861 vaccination program on wean to finish performance. *Porcine health management*, v.2,
862 p.4. (DOI:10.1186/s40813-016-0021-6).
863

864 Robles-Huaynate, R.A., Thomaz, M.C., Santana, A.E., Masson, G.C.I.H., Amorim, A.B.,
865 Silva, S.Z., Ruiz, U.S., Watanabe, P.H., Budiño, F.E.L. (2013). Efeito da adição de
866 probiótico em dietas de leitões desmamados sobre as características do sistema digestório
867 e do desempenho. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.14, n.1, p.248-258.
868 (DOI:10.1590/S1519-99402013000100009).
869

870 Sakomura, N.K., Rostagno, H.S., (2016). Métodos de pesquisa em nutrição de
871 monogástricos. 2aed. FUNEP: Jaboticabal.
872

873 Silva, D.J., Queiroz, A.C. (2009). Análises de alimentos (métodos químicos e
874 biológicos). 3ªed. Viçosa, MG: Editora UFV, p.235.
875

876 Slifierz, M. J., Friendship, R., & Weese, J. S. (2015). Zinc oxide therapy increases
877 prevalence and persistence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs: a
878 randomized controlled trial. *Zoonoses and public health*, v.62, n.4, p.301–308.
879 (DOI:10.1111/zph.12150).
880

881 Smith, J.W., Richert, B. T., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., Tokach, M. D. (1995). The
882 effect of spray-dried plasma source on starter pig performance. *Journal of Animal*
883 *Science*, Madison, v. 73, p. 80.
884

885 Smyth, R. P., Schlub, T. E., Grimm, A., Venturi, V., Chopra, A., Mallal, S., Davenport,
886 M. P., & Mak, J. (2010). Reducing chimera formation during PCR amplification to ensure
887 accurate genotyping. *Gene*, v.469, n.1-2, p.45–51. (DOI:10.1016/j.gene.2010.08.009).
888

889 Stein, H.H. (1996). The effects of adding spray-dried plasma protein and spray-dried
890 blood cells to starter diets for pigs. In: simpósio latino-americano de nutrição de suínos e
891 aves, 1996, Campinas, Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.70-
892 86.
893

894 Teixeira, A.O., Lopes, D.C., Ferreira, A.S. (2003). Efeito de dietas simples e complexas
895 sobre a morfofisiologia gastrintestinal de leitões até 35 dias de idade. *Revista Brasileira*
896 *de Zootecnia*, v.32, n.4, p.926-934, 2003.
897

898 Thomaz, M.C.; Hannas, M.I.; Kronka, R.N. Tucci, F. M.; SCandolera, A. J.; Loddi, M.
899 M.; Budiño F. E. L. 2011. Plasma suíno e ovo inteiro em rações de leitões sobre
900 desempenho na fase inicial e efeito residual até a terminação. *Brazilian Journal*
901 *Veterinary Research and Animal Science*, v. 48, n.1, p.79-89. (DOI:
902 10.5216/cab.v12i4.4588).
903

904 Torralardona, D. (2010) Spray dried animal plasma as an alternative to antibiotics in
905 weanling pigs-A review. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.23, n.1, p.131–48.
906 (DOI: 10.5713/ajas.2010.70630).
907

908 Torres Filho, H. M. (2008). Eletroforese de proteínas. *Richet Nouvelles*, Rio de Janeiro,
909 v.11, n. 3, p. 1-8.
910

911 Touchette, K. J., Allee, G. L., Newcomb, M. D. (1996). The effects of plasma, lactose,
912 and soy protein source fed in the phase I diet on nursery performance. *Journal of Animal*
913 *Science*, v.74 (Suppl. 1), p.170 (Abstr.). (DOI:10.5713/ajas.2001.1290).
914 Touchette, K. J., Allee, G. L., Newcomb, M. D., Pace, L.W., Eilersieck, M.R. (1997).
915 Impact of feed intake and spray-dried plasma on nursery performance and intestinal
916 morphology of weaned pigs. *Journal of Animal Science*. 75(Suppl. 1):199. (Abstr.).
917

918 Van Dijk, A.J, Everts, H., Nabuurs, M.J.A, Margry, R.J.C.F e Beynen, A.C .
919 (2001). Growth performance of weanling pigs fed spray-dried animal plasma: a review.
920 *Livestock Production Science*, v.68, p.263-274, 2001. (DOI:
921 10.1080/10495390600956946).

922

923 Wang, C., Shi, C., Zhang, Y., Song, D., Lu, Z., & Wang, Y. (2018a). Microbiota in
924 fermented feed and swine gut. *Applied microbiology and biotechnology*, v.102, n.7,
925 p.2941–2948. (DOI:10.1007/s00253-018-8829-4).

926

927 Wang, Q., Dong, J., Zhu, Y. (2012). Probiotic supplement reduces risk of necrotizing
928 enterocolitis and mortality in preterm very low-birth-weight infants: an updated meta-
929 analysis of 20 randomized, controlled trials. *Journal of pediatric surgery*, v.47, n.1,
930 p.241–248. (DOI:10.1016/j.jpedsurg.2011.09.064).

931

932 Wang, Y., Qian, P. Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer
933 design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. (2009). *PloS One*, v.4,
934 n.10, p.1-9. (DOI: 10.1371/journal.pone.0007401).

935

936 Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Hannas, M.I., Donzele, J.L., Sakomura, N.K., Perazzo,
937 F.G., Saraiva, A., Teixeira, M.L., Rodrigues, P.B., Oliveira, R.F., Barreto, S.L.T., Brito,
938 C.O. (2017). Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências
939 nutricionais. 4aed. Viçosa: UFV, p.488.

940

941 Borg, B.S., Campbell, J.M., Polo, J., Russell, L.E., Rodríguez, C., Rodenas, J. (2002).
942 Avaliação das características químicas e biológicas da proteína plasmática seca por
943 pulverização coletada em vários locais do mundo. *Processo AASV*. Kansas City,
944 Missouri, p.97–100.

945

946 Pierce, J. L., Cromwell, G. L., Lindemann, M. D., Russell, L. E., and Weaver, E. M.
947 (2005). Effects of spray-dried animal plasma and immunoglobulins on performance of
948 early weaned pigs. *Journal Animal Science*, v.83, p.2876–2885. (DOI:
949 10.2527/2005.83122876x).

950

951 De Rodas, B. Z., Sohn, K. S., Maxwell, C. V., & Spicer, L. J. (1995). Plasma protein for
952 pigs weaned at 19 to 24 days of age: effect on performance and plasma insulin-like growth
953 factor I, growth hormone, insulin, and glucose concentrations. *Journal of animal*
954 *science*, v.73, n.12, p.3657–3665. (DOI:10.2527/1995.73123657x).

955

956 Balan, P., Staincliffe, M., Moughan, P. (2020). Effects of spray-dried animal plasma on
957 the growth performance of weaned piglets—A review. *Journal of Animal Physiology and*
958 *Animal Nutrition*, v.105, n.4., p.699-714. (DOI:10.1111/jpn.13435).

959

960 Palm, N. W., de Zoete, M. R., & Flavell, R. A. (2015). Immune-microbiota interactions
961 in health and disease. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, v.159, n.2, p.122–127.
962 (DOI:10.1016/j.clim.2015.05.014).

963

964 Beaumont, M., Cauquil, L., Bertide, A., Ahn, I., Barilly, C., Gil, L., Canlet, C., Zemb, O.,
965 Pascal, G., Samson, A., & Combes, S. (2021). Gut Microbiota-Derived Metabolite
966 Signature in Suckling and Weaned Piglets. *Journal of proteome research*, v.20, n.1,
967 p.982–994. (DOI:10.1021/acs.jproteome.0c00745).

968

969 Chen, X., Xu, J., Ren, E., Su, Y., Zhu, W. (2018). Co-occurrence of early gut colonization
970 in neonatal piglets with microbiota in the maternal and surrounding delivery
971 environments. *Anaerobe*, v.49, p. 30-40.

972

973 Gresse, R., Chaucheyras-Durand, F., Fleury, M. A., Van de Wiele, T., Forano, E., &
974 Blanquet-Diot, S. (2017). Gut Microbiota Dysbiosis in Postweaning Piglets:
975 Understanding the Keys to Health. *Trends in microbiology*, v.25, n.10, p.851–873.
976 (DOI:10.1016/j.tim.2017.05.004).

977

978 Campbell, J.M. (2003). The use of plasma in swine feeds. Disponível em: [www.american](http://www.americanprotein.com/discoveres/summer98/plasma.html)
979 [protein.com/discoveres/summer98/plasma.html](http://www.americanprotein.com/discoveres/summer98/plasma.html). Acesso em: 11/09/2022.

Tabela 1. Composição das rações experimentais contendo plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM) para as fases pré-inicial I (21-28 dias), pré inicial II (29-35 dias), inicial I (36-49 dias), na matéria natural¹.

Ingredientes	Pré inicial 1				Pré inicial 2				Inicial 1			
	Controle	PSSDS	PSSDB	PSSDM	Controle	PSSDS	PSSDB	PSSDM	Controle	PSSDS	PSSDB	PSSDM
PSSDS	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00
PSSDB	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00
PSSDM	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00	2,00
Milho	24,52	30,45	30,76	30,43	22,95	27,11	27,52	27,07	39,12	41,03	41,21	41,00
Farelo de soja	22,81	12,73	12,27	12,75	27,42	24,65	20,31	20,66	27,55	26,23	24,02	24,23
Quirera de arroz	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Milho pré gelatinizado	6,98	6,98	6,98	6,98	8,00	8,00	8,00	8,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Soro de leite em pó	10,00	10,00	10,00	10,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Soja micronizada	5,00	5,00	5,00	5,00	3,00	3,00	3,00	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Soja integral desativada	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Leite em pó integral	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Permeado de soro de leite em pó	3,27	3,27	3,27	3,27	4,42	4,42	4,42	4,42	2,90	2,90	2,90	2,90
Leite pó integral	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Farelo de biscoito	2,50	2,50	2,50	2,50	4,50	4,50	4,50	4,50	5,00	5,00	5,00	5,00
Oleo de soja	2,84	2,06	1,97	2,14	2,87	2,24	2,09	2,30	1,74	1,53	1,48	1,56
Fosfato bicálcico	1,50	1,23	1,20	1,09	1,55	1,36	1,34	1,27	1,45	1,38	1,37	1,33
Calcário calcítico	0,90	1,08	1,10	1,15	0,93	1,05	1,06	1,10	1,08	1,14	1,15	1,17
Açúcar	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal	1,00	0,60	0,58	0,60	1,00	0,70	0,60	0,72	0,80	0,65	0,60	0,66
L-Lisina, 80%	0,55	0,36	0,45	0,36	0,43	0,31	0,37	0,31	0,48	0,41	0,45	0,42
DL-Metionina, 99%	0,32	0,16	0,26	0,15	0,26	0,15	0,22	0,14	0,25	0,19	0,23	0,19
L-Treonina, 98%	0,30	0,19	0,21	0,19	0,24	0,17	0,18	0,17	0,25	0,21	0,22	0,21
L- Triptofano, 98%	0,08	0,05	0,09	0,05	0,06	0,04	0,07	0,04	0,06	0,05	0,07	0,05
L-Valina, 99%	0,15	0,05	0,07	0,05	0,09	0,01	0,03	0,01	0,10	0,06	0,08	0,06
Premix vitamínico e mineral ²	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
Cloreto de Colina, 60%	0,07	0,08	0,08	0,08	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06
Promotor de Crescimento ³	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Sulfato de cobre, 25%	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Oxido de zinco, 72%	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,26	0,26	0,26	0,26
Acido fumárico	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Dióxido de sílicio	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Palatabilizante	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Aromatizante	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Adsorvente	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Antioxidante ⁴	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03

Continua...

Composição (%)			
Energia metabolizável, kcal/kg	3.400	3.400	3.400
Proteína bruta	21,42	21,42	21,42
Cálcio	1.068	1.068	1.068
Fósforo disponível total	0.528	0.528	0.528
Sódio	0,224	0,224	0,224
SID Lisina	1,451	1,451	1,346
SID Metionina + Cisteína	0,813	0,813	0,754
SID Treonina	0,972	0,972	0,902
SID Triptofano	0,276	0,276	0,256
SID Arginina	1,451	1,451	1,346
SID Valina	1,001	1,001	0,929

¹As rações foram formuladas, seguindo recomendações Rostagno et al. (2017). ²Conteúdo/kg: vit. A - 15.000.000 U.I.; vit D₃ - 3.000.000 U.I.; vit. E - 105.000 U.I.; vit B₁ - 300 mg; vit B₂ - 825 mg; vit. B₆ - 480 mg; vit B₁₂ - 4.050 mcg; ácido pantotênico - 3.600 mg; ácido fólico - 83 mg; biotina - 90 mg; ferro - 23 g; cobre - 2.300 mg; cobalto - 27 mg; manganês - 11,64 mg; zinco - 20 g; iodo - 315 mg; selênio - 100 mg e veículo q.s.p. p/ 1000 g/kg. ³Halquinol; ⁴Butil-hidroxi Tolueno.

Tabela 2. Composição de macro e microminerais de diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), na matéria natural

	PSSDS	PSSDB	PSSDM
Cálcio, %	0,056	0,062	0,084
Fósforo, %	1,085	1,185	1,504
Potássio, %	0,321	0,205	0,171
Sódio, %	3,082	4,108	2,940
Magnésio, %	0,01	0,009	0,014
Enxofre, %	0,899	0,858	0,939
Ferro, mg/Kg	192,38	369,289	107,322
Cobre mg/Kg	21,025	9,281	13,357
Manganês, mg/Kg	0,243	0,853	0,991
Zinco, mg/Kg	16,631	16,375	18,217
Boro, mg/Kg	2,375	2,486	2,032

Tabela 3. Composição em aminoácidos de diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), em percentagem da matéria natural.

Aminoácidos	PSSDS		PSSDB		PSSDM	
	AATotais ¹	AADStd ^{2,3}	AATotais ¹	AADStd ^{2,4}	AATotais ¹	AADStd ^{2,5}
<i>Essenciais</i>						
Arginina	4,38	4,209	3,76	3,257	4,46	4,504
Histidina	2,66	2,529	2,28	2,001	2,53	2,486
Isoleucina	2,54	2,273	1,84	1,616	2,51	2,472
Leucina	7,38	6,578	6,79	5,928	7,32	7,180
Lisina	7,14	6,790	6,50	5,702	7,15	7,014
Metionina	0,83	0,776	0,92	0,756	0,88	0,860
Fenilalanina	4,35	4,058	3,91	3,371	4,25	4,160
Treonina	4,37	4,042	4,54	3,791	4,75	4,631
Triptofano	1,48	1,334	0,77	-	1,52	1,469
Valina	5,09	4,759	4,92	4,130	5,21	5,090
<i>Não essenciais</i>						
Alanina	4,19	3,884	3,82	-	4,09	4,045
Ácido Aspártico	7,53	6,98	7,09	-	7,73	7,459
Cistina	3,80	3,53	2,8	-	4,14	4,015
Ácido Glutâmico	10,13	9,532	8,68	-	10,45	10,251
Glicina	2,85	2,584	2,6	-	2,84	2,720
Prolina	4,22	3,283	3,54	-	4,28	-
Serina	3,89	3,683	4,07	-	4,13	4,047
Tirosina	3,86	3,578	3,09	-	3,97	-

¹Aminoácidos totais; ²aminoácidos digestíveis standarizados; ³coeficientes de digestibilidade ileal standarizados obtidos de Rostagno et al. (2017); ⁴coeficientes de digestibilidade ileal standarizada obtidos de Yun et al. (2004); ⁵coeficientes de digestibilidade ileal standarizada obtidos de Almeida et al. (2013).

Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e energia bruta (CDEB), coeficiente de metabolizabilidade (CMEB) da energia bruta (EB), valores digestíveis e de energia metabolizável (EM) de diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM) para leitões, na matéria natural

Item ¹	PSSDS	PSSDB	PSSDM	EP ²
CDMS, %	85,06 ^b	84,61 ^c	87,56 ^a	0.31
CDEB, %	75,94 ^b	78,90 ^a	75,23 ^c	0.38
CMEB, %	73,68 ^b	76,63 ^a	72,95 ^c	0.38
MSD, %	78,10	78,14	78,01	-
EB, kcal/kg	4.777	4.613	4.685	-
ED, kcal/kg	3.628	3.640	3.525	-
EM, kcal/kg	3.520	3.535	3.419	-
EM:ED	0,9702 ^b	0,9712 ^a	0,9698 ^c	0.02

¹MSD - matéria seca digestível; ED - energia digestível; ²EP- Erro padrão da média; ^{a, b, c}= Letras diferentes na mesma linha diferem à 5% de significância pelo teste de SNK.

Tabela 5. Desempenho de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Item ¹	PSSD ²				EP ³	P-value
	Controle	PSSDS	PSSDB	PSSDM		
21 -35 dias						
CDR. g	266.97 ^b	323.80 ^a	301.32 ^a	318.82 ^a	6.52	0.0018
GPD. g	188.66	198.97	215.71	195.07	4.15	0.1602
CA. g/g	1.41 ^b	1.62 ^a	1.39 ^b	1.63 ^a	0.02	<0.0001
36 -49 dias						
CDR. g	658.18	679.90	661.18	703.21	7.41	-
GPD. g	382.34	421.42	388.34	411.07	5.09	-
CA. g/g	1.72	1.61	1.70	1.71	0.01	-
21 -49 dias						
CDR. g	449.58 ^b	501.93 ^a	483.86 ^a	505.45 ^a	5.53	<0.0001
GPD. g	281.19	304.01	283.47	281.70	4.29	0.2298
CA. g/g	1.60 ^c	1.65 ^{bc}	1.70 ^b	1.79 ^a	0.01	0.0001

Letras diferentes na linha sobrescritas na linha são diferentes pelo teste SNK; ¹CDR= Consumo diário de ração. GPD=ganho de peso diário; CA= conversão alimentar; ²PSSD= plasma sanguíneo spray dried; PSSDS= plasma sanguíneo spray dried suíno; PSSDB= plasma sanguíneo spray dried bovino; PSSDM= plasma sanguíneo spray dried misto (suíno+bovino); ³EP- Erro padrão da média.

Tabela 6. Proteinograma de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Item(mg/dL) ¹	Controle	PSSDS	PSSDB	PSSDM	EP ²	P-value
Albumina	3397.14 ^{ab}	3654.86 ^a	3344.04 ^b	3421.94 ^{ab}	232.36	0.0435
Antitripsina	144.38	162.30	161.91	164.14	20.47	0.1676
GPA	12.22	11.06	8.90	9.517	3.33	0.1680
Ceruloplasmina	40.47	53.56	50.43	47.33	19.61	0.5425
Haptoglobina	71.45	67.00	71.96	70.83	31.04	0.9859
IgA	131.84	154.91	154.77	146.12	33.38	0.4312
IgG leve	192.53	211.43	181.19	200.02	36.33	0.3673
IgG	563.96	561.98	489.66	513.06	76.07	0.1254
Transferrina	530.85	576.76	565.67	558.93	69.26	0.5508

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste SNK à 5% de significância; ¹GPA – Glicoproteína ácida; ²EP - Erro padrão da média.

