



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JEFFERSON BASTOS ALVES

**EFEITOS DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E DO ÓLEO
ESSENCIAL DE CANELA NA MODULAÇÃO DA
MICROBIOTA CECAL E NO DESEMPENHO DE LEITÕES
DESMAMADOS DESAFIADOS COM *ESCHERICHIA COLI*
*K88***

JEFFERSON BASTOS ALVES

**EFEITOS DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E DO ÓLEO
ESSENCIAL DE CANELA NA MODULAÇÃO DA
MICROBIOTA CECAL E NO DESEMPENHO DE LEITÕES
DESMAMADOS DESAFIADOS COM *ESCHERICHIA COLI*
*K88***

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Caio Abércio da Silva.

Londrina
2019

JEFFERSON BASTOS ALVES

**EFEITOS DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E DO ÓLEO
ESSENCIAL DE CANELA NA MODULAÇÃO DA
MICROBIOTA CECAL E NO DESEMPENHO DE LEITÕES
DESMAMADOS DESAFIADOS COM *ESCHERICHIA COLI*
*K88***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador Prof. Dr. Caio Abércio da Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof Dr. Rafael Humberto de Carvalho
Universidade Filadélfia - UNIFIL

Profa. Dra. Alife Fernandes Alfieri
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 28 de fevereiro de 2019.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, devo todo meu agradecimento à Deus. Sempre em que almejei uma nova conquista e passar por um novo desafio entreguei tudo em suas mãos e pedi sabedoria para lidar com os problemas, ânimo nos momentos difíceis e que livrasse meu caminho de todo mal. Mais uma vez Ele esteve do meu lado, colocou pessoas maravilhosas que me ajudaram durante toda a caminhada, me proporcionando tudo e muito mais do que eu acredito merecer. Sou eternamente grato a Ti Senhor.

Aos meus familiares, principalmente meu pai Laércio, minha mãe Izabel e minhas avós Vicentina e Olga. Se hoje sou o homem em que me tornei, com valores e que corre atrás dos objetivos sempre com honestidade, e o mais importante, sem ter que passar por cima de ninguém, foi porque vocês me ensinaram tudo isso desde sempre, foram e são até hoje meu alicerce. Sempre foram batalhadores, tiraram deles para me ver feliz, me deram e dão muito amor (incondicional), me deram broncas e ensinaram o certo quando precisou. Espero um dia retribuir tudo o que vocês merecem. Não tenho como expressar toda a minha gratidão e orgulho que tenho de ter vocês como família, mais uma vez Deus foi maravilhoso comigo.

À minha esposa Flávia, que está desde o início da graduação ao meu lado, sabe de todos os percalços que encontrei e sempre me apoiou, motivou, deu conselhos e me estimulou a buscar novos desafios e a crescer profissionalmente e pessoalmente. Você é um espelho para mim de pessoa autêntica, determinada, trabalhadora, que se inquieta com a comodidade, enfrenta a insegurança, disciplinada e dedicada. Poucos homens têm o privilégio de ter uma companheira como eu tenho, com certeza vamos crescer muito juntos e colher bons frutos dessa união.

Ao meu orientador Prof. Cáio Abércio da Silva, que ao longo dos 7 anos de orientação até hoje, se tornou um grande amigo e compadre. Agradeço muito o senhor por todos os conselhos e oportunidades que me ofereceu nesse período, fazendo com que me tornasse um profissional melhor e um homem com responsabilidade. O senhor é um exemplo de profissional a ser seguido, e se hoje

sou apaixonado pela suinocultura, foi porque tive um dos melhores professores me ensinando e orientando.

Agradeço aos amigos da suinocultura Giovani, Cleandro, Marco, Carlos, Gabi Ruiz, Gabi Nagi, Foppa, Giovana, Zé, Camilo, Marcino, Yuri, Carol, João, Wendy, Du, Rita, Alyni e David. Todos contribuíram com meu aprendizado e tornaram os momentos mais difíceis de trabalho em um ambiente mais leve e divertido para se trabalhar, sou muito grato à todos vocês.

À meus amigos pessoais e compadres Fernando, Denise, Guilherme, Dayane, André, Tatiana, Carlos e Mariane, que tenho como uma segunda família, sempre um ajudando ao outro, apoiando e concedendo momentos alegres independente da situação.

Aos funcionários da fazenda escola Pedro, Zé, Jorge, Gilberto, Hermínio e Anderson, que sempre quando necessário deram apoio para a equipe.

Agradeço a banca de qualificação, Prof. Dr. Alexandre Oba e Prof. Dr. Rafael Humberto de Carvalho e a banca de defesa também formada pelo professor Rafael e a Prof. Dr. Alice Fernandes Alfieri. Obrigado por aceitarem o convite e auxiliarem no desenvolvimento da minha Dissertação.