Tabela 7. Concentração de hematócrito e fibrinogênio no plasma de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Hematócrito (%)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁴	24.03	28.25	27.22	26.87	26.59	0.58	0.2503	0.0499
PSSDS	24.03	25.28	26.83	26.88	25.75	0.70	0.1397	0.4498
PSSDB ⁵	24.03	27.72	28.67	26.88	26.82	0.73	0.2757	0.0367
PSSDM ⁶	24.03	30.72	26.33	25.06	26.54	0.77	0.6502	0.0378
Média	24.03 ^b	27.99 ^a	27.26 ^a	26.42 ^a				
EP ¹	0.17	0.69	0.76	0.81				
Trat	0.6486							
Período	0.0001							
Trat*Período	0.2651							
Fibrinogênio (g/dL)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁷	212	287	276	397	293.37	22.91	0.0039	0.8316
PSSDS ⁸	212	288	282	385	292.10	20.70	0.0029	0.9979
PSSDB ⁹	212	295	303	393	301.17	18.71	0.0004	0.6979
PSSDM ¹⁰	212	306	283	382	296.06	20.59	0.0050	0.8375
Média	212 ^c	294 ^b	286 ^b	389 ^a				
EP ¹	1.36	25.09	15.39	21.23				
Trat	0.9773							
Período	<.0001							
Trat*Período	0.9999							

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste SNK à 5% de significância; ¹EP - Erro padrão da média; ²Efeito linear; ³Efeito quadrático; ⁴y = 9.37878 + 0.99512x - 0.01309x² (R²= 0.72); ⁵y = 4.17696 + 1.31785x - 0.01746x² (R²= 0.98); ⁶y= 6.36135 + 1.28431x - 0.01858x² (R²= 0.42); ⁷y=88.25095 + 6.16899x (R²= 0.91); ⁸y= 101.38390 + 5.73580x (R²= 0.92); ⁹y=100.45118 + 6.03671x (R²= 0.94); ¹⁰y=116.44106 + 5.40200x (R²= 0.84).

Tabela 8. Concentração de proteínas totais, albuminas, globulinas e a relação albumina: globulina de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Proteínas totais (g/dL)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁴	5.35	6.59	6.54	5.49	5.99	0.11	0.6499	<0.0001
PSSDS ⁵	5.35	6.37	6.35	5.94	6.00	0.08	0.1178	<0.0001
PSSDB ⁶	5.35	6.50	6.09	5.37	5.83	0.15	0.5108	0.0065
PSSDM ⁷	5.35	6.52	5.84	5.61	5.83	0.08	0.7593	0.0004
Média	5.34 ^d	6.49 ^a	6.20 ^b	5.60 ^c				
EP ¹	0.008	0.13	0.10	0.05				
Trat	0.2990							
Período	<0.0001							
Trat*Período	0.2208							
Albumina (g/dL)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle	2.54	2.77	2.59	2.37	2.57	0.06	0.1897	0.2010
PSSDS ⁸	2.54	2.68	2.72	2.33	2.57	0.05	0.0756	0.0110
PSSDB	2.54	2.64	2.55	2.38	2.53	0.06	0.2409	0.3945
PSSDM ⁹	2.54	2.52	2.48	2.21	2.44	0.03	0.0002	0.1340
Média	2.53 ^a	2.65 ^a	2.58 ^a	2.32 ^b				
EP ¹	0.01	0.05	0.06	0.06				
Trat	0.2907							
Período	0.0002							
Trat*Período	0.9634							
Globulinas (g/dL)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ¹⁰	2.81	3.83	3.95	3.12	3.43	0.11	0.7399	<0.0001
PSSDS ¹¹	2.81	3.69	3.63	3.62	3.43	0.08	0.0071	0.0017
PSSDB ¹²	2.81	3.86	3.54	2.99	3.30	0.14	0.8262	0.0109
PSSDM ¹³	2.81	4.00	3.36	3.40	3.39	0.08	0.2628	0.0026
Média	2.80 ^c	3.84 ^a	3.61 ^a	3.28 ^b				
EP ¹	0.01	0.13	0.09	0.08				
Trat	0.7234							
Período	<0.0001							
Trat*Período	0.2110							
Albumina: Globulina								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ¹⁴	0.90	0.81	0.79	0.72	0.81	0.02	0.0126	0.5693
PSSDS ¹⁵	0.90	0.75	0.82	0.70	0.80	0.02	0.0118	0.6194
PSSDB	0.90	0.79	0.83	0.79	0.84	0.02	0.1228	0.3997
PSSDM ¹⁶	0.90	0.79	0.84	0.70	0.81	0.01	0.0007	0.8989
Média	0.90 ^a	0.78 ^{bc}	0.82 ^b	0.73 ^c				
EP ¹	0.01	0.02	0.02	0.02				
Trat	0.6384							
Período	<0.0001							
Trat*Período	0.9439							

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste SNK à 5% de significância; ¹EP - Erro padrão da média; ²Efeito linear; ³Efeito quadrático; ⁴y = -1.19098 + 0.44952x - 0.00640x² (R² = 0.94); ⁵y = 0.69231 + 0.31416x - 0.00424x² (R² = 0.89); ⁶y = 0.59482 + 0.33437x - 0.00485x² (R² = 0.78); ⁷y = 2.00636 + 0.23929x - 0.00341x² (R² = 0.46); ⁸y = 1.21090 + 0.09327x - 0.00144x² (R² = 0.99); ⁹y = 2.84109 - 0.01213x (R² = 0.87); ¹⁰y = -2.89785 + 0.38715x - 0.00540x² (R² = 0.97); ¹¹y = 2.69186 + 0.02234x (R² = 0.40); ¹²y = -0.52041 + 0.22101x - 0.00280x² (R² = 0.85); ¹³y = -1.46914 + 0.29825x - 0.00425x² (R² = 0.77); ¹⁴y = -0.22850 + 0.21393x - 0.00288x² - 0.00341x² (R² = 0.40); ¹⁵y = 1.00912 - 0.00596x (R² = 0.90); ¹⁶y = 0.98830 - 0.00570x (R² = 0.61); ¹⁷y = 1.01859 - 0.00614x (R² = 0.76).

Tabela 9. Concentração de linfócitos, monócitos e eosinófilos de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Linfócitos (%/)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁴	54.50	57.00	56.50	59.10	56.77	0.65	0.0194	0.8497
PSSDS ⁵	54.50	58.67	57.70	57.50	57.09	0.47	0.1154	0.0158
PSSDB ⁶	54.50	60.06	59.00	58.78	58.08	0.45	0.0134	0.0002
PSSDM ⁷	54.50	57.10	57.70	60.00	57.32	0.70	0.0057	0.6040
Média	54.50 ^b	58.20 ^a	57.7 ^a	58.84 ^a				
EP ¹	0.21	0.65	0.62	0.48				
Trat	0.3068							
Período	<0.0001							
Trat*Período	0.4685							
Monócitos (%)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle	0.67	1.00	0.90	0.90	0.86	0.11	0.6415	0.5012
PSSD	0.67	0.33	0.70	0.80	0.62	0.10	0.3919	0.5247
PSSDB	0.67	0.67	0.90	1.00	0.80	0.10	0.1965	0.9429
PSSDM	0.67	1.20	0.80	1.00	0.91	0.12	0.6252	0.6449
Média	0.66	0.79	0.82	0.92				
EP ¹	0.05	0.13	0.13	0.12				
Trat	0.2943							
Período	0.4626							
Trat*Período	0.7669							
Eosinófilos (%)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁸	0.67	0.30	0.50	0.10	0.39	0.08	0.0308	0.9904
PSSDS	0.67	0.60	0.70	0.70	0.66	0.10	0.8398	0.9490
PSSDB	0.67	0.30	0.67	0.80	0.60	0.10	0.3801	0.4344
PSSDM	0.67	0.10	0.89	1.00	0.66	0.13	0.1222	0.5124
Média	0.66 ^b	0.32 ^a	0.68 ^b	0.65 ^b				
EP ¹	0.05	0.090	0.13	0.13				
Trat	0.2220							
Período	0.0539							
Trat*Período	0.3692							

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste SNK à 5% de significância; ¹EP - Erro padrão da média; ²Efeito linear; ³Efeito quadrático; ⁴y= 51.90646 + 0.14644x (R²= 0.85); ⁵y=40.18667 + 0.96932x -0.01264x² (R²= 0.72); ⁶y=54.51746 + 0.10730x (R²= 0.27); ⁷y=34.90242 + 1.32043x - 0.01709x² (R²= 0.76); ⁸y=51.23503 + 0.18318x (R²= 0.93); ⁹y= 0.95874 -0.01704x (R²= 0.68).

Tabela 10. Concentração de basófilos, bastonetes, segmentados de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Basófilos (%)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁴	0.66	0.40	0.30	0.10	0.36	0.073	0.0055	0.4875
PSSDS ⁵	0.66	0.30	0.22	0.33	0.38	0.072	0.1713	0.0566
PSSDB	0.66	0.20	0.30	0.30	0.36	0.073	0.1939	0.0997
PSSDM ⁶	0.66	0.30	0.20	0.10	0.31	0.070	0.0057	0.1405
Média	0.66 ^a	0.30 ^b	0.25 ^b	0.20 ^b				
EP ¹	0.05	0.07	0.06	0.063				
Trat	0.8941							
Período	<.0001							
Trat*Período	0.8899							
Bastonetes (%/)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle	0.67 ^{Aa}	0.10 ^{Aa}	0.80 ^{Aa}	0.20 ^{Aa}	0.44	0.09	0.2766	0.6250
PSSDS ⁷	0.67 ^{Aa}	0.50 ^{Aa}	0.00 ^{Ba}	0.60 ^{Aa}	0.44	0.09	0.7242	0.0112
PSSDB	0.67 ^{Aa}	0.40 ^{Aa}	0.22 ^{ABa}	0.30 ^{Aa}	0.39	0.07	0.0915	0.1189
PSSDM ⁸	0.67 ^{Aa}	0.20 ^{Aa}	0.22 ^{ABa}	0.40 ^{Aa}	0.37	0.07	0.4065	0.0219
Média*	0.66 ^a	0.30 ^b	0.31 ^b	0.37 ^b				
EP ¹	0.05	0.07	0.08	0.09				
Trat	0.8926							
Período	0.0021							
Trat*Período	0.0106							
Segmentados (%)								
PSSD	Período (dias)				Média	EP ¹	Lin ²	Qua ³
	21	28	35	49				
Controle ⁹	42.83	41.10	40.00	39.60	40.88 ^a	0.53	0.0342	0.2990
PSSDS ¹⁰	42.83	40.40	39.56	39.90	40.67 ^a	0.60	0.1185	0.1498
PSSDB	42.83	37.11	38.22	37.60	38.94 ^b	0.47	0.0013	0.0006
PSSDM ¹¹	42.83	41.20	39.60	36.44	40.01 ^{ab}	0.61	<0.0001	0.9717
Média	42.83 ^a	39.95 ^b	39.34 ^b	38.38 ^b				
EP ¹	0.20	0.70	0.48	0.51				
Trat	0.0239							
Período	<0.0001							
Trat*Período	0.1872							

Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste SNK à 5% de significância; Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna são diferentes pelo teste SNK à 5% de significância ¹EP -Erro padrão da média; ²Efeito linear; ³Efeito quadrático; ⁴y=1.00160 -0.01909x (R²= 0.93); ⁵y=2.49238 -0.12043x + 0.00156x² (R²= 0.97); ⁶y= 0.92446 -0.01827x (R²= 0.77); ⁷y= 3.56960 -0.19009x +0.00263x² (R²= 0.77); ⁸y=2.75295-0.14095x +0.00190x² (R²= 0.88); ⁹y= 44.50983 -0.10908x (R²= 0.81); ¹⁰y=43.62814 -0.14096x (R²= 0.40); ¹⁰y=61.52118 -1.24758x +0.01559x² (R²= 0.76); ¹¹y=47.59566 -0.22787x (R²= 0.99).

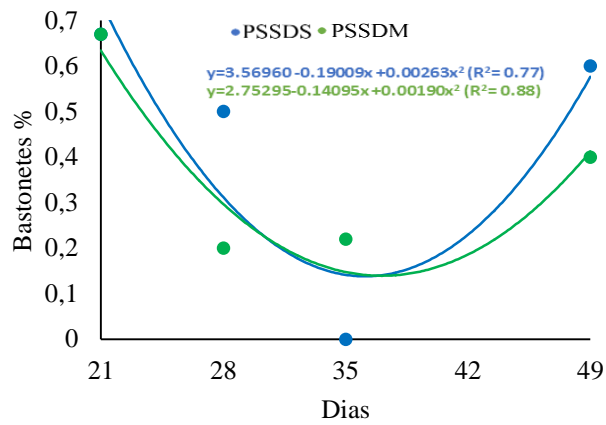
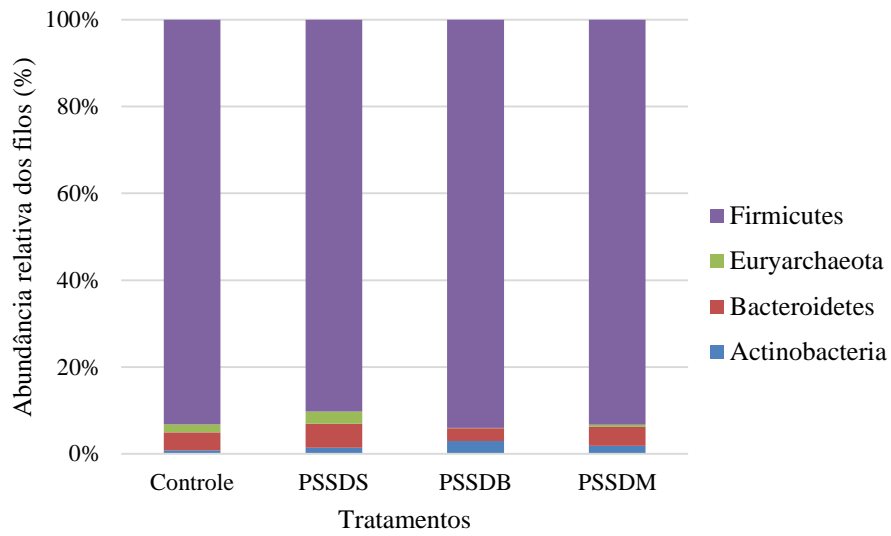
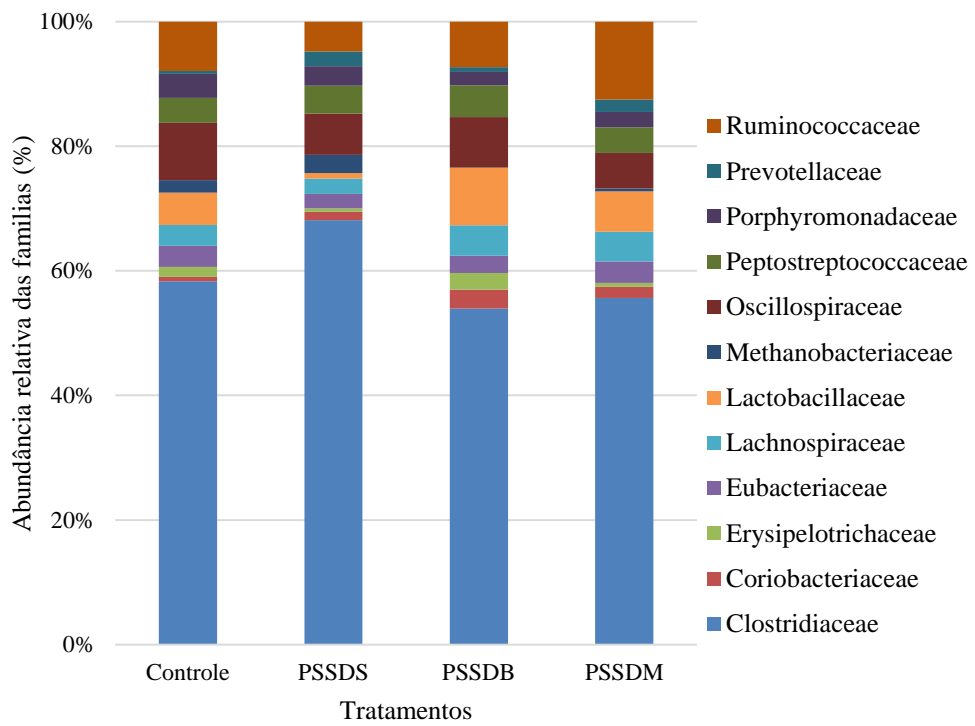


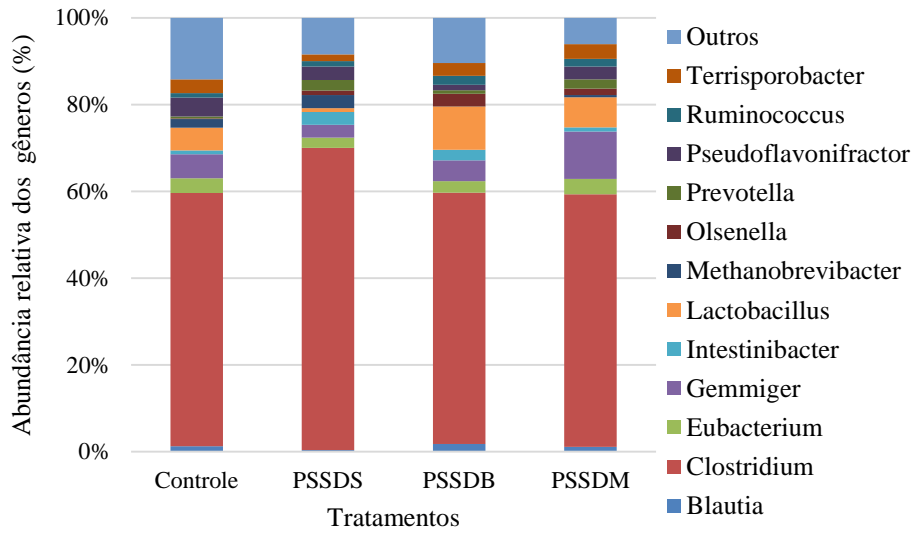
Figura 2. Concentração de bastonetes (%) de leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.



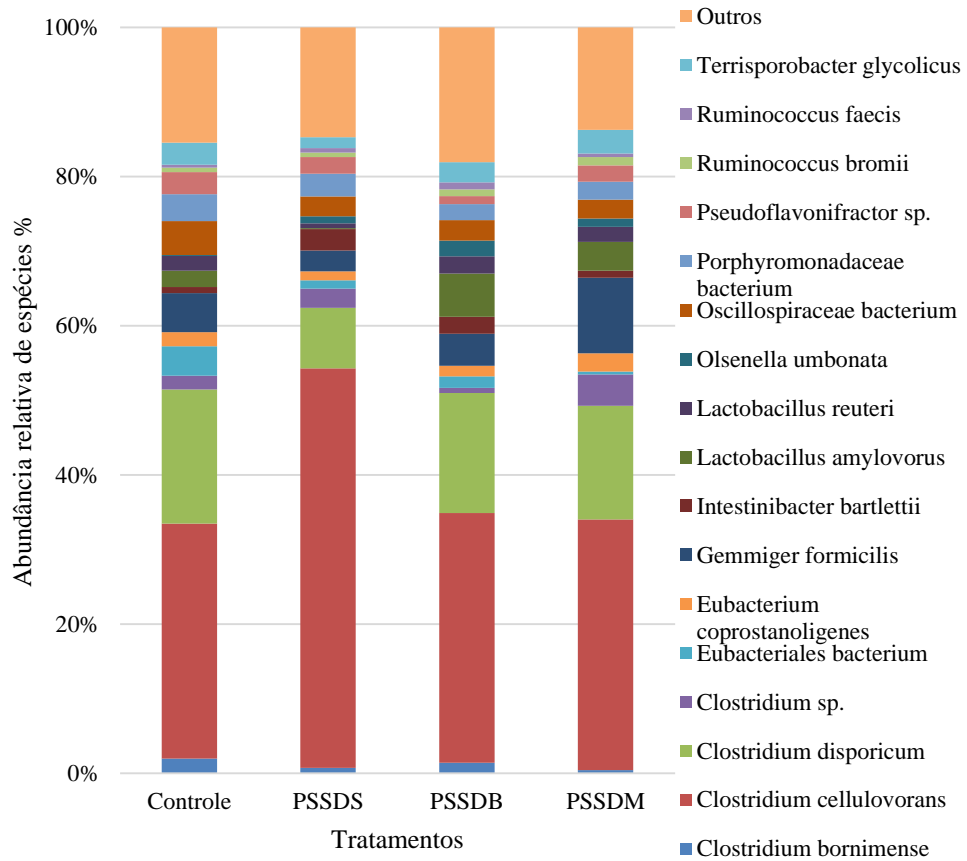
(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 3. Frequência relativa (%) dos principais filos (A), famílias (B), gêneros (C) e espécies (D) de bactérias encontradas em leitões recebendo dietas com diferentes plasmas sanguíneos spray dried de origem suína (PSSDS), bovina (PSSDB) e mista (PSSDM), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade

III. Associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco em substituição ao antibiótico promotor de crescimento em dietas para leitões pós desmame (21 aos 49 dias)¹.