Dedico este trabalho à Deus, à minha esposa, meus pais e avós, que sempre estiveram ao meu lado me motivando e dando forças para que mais esta conquista pudesse se tornar realidade.

ALVES, J. B. **Efeitos dos ácidos orgânicos e do óleo essencial de canela na modulação da microbiota cecal e no desempenho de leitões desmamados desafiados com *Escherichia coli* K88.** 2019. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição de uma mistura de ácidos orgânicos associado ao óleo essencial de canela frente a colistina, sobre o desempenho, controle da diarreia e modulação da microbiota intestinal de leitões em fase de creche desafiados com *Escherichia coli* K88. Foram utilizados 114 leitões desmamados, metade machos castrados e metade fêmeas, com idade média inicial de 28 dias e 6,60 Kg \pm 0,25 Kg de peso vivo, submetidos a 3 tratamentos durante 35 dias, que corresponderam a: Controle (CON): ração livre de antimicrobianos e aditivos; Colistina (COL): Controle + Colistina (200 mg/kg); Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton AO+OE (ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela) + AO (ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L) via água potável (para atingir um pH de 4,5). Todos os animais foram desafiados com *Escherichia coli* (*E. coli*) K88 por via oral (5mL $1,1 \times 10^9$ UFC/mL). A unidade experimental foi representada pela baia para as variáveis de desempenho e análise bacteriológica, e pelo animal para a análise metagenômica e ocorrência de diarreia. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o desempenho (351, 377 e 354 g/dia; 637, 667 e 605 g/dia; 1,826, 1,769 e 1,709 para o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar na fase, para CON, AO+OE e COL, respectivamente) A COL mostrou maior efetividade contra a infecção induzida com *E. coli*, apresentando menor número de animais acometidos com diarreia ($P < 0,05$) e menor quantidade de *E. coli* nas fezes ($P < 0,05$), no entanto, houve tendência ($P < 0,10$) de aumento na quantidade de bactérias da ordem Bifidobacteriales no grupo AO+OE. A dose terapêutica da colistina foi mais efetiva sobre a prevenção da diarreia e excreção de *E. coli* nas fezes. A associação AO+OE demonstrou efetividade nos parâmetros de desempenho, com um efeito de tendência da modulação da microbiota benéfica do trato gastrointestinal.

Palavras chaves: Diarreia pós-desmame. Acidificante. Fitogênicos

ALVES, J. B. **Effects of organic acids and cinnamon essential oil on cecal microbiota modulation and performance of weaned piglets challenged with *Escherichia coli* K88.** 2019. 97p. Dissertation (Masters in Animal science) – University State of Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of the addition of a mixture of organic acids associated to the essential cinnamon oil against the Colistin on performance, control of diarrhea and intestinal microbiota modulation of nursery pigs challenged with *Escherichia coli* k88. A total of 114 weaned piglets were used, half males castrated and half females, with a mean initial age of 28 days and 6.60 Kg \pm 0,250 Kg of live weight, submitted to 3 treatments during 35 days, corresponding to: Control (CON): antibiotic free ration and additives; Colistin (COL): Control + colistin (200 mg/Kg); Organic acids + essential oil (AO+OE): Control + 1Kg/ton AO+OE (formic acid (180000 mg/Kg); Acetic acid (90000 mg/Kg); Propionic acid (45000 mg/Kg); Fumaric acid (35000 mg/Kg); Cinnamon essential oil) + AO (formic acid (180000 mg/L); Acetic acid (90000 mg/L); Propionic acid (45000 mg/L); Fumaric acid (35000 mg/L) via potable water (in order to achieve a pH of 4,5). All the animals were oral challenged with *Escherichia coli* (*E. coli*) K88 (5 mL 1,1 x 10⁹ UFC/mL). The experimental unit was represented by the pen for the variables of performance and bacteriological analysis and by the animal for a metagenomics analysis and incidence of diarrhea. No difference was observed ($P > 0,05$) between the treatments for the performance (351, 377 e 354 g/day; 637, 667 e 605 g/day; 1,826, 1,769 e 1,709 for feed intake, weight gain and feed conversion in the phase for CON, AO+OE and COL, respectively). The COL treatment showed greater efficacy against the induced infection with *E. coli*, presenting a lower number of animals affected by diarrhea ($P < 0,05$) and a lower amount of *E. coli* in feces ($P < 0,05$), however, there was a tendency ($P < 0,10$) of increase in the bacteria amount of the order Bifidobacteriales in the AO+OE group. The therapeutic dose of colistin was more effective in preventing diarrhea and on excretion of *E. coli* in feces. The AO+OE association showed effectiveness in the performance parameters with a tendency effect of the modulation of the beneficial gastrointestinal tract microbiota.

Keywords: Post-weaning diarrhea. Acidifying. Phytogetic.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Fórmulas físicas e características químicas de alguns dos ácidos orgânicos utilizados como acidificantes em dietas de leitões.....	29
Tabela 2 -	Seleção dos principais óleos essenciais que apresentam propriedades antibacterianas.....	44
Tabela 3 -	Composição centesimal e nutricional das rações experimentais.....	77
Tabela 4 -	Média de peso inicial e peso final de leitões, ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA) de acordo com as semanas de avaliação e tratamentos experimentais (valores expressos em kg).....	81
Tabela 5 -	Número de leitões com diarreia durante todo o período experimental segundo os tratamentos.....	86
Tabela 6 -	Quantidade de <i>Escherichia coli</i> recuperada das fezes de leitões após administração oral de $1,1 \times 10^9$ UFC / mL.....	86
Tabela 7 -	Resultado da análise metagenômica - Contagem média bacteriana (unidades) no conteúdo cecal dos leitões 12 dias após o início dos tratamentos.....	88

LISTA DE ABREVIÇÕES

ABCS	Associação Brasileira dos Criadores de Suínos
AGCC	ácidos graxos de cadeia curta
AGCM	ácidos graxos de cadeia média
AGV	ácidos graxos voláteis
AMPc	adenosina monofosfato cíclico
AO	ácidos orgânicos
APC	antibiótico promotor de crescimento
CA	conversão alimentar
CaCO ₃	carbonato de cálcio
CC	Cinnamon cássia
CDR	consumo diário de ração
COX-2	ciclooxigenase-2
CZ	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
DPD	diarreia pós-desmame
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EFSA	Autoridade Europeia de Segurança Alimentar
ESAT-1	toxina termoestável enteroagregativa-1
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica
EU	União Europeia
FDA	Food and Drug Administration
G-	gram-negativas
G+	gram-positivas
GALT	tecido linfóide associado ao intestino
GMPc	monofosfato cíclico de guanósina
GPD	ganho de peso diário
HCl	ácido clorídrico
ID	intestino delgado
IG	intestino grosso
IL-1 β	interleucina 1 beta
LPS	lipopolissacarídeo
LT	enterotoxina termolábil
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

MIC	mínima concentração inibitória
NAL	ácido nalidíxico
OE	óleos essenciais
PKA	constante de dissociação
PNDS	Projeto Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura
RIF	rifampicina
ST	enterotoxina termoestável
STX2e	toxina Shiga 2e
TGI	trato gastrointestinal
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
UFC	unidades formadoras de colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.2	MICROBIOTA DO TRATO GASTROINTESTINAL	14
2.3	DEFESAS DO INTESTINO	16
2.4	DESAFIOS PÓS DESMAME	17
2.4.1	Diarreia Pós-Desmame	21
2.4.2	<i>Escherichia coli</i>	22
2.5	ANTIBIÓTICOS NA SUINOCULTURA	25
2.6	ÁCIDOS ORGÂNICOS (AO)	28
2.6.1	Modo de Ação dos Ácidos Orgânicos	29
2.6.1.1	Atividade Antibacteriana	30
2.6.1.2	Ação Sobre a Morfologia Intestinal	31
2.6.1.3	Conservantes de Alimentos e Intensificadores de Sabor	32
2.6.1.4	Estimulantes da Secreção de Enzimas Endógenas.....	33
2.6.1.5	Absorção de Minerais	34
2.6.2	Ácido Propiônico	34
2.6.3	Ácido Fórmico	35
2.6.4	Ácido Fumárico	36
2.6.5	Ácido Acético	37
2.6.6	Utilização de Ácidos Orgânicos na Ração de Leitões Desmamados.....	37
2.6.7	Resumo Sobre a Utilização dos Ácidos Orgânicos Como Aditivos Alimentares	40
2.7	FITOGÊNICOS - ÓLEOS ESSENCIAIS (OE).....	42
2.7.1.1	Atividade Antibacteriana	45
2.7.1.2	Atividade Antioxidante	45
2.7.1.3	Atividade Antiinflamatória	46
2.7.1.4	Palatabilidade, Digestibilidade e Desempenho.....	48
2.7.1.5	Efeitos Sobre a Morfologia Intestinal	49
2.7.2	Óleo Essencial de Canela.....	50
2.7.3	Utilização de Óleos Essenciais na Ração de Leitões Desmamados	51