Juliana Stocco Martins^{a*}, Magali Soares dos Santos Pozza^a, Alice Eiko Murakami^a, Angélica de Souza Khatlab^a, Eliane Gasparino^a, Gabriel Amaral de Araujo^a; Vitória Trindade dos Santos^a, Paulo Cesar Pozza^a

^aDepartamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, CEP: 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

¹ Artigo redigido seguindo as normas da revista Journal Animal Science (ISSN: 1871-1413).

*Autor para correspondência

E-mail: justocco1993@hotmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7525-1205>

Conflito de interesse

Os autores declaram que não houve conflito de interesse de qualquer ordem.

Highlights

- 1- Aditivos não antibióticos podem ser eficazes em dietas para leitões
- 2- A associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco pode substituir o Halquinol em dietas de leitões pós desmame.
- 3- Metabólitos plasmáticos e indicadores imunológicos corroboram os resultados de desempenho obtidos para os tratamentos em estudo.
- 4- A saúde intestinal é melhorada tanto com o uso da associação estudada ou antibióticos promotores de crescimento
- 5 – As junções estreitas e a translocação de bactérias para o fígado é melhorada com o uso de aditivos, antibióticos ou não.
- 6 – A utilização de aditivos favorece a microbiota intestinal em dietas para leitões pós desmame.
- 7- *Clostridium perfringens* do tipo A pode reduzir com a utilização de aditivos, antibióticos ou não.

1 **Associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de**
2 **zinco em substituição ao antibiótico promotor de crescimento em dietas para leitões**
3 **pós desmame (21 aos 49 dias).**

4
5 **Resumo:** Foi realizado um experimento com o objetivo de avaliar a substituição de
6 antibiótico promotor de crescimento pela associação de butirato de sódio, levedura
7 hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), em leitões pós desmame (21 aos 49
8 dias), sobre o desempenho, metabólitos plasmáticos, microbiota intestinal, produção de
9 ácidos graxos de cadeia curta, translocação de bactérias e saúde intestinal. Foram
10 utilizados 80 leitões, com peso inicial de 6.69 ± 0.19 kg, distribuídos em delineamento
11 experimental de blocos ao acaso com 5 tratamentos, constituídos de 0.00, 0.10, 0.14 e
12 0.18% BLP (Viligen) e um tratamento controle positivo (0.02% Halquinol 60%), com 8
13 repetições e 2 animais por unidade experimental (macho e fêmea). As rações foram
14 formuladas para atender à exigências dos leitões para duas fases, dos 21 aos 35 e 36 aos
15 49 dias de idade. O desempenho produtivo foi afetado, demonstrando que o aditivo pode
16 ser utilizado em substituição aos antibióticos promotores de crescimento sem
17 comprometer o desempenho dos animais. Não houve efeito ($P > 0,05$) sobre o pH do
18 conteúdo de jejuno e ceco, assim como na translocação das bactérias para o fígado, no
19 entanto, foi observado efeito ($P < 0,05$) para aumento de bactérias benéficas e redução de
20 bactérias patogênicas com o uso dos diferentes níveis do aditivo. Foi observado efeito (P
21 $< 0,05$) para as proteínas de fase aguda e imunoglobulinas aos 49 dias de idade, onde os
22 níveis crescentes de BLP não reduziram em relação ao uso de antibióticos promotores de
23 crescimento, assim como, foi observado efeito ($P < 0,05$) para as junções oclusivas,
24 demonstrando maior expressão dos genes responsáveis pela defesa do organismo
25 utilizando o BLP. Houve efeito ($P < 0,05$) da histologia, demonstrando maior altura das
26 vilosidades no duodeno e jejuno, profundidade de cripta no duodeno e a maior relação
27 vilo:cripta no jejuno com 0,18% de BLP. Para as concentrações dos ácidos graxos de
28 cadeia curta não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$). A associação de butirato de
29 sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco na dieta de leitões pode
30 substituir o uso dos antibióticos promotores de crescimento na alimentação sem
31 comprometer o desempenho zootécnico, favorecendo a microbiota benéfica para
32 *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, e reduzindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas
33 como *Clostridium*, sem influenciar o pH assim como, a concentração de ácidos graxos de
34 cadeia curta. O BLP ainda melhorou a estrutura absortiva (expressão dos genes das
35 junções estreitas), sem afetar a translocação de bactérias para o fígado, sinalizando a
36 melhora na saúde intestinal dos leitões à medida que os níveis desta associação
37 aumentaram em até 0,18%.

38
39 **Palavras-chave:** aditivos alternativos; antimicrobianos; modulação intestinal; saúde
40 intestinal; translocação bacteriana

44 I. Introdução

45 O uso preventivo de antibióticos promotores de crescimento no período pós
46 desmame contribui para amenizar parte dos fatores que podem prejudicar o desempenho
47 pós desmame (Utiyama et al., 2006; Pluske, 2013). No entanto, o aumento da
48 preocupação sobre a resistência bacteriana aos antibióticos, em humanos e animais, levou
49 a proibição do uso de vários antimicrobianos utilizados com a finalidade de aditivos
50 melhoradores de desempenho em rações para animais, incluindo o banimento em alguns
51 países.

52 Desta forma, existe a necessidade de desenvolver e avaliar a eficácia de novos
53 compostos para substituir os antibióticos promotores de crescimento. Estudos sugerem
54 que aditivos que favoreçam a microbiota intestinal dos animais devem ser considerados,
55 permitindo que os mesmos consigam um melhor desempenho frente aos desafios da fase
56 de desmame (Pluske et al., 2018). A partir disso, diversos aditivos foram desenvolvidos
57 e avaliados, observando-se respostas variáveis. No entanto, a associação de substâncias
58 que tenham ação em melhorar a saúde intestinal pode ser uma alternativa a ser
59 considerada, pois pode contar com compostos que atuam de diferentes maneiras em
60 diferentes segmentos do intestino.

61 O interesse zootécnico na utilização dos ácidos orgânicos é com base na
62 acidificação, induzindo a redução do pH gástrico, alterando a microbiota intestinal,
63 através de controle bactericida ou bacteriostático, inibindo a invasão e colonização por
64 patógenos e favorecendo a proliferação de alguns microrganismos benéficos
65 (Suryanarayana et al., 2015). A utilização de ácidos orgânicos na forma de sais, como o
66 fornecimento do butirato de sódio para leitões, evidenciam a redução da presença de
67 *Clostridium* e *Escherichia coli* no intestino, além disso, melhora as vilosidades do
68 intestino, aumentando a absorção dos nutrientes, além de melhorar o desempenho dos
69 animais (Lu et al., 2008).

70 As leveduras são consideradas as fontes mais antigas de proteínas unicelulares,
71 amplamente usadas na alimentação animal, a levedura hidrolisada, obtida através da
72 hidrólise da parede celular, expõe o citoplasma e disponibiliza grande quantidade de
73 nucleotídeos, polipeptídios, vitaminas e os compostos da parede celular (Sauer et al.,
74 2011). Neste sentido, os componentes da levedura hidrolisada, são considerados
75 prebióticos, portanto, uma característica destes carboidratos é ser resistente a degradação
76 enzimática na porção inicial do trato gastrointestinal (TGI), favorecendo suas funções

77 benéficas ao longo do trato sobre o sistema imune, com a capacidade de fermentação
78 seletiva por bactérias benéficas, propriedades imunomodulatórias, e o estímulo da
79 produção de citocinas e imunoglobulinas (Yasui e Ohwaki, 1991; Silva e Nörnberg,
80 2003).

81 O zinco é um elemento químico essencial para os animais, as formas mais
82 comuns de suplementação em suínos é as fontes inorgânicas, no entanto, os valores de
83 inclusão são maiores que a exigência nutricional, estas fontes são menos estáveis
84 estruturalmente e menos biodisponíveis (NRC, 2012). Por outro lado, as fontes orgânicas
85 como o proteinato de zinco são mais estáveis estruturalmente e têm maior
86 biodisponibilidade, resultando em melhor absorção e metabolização (Miles e Henry,
87 2000). A medida que se eleva a concentração de zinco na dieta, aumenta a quantidade de
88 zinco ligado à metalotioneína intestinal, envolvida na homeostase desse mineral e nas
89 alterações fisiológicas do trato gastrointestinal, podendo resultar em aumento na absorção
90 dos nutrientes e alteração da morfologia do intestino, podendo, ser um possível
91 mecanismo de ação responsável pelo aumento do desempenho dos leitões (Carlson et al.,
92 1999).

93 Neste sentido, a associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada
94 e proteinato de zinco nas dietas dos animais pode ser uma alternativa aos antibióticos
95 utilizados como promotores de crescimento, uma vez que possuem a capacidade de
96 modular o microbioma intestinal, favorecendo o crescimento de bactérias benéficas e,
97 consequentemente, reduzindo a colonização dos patógenos intestinais, proporcionando
98 maior capacidade de absorção dos nutrientes (Zhang et al., 2017).

99 De acordo com o que foi mencionado, o objetivo foi avaliar a associação de
100 butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco como modulador
101 do estado de saúde de leitões no período pós desmame (21 a 49 dias de idade).

102

103 II. Material e Métodos

104 O experimento foi realizado no Setor Suinocultura da Fazenda Experimental de
105 Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), no estado do Paraná.
106 Os procedimentos experimentais com os animais foram aprovados pelo Comitê de
107 Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA-UEM), e aprovados pelo
108 nº 5265070222.

109

110 2.1. Animais e instalações

111 Foram utilizados 80 leitões (Piétrain × Landrace × Large White) de 21 a 49 dias
112 de idade, fêmeas e machos castrados, alojados em baias de creche suspensas (1,25 m²)
113 com piso parcialmente vazado, com comedouros automáticos e bebedouros do tipo
114 “chupeta”, proporcionando livre acesso à água e ração durante todo o período
115 experimental. As baias localizavam-se em galpão de alvenaria dotado de ventiladores e
116 de lâmpadas incandescentes individuais por baia, para controle de temperatura ambiente.

117 A temperatura ambiente e umidade relativa no interior do galpão, durante o
118 período experimental, foram monitoradas com auxílio de um datalogger (AKSO-AK172).
119 As médias de temperaturas mínima e máxima, registradas no período experimental no
120 galpão, foram de 18,57 ± 2,34°C e 23,09 ± 3,05°C, respectivamente. A média da umidade
121 relativa mínima e máxima do ar no período experimental no galpão foi de 52,11 ± 10,11%
122 e 72,11 ± 09,02%, respectivamente.

123

124 2.2. Delineamento e dietas

125 Foram utilizados 80 leitões, desmamados aos 21 dias de idade, com peso inicial
126 médio de 6,69 ± 0,19 kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso,
127 com cinco tratamentos, oito unidades experimentais e dois animais por unidade
128 experimental (macho e fêmea). O critério utilizado para a formação dos blocos foi o
129 período em que os blocos foram iniciados.

130 Os tratamentos consistiram de 0.00, 0.10, 0.14 e 0.18% da associação de butirato
131 de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco – BLP (Viligen[®]) e um
132 tratamento controle positivo (0.02% Halquinol 60%).

133 As rações experimentais foram isonutrivivas e formuladas seguindo as
134 recomendações propostas por Rostagno et al. (2017), alterando apenas a concentração dos
135 aditivos objeto do estudo, que foram adicionados às custas do inerte (caulim). O programa
136 nutricional foi dividido em pré-inicial I (Tabela 11) e pré-inicial II (Tabela 12), para
137 leitões dos 21 aos 35 e dos 36 aos 49 dias de idade, respectivamente.

138

139 2.3. Desempenho produtivo

140 Os animais foram pesados no início e no final do período experimental para
141 determinação do ganho de peso diário (GPD) e as rações fornecidas aos leitões foram

142 pesadas para determinar o consumo diário de ração (CDR) e, de posse do GPD e CDR foi
143 calculada a conversão alimentar (CA).

144

145 2.4. Contagem microbiológica e pH do conteúdo intestinal

146 Ao final do experimento, um leitão por unidade experimental foi submetido à
147 anestesia (cetamina e xilasina) e uma incisão abdominal foi realizada para coletar
148 amostras do jejuno e ceco.

149 O pH do jejuno e do ceco foi medido usando um eletrodo de pH combinado,
150 após homogeneização das fezes em água destilada (1:9 p/v).

151 O conteúdo de jejuno foi coletado para contagens microbiológicas de
152 *Lactobacillus sp* e *Escherichia coli* e no conteúdo de ceco foram realizadas as contagens
153 de *Bifidobacterium sp.* e *Clostridium perfringens*. Foi realizada a homogeneização das
154 amostras do jejuno e ceco em água peptonada 0,1% (m/v), posteriormente foram
155 realizadas diluições sucessivas, em triplicata, em 9mL de água peptonada 0,1%,
156 utilizando alíquotas de 1000µL. As amostras diluídas foram submetidas a 80 °C por 10
157 minutos para germinação de esporos, eliminação de células vegetativas e possíveis
158 contaminantes, seguindo-se com sementeiras em meios específicos, utilizando ágar para
159 MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) para lactobacilos, meio VRB (Violet Red Bile Agar)
160 para coliformes totais, meio SPS (sulfito polimixina sulfadiazina) acrescentado de
161 substância tensoativa 0,05% de Tween 80% para contagem de clostrídios e, para a
162 contagem de bifidobactérias, foi utilizado o meio BSA (Bifidobacteria selective agar)
163 acrescentado de cloreto de lítio e propionato de sódio, para inibir o crescimento de outras
164 bactérias ácido lácticas.

165 As placas de Petri foram incubadas em estufa BOD com a temperatura
166 controlada a 37°C. O período de incubação foi de 48 horas, sendo que para clostrídios e
167 bifidobactérias as placas de Petri foram colocadas em jarros de anaerobiose nas quais a
168 ausência de oxigênio era assegurada pela utilização de placas de anaerobiose
169 (Anaerobac®). Após o período de incubação, as colônias foram contadas utilizando um
170 contador de colônia “QUEBEC”, e os resultados obtidos foram expressos em
171 \log_{10} .UFC.mL⁻¹.

172

173 2.5. Perfil genético dos isolados de *Clostridium perfringens*

174 Após incubação e a contagem das colônias, as culturas de *Clostridium*
175 *perfringens* foram repicadas para tubos contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI)
176 (Difco, Estados Unidos da América) e incubadas por mais 24 horas à 37°C em ambiente
177 de anaerobiose. Em seguida, as amostras foram submetidas à análise RAPD-PCR
178 (Polymerase Chain Reaction) para extração de DNA. Os isolados bacterianos foram
179 analisados genotipicamente usando a técnica de DNA polimórfico amplificado aleatório
180 (RAPD) para analisar o perfil genético dos isolados quando comparados às cepas
181 produtoras de toxinas (Crop Bank).

182 As reações foram realizadas em um termociclador T100 (BioRad) em um
183 volume final de 25 µL contendo 1 µL de DNA, 1,0U Taq DNA Polimerase (Invitrogen),
184 Taq Buffer, 3mM MgCl₂, 0,25mM dNTPs e 2,48 pmol do oligonucleotídeo. As
185 condições cíclicas utilizadas foram baseadas em 2 minutos para desnaturação inicial a
186 94°C, 35 ciclos de 94°C 1 minuto, pareamento a 42°C por 20 segundos, 72°C por 2
187 minutos e extensão final de 72°C por 10 minutos. O controle negativo recebeu todos os
188 reagentes, exceto o DNA. O produto RAPD foi analisado em gel de agarose a 1,5%,
189 revelado por brometo de etídio (0,5 g.ml⁻¹) e analisado pelo documentador fotográfico
190 L-PIX ST (LOCCUS). O perfil RAPD obtido foi combinado em uma matriz e comparado
191 usando o coeficiente de Jaccard.

192 A correlação dos coeficientes foi calculada pelo método de grupos de pares não
193 ponderados com médias aritméticas (UPGMA) através do Sistema de taxonomia
194 numérica de programas multivariados (NTSYS).

195

196 2.6. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo intestinal

197 Para determinação dos ácidos graxos voláteis (ácidos acético, propiônico e
198 butírico) o conteúdo de jejuno e ceco foram coletados num recipiente plástico e 2g foram
199 misturados com 6ml de ácido fórmico 16% e armazenado em geladeira a 4°C por um
200 período 24 horas. Posteriormente, estas soluções foram centrifugadas (Rotina 420R,
201 Hettich Lab Technology, Tuttlingen, Alemanha) a 4000rpm por 15 minutos a 15 °C. No
202 final da centrifugação o sobrenadante foi submetido a duas novas centrifugações e foi
203 transferido para um tubo eppendorf, passando por uma nova centrifugação a 14000 rpm
204 por 15 minutos a 4°C, para posterior congelamento.

205 A determinação dos AGV foi realizada por cromatografia em fase gasosa
206 (Shimadzu® GC- Plus 2010), no Laboratório de Química da UEM, dotada com um
207 detector de ionização em chama (FID). Foi utilizada a coluna ZB-WAX-PLUS, com fase
208 estacionária (100% polietilenoglicol), que possui polaridade alta. Foram estabelecidos o
209 tamanho da coluna cromatográfica (30m x 0,32mm) e a espessura do filme (0,50 µm). As
210 temperaturas do injetor e detector foram mantidas em 250°C. A temperatura da coluna
211 foi aquecida até 80°C, mantida por 1 min e então aquecida novamente até 235°C, a uma
212 taxa de aquecimento de 35°C min⁻¹ e, em seguida, mantida constante por cinco minutos,
213 totalizando um tempo de análise de 10,29 minutos. O hidrogênio (H₂), com fluxo
214 constante de 1,2 mL min⁻¹, foi utilizado como gás de arraste e o Nitrogênio como gás
215 auxiliar (make-up) a 30 mL min⁻¹. No detector, a chama foi produzida usando H₂ e ar
216 sintético com fluxos de 40 e 400 mL min⁻¹, respectivamente. As amostras foram injetadas
217 no modo split, com razão 1:80 e volume de injeção de 1,0µL. Os AGVs foram
218 identificados por comparação do tempo de retenção dos constituintes da amostra e padrão.
219

220 2.7. Expressão gênica das tight junctions intestinais

221 As reações em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) consistiram de 5 µl
222 de cDNA (concentração de 40 ng/µl, 80 ng/µl e/ou 120 ng/µl) (Tabela 13), 0,4 e/ou 0,8
223 µl de cada primer (forward e reverse) a 10 µM (concentração final: 200 e/ou 400 nM,
224 respectivamente), 10 µl de PowerUP™ SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems,
225 Vilnius, Lithuania) e água UltraPure™ DEPC-Treated Water (Invitrogen, Carlsbad CA,
226 USA) na quantidade suficiente para completar o volume final de cada reação de 20 µl. As
227 reações de qPCR foram realizadas no termociclador StepOne™ Real Time PCR System
228 versão 2.3 (Applied Biosystems™) em duplicata, e os parâmetros do ciclo térmico para
229 todos os genes foram os seguintes: ativação da uracil-DNA glycosylase (UDG) a 50°C
230 por 2 minutos, ativação a enzima Dual-Lock™ DNA polymerase a 95°C por 2 minutos,
231 seguido de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 3 segundos e anelamento/extensão a
232 60°C por 30 segundos, finalizando com a curva de melting entre 60 e 95°C.

233 Os genes alvos analisados, zônula oclusiva 1 (*ZO1*), tight junction 2 (*TJP2*),
234 ocludina (*OCLN*), claudina 2 (*CLDN2*), claudina 3 (*CLDN3*), claudina 4 (*CLDN4*) e
235 claudina 5 (*CLDN5*), específicos para a espécie *Sus scrofa*, foram desenhados com base
236 nas sequências dos genes depositadas no National Center for Biotechnology Information
237 (NCBI) www.ncbi.nlm.nih.gov. O gene β-actina também específico para a espécie *Sus*

238 *scrofa* foi utilizado como controle endógeno, e foi desenhado com base na sequência do
239 gene depositada no NCBI usando o site www.idtdna.com. Todas as análises foram
240 realizadas em duplicatas.

241 As eficiências de amplificação (90% a 110%) foram semelhantes para todos os
242 genes de interesse. A análise das curvas de melt não revelou produtos de PCR
243 inespecíficos, demonstrando a confiabilidade dos dados para estimar a expressão de
244 mRNA dos genes avaliados. O controle endógeno, β -actina, não apresentou diferenças
245 significativas entre os tratamentos, o que confirmou sua adequação como controle
246 endógeno.

247 O método $2^{-\Delta CT}$ (Livack e Schmittgen, 2001), onde $\Delta CT = (CT \text{ gene alvo} - CT$
248 $\text{gene endógeno})$, foi utilizado para a quantificação relativa de expressão gênica relativa,
249 e os resultados obtidos são apresentados como unidade arbitrária (UA).

250

251 2.8. Translocação de bactérias para o fígado

252 Para avaliar a translocação de bactérias entéricas, uma amostra do fígado (± 10
253 g) dos leitões foi coletada em condições assépticas e imediatamente congelada a -82°C .
254 Estas amostras foram diluídas com uma solução tampão de fosfato (pH 7,2). As diluições
255 em série foram cultivadas aerobicamente em placas com ágar MRS e VRB, a 37°C , por
256 24 horas. Após estes procedimentos, as UFC de *Lactobacillus* e *Escherichia coli* foram
257 contadas nas placas.

258

259 2.9. Histologia intestinal do duodeno e jejuno

260 No intestino delgado, amostras (± 3 cm) foram coletadas da porção média do
261 duodeno, e do jejuno. As amostras foram fixadas em solução de formalina tamponada a
262 10%, a desidratação em série de álcoois e passaram por bateria de xilol, as amostras foram
263 incluídas em parafina e microtomizadas com montagem das lâminas.

264 Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina e obtidas imagens em
265 microscópio de luz Olympus BX41 acoplado a um sistema de imagem Olympus DP11-
266 N. As imagens foram transferidas para um computador e as avaliações morfométricas
267 foram realizadas usando o software Image-Pro Plus®.

268 Para as medições da altura da vilosidade e profundidade da cripta foram
269 realizadas 15 leituras por amostra para cada parâmetro. A partir dos resultados obtidos,

270 foi calculada a altura da vilosidade e a profundidade da cripta para cada amostra analisada,
271 assim como a relação vilo:cripta.

272

273 2.10. Indicadores de imunidade no sangue

274 Ao final de cada fase, os animais permaneceram em jejum alimentar por 6 horas
275 e, posteriormente, amostras de ± 10 mL de sangue foram obtidas através da punção da
276 veia cava cranial, com o auxílio de agulhas de 40 x 1,20 mm. Parte do sangue coletado
277 foi transferido para tubos com a presença ou não de anticoagulante (ácido
278 etilenodiaminotetracético-EDTA), centrifugados a 3.000 rpm, por 15 minutos, para a
279 obtenção do plasma sanguíneo, e armazenados em microtúbulos de polietileno do tipo
280 “ependorf”, para determinação das concentrações de proteínas totais e suas frações
281 (albuminas e globulinas).

282 A quantificação das globulinas foi realizada pela diferença entre albuminas e
283 proteínas totais, e a relação entre albuminas e globulinas (AB: GL) também foi calculada.
284 As análises dos indicadores bioquímicos do sangue foram realizadas com a utilização de
285 kits específicos e a leitura da absorbância foi realizada em Analisador Bioquímico
286 (Bioplus[®] 2000).

287 Adicionalmente, foram utilizados tubos contendo EDTA para a colheita de
288 sangue, para determinar a porcentagem de hematócrito e fibrinogênio. A concentração de
289 hematócrito foi determinada pelo método manual, através de uma centrífuga de
290 microhematócrito (Microspin Spin 1000) utilizando microcapilares preenchidos de
291 sangue até $\frac{3}{4}$ de sua capacidade, submetidos à centrifugação (10.000 rpm, por cinco
292 minutos). A concentração de hematócrito foi obtida através da altura da coluna dos
293 eritrócitos, usando uma escala de porcentagem do sangue total.

294 A concentração do fibrinogênio foi realizada pela técnica de precipitação pelo
295 calor (Schalm et al., 1975), em que após a centrifugação (10.000 rpm, por cinco minutos),
296 um dos tubos foi aquecido em banho-maria a 56°C, durante 3 minutos, e então foi
297 novamente centrifugado (10.000 rpm, durante 5 minutos) para a separação do
298 fibrinogênio das demais proteínas. Do plasma resultante, foi retirada uma alíquota
299 composta por uma gota de cada tubo, que foi colocada sobre o prisma do refratômetro de
300 Goldberg (Conteck CT032SG), para a leitura direta da concentração das proteínas. Os
301 valores da concentração do fibrinogênio foram obtidos pela diferença entre os resultados
302 das proteínas plasmáticas totais, obtidas a partir dos dois tubos, com e sem aquecimento.

303 Outra amostra de sangue foi encaminhada para o Laboratório de Análises
304 Veterinárias São Camilo, localizado na cidade de Maringá – Paraná, para a contagem
305 diferencial de leucócitos (eritrócitos, hemoglobina, leucócitos, linfócitos, monócitos e
306 eosinófilos), através de um analisador hematológico automático.

307 As amostras de sangue também foram utilizadas para determinação do
308 proteinograma (IgA, IgG, Ceruloplasmina, Transferrina, alfa 1 antitripsina, haptoglobina
309 e alfa 1 glicoproteína), por meio de eletroforese. Uma amostra de soro foi submetida a
310 uma corrida eletroforética em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio
311 (SDS-PAGE). Foram determinadas as frações das proteínas por densitometria
312 computadorizada, usando-se como referência um marcador com pesos moleculares
313 respectivos. As concentrações das proteínas foram determinadas pela proporção das
314 mesmas em relação aos valores da proteína total (Laemmli, 1970).

315

316 2.11. Análise estatística

317 As análises estatísticas foram efetuadas utilizando o pacote estatístico SAEG
318 (2007). O procedimento de box plot foi aplicado para avaliar a presença de outliers.
319 Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os efeitos
320 dos blocos e tratamentos foram incluídos no modelo.

321 O teste de Dunnet foi utilizado para fins de comparação de cada nível de BLP
322 com o controle positivo.

323 Os graus de liberdade em relação aos níveis de BLP foram desdobrados em
324 polinômios ortogonais para ajustar as equações de regressão por meio dos modelos
325 quadrático e / ou linear, como também foi ajustado o modelo descontínuo “Linear
326 Response Plateau” (LRP), descritos por Braga (1983), conforme o melhor ajuste obtido
327 para cada variável. O nível de significância de 5% será adotado para todos os
328 procedimentos estatísticos.

329

330 III. Resultados

331 3.1. Desempenho produtivo

332 Dos 21 aos 35 dias de idade (Tabela 14) o tratamento sem antimicrobianos
333 (0,00% BLP) apresentou menor GPD ($P=0,0004$) e CA ($P=0,0357$) em relação ao CP que,
334 por sua vez, não diferiu dos tratamentos com diferentes níveis de inclusão de BLP (0,10;

335 0,14 e 0,18% BLP). No período total (21 aos 49 dias de idade), o GPD apresentou
336 resultado semelhante, em que o tratamento 0,00% BLP foi o único que apresentou redução
337 no GPD (P=0,0196) em relação ao CP.

338 Ao avaliar os níveis de BLP na ração de leitões, dos 21 aos 35 dias de idade,
339 observa-se que o aumento dos níveis de BLP proporcionou aumento no CDR (P=
340 0,02087) e melhora na CA (P=0,01742), de modo linear (Tabela 14). Apesar do efeito
341 linear (P= 0,00097), o GPD também apresentou uma resposta quadrática (P=0,00502),
342 proporcionando a estimativa (R²=0,95) de melhor GPD ao se utilizar 0,137% BLP, mas
343 o modelo LRP apresentou melhor ajuste aos dados observados (R²=0,99), estimando um
344 nível ótimo de inclusão em 0,100% BLP (Figura 4).

345 No período total (21 a 49 dias de idade) foi observado aumento linear no CDR
346 (P= 0,03244) e GPD (P= 0,00507) em função do aumento na concentração de BLP nas
347 rações (Tabela 14).

348

349 3.2. Contagem microbiológica e pH do conteúdo intestinal

350 O uso de promotor de crescimento (CP) nas rações proporcionou menor
351 contagem de *Lactobacillus* spp (Tabela 15) no conteúdo do jejuno de leitões (P=0,0001)
352 em relação a cada um dos demais tratamentos (0,00; 0,10; 0,14 e 0,18% BLP), aos 49 dias
353 de idade. No conteúdo cecal (Tabela 15), foi observado que os tratamentos com 0,00 e
354 0,18% BLP apresentaram maiores contagens de *Bifidobactérias* spp em relação ao CP
355 (P=0,0063), e os níveis dietéticos de 0,10 e 0,18% BLP apresentaram as menores
356 contagens de *Clostridium* spp (P=0,0008).

357 Em relação aos níveis dietéticos de BLP, fornecidos para leitões dos 21 aos 49
358 dias de idade, foram ajustados os modelos quadrático (R²=0,90) e LRP (R²=0,94) para a
359 contagem de *Enterobacteria* spp no jejuno, aos 49 dias de idade, estimando um nível
360 ótimo de 0,110% e 0,073% de BLP, respectivamente (Figura 5A). No conteúdo cecal
361 foram observados efeitos lineares para a contagem de bactérias do gênero *Clostridium*
362 spp (P=0,00142) e para o pH (P=0,02728), em que o aumento na concentração de BLP
363 proporcionou a redução destas variáveis. Adicionalmente, as menores contagens de
364 *Clostridium* spp no conteúdo cecal foram estimadas pelos modelos quadrático e LRP
365 (P=0,00677) aos níveis de 0,096% (R²=0,76) e 0,079% (R²=0,80) de BLP,
366 respectivamente (Figura 5B).

367

368 3.3. Perfil genético dos isolados de *Clostridium perfringens*

369 Das 36 amostras semeadas em ágar e mantidas em atmosfera de anaerobiose para
370 o isolamento, 7 amostras apresentaram crescimento de colônias fenotipicamente
371 compatíveis com *Clostridium perfringens* tipo A (Figura 6). O tratamento CP e o 0,18%
372 de BLP foi observado maior frequência, sendo 2 animais para cada tratamento, e para os
373 demais tratamentos de 0,00; 0,10 e 0,14% de BLP, foram encontrados a frequência
374 *Clostridium perfringens* tipo A em 1 animal para cada tratamento.

375

376 3.4. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo intestinal

377 Os ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) no conteúdo do
378 jejuno e ceco de leitões, aos 49 dias de idade, não foram influenciados ($P>0,05$) pela
379 adição de BLP nas dietas em relação ao CP, assim como a não utilização de
380 antimicrobianos também apresentou resultado semelhante ao CP (Tabela 16).

381

382 3.5. Expressão gênica das tight junctions intestinais

383 A inclusão de 0,14% BLP apresentou o mesmo resultado observado para o CP ($P=$
384 $0,0205$) em relação a ZO1, os demais níveis de inclusão apresentaram resultados inferiores
385 ao CP (Tabela 17), e para ZO2 foram observados menores resultados ao se utilizar 0,14 e
386 0,18% BLP em relação ao CP ($P=0,0001$). De modo geral, a expressão observada para os
387 genes das claudinas foram maiores para o CP em relação aos níveis de inclusão de BLP
388 nas rações, uma vez que isto foi observado no caso da CLDN2 ($P=0,0001$) e CLDN5
389 ($P=0,0001$) e, no caso da CLDN 3, somente a inclusão de 0,10% BLP apresentou resultado
390 semelhante ao CP ($P=0,008$) (Tabela 17).

391 Ao se avaliar os níveis de BLP nas dietas dos leitões, desde o desmame (21 dias)
392 até 49 dias de idade (Tabela 17), foram observados efeitos lineares ZO2 ($P=0,0001$),
393 CLDN 2 ($P= 0,02466$), CLDN 3 ($0,04649$), e CLDN5 ($P=0,0004$), em que o aumento na
394 concentração de BLP proporcionou a redução destas variáveis, em contrapartida a CLDN
395 4 ($P=0,00876$) quanto maior o aumento de BLP aumentou a sua expressão. Houve ajuste
396 dos dados para o modelo LRP obtidos para ZO2, mostrou uma redução na expressão dos
397 genes até a inclusão de 0,098% BLP na dieta (Figura 7A). Por outro lado, os modelos
398 quadráticos ajustados aos dados de CLDN2, CLDN 3 e CLDN 5, proporcionaram estimar

399 a maior expressão dos genes destas proteínas ao se incluir 0,081; 0,107 e 0,08% BLP
400 (Figuras 7B, C e D).

401

402 3.6. Translocação de bactérias para o fígado

403 Não foi observada translocação de bactérias do gênero *Lactobacillus spp* e
404 *Enterobacteria spp.*, para o fígado de leitões com 49 dias de idade, ($P>0,05$) ao se
405 adicionar promotor de crescimento (CP) ou diferentes níveis dietéticos de BLP na ração
406 de leitões desde o desmame (21 dias) (Tabela 18).

407

408 3.7. Histologia do duodeno e jejuno

409 A altura de vilosidade do duodeno de leitões, com 49 dias de vida, foi maior ($P=$
410 $0,0081$) a se incluir BLP nas dietas (0,10; 0,14 e 0,18% de BLP) em relação ao CP (Tabela
411 19) que, por sua vez, foi semelhante ao tratamento sem antimicrobianos (0,00% BLP).
412 Somente a adição de 0,18% BLP na dieta apresentou maior altura das vilosidades no
413 jejuno ($P=0,0375$) em relação ao CP. Por outro lado, os tratamentos contendo 0,14 e
414 0,18% BLP apresentaram aumento na profundidade de criptas do duodeno ($P=0,0101$),
415 mas a relação vilosidade:cripta foi melhor ao se utilizar 0,18% BLP na dieta desde o desmame
416 (21 dias de idade), em relação ao CP (Tabela 19).

417 De modo geral, os níveis crescentes de BLP na dieta proporcionaram aumentos
418 lineares na altura das vilosidades ($P=0,02060$) e profundidade de criptas ($P=0,01263$), no
419 duodeno (Tabela 19). No jejuno foi observado aumento linear nas vilosidades
420 ($P=0,00173$), no entanto, no jejuno foi observada menor profundidade das criptas a
421 medida que se aumentaram os níveis dietéticos de BLP ($P=0,01756$). A combinação
422 destes resultados proporcionou uma melhora linear ($P=0,00034$) na relação vilosidade:cripta no
423 jejuno em função do aumento dos níveis de BLP nas dietas (Tabela 19).

424

425 3.8. Indicadores de imunidade no sangue

426 Aos 35 dias de idade foram observadas diferenças ($P<0,05$) para as proteínas
427 totais e suas frações de globulinas (Tabela 20). A inclusão de 0,10% BLP proporcionou
428 menores concentrações de proteínas totais ($P=0,0398$) em relação ao CP, e as globulinas
429 ($P=0,0455$) o nível de 0,18% BLP proporcionou maiores concentrações de proteínas em

430 relação ao CP. No entanto, a maior relação Albumina:Globulina foi observada ao não se
431 utilizar antimicrobianos (0,00% BLP) na dieta dos leitões ($P=0,0059$), em relação ao CP.

432 O aumento dos níveis dietéticos de BLP proporcionaram aumento linear nas
433 concentrações de globulinas ($P=0,02235$) e relação albumina e globulinas ($P=0,00682$),
434 aos 35 dias de idade (Tabela 20). Adicionalmente, o modelo quadrático foi ajustado para
435 relação albumina: globulina ($P=0,00670$), concentrações de eritrócitos ($P=0,03815$) e
436 monócitos ($P=0,00957$), assim como o modelo LRP também foi ajustado para estas
437 variáveis (Tabela 20). De modo geral, a relação albumina: globulina e as concentrações
438 de eritrócitos e monócitos reduziram até um determinado nível que inclusão de BLP nas
439 dietas, que foram estimados em 0,12 ($R^2=0,93$); 0,10 ($R^2=0,98$) e 0,10% ($R^2=0,85$),
440 respectivamente, ao se considerar o modelo quadrático; e 0,09 ($R^2=0,93$); 0,046 ($R^2=0,92$)
441 e 0,058% ($R^2=0,93$) ao se considerar o ajuste dos dados ao modelo LRP, respectivamente
442 (Figuras 8A, B e C).

443 Aos 49 dias de idade (Tabela 21), a inclusão de 0,10% BLP na dieta apresentou
444 maiores concentrações de proteínas totais ($P=0,0012$) e globulinas ($P=0,0024$) em relação
445 ao CP. No entanto, a maior relação Albumina:Globulina foi observada com 0,18% BLP
446 na dieta dos leitões ($P=0,0030$), em relação ao CP. As concentrações de hemoglobina
447 ($P=0,0023$), hematócrito ($P=0,0017$), leucócitos ($P=0,0006$) e bastonetes ($P=0,0032$)
448 foram maiores com a inclusão de 0,18% BLP em relação ao CP que, por sua vez, foi
449 semelhante em relação aos níveis dietéticos de BLP avaliados para as demais variáveis
450 do hemograma e fracionamento de leucócitos.

451 Ao avaliar os níveis de BLP na ração de leitões, aos 49 dias de idade, observam-
452 se reduções lineares nas concentrações de proteínas totais, globulinas, bastonetes e
453 fibrinogênio à medida que aumentaram os níveis de BLP. As concentrações de
454 hemoglobina, hematócrito e leucócitos aumentaram suas concentrações linearmente à
455 medida que aumentaram os níveis de BLP. Adicionalmente modelos de segundo grau e
456 ou LRP foram ajustados para a relação albumina: globulina e concentrações de
457 hemoglobina, hematócrito, leucócitos e C.H.C.M (Tabela 21).

458 O modelo quadrático foi ajustado para relação albumina: globulina ($P=0,00951$),
459 hemoglobina ($P=0,03148$), hematócrito ($P=0,002422$), leucócitos ($P=0,02225$) e
460 C.H.C.M ($P=0,03125$) assim como o modelo LRP também foi ajustado para variáveis
461 relação albumina: globulina e as concentrações de hemoglobina e C.H.C.M (Tabela 21).

462 De modo geral, a relação albumina: globulina e as concentrações de
463 hemoglobina, C.H.C.M, leucócitos, hematócrito reduziram até um determinado nível que
464 inclusão de BLP nas dietas, que foram estimados em 0,76 ($R^2=0,80$); 0,05 ($R^2=0,99$),
465 0,332 ($R^2=0,84$), 0,05 ($R^2=0,84$), 0,051 ($R^2=0,99$), respectivamente, ao se considerar o
466 modelo quadrático (Figuras 9A, B, C D e E); e a relação albumina: globulina e as
467 concentrações de hemoglobina e C.H.C.M 0,025 ($R^2=0,81$), 0,009 ($R^2=0,99$), 0,051
468 ($R^2=0,58$) ao se considerar o ajuste dos dados ao modelo LRP, respectivamente (Figuras
469 9A, B, C)

470 Aos 35 dias de idade não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para as
471 proteinograma (Tabela 22), no entanto foram observadas diferenças aos 49 dias de idade.
472 Os tratamentos contendo 0,00 e 0,18% BLP apresentaram concentrações de IgA maiores
473 ao CP ($P=0,0001$), enquanto a inclusão de 0,10% BLP proporcionou maior concentração
474 de IgG pesada ($P=0,0030$) e leve ($P=0,0221$) em relação ao CP que, por sua vez,
475 apresentou concentração de IgG leve maior ao tratamento contendo 0,00% BLP (Tabela
476 22). A ceruloplasmina apresentou maior concentração ao se utilizar 0,14% BLP na dieta
477 em relação a tratamento controle ($P=0,0009$), enquanto a glicoproteína ácida apresentou
478 maiores concentrações no sangue de leitões que não receberam antimicrobianos na dieta
479 (0,00% BLP), em relação ao tratamento controle (Tabela 22).

480 Ao se avaliar os níveis de BLP em dietas para leitões, dos 21 aos 49 dias de
481 idade, foram verificados efeitos lineares para as imunoglobulinas, a medida que aumenta
482 a inclusão de BLP as concentrações reduzem de IgA ($P=0,0204$), IgG leve ($P=0,0207$) e
483 pesado ($P=0,0184$) (Tabela 22). Adicionalmente, foram ajustados os modelos quadrático
484 ($R^2=0,99$) e LRP ($R^2=0,99$) para a concentração de IgA ($P=0,0015$), aos 35 dias de idade,
485 estimando um nível ótimo de BLP em 0,106% e 0,053% de BLP, respectivamente (Figura
486 10A). Já aos 49 dias de idade também foi ajustado o modelo quadrático, estimando as
487 maiores concentrações de IgA ao se incluir 0,079 ($R^2=0,82$) de BLP nas dietas (Figura
488 10B).

489 Da mesma forma, as maiores concentrações de haptoglobina, estimadas pelos
490 modelos quadráticos e LRP, foram observadas ao se utilizar 0,092 e 0,006% de BLP nas
491 rações, respectivamente (Figura 10D), e os mesmos modelos também foram ajustados
492 para a concentração de glicoproteína ácida, mas neste caso as menores concentrações
493 foram estimadas ao se utilizar 0,104 e 0,052% de BLP na dieta (Figura 10D). Apenas o
494 modelo quadrático foi ajustado para a concentração sanguínea de ceruloplasmina aos 49

495 dias de idade (Figura 10C), a maior concentração foi estimada ao se adicionar 0,076% de
496 BLP na dieta dos leitões, desde o desmame até os 49 dias de idade

497

498 IV. Discussão

499 O uso de antibióticos promotores de crescimento na ração de suínos foi adotado
500 com o intuito de melhorar a saúde e crescimento dos suínos, para controlar problemas
501 sanitários e melhorar o desempenho de leitões (Thacker, 2013). Entretanto, existe a
502 preocupação dos consumidores quanto a este uso dos antibióticos levando a proibição
503 completa ou de alguns princípios ativos na alimentação dos suínos, dependendo de leis e
504 normas de diferentes países. Diante disso, existe uma busca constante por
505 antimicrobianos alternativos para substituírem os antibióticos melhoradores de
506 desempenho nas rações, visando melhorar a saúde e o desempenho dos animais (Wang et
507 al., 2018), de forma que esta substituição não seja prejudicial aos animais e não irá afetar
508 negativamente o desempenho dos mesmos (Vanrolleghem et al., 2019).

509 O uso de BLP na dieta de leitões, dos 21 aos 49 dias de idade, evidencia que os
510 aditivos antimicrobianos não antibióticos podem ser uma alternativa para a retirada de
511 antibióticos promotores de crescimento nas dietas destes animais, uma vez que o uso de
512 0,10; 0,14 e 0,18% BLP proporcionou resultados de GPD e CA semelhantes ao CP, dos
513 21 aos 35 dias de idade. Adicionalmente, o GPD do período total (21 a 49 dias de idade)
514 também foi o mesmo ao se incluir 0,10; 0,14 e 0,18% BLP em relação ao CP.

515 A melhora significativa no desempenho dos leitões ao se adicionar níveis
516 crescentes de BLP também sustenta que os animais superaram o estresse pós desmame
517 mesmo sem o uso de antibióticos promotores de crescimento, uma vez que a fase pós
518 desmame é uma das mais críticas para os leitões, devido a alterações na dieta, no ambiente
519 onde será alojado, hierarquia social, fatores de manejo, etc. O que pode causar estresse e
520 comprometer o desenvolvimento intestinal e a capacidade funcional da microbiota dos
521 leitões, interferindo em seu crescimento e gerando prejuízos que afetarão negativamente
522 o seu desempenho (Pluske et al., 2018).

523 Os níveis de BLP proporcionaram ajuste dos modelos LRP e quadrático para
524 GPD no período de 21-35 dias, uma vez que os pontos de máximo calculados foram de
525 0,10% e 0,13% de BLP, respectivamente para os respectivos modelos com GPD de
526 189,03 g/dia e 192,07 g/dia.

527 Os resultados de desempenho obtidos também podem estar associados ao fato
528 de que aditivos alimentares derivados de várias substâncias podem ser mais efetivos,
529 quando comparados a apenas uma substância, e a eficiência de cada aditivo está
530 diretamente alinhada aos componentes utilizados, dose estipulada e a via de
531 administração (Wang et al., 2018). Tal fato, pode contribuir para os resultados
532 apresentados pelo BLP, pois trata-se de uma associação de substâncias que apresentam
533 características que contribuem com a saúde intestinal dos leitões.

534 Um das substancias utilizadas no BLP é as leveduras, compostas por
535 nutracêuticos como, β -glucanos, mananoligossacarídeos e nucleotídeos, que podem ser
536 utilizadas para melhorar a saúde animal. No BLP, a levedura hidrolisada como fonte de
537 nucleotídeos pode ter ajudado a reduzir a contagem de *Clostridium spp* no ceco com 0,10
538 e 0,18% de BLP e aumentado a quantidade de *Bifidobacterium spp* com 0,00 e 0,18% de
539 BLP em relação ao CP, o mesmo foi observado no jejuno em todos os níveis de BLP
540 promovendo a maior contagem de *Lactobacillus spp*. A quantificação das bactérias
541 benéficas e as de alta patogenicidade são importantes para evitar distúrbios intestinais e
542 controlar a taxa de renovação celular. Corroborando com o presente estudo, o uso da
543 levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos favorece o desenvolvimento de
544 *Bifidobacterium spp e Lactobacillus spp*, e inibem o crescimento de *Clostridium*
545 *perfringens* (Mateo et al., 2004; Uauy et al., 1994).

546 Para ajudar a melhorar a saúde intestinal tem-se utilizado ácidos orgânicos como
547 o butirato de sódio com a finalidade em reduzir o pH gástrico, proporcionando efeito
548 antimicrobiano no trato gastrintestinal além de melhorar a ação de enzimas digestivas,
549 principalmente as pepsinas, proporcionando melhor digestibilidade proteica (Cho, et al.,
550 2015), como também, os ácidos orgânicos favorecem a colonização por bactérias ácido-
551 lácticas e reduzem bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Clostridium sp.*
552 *e Salmonella sp.*, as quais apresentam alta sensibilidade a ambientes ácidos (Suiryanrayna
553 e Ramana, 2015).

554 No conteúdo do ceco foi observado a redução da população do gênero
555 *Clostridium spp* com 0,10% e 0,18% de BLP em relação ao tratamento CP, indicando que
556 a utilização de acidificantes como o butirato de sódio no BLP interferiu na modulação
557 benéfica da microbiota, contribuindo para um ambiente intestinal mais favorável aos
558 processos digestórios, pois, o equilíbrio entre *Bifidobacterias*, *Lactobacilos*, *Clostrídios*,

559 *Streptococos e Escheria Colli* reflete o estado de saúde do animal (Metzler e Mosenthin,
560 2008).

561 As bactérias patogênicas foram ajustados modelos quadrático e LRP. A menor
562 concentração de 4,80 (UFC Log₁₀), do gênero *Clostridium spp* para o modelo quadrático
563 foi de 0,096% de BLP, adicionalmente, para o ajuste do modelo LRP atingindo a menor
564 contagem em 4,97 (UFC Log₁₀) com 0,079% BLP. O gênero *Enterobacteria spp* para a
565 regressão quadrática com 0,10% de BLP sendo estimado a menor concentração de 4,10
566 (UFC Log₁₀), para o LRP 0,073%, atingindo a menor concentração em 4,35 (UFC Log₁₀).
567 Para os dois gêneros de bactérias patôgenicas a regressão quadrática demonstrou o melhor
568 ajuste para garantir a menor concentração de microorganismos nocivos à saúde animal.

569 Apesar de não ter diferenças significativas para o pH na digesta do jejuno e ceco,
570 o pH no presente estudo é elevado, o que pode justificar o aumento das enterobactérias,
571 pois, a faixa ótima de crescimento para as bactérias patogênicas é em meios com pH
572 elevado, enquanto em meios com pH entre 3,5 e 4,0, são os microrganismos benéficos
573 que têm o desenvolvimento favorecido (Suiryanrayna e Ramana, 2015).

574 As infecções intestinais de natureza bacteriana são as mais comuns e
575 economicamente mais importantes doenças que acometem, dentre os agentes bacterianos,
576 *Clostridium perfringens* é um dos principais agentes envolvidos determinando grandes
577 prejuízos econômicos (Songer, 2009). O *Clostridium perfringens* foi classificado em
578 cinco tipos toxigênicos (A-E) de acordo com as toxinas principais produzidas (alfa, beta,
579 épsilon e iota) (Niilo, 1980), estudos sugerem seu envolvimento nas doenças entéricas em
580 leitões lactentes, principalmente com um a quatro dias de vida (Yaeger, 2007). No
581 presente estudo, das 36 amostras avaliadas apenas 7 permitiram confirmar a ocorrência
582 de *Clostridium perfringens* tipo A. A partir dos resultados da PCR, pode-se inferir que
583 *Clostridium perfringens* tipo A demonstra baixa frequência na microbiota cecal, não
584 apresentando especificidade de frequência de ocorrência em determinado tratamento com
585 o uso de BLP ou com o uso de antibióticos promotores de crescimento.

586 O *Clostridium perfringens* tipo A causa diarreia não hemorrágica com a presença
587 de muco, às vezes sem a presença de diarreia, mas com lesões na mucosa do intestino
588 delgado determinando uma forma subclínica da doença (Songer e Uzal, 2005). Portanto,
589 vem sendo isolado do intestino dos leitões e é uma bactéria pertencente à microbiota
590 normal de suínos (Taylor, 1999). Estudos da prevalência em leitões são escassos na
591 literatura. Em um estudo *Clostridium perfringens* tipo A foi identificado como o principal

592 agente causador de diarreia neonatal, compreendendo 48% das 273 amostras (Yaeger,
593 2007). Apesar da confirmação da presença em algumas amostras, a avaliação histológica
594 é uma possível evidência de lesões e exclusão de enteropatógenos (Yaeger, 2007), o
595 que não foi demonstrado o comprometimento da histologia no presente estudo.

596 Para os AGCC, não foram observados resultados significativos com o uso do
597 BLP, provavelmente porque os níveis de aditivos utilizados não foram capazes de
598 influenciar a produção dos AGCC no TGI dos leitões. A produção de AGCC no intestino
599 grosso dos suínos é influenciada pela microbiota e pela composição do substrato presente
600 no intestino grosso (Van Beers-Schreurs et al., 1998). Portanto, quanto mais eficiente é o
601 epitélio intestinal do animal maior será a quantidade de AGCC encontrada no TGI desses
602 animais (Stevens et al., 1980).

603 A viscosidade da digesta está relacionada à taxa de proliferação dos enterócitos,
604 uma vez que a menor viscosidade resulta em menor produção de ácidos graxos de cadeia
605 curta (AGCC) (Serena et al., 2008) e a presença destes ácidos no lúmen intestinal estimula
606 a proliferação dos enterócitos, o que pode influenciar principalmente a profundidade de
607 cripta no intestino delgado (Knudsen et al., 2012). É importante destacar que um aditivo
608 alimentar derivado de várias substâncias pode ser mais efetivo quando comparado a
609 apenas uma substância e a eficiência de cada aditivo está diretamente alinhada aos
610 componentes utilizados, dose estipulada e a via de administração (Wang et al., 2018b).

611 O epitélio intestinal tem a função de restringir a entrada de substâncias e
612 microrganismos nocivos à saúde do animal, com isso, a barreira intestinal está relacionada
613 com às proteínas das junções estreitas que determinam a permeabilidade da mucosa
614 intestinal. Tais proteínas são, principalmente, claudina, ocludina e zônula ocludente 1
615 (ZO1) (Zhao et al., 2014). Os resultados do estudo demonstraram que os níveis relativos
616 de expressão de mRNA das proteínas das junções estreitas foram significativos, ou seja,
617 as proteínas relacionadas à defesa da barreira como a ZO1 os níveis de 0,14% de BLP e
618 ZO2 os níveis de 0,00 e 0,10% de BLP, adicionalmente o CP a expressão foi maior nos
619 leitões desses grupos em relação aos outros níveis de BLP.

620 Assim como, a expressão das claudinas 2 e 5 foram maiores para o CP, em
621 relação aos níveis de BLP, e somente a claudina 3 o nível de 0,10% de BLP foi semelhante
622 ao CP, com maiores valores de expressão. Altos níveis de expressão desses marcadores
623 indicam que o aditivo BLP, apesar dos diferentes níveis pode também melhorar a função
624 da barreira intestinal e manter o intestino saudável, sem o uso de promotores de

625 crescimento, contribuindo para redução de inflamações, devido a melhora do perfil da
626 microbiota intestinal. Sugere-se que o aumento da expressão da proteína ZO-1 e da ZO-
627 2 da junção oclusiva de enterócitos, a melhora da função de barreira pode ter resultado na
628 diminuição da captação de antígeno e na redução da estimulação para produção de
629 imunoglobulinas, fato que foi observado em alguns níveis de BLP.

630 A microbiota intestinal e o estado de imunidade dos animais são fatores que
631 influenciam na função da barreira intestinal e quando há alteração na microbiota pode
632 resultar em aumento do estímulo imunológico, desregulação epitelial causando aumento
633 da permeabilidade da mucosa, aumentando a translocação de bactérias (Camilleri et al.,
634 2012). Embora a microbiota tenha sido favorecida, os diferentes níveis de BLP e o CP
635 demonstraram ser eficazes no controle da translocação das bactérias, o que pode ser
636 explicado através do fortalecimento das junções entre as células, não permitindo a
637 translocação bacteriana no fígado.

638 O resultado de melhor desempenho e o crescimento de bactérias benéficas
639 confirmam a hipótese que a morfologia intestinal é melhorada com o uso do BLP, a
640 inclusão de 0,18% de BLP demonstrou a menor perda de células na região apical dos
641 vilos do duodeno e jejuno, o que indica uma menor presença de bactérias patogênicas
642 aderidas e denegrindo a mucosa intestinal, melhorando a altura das vilosidades e a relação
643 vilo:cripta, ou seja, melhor a absorção de nutrientes e menores as perdas energéticas com
644 renovação celular.

645 Os resultados benéficos observados com a inclusão dos diferentes níveis de
646 aditivos na dieta para a relação altura de vilos: profundidade de criptas pode ser explicado
647 pelas diversas formas de ação destes aditivos no organismo do animal. De forma direta, os
648 aditivos fornecem a possibilidade de sítios de ligação alternativos para bactérias gram-
649 negativas patogênicas, bloqueando a fixação bacteriana ao epitélio intestinal, além de
650 ligar-se a receptores de inúmeras células de defesa do intestino, que ativam as defesas
651 imunológicas, tais como a fagocitose (Murphy et al., 2007).

652 Assim como, o proteinato de zinco presente no BLP pode funcionar como um
653 agente antimicrobiano específico, pois a modificação nas vilosidades intestinais pode
654 ocasionar diarreia, à medida que se eleva a concentração de zinco na dieta, aumenta a
655 quantidade de zinco ligado à metalotioneína intestinal, proteína envolvida na homeostase
656 desse mineral e nas alterações fisiológicas do trato gastrointestinal, conseguindo resultar
657 em aumento da absorção dos nutrientes e alteração da morfologia do intestino, podendo,

658 dessa forma, ser um possível mecanismo de ação responsável pela melhora na histologia
659 intestinal.

660 De forma indireta, podem estimular seletivamente o crescimento e atividade de
661 uma ou mais bactérias benéficas no intestino, as quais competem com as patógenas,
662 reduzindo sua população, afetando positivamente a saúde do animal (Silva e Nörnberg,
663 2003). Tais efeitos benéficos resultam em maior quantidade de tecido absorptivo, levando
664 à uma possível melhora na digestibilidade e absorção dos nutrientes, e consequente
665 melhora no desempenho.

666 Todos os componentes analisados de metabólicos plasmáticos apresentam uma
667 importância no organismo, para descrever o estado de saúde e nutricional dos animais.
668 As concentrações de proteínas totais, globulinas e a relação ALB:GLOB no período de
669 35 e 49 dias de idade foram influenciadas com os níveis de BLP. A composição de BLP
670 contém butirato de sódio, que tem ação na redução do pH, consequentemente melhorando
671 a digestibilidade proteica, apesar de não demonstrar efeitos no pH foi eficaz para
672 estimular o sistema imune, não demonstrando efeitos negativos.

673 O hematócrito, hemoglobina observou-se que o nível de 0,18% de BLP
674 proporcionou maior concentração em relação aos demais tratamentos, o aumento na
675 concentração em vista da utilização do BLP se torna benéfico, pois corresponde ao
676 aumento de eritrócitos circulantes no corpo do animal, o que influencia na oxigenação
677 tecidual (Thrall, 2015).

678 O aumento da concentração de leucócitos aos 49 dias idade com 0,18% de BLP,
679 acredita-se que pode ter ocorrido alguma perturbação ao organismo dos leitões, a ponto
680 de aumentar a concentração, os leucócitos eles fornecem um mecanismo de defesa eficaz
681 ao organismo, haja vista que o número de leucócitos tende de aumentar em resposta às
682 infecções. Deve-se levar em consideração o nível utilizado, pois, níveis mais baixos do
683 aditivo podem proporcionar modulação do sistema imune do animal.

684 Os aditivos devem ser usados estrategicamente no período pós desmame, afim
685 de contribuir com o aumento da imunidade dos animais, impedindo a colonização de
686 patógenos, através de elementos que impeçam a adesão na mucosa do intestino ou
687 promovam a liberação de toxinas, afim de evitar uma superpopulação de bactérias
688 patogênicas, reduzindo assim os efeitos prejudiciais ao desenvolvimento dos leitões
689 durante a transição da fase de creche (Liu et al., 2018).

690 As concentrações dos eosinófilos tendem a ser mais baixas na corrente sanguínea
691 em situações de estresse (Feldman et al., 2000), assim como, os basófilos possuem
692 substâncias responsáveis por iniciar uma resposta aos processos inflamatório, no presente
693 estudo demonstraram que não foi desencadeado estresse aos animais a ponto de gerar uma
694 resposta inflamatória que ativassem os basófilos e eosinófilos (Marquesi et al., 2018;
695 Fleisher et al.,2019).

696 Frente aos processos inflamatórios e ou infecciosos, uma cascata de mecanismos
697 de defesa é ativado, com a ação dos macrófagos liberando citocinas pró inflamatórias,
698 que agem induzindo a produção das proteínas de fase aguda (PFA), assim como, as
699 imunoglobulinas agem como anticorpos produzindo respostas ao antígeno, com o
700 objetivo de eliminar o agente infeccioso e ou auxiliar no reparo tecidual (Gruys et al.,
701 2005). Pode-se observar que os animais do período de desmame aos 35 dias de idade, o
702 CP e os diferentes níveis de BLP não desencadearam respostas frente a processos
703 inflamatórios e ou infecciosos, demonstrando que não alteraram ou modularam a resposta
704 das PFA e das imunoglobulinas.

705 As PFA são classificadas em negativas e positivas. As PFA negativas são aquelas
706 que durante o processo inflamatório, sua síntese é diminuída (albumina, globulina e
707 transferrina) (Cerón et al., 2005). Já as PFA positivas apresentam aumento na
708 concentração sérica durante o processo inflamatório (haptoglobina, α -1 glicoproteína-
709 ácida, ceruloplasmina, fibrinogênio) (Cerón et al., 2005). Em contrapartidas aos
710 resultados dos 35 dias de idade, pode-se observar no presente estudo, o aumento da PFA
711 positiva para a ceruloplasmina para 0,14% de BLP e redução da sua concentração quando
712 utilizou 0,18% de BLP, a ceruloplasmina é uma glicoproteína transportadora do cobre,
713 essencial para a eritropoiese, tem efeito antioxidante nas células, protegendo os tecidos
714 do hospedeiro dos metabolitos do oxigênio que são liberados pelas células fagocíticas
715 durante a inflamação (Gruys et al., 2005; Cerón et al., 2005).

716 Assim como, a PFA positiva para a α -1 glicoproteína-ácida houve aumento da
717 concentração somente do tratamento com 0,00% de BLP, a α -1 glicoproteína-ácida possui
718 diversas funções como: agente anti-inflamatório e imunomoduladoras, de reparo e
719 cicatrização; aumentando a secreção da IL-1. Sua elevação sérica normalmente se inicia
720 cinco dias após sua ativação, atingindo o pico em sete dias (Cerón et al. 2005).

721 As imunoglobulinas (Ig) do tipo G, M e A são ativadas para defender o
722 organismo frente a algum processo que comprometa o animal, portanto, são responsáveis

723 pelo desenvolvimento inicial da imunidade sistêmica dos leitões (Xavier et al., 2006). A
724 concentração de IgA foi menor com a adição de 0,00 e 0,18% de BLP, e para IgG cadeia
725 leve e pesada a adição de 0,14 e 0,18% de BLP foram semelhantes ao CP, proporcionaram
726 menores concentrações de IgG, portanto não estimularam o sistema imune frente a algum
727 desafio.

728 Suínos mantidos em ambientes apresentando um alto grau de estimulação
729 imunológica apresentam alto nível plasmático de PFAs e a α -1 glicoproteína-ácida
730 (Williams et al., 1993). Apesar de não demonstrar diferenças significativas, a
731 haptoglobina é uma das principais proteínas de impacto positivo, após a ativação do
732 sistema imune pois os níveis séricos sobem rapidamente após uma lesão aguda no tecido,
733 dentre 24 a 48 horas, assim como, reduz rapidamente assim que o estímulo é removido,
734 demonstrando ser um bom indicador na inflamação crônica e infecção em suínos
735 (Gronlund et al., 2003; Eckersall, 2001).

736 O modelo LRP proporcionou melhores concentrações de IgA aos 35 dias. Efeitos
737 quadráticos aos 35 dias de idade, foi encontrado para IgA dada pela equação, com 0,106%
738 de BLP com 160,51 de IgA e o modelo LRP resultando no valor de 0,053%, atingindo o
739 plateau em 143,27 de IgA. Aos 49 dias de idade efeito quadrático para IgA com 0,079%
740 de BLP com 177,08 de IgA.

741 A ceruloplasmina foi melhor para o nível de 0,18% de BLP, α -1 glicoproteína-
742 ácida apresentou aumento com o tratamento sem a adição do antibiótico e aditivo. O
743 modelo quadrático se ajustou melhor aos dados com 0,076% de BLP com 75,56mg/dL
744 de CP. A α -1 glicoproteína-ácida o modelo quadrático se ajustou melhor aos dados com
745 0,104% de BLP com 8,77mg/dL da menor concentração da proteína. Em suínos a
746 haptoglobina, o modelo LRP se ajustou melhor aos dados com 0,006% de BLP com
747 57,75mg/dL da menor concentração de HP.

748 Dessa forma, sugere-se utilizar misturas de aditivos nas rações pode ser mais
749 eficiente do que quando utilizados isoladamente, quando ocorre a combinação pode
750 proporcionar o melhor desempenho dos animais, utilizando aditivos que atuam em
751 sinergismo para melhorar o estado sanitário e imunológico associado a maior
752 digestibilidade e absorção dos nutrientes.

753

754 V. Considerações finais

755 A associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato
756 de zinco na dieta de leitões no período pós desmame (21 aos 35 dias) pode ser utilizado
757 em substituição aos antibióticos promotores de crescimento sem comprometer o
758 desempenho zootécnico, favorecendo a colonização de *Lactobacillus* no intestino delgado
759 e *Bifidobacterium* no ceco, reduzindo o desenvolvimento de *Clostridium*, sem influenciar
760 o pH e a concentração de ácidos graxos de cadeia curta.

761 Esta associação se mostrou eficaz em relação a saúde intestinal dos leitões,
762 melhorando a expressão dos genes das junções estreitas no intestino aumentando a
763 barreira intestinal, mas sem causar a translocação de bactérias patogênicas para o fígado,
764 associado à melhor altura das vilosidades e a melhor relação vilo:cripta do jejuno à
765 medida que os níveis desta associação aumentaram em até 0,18% da associação de BLP.

766

767 VI. Referências bibliográficas

768 Arantes, V. M., Thomaz, M. C., Kronka, R. N., Malheiros, E. B., Barros, V. M., Pinto, E.
769 S., Budiño, F. E. L., Fraga, A. L., Ruiz, U. dos S., Huaynate, R. A. R. (2005). Níveis de
770 zinco na dieta de leitões recém-desmamados: desempenho, incidência de diarreia,
771 isolamento de *E. coli* e análise econômica. *Boletim de Indústria Animal*, v.62, n.3, p.189-
772 201.

773

774 Camilleri, M., Madsen, K., Spiller, R., Greenwood-Van Meerveld, B., & Verne, G. N.
775 (2012). Intestinal barrier function in health and gastrointestinal
776 disease. *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European*
777 *Gastrointestinal Motility Society*, v.24, n.6, p.503–512. (DOI:10.1111/j.1365-
778 2982.2012.01921.x).

779

780 Cho, J. H., Lee, S. I., e Kim, I. H. (2015). Effect of different levels of fibre and benzoic
781 acid on growth performance, nutrient digestibility, reduction of noxious gases, serum
782 metabolites and meat quality in finishing pigs. *Journal of Applied Animal Research*, v.43,
783 n.3, p.336–344. (DOI:10.1080/09712119.2014.978772).

784

785 Eckersall, P. D., Young, F. J., McComb, C., Hogarth, C. J., Safi, S., Weber, A.,
786 McDonald, T., Nolan, A. M., & Fitzpatrick, J. L. (2001). Acute phase proteins in serum
787 and milk from dairy cows with clinical mastitis. *The Veterinary record*, v.148, n.2, p.35–
788 41. (DOI:10.1136/vr.148.2.35).

789

790 Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. (2000) *Schalm's veterinary hematology*. 5aed.
791 Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, p.344.

792

793 Gruys, E., Toussaint, M. J., Upragarin, N., Van, E. A., Adewuyi, A. A., Candiani, D.,
794 Nguyen, T. K., & Sabeckiene, J. (2005). Acute phase reactants, challenge in the near
795 future of animal production and veterinary medicine. *Journal of Zhejiang University*.
796 *Science. B*, v.6, n.10, p.941–947. (DOI:10.1631/jzus.2005.B0941).

797

798 Halas, V., Nocht, I. (2012). Mannan Oligosaccharides in Nursery Pig Nutrition and Their
799 Potential Mode of Action. *Animals : an open access journal from MDPI*, v.2, n.2, p.261–
800 274. (DOI:10.3390/ani2020261).

801

802 Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head
803 bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p. 680-685.

804

805 Manzanilla, E. G., Nofrarías, M., Anguita, M., Castillo, M., Perez, J. F., Martín-Orúe, S.
806 M., Kamel, C., Gasa, J. (2006). Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract
807 combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of animal*
808 *science*, v.84, n.10, p.2743–2751. (DOI:10.2527/jas.2005-509).

809 Metzler, B.U., Mosenthin, R., (2008). Uma revisão das interações entre a fibra alimentar
810 e a microbiota gastrointestinal e suas consequências no metabolismo intestinal do fósforo
811 em suínos em crescimento. *Austrália Asiática. Journal Animal Science*, v.21, n.4, p.603–
812 615.

813

814 Niilo L. (1980). *Clostridium perfringens* in animal disease. A review of current
815 knowledge. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, v.21,
816 p.141-148, 1980.

817

818 Pluske, J. R. (2013). Feed- and feed additives-related aspects of gut health and
819 development in weanling pigs. *Journal of animal science and biotechnology*, v.4, n.1, p.1,
820 PMID: 22416941 (DOI:10.1186/2049-1891-4-1).
821

822 Pluske, J. R., Turpin, D. L., Kim, J. C. (2018). Gastrointestinal tract (gut) health in the
823 young pig. *Animal nutrition (Zhongguo xu mu shou yi xue hui)*, v.4, n.2, p.187–196.
824 (DOI:10.1016/j.aninu.2017.12.004).
825

826 Silva, L. P.; Nörnberg, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. (2003). *Ciência
827 Rural*, v.33, n.4, p. 55-65. (DOI: 10.1590/S0103-84782003000500029).
828

829 Songer, J. G., Trinh, H. T., Killgore, G. E., Thompson, A. D., McDonald, L. C., &
830 Limbago, B. M. (2009). *Clostridium difficile* in retail meat products, USA,
831 2007. *Emerging infectious diseases*, v.15, n.5, p.819–821.
832 (DOI:10.3201/eid1505.081071).
833

834 Stevens, C. E.; Argenzio, R. A.; Clemens, E. T. (1980). Microbial digestion: Rumen
835 versus large intestine. In: Ruckebusch, Y.; Thivend, P. *Digestive Physiology and
836 Metabolism in Ruminants*. Lancaster: MTP Press, p. 685-706.
837

838 Suiyanrayna, M. V., Ramana, J. V. (2015). A review of the effects of dietary organic
839 acids fed to swine. *Journal of animal science and biotechnology*, v.6, p.45. (DOI:
840 10.1186/s40104-015-0042-z).

841 Taylor, D.J. Clostridial Infections. In: Straw, B.E.; D'allaire, S.; Mengeling, W.L. (1999).
842 *Diseases of swine*. 8.ed. Ames: Iowa State University, 1999. p.395-412.
843

844 Thacker, P. A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine
845 production: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, v. 4, n. 1, p.1-35,
846 2013.(DOI: 10.1186/2049-1891-4-35).
847

848 Utiyama, C. E., Oetting, L. L., Giani, P. A., Ruiz, U. S., Miyada, V. S. (2006). Efeitos de
849 antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal,

850 a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. *Revista Brasileira*
851 *de Zootecnia*, v. 35, n. 6, p. 2359-2367. (DOI:10.1590/S1516-35982006000800023).

852

853 Vanrolleghem, W., Tanghe, S., Verstringe, S., Bruggeman, G., Papadopoulos, D., Trevisi,
854 P., Zentek, J., Sarrazin, S., & Dewulf, J. (2019). Potential dietary feed additives with
855 antibacterial effects and their impact on performance of weaned piglets: A meta-
856 analysis. *Veterinary journal* (London, England:1997), v.249, p.24–32.
857 (DOI:10.1016/j.tvjl.2019.04.017).

858

859 Wang, C., Shi, C., Zhang, Y., Song, D., Lu, Z., & Wang, Y. (2018). Microbiota in
860 fermented feed and swine gut. *Applied microbiology and biotechnology*, v.102, n.7,
861 p.2941–2948. (DOI:10.1007/s00253-018-8829-4).

862

863 Yaeger, M. J., Kinyon, J. M., & Glenn Songer, J. (2007). A prospective, case control
864 study evaluating the association between *Clostridium difficile* toxins in the colon of
865 neonatal swine and gross and microscopic lesions. *Journal of veterinary diagnostic*
866 *investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory*
867 *Diagnosticians, Inc*, v.19, n.1, p.52–59. (DOI:10.1177/104063870701900108).

868

869 Zhang, Y.T.L. Ward, F. Ji, C. Peng, L. Zhu, L. Gong, B. (2017). Dong Effects of zinc
870 sources and levels of zinc amino acid complex on growth performance, hematological
871 and biochemical parameters in weanling pigs Asian-Australas. *Journal Animal*
872 *Science*, v.31, issue 8, p. 1267-1274. (DOI: 10.5713/ajas.17.0739).

873

874 Zhang, Y.T.L. Ward, F. Ji, C. Peng, L. Zhu, L. Gong, B. (2017). Dong Effects of zinc
875 sources and levels of zinc amino acid complex on growth performance, hematological
876 and biochemical parameters in weanling pigs Asian-Australas. *Journal Animal*
877 *Science*, v.31, issue 8, p. 1267-1274. (DOI: 10.5713/ajas.17.0739).

878

879 Zhao, Y., Yang, L., Xiang, Y., Liu, L., Huang, G., Long, Z., Li, X., Leslie, R. D., Wang,
880 X., & Zhou, Z. (2014). Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin maintains β -cell
881 function in patients with recent-onset latent autoimmune diabetes in adults: one year

882 prospective study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, v.99, n.5,
883 E876–E880. (DOI:10.1210/jc.2013-3633)

Tabela 3. Composição centesimal das rações experimentais para leitões dos 21 aos 35 dias de idade¹

Ingredientes	CP ³	BLP ² , %			
		0,00	0,10	0,14	0,18
Milho	31,36	31,36	31,36	31,36	31,36
Farelo de soja, 45%	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Soro de leite em pó	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Arroz quirera	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Leite em pó integral	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Farinha de peixe, 54%	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Plasma sanguíneo	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Milho pré gelatinizado	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Soja micronizada	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Açúcar	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Óleo de soja	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
Fosfato bicálcico	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97
Sal	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Calcário calcítico	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
Premix Vitamínico ⁴	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Premix Mineral ⁵	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L- Lisina HCL, 78,8%	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
DL-Metionina, 99%	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
L-Treonina, 98%	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
L-Triptofano, 99%	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
L- Arginina, 99%	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Adsorvente ⁶	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de colina	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antioxidante ⁷	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Viligen	0,00	0,00	0,10	0,14	0,18
Halquinol 60%	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte ⁸	0,16	0,18	0,08	0,04	0,00
Composiçã, %					
EM ⁹ , kcal/kg	3.4500	3.4500	3.4500	3.4500	3.4500
Proteína bruta	22,7711	22,7711	22,7711	22,7711	22,7711
Cálcio	1,0680	1,0680	1,0680	1,0680	1,0680
Fósforo disponível	0,5280	0,5280	0,5280	0,5280	0,5280
Sódio	0,3084	0,3084	0,3084	0,3084	0,3084
SID Lisina	1,4510	1,4510	1,4510	1,4510	1,4510
SID Metionina + Cisteína	0,8130	0,8130	0,8130	0,8130	0,8130
SID Treonina	0,9720	0,9720	0,9720	0,9720	0,9720
SID Triptofano	0,2760	0,2760	0,2760	0,2760	0,2760
SID Valina	1,0085	1,0085	1,0085	1,0085	1,0085
SID Isoleucina	0,8013	0,8013	0,8013	0,8013	0,8013
SID Leucina	1,5711	1,5711	1,5711	1,5711	1,5711
BED mEq/kg ¹⁰	238,78	238,78	238,78	238,78	238,78

¹De acordo com Rostagno et al. (2017). ²Associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (Viligen[®]NE) ³CP - Controle positivo; ⁴Conteúdo/kg: vit. A - 10.000.000 U.I.; vit D3 - 1.500.000 U.I.; vit. E - 30.000 U.I.; vit B1 - 392 mg; vit B2 - 853 mg; vit. B6 - 396 mg; vit B12 - 5.333 mcg; ácido nicotínico - 6.533 mg; ácido pantotênico - 3.166 601 mg; vit. K3 - 485 mg; ácido fólico - 106 mg; biotina - 26 mg. ⁵Conteúdo/kg: ferro - 15 g; cobre - 2.400 mg; cobalto - 27 602 mg; manganês - 10,40 mg; zinco - 20 g; iodo - 165 mg; selênio - 60 mg e veículo q.s.p. p/ 1000 g/kg. ⁶Mycosorb A+. ⁷BHT (Butil-Hidroxi Tolueno). ⁸Caulim. ⁹Energia metabolizável. ¹⁰Balanco eletrolítico da dieta.

Tabela 12. Composição centesimal das rações experimentais para leitões dos 36 aos 41 dias de idade¹

Ingredientes	CP ³	BLP ² , %			
		0,00	0,10	0,14	0,18
Milho	45,96	45,96	45,96	45,96	45,96
Farelo de soja, 45%	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50
Soro de leite em pó	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Arroz quirera	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Leite em pó integral	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Farinha de peixe, 54%	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Plasma sanguíneo	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Milho pré gelatinizado	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Soja micronizada	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Açúcar	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Óleo de soja	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Fosfato bicálcico	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45
Sal	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Calcário calcítico	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Premix Vitamínico ⁴	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Premix Mineral ⁵	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L- Lisina HCL, 78,8%	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
DL-Metionina, 99%	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
L-Treonina, 98%	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
L-Triptofano, 99%	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
L- Arginina, 99%	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Adsorvente ⁶	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de colina	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antioxidante ⁷	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Viligen	0,00	0,00	0,10	0,14	0,18
Halquinol 60%	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte ⁸	0,16	0,18	0,08	0,04	0,00
Composição, %					
EM ⁹ , kcal/kg	3.375	3.375	3.375	3.375	3.375
Proteína bruta	20,7223	20,7223	20,7223	20,7223	20,7223
Cálcio	0,9730	0,9730	0,9730	0,9730	0,9730
Fósforo disponível	0,4810	0,4810	0,4810	0,4810	0,4810
Sódio	0,2190	0,2190	0,2190	0,2190	0,2190
SID Lisina	1,3460	1,3460	1,3460	1,3460	1,3460
SID Metionina + Cisteína	0,7540	0,7540	0,7540	0,7540	0,7540
SID Treonina	0,9020	0,9020	0,9020	0,9020	0,9020
SID Triptofano	0,2560	0,2560	0,2560	0,2560	0,2560
SID Valina	0,9290	0,9290	0,9290	0,9290	0,9290
SID Isoleucina	0,7371	0,7371	0,7371	0,7371	0,7371
BED mEq/kg ¹⁰	197,91	197,91	197,91	197,91	197,91

¹De acordo com Rostagno et al. (2017). ²Associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (Viligen® NE). ³CP - Controle positivo; ⁴Conteúdo/kg: vit. A - 10.000.000 U.I.; vit D3 - 1.500.000 U.I.; vit. E - 30.000 U.I.; vit B1 - 392 mg; vit. B2 - 853 mg; vit. B6 - 396 mg; vit B12 - 5.333 mcg; ácido nicotínico - 6.533 mg; ácido pantotênico - 3.166.601 mg; vit. K3 - 485 mg; ácido fólico - 106 mg; biotina - 26 mg. ⁵Conteúdo/kg: ferro - 15 g; cobre - 2.400 mg; cobalto - 27.602 mg; manganês - 10,40 mg; zinco - 20 g; iodo - 165 mg; selênio - 60 mg e veículo q.s.p. p/ 1000 g/kg. ⁶Mycosorb A+. ⁷BHT (Butil-Hidroxi Tolueno). ⁸Caulim. ⁹Energia metabolizável. ¹⁰Balanco eletrolítico da diet

Tabela 13. Sequência dos primers utilizados nas reações de qPCR.

Genes	Sequência do gene (5'→3')	Amplicon (pb) ¹	Número de acesso	[cDNA]
<i>ZOI</i> ²	F: GAGGATGGTCACACCGTGGT R: GGAGGATGCTGTTGTCTCGG	169	AJ318101.1	80 ng/μl
<i>TJP</i> ³	F:ATTCGGACCCATAGCAGACATAG R:GCGTCTCTTGTTCTGTTTTAGC	90	NM_001206404.1	80 ng/μl
<i>OCN</i> ⁴	F: ATGCTTTCTCAGCCAGCGTA R: AAGGTTCCATAGCCTCGGTC	176	NM_001163647.2	40 ng/μl
<i>CLDN</i> ⁵	F: GGTGACATCTAGCGCCATCT R: AAGAAGACTCCACCCACCAC	123	NM_001161638.1	80 ng/μl
<i>CLDN</i> ⁶	F: CCTACGACCGCAAGGACTAC R: GACTGGTCTCGGATGCAAGG	111	NM_001160075.1	80 ng/μl
<i>CLDN</i> ⁷	F: CGTACCGACAAGCCCTACTC R: GCAGTCCAGGGAGAAACCAA	119	NM_001161637.1	40 ng/μl
<i>CLDN</i> ⁸	F: CCTTCCTGGACCACAACATC R: CACCGAGTCGTACACCTTGC	110	NM_001161636.1	120ng/μl
β-actina	F: GGTTTATTTTGAGTGCGCAGC R:CTGGTCTCAAGTCAGTGTACAG	137	XM_003124280.3	40 ng/μl

¹*ZOI*²: zônula oclusiva 1 (Zhou et al., 2014), *TJP*³: proteína tight junction 2 (Zhang et al., 2016), *OCN*: ocludina (Zhou et al., 2014), *CLDN*²: claudina 2 (Liu et al., 2017), *CLDN*³: claudina 3 (Liu et al., 2017), *CLDN*⁴: claudina 4 (Liu et al., 2017) e *CLDN*⁵: claudina 5 (Zong et al., 2019). A temperatura de anelamento para todos os primers foi de 60°C. ²pb:pares de bases. F: forward; R:reverse.

Tabela 4. Desempenho de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Item ¹	CP ²	BLP (%)				EPM ³	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
PI, kg	6,69	6,69	6,70	6,72	6,70	-	-
21 -35 dias							
CDR, g	286,86 ^a	247,77 ^b	280,48 ^a	290,83 ^a	283,99 ^a	11,80	0,0917
GPD, g	188,40 ^a	138,24 ^b	189,02 ^a	190,83 ^a	187,23 ^a	13,32	0,0004
CA, g/g	1,56 ^a	1,93 ^b	1,57 ^a	1,60 ^a	1,57 ^a	15,93	0,0357
36-49 dias							
CDR, g	891,37	812,21	861,29	874,08	899,44	11,35	-
GPD, g	492,71	466,35	486,67	484,81	502,26	10,19	-
CA, g/g	1,80	1,76	1,79	1,80	1,79	11,44	-
21-49 dias							
CDR, g	589,11	529,99	570,89	582,46	591,71	10,36	0,2446
GPD, g	340,5 ^a	302,30 ^b	337,84 ^a	337,82 ^a	344,75 ^a	7,82	0,0196
CA, g/g	1,73	1,75	1,69	1,72	1,72	10,25	0,8811
Item ¹	Equações					R ²	Modelo ⁴
21 -35 dias							
CDR	$\hat{Y} = 251,954 + 226,779x$					0,64	L
GPD	$\hat{Y} = 145,473 + 293,901x$					0,57	L
	$\hat{Y} = 138,353 + 784,674x - 2865,24x^2$					0,95	Q
	$\hat{Y} = 138,24 + 507,800x$					0,99	LRP
CA	$\hat{Y} = 1,88159 - 2,04613x$					0,58	L
21-49 dias							
CDR	$\hat{Y} = 532,037 + 349,761x$					0,87	L
GPD	$\hat{Y} = 305,752 + 237,380x$					0,73	L

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹CDR= Consumo diário de ração, GPD = Ganho de peso diário; CA= conversão alimentar; ²0.02% Halquinol (60%); ³Erro padrão da média; ⁴Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau; R²=Coeficiente de determinação.

Tabela 5. Contagem microbiológica e pH do conteúdo do jejuno e ceco de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idades, expressos em UFC (Log₁₀)

Item	CP ¹	BLP, %				EPM ²	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
Jejuno							
<i>Lactobacillus spp</i>	6,25 ^a	7,37 ^b	6,81 ^b	7,27 ^b	7,22 ^b	10,18	0,0001
<i>Enterobacteria spp</i>	4,69	5,14	4,07	4,23	4,48	24,73	0,0758
pH	7,35	7,16	7,37	7,30	7,32	2,73	0,7069
Ceco							
<i>Bifidobacterium spp</i>	8,12 ^a	8,48 ^b	8,32 ^a	8,28 ^a	8,36 ^b	3,16	0,0063
<i>Clostridium spp</i>	5,37 ^a	5,61 ^a	4,80 ^b	5,02 ^a	4,92 ^b	9,79	0,0008
pH	5,85	6,18	5,94	5,95	5,95	4,51	0,1828
Item	Equações					R ²	Modelo ³
Jejuno							
<i>Enterobacteria spp</i>	$\hat{Y}=5,13052-18,5408x+83,605x^2$					0,90	Q
	$\hat{Y}=5,14-10,700x$					0,94	LRP
Ceco							
<i>Clostridium spp</i>	$\hat{Y}=5,53815-4,73365x$					0,45	L
	$\hat{Y}=5,61299-16,8548x+87,5342x^2$					0,76	Q
	$\hat{Y}=5,61-8,100x$					0,80	LRP
pH	$\hat{Y}=6,05622-1,7437x$					0,96	L

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹0.02% Halquinol (60%); ²Erro padrão da média; ³Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau; R²=Coeficiente de determinação; UFC= unidades formadoras de colônias.

Tabela 6. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta no jejuno e ceco de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade

Item (mmol/L) ¹	CP ²	BLP, %				EPM ³	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
Jejuno							
Acético	14,75	14,95	13,82	13,95	14,72	30,47	0,3365
Propiônico	4,38	4,41	4,45	4,43	4,37	23,62	0,7622
Butírico	0,97	1,05	1,01	1,01	1,02	38,56	0,9659
Total	20,64	20,41	19,27	20,11	20,11	23,63	0,6083
Ceco							
Acético	69,87	71,02	76,73	79,04	57,62	17,64	0,8588
Propiônico	31,19	31,15	28,62	33,58	30,71	7,16	0,9892
Butírico	1,32	1,38	1,48	1,46	1,48	29,19	0,9890
Total	102,37	103,55	106,83	114,09	94,24	12,03	0,8286

²Halquinol 0.02% (60%); ³Erro padrão da média

Tabela 7. Expressão gênica das junções estreitas “tight junctions” do epitélio intestinal de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade, expresso em UA¹

Item ¹	CP ²	BLP, %				EPM ³	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
21- 49 dias							
ZO1	0,01923 ^a	0,01063 ^b	0,01259 ^b	0,01406 ^a	0,01234 ^b	30,35	0,0205
ZO2	0,07245 ^a	0,06266 ^a	0,06045 ^a	0,02299 ^b	0,04440 ^b	18,52	0,0001
OCLN	0,03927	0,02755	0,03210	0,05544	0,04017	47,68	0,1397
CLDN2	0,19675 ^a	0,06578 ^b	0,15327 ^b	0,04930 ^b	0,06245 ^b	21,18	0,0001
CLDN3	0,01587 ^a	0,00765 ^b	0,01316 ^a	0,00688 ^b	0,00724 ^b	30,22	0,0008
CLDN4	0,03593	0,02461	0,02902	0,02660	0,03852	28,49	0,0538
CLDN5	0,00234 ^a	0,00047 ^b	0,00163 ^b	0,00068 ^b	0,00023 ^b	34,71	0,0001
CLDN1	0,00393	0,00276	0,00316	0,00062	0,00175	113,06	0,3037
Item ¹	Equações					R ²	Modelo ⁴
ZO2	$\hat{Y}=0,063736-0,153431x$					0,42	L
	$\hat{Y}=0,0643313-0,194459x+0,239535x^2$					0,56	Q
	$\hat{Y}=0,0673-0,233115x$					0,56	LRP
CLDN2	$\hat{Y}=0,0901143-0,0706035x$					0,10	L
	$\hat{Y}=0,0699002+1,32275x-8,13470x^2$					0,30	Q
CLDN3	$\hat{Y}=0,00923609-0,00476518x$					0,11	L
	$\hat{Y}=0,00789494+0,876799x-0,539715x^2$					0,36	Q
CLDN5	$\hat{Y}=0,000846553-0,000923046x$					0,12	L
	$\hat{Y}=0,00497131+0,0233693x-0,141824x^2$					0,70	Q

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹Resultados expressos em unidades arbitrárias, ZO= zônula ocludina 1 e 2; OCLN= ocludinas, CLDN= claudinas 1, 2, 3, 4 e 5; ²0.02% Halquinol (60%); ³Erro padrão da média; ⁴Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau; R²=Coeficiente de determinação

Tabela 8. Translocação de microrganismos para o fígado de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade, expressos em UFC (Log₁₀)

Item	CP ¹	BLP, %				EPM ²	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
<i>Enterobacteria spp</i>	2,64	2,67	2,64	2,68	2,54	20,72	0,9554
<i>Lactobacillus spp</i>	2,63	2,39	2,79	2,76	2,72	20,08	0,2236

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹0.02% Halquinol (60%); ²Erro padrão da média; UFC= unidades formadoras de colônias.

Tabela 9. Altura das vilosidades, profundidade de criptas (cm) e a relação vilo:cripta de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde odesmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade

Item (mm) ¹	CP ¹	BLP, %				EPM ²	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
Altura de vilosidades							
Duodeno	355,4 ^a	358,8 ^a	412,7 ^b	412,5 ^b	413,2 ^b	10,72	0,0081
Jejuno	375,8 ^a	365,4 ^a	393,0 ^a	417,3 ^a	438,8 ^b	12,45	0,0375
Profundidade de criptas							
Duodeno	267,5 ^a	293,2 ^a	303,5 ^a	342,2 ^b	336,2 ^b	14,09	0,0101
Jejuno	281,4	303,7	288,9	278,3	257,8	13,26	0,2026
Vilo:Criptas							
Duodeno	133,9	129,9	137,8	132,9	129,7	17,73	0,9568
Jejuno	136,8 ^a	124,7 ^a	142,2 ^a	150,2 ^a	167,6 ^b	17,15	0,0233
Item ¹	Equações					R ²	Modelo ³
Altura de vilosidades							
Duodeno	$\hat{Y}=365,9+317,8x$					0,61	L
Jejuno	$\hat{Y}=361,5+401,4x$					1,00	L
Profundidade de criptas							
Duodeno	$\hat{Y}=290,1+272,9x$					0,81	L
Jejuno	$\hat{Y}=307,2-237,7x$					0,98	L
Vilo:Criptas							
Jejuno	$\hat{Y}=1,22624+2,24959x$					0,98	L

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹Halquinol 0.02%; ²Erro padrão da média; ³Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau. R²=Coeficiente de determinação.

Tabela 20. Indicadores de imunidade no sangue de leitões, aos 35 dias de idade, recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade)

Item ¹	CP ²	BLP, %				EPM ³	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
Proteínas totais (g/dL)	6,50 ^a	5,74 ^a	5,39 ^b	6,36 ^a	6,22 ^a	12,76	0,0398
Albumina (g/dL)	3,02	3,15	2,81	2,95	2,87	9,30	0,1482
Globulina (g/dL)	2,26 ^a	2,39 ^a	2,65 ^a	2,82 ^a	3,06 ^b	20,65	0,0455
Alb:Glob	1,02 ^a	1,35 ^b	0,99 ^a	1,01 ^a	1,05 ^a	18,35	0,0059
Eritrócitos (mil/μL)	6,54	7,38	6,54	6,77	7,00	10,91	0,1607
Hemoglobina (g/dL)	10,98	11,58	10,60	10,30	11,48	14,48	0,4379
Hematócrito (%)	33,25	34,50	31,50	31,50	34,75	12,35	0,3435
V.C.M (fL)	51,21	47,15	48,08	47,86	49,38	12,24	0,6824
C.H.C.M (%)	33,08	33,58	33,55	33,16	33,17	2,81	0,7302
Plaquetas (μL)	577.000	522.571	461.850	603.291	520.000	31,58	0,5092
Leucócitos (μL)	1.8627	1.8125	1.8712	1.7167	1.9512	23,87	0,8702
Bastonetes (%)	0,000	0,125	0,000	0,125	0,125	310,53	0,9017
Segmentados (%)	55,28	42,00	53,00	49,87	51,00	25,20	0,3057
Linfócitos (%)	42,57	55,62	47,00	48,37	46,62	25,08	0,3135
Monócitos (%)	1,12	1,25	0,42	0,14	0,87	119,10	0,1052
Eosinófilos (%)	0,75	0,75	1,00	0,62	1,12	105,81	0,7949
Basófilos (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Fibrinogênio (g/dL)	399,37	325,00	312,50	325,00	362,50	52,58	0,8682
Item ¹	Equações				R ²	Model ⁴	
Globulina	$\hat{Y}=2,35640+3,58666x$				0,99	L	
Alb:Glob	$\hat{Y}=1,29991-1,84494x$				0,47	L	
	$\hat{Y}=1,35676-5,76368x+22,8785x^2$				0,93	Q	
	$\hat{Y}=1,3580-3,584x$				0,93	LRP	
Eritrócitos	$\hat{Y}=7,37321-15,0457x+72,9858x^2$				0,85	Q	
	$\hat{Y}=7,3800-8,400x$				0,92	LRP	
Monócitos	$\hat{Y}=1,27082-19,2587x+91,9644x^2$				0,98	Q	
	$\hat{Y}=1,2433-8,000x$				0,99	LRP	

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹Alb:Glob= Relação albumina e globulina; V.C.M= Volume corpusculas médio; C.H.C.M= Concentração da hemoglobina corpuscular média; ²Halquinol 0.02% (60%); ³Erro padrão da média; ⁴Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau. R²=Coeficiente de determinação.

Tabela 10. Indicadores de imunidade no sangue de leitões, aos 49 dias de idade, recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade)

Item ¹	CP ²	BLP, %				EPM ³	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
Proteínas totais (g/dL)	6,12 ^a	6,51 ^a	6,89 ^b	6,08 ^a	6,05 ^a	6,62	0,0012
Albumina (g/dL)	2,97	3,22	3,15	3,07	3,36	9,44	0,1357
Globulina (g/dL)	3,17 ^a	3,28 ^a	3,91 ^b	3,01 ^a	3,11 ^a	13,25	0,0024
Alb:Glob	0,85 ^a	1,01 ^a	0,83 ^a	1,00 ^a	1,12 ^b	15,45	0,0030
Eritrócitos (mil/μL)	6,35	6,17	6,30	6,45	6,77	9,99	0,4129
Hemoglobina (g/dL)	11,10 ^a	10,94 ^a	10,81 ^a	11,47 ^a	12,39 ^b	6,82	0,0023
Hematócrito (%)	33,50 ^a	33,37 ^a	33,12 ^a	34,37 ^a	38,00 ^b	6,96	0,0017
V.C.M (fL)	53,38	53,45	51,46	53,20	54,67	7,22	0,5887
C.H.C.M (%)	33,12	33,23	33,76	33,58	33,43	1,64	0,1669
Plaquetas (μL)	397.262	431.343	401.312	452.432	400.557	21,43	0,6699
Leucócitos (μL)	1.9237 ^a	1.7050 ^a	1.8041 ^a	1.6885 ^a	2.3850 ^b	16,35	0,0006
Bastonetes (%)	0,25 ^a	0,00 ^a	0,16 ^a	0,16 ^a	0,74 ^b	133,72	0,0032
Segmentados (%)	31,50	32,83	34,33	38,42	31,71	28,81	0,6110
Linfócitos (%)	66,62	65,33	62,83	60,75	62,74	14,18	0,7153
Monócitos (%)	1,25	0,66	1,27	1,10	0,50	97,46	0,3551
Eosinófilos (%)	0,37	1,00	0,50	0,57	0,51	117,48	0,4500
Basófilos (%)	0,00	0,16	0,00	0,28	0,00	254,58	0,0589
Fibrinogênio (g/dL)	275,00	214,25	214,25	150,37	140,37	53,58	0,1045
Item ¹	Equações				R ²	Modelo ⁴	
Proteínas totais	$\hat{Y}=6,69066-2,86191x$				0,50	L	
Globulinas	$\hat{Y}=3,47716-1,38635x$				0,20	L	
Alb:Glob	$\hat{Y}=1,01432-4,17490x+2,71199x^2$				0,80	Q	
Hemoglobina	$\hat{Y}=1,0185-1,834x$				0,81	LRP	
	$\hat{Y}=10,6563+7,14490x$				0,81	L	
Hematócrito	$\hat{Y}=10,9408-12,4647X+114,485x^2$				0,99	Q	
	$\hat{Y}=11,5682-9,269x$				0,99	LRP	
Leucócitos	$\hat{Y}=32,4714+21,4036x$				0,75	L	
	$\hat{Y}=33,4086-43,2005X+377,17x^2$				0,99	Q	
C.H.C.M	$\hat{Y}=16028,0+27892,0x$				0,57	L	
	$\hat{Y}=1.7238-5.5573X+4.87291x^2$				0,84	Q	
Bastonetes	$\hat{Y}=33,2426+9,58981X-47,9558x^2$				0,82	Q	
	$\hat{Y}=33,2300+5,300x$				0,58	LRP	
Fibrinogênio	$\hat{Y}=-0,0883170+3,40957x$				0,78	L	
Fibrinogênio	$\hat{Y}=225,427-434,427x$				0,85	L	

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹Alb:Glob= Relação albumina e globulina; V.C.M= Volume corpusculas médio; C.H.C.M= Concentração da hemoglobina corpuscular média; ²Halquinol 0.02% (60%); ³Erro padrão da média; ⁴Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau. R²=Coeficiente de determinação

Tabela 11. Proteinograma de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP) desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade.

Item (mg/dL) ¹	CP ²	BLP, %				EPM ³	P-valor
		0,00	0,10	0,14	0,18		
35 dias							
IgA	149,63	129,89	155,76	164,10	143,27	15,39	0,0600
IgG leve	167,93	134,23	132,47	151,19	160,54	29,41	0,4118
IgG pesada	573,67	561,31	533,39	616,09	585,31	19,66	0,6782
CP	69,97	80,63	67,11	68,14	78,025	37,66	0,8055
GPA	9,03	7,75	6,63	7,36	6,62	27,23	0,1381
ALB	4464,11	4028,96	3656,45	4343,77	4121,89	13,36	0,0589
HP	112,77	125,32	107,34	136,54	120,52	29,43	0,5288
TRANSF	714,45	615,51	609,35	647,76	598,06	14,55	0,1130
49 dias							
IgA	164,25 ^a	119,07 ^b	182,51 ^a	129,95 ^a	89,81 ^b	26,76	0,0001
IgG leve	148,70 ^a	237,43 ^b	227,88 ^b	174,82 ^a	165,25 ^a	31,77	0,0221
IgG pesada	611,14 ^a	744,14 ^a	852,88 ^b	603,15 ^a	644,82 ^a	19,14	0,0030
CP	62,63 ^a	63,56 ^a	61,39 ^a	84,74 ^b	83,70 ^b	25,93	0,0009
GPA	8,90 ^a	13,25 ^b	9,17 ^a	8,72 ^a	11,30 ^a	30,00	0,0260
ALB	3873,87	4279,36	4241,03	3949,47	4239,24	9,21	0,1218
HP	71,68	52,36	98,03	87,88	57,75	48,08	0,0728
TRANSF	642,72	639,96	668,58	567,51	629,35	13,30	0,1993
Item ¹	Equações					R ²	Modelo ⁴
35 dias							
IgA	$\hat{Y}=129,310+584,514x-2736,97x^2$					0,99	Q
49 dias							
IgA	$\hat{Y}=142,842-119,050x$					0,22	L
	$\hat{Y}=120,271+1436,75x-9083,11x^2$					0,82	Q
IgG leve	$\hat{Y}=245,677-422,171x$					0,91	L
IgG pesada	$\hat{Y}=787,088-722,237x$					0,40	L
CP	$\hat{Y}=61,9289+355,287x-2314,77x^2$					0,52	Q
	$\hat{Y}=60,4551+118,019x$					0,43	LRP
GPA	$\hat{Y}=13,3031-86,2924x+410,961 x^2$					0,99	Q
	$\hat{Y}=13,0985-33,981x$					0,96	LRP
HP	$\hat{Y}=52,2860+1002,91x-5392,37x^2$					0,96	Q
	$\hat{Y}=56,0033+292,750x$					0,77	LRP

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Dunnett; ¹IgA= Imunoglobulina A; IgG= Imunoglobulina de cadeia leve e pesada; CP= ceruloplasmin; GPA= glicoproteína ácida; ALB= Albumina; HP= Haptoglobina; TRANSF= transferrina; ²0,02% Halquinol (60%); ³Erro padrão da média; ⁴Análise de regressão. L= linear; Q= quadrático; LRP= linear response plateau. R²=Coeficiente de determinação.

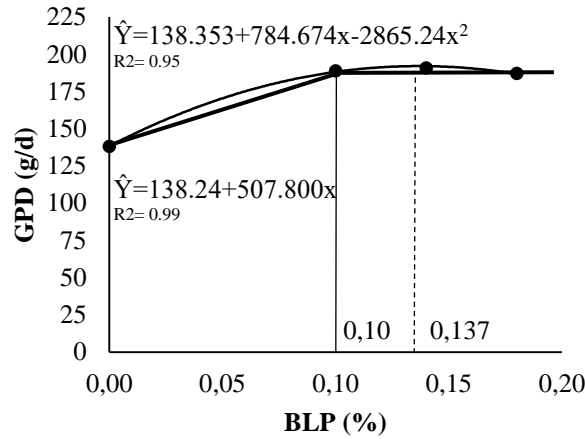


Figura 4. Ganho de peso diário (GPD) de leitões, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), desde o desmame (21 dias de idade) até 35 dias de idade.

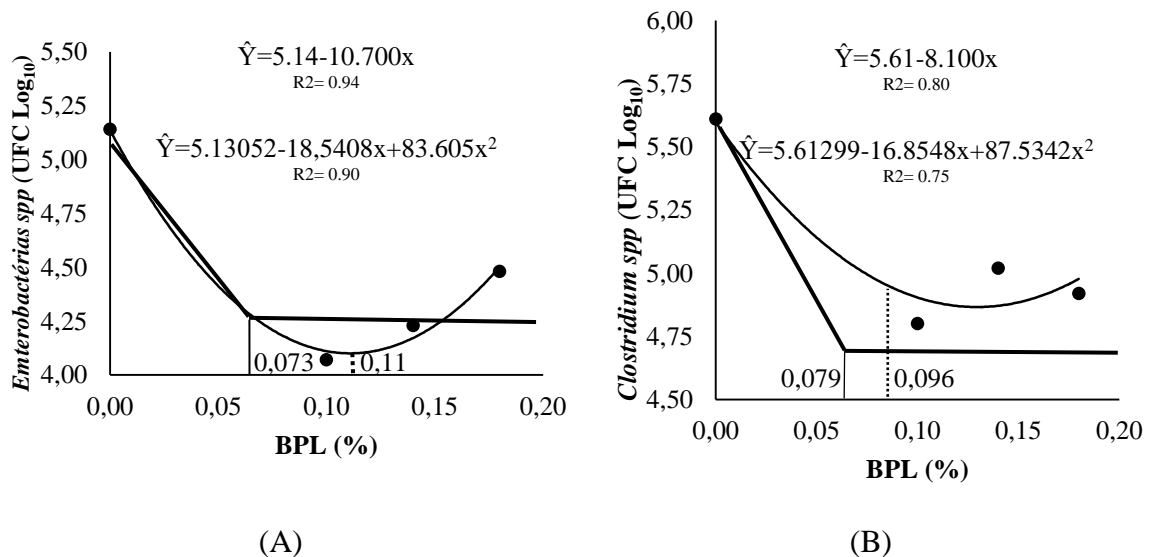


Figura 5. Contagem microbiológica (UFC Log₁₀) de enterobactérias no jejuno (A) e clostrídios no ceco (B) de leitões com 49 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), desde o desmame (21 dias de idade) até 49 dias de idade

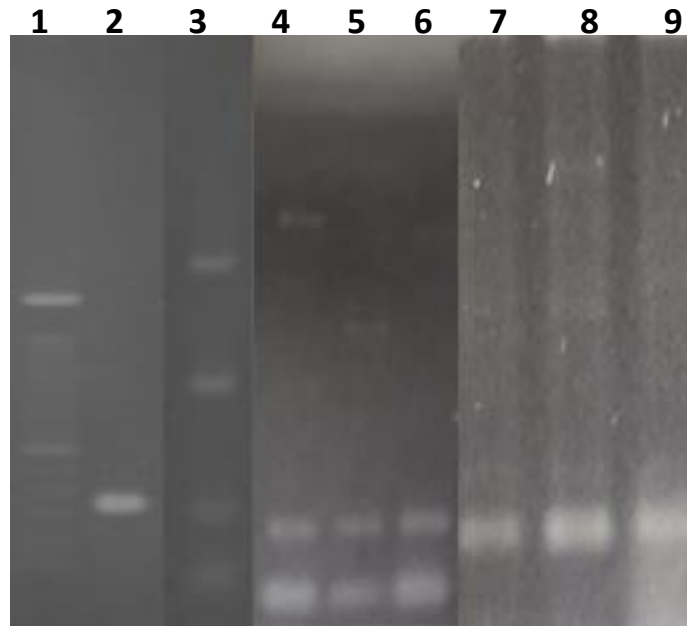


Figura 6. Gene *cpa* em sorotipos de *Clostridium perfringens* de leitões, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), desde o desmame (21 dias de idade) até 35 dias de idade

1 – Marcador peso molecular 1 KD DNA plus; 324 pares de base; 2 – 0,10% de BLP; 3 – 0,18% de BLP; 4 – Halquinol 0.2% (60%); 5 – 0,18% de BLP; 6 – 0,10% de BLP; 7 – Halquinol 0.2% (60%); 8 – 0,00% de BLP; 9- 0,14% de BLP.

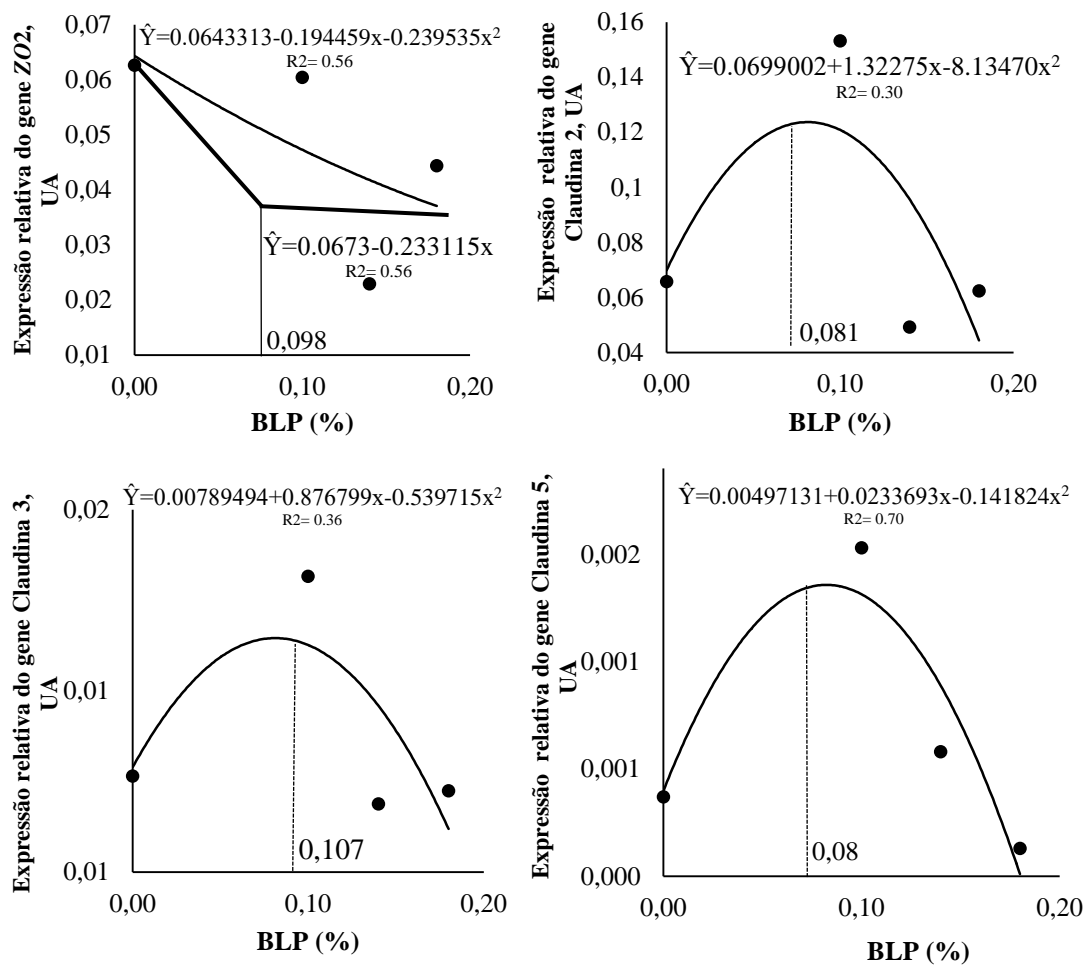
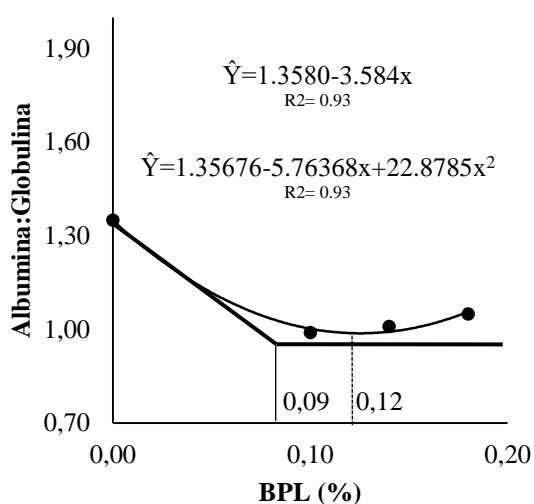
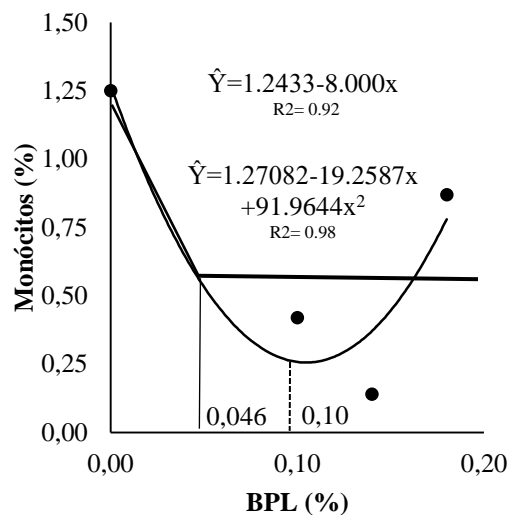


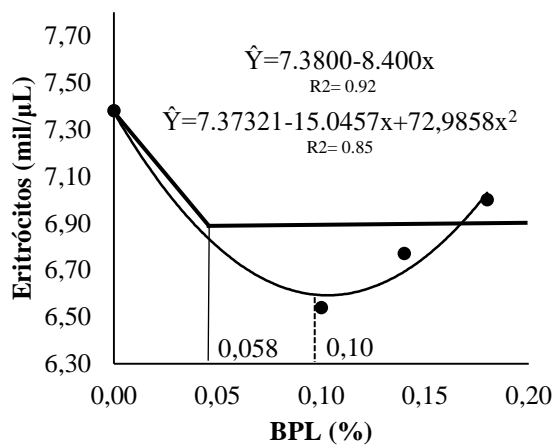
Figura 7. Junções oclusivas do epitélio intestinal referentes a zônula oclodina 2 (A), claudina 2 (B), claudina 3 (C) e claudina 5 (D) de leitões com 49 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP), expressos em UA



(A)

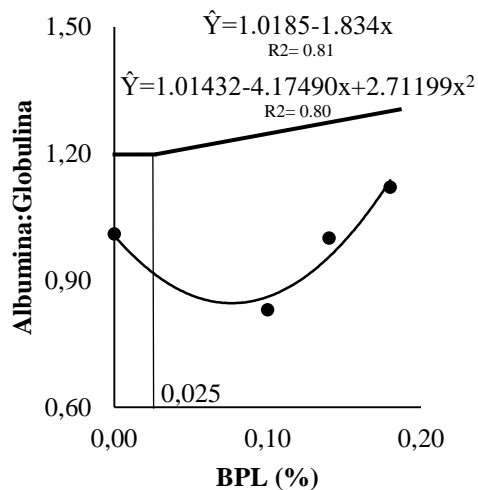


(B)

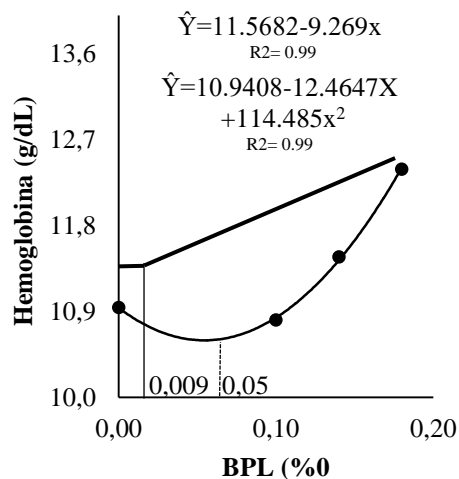


(C)

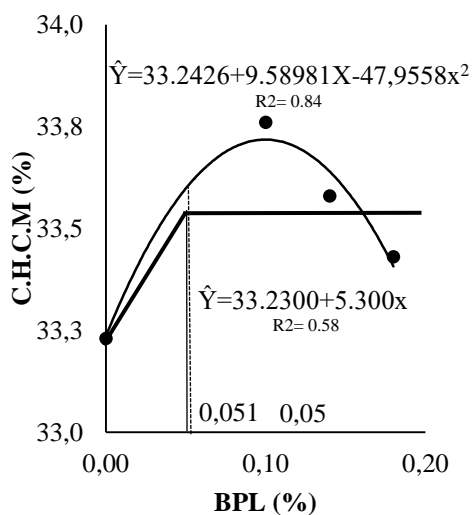
Figura 8. Metabólitos plasmáticos da relação albumina: globulina (A), monócitos (%) (B), eritrócitos (mil/ μ L) (C) de leitões com 35 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BPL)



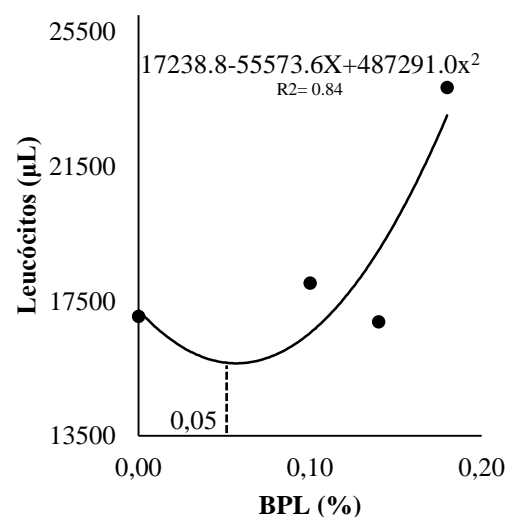
(A)



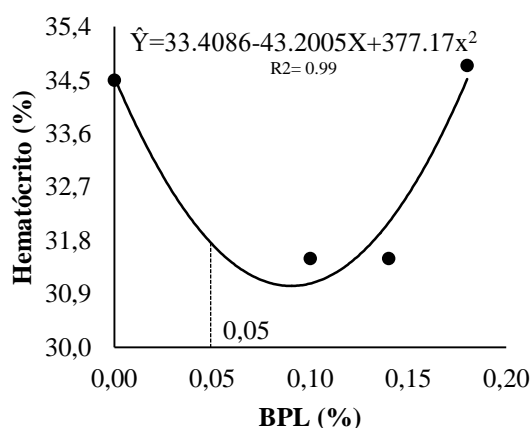
(B)



(C)



(D)



(E)

Figura 9. Metabólitos plasmáticos da relação albumina: globulinas (A), hemoglobina (g/dL) (B), C.H.C.M (%) (C), leucócitos (μL) (D), hematócrito (%) (E) de leitões com 49 dias de idade, recebendo dietas com diferentes níveis de uma associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BPL)

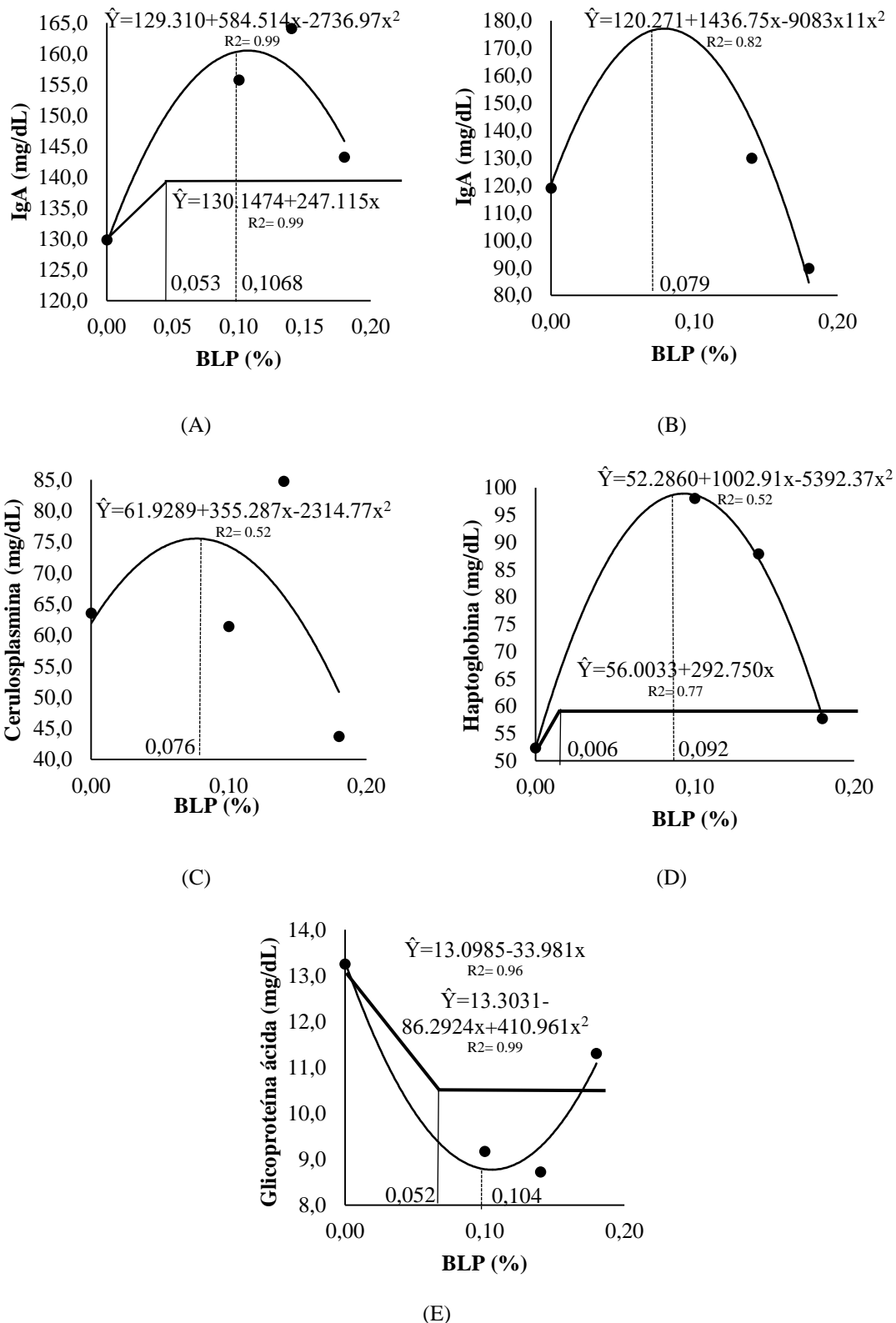


Figura 10. Proteinograma no soro (mg/dL) de imunoglobulinas IgA (A) com 35 dias de idade e (B) com 49 dias de idade, ceruloplasmina (C), haptoglobina (D) e glicoproteína ácida (E) com 49 dias de idade de leitões recebendo dietas com antibiótico promotor de crescimento (CP) e associação de butirato de sódio, levedura hidrolisada desidratada e proteinato de zinco (BLP)