2.7.4	Resumo Sobre a Utilização dos Óleos Essenciais Como Aditivos Alimentares	53
2.8	ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS	54
	REFERÊNCIAS	57
3	OBJETIVOS	
3.1	OBJETIVO GERAL.....	72
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	72
4	ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	73
4.1	INTRODUÇÃO	75
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	76
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
4.4	CONCLUSÕES	90
	REFERÊNCIAS	91
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97

1 INTRODUÇÃO

A utilização dos antibióticos de forma banal e irracional na produção animal a fim de reduzir a morbidade, a mortalidade e melhorar o desempenho zootécnico (THACKER et al., 2013) está sendo ligado à polêmicas quanto aos riscos de seleção de bactérias resistentes (VONDRUSKOVA et al., 2010).

A Colistina tem sido um dos antibióticos de eleição utilizados nas dietas de leitões desmamados, por possuir ação seletiva sobre bacilos entéricos gram-negativos, como a *Escherichia coli* (*E. coli*) (MENDES; BURDMANN, 2009), que é a principal bactéria envolvida na síndrome da diarreia pós desmame em leitões (ALFIERI; ALFIERI; BARRY, 2010), juntamente com os diversos fatores estressores em que os leitões são submetidos neste período somado a um trato gastrointestinal (TGI) (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015) e sistema imunológico fisiologicamente imaturo (AUMAITRE et al., 1995; JAYARAMAN; NYACHOTI, 2017). Porém, já foram relatadas em países da Ásia, África, Europa, América do Norte e América do Sul casos de *E. coli* resistente a Colistina. No Brasil foi relatado o primeiro caso em humanos em 2016 (FERNANDES et al., 2016).

Muitos são os aditivos testados atualmente para possibilitar a substituição dos antibióticos na suinocultura, com destaque para os ácidos orgânicos e óleos essenciais (MORÉS, 2014). Estes aditivos possuem diversas ações que podem beneficiar o desempenho através de ações antimicrobianas, antiinflamatórias, antioxidantes e melhora da digestibilidade, além de atuarem como estimuladores da secreção de enzimas endógenas e do desenvolvimento intestinal (PAPATSIROS, CHRISTODOULOPOULOS; FILIPPOPOULOS, 2012; DHIFI et al., 2016; CHOUHAN, SHARMA E GULERIA, 2017; LONG et al., 2017; OMONIJO et al., 2017; SIMITZIS, 2017).

Os resultados com a utilização dos ácidos orgânicos e óleos essenciais com relação ao desempenho e incidência de diarreia são promissores (LI et al., 2012; LEI et al., 2016), porém por se tratar de produtos naturais de diferentes origens, a padronização se torna mais complexa e os resultados ainda são amplos e dependem de condições específicas (BASNIAK, 2010; KIL; KOWN; KIM, 2011; ZENG et al., 2015).

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos da adição de uma mistura de ácidos orgânicos mais óleo essencial de canela frente à Colistina, sobre o

desempenho, controle da diarreia e microbiota intestinal de leitões na fase de creche desafiados com *Escherichia coli* k88.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SUINOCULTURA BRASILEIRA

A carne suína, juntamente com os pescados, carne de frango e a carne bovina representa uma das principais fontes de proteína animal do mundo (GUIMARÃES et al., 2017).

Investimentos e pesquisas em produção, sanidade e nutrição, juntamente com o desenvolvimento do processo de gerenciamento dos produtores, possibilitaram ao Brasil figurar entre os principais produtores de carne suína (COLOMBO, 2017). Atualmente o país ocupa a posição de quarto maior produtor e exportador de carne suína no mundo. No ano de 2016 produziu 3.731 mil toneladas, ficando atrás da China, grupo de países da União Européia (EU) e EUA, e exportando 732 mil toneladas, atrás da EU, EUA e Canadá. Deste modo 80,4% da produção no Brasil permanece no mercado interno e 19,6% é destinada à exportação, no qual a Rússia aparece como o maior importador da carne suína brasileira. Já o consumo interno *per capita* fechou na média nacional em 14,4kg (ABPA, 2017).

Segundo o relatório Projeções do Agronegócio do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) - Brasil 2017/18 a 2027/2028 (MAPA, 2018) é que a produção de carnes no Brasil continue a aumentar nas próximas décadas, com destaque para a carne suína e de frango, que apresentam maiores taxas de crescimento na projeção realizada entre 2017/18 a 2027/28, com um crescimento anual de 2,6% e aumento de 2,2% no consumo/ano de carne suína no país. Quanto a exportação, as projeções também são positivas. Deve ocorrer um aumento de 3,4% da exportação de carne suína, ficando acima das carnes bovina e de frango que deve apresentar um aumento por volta de 3%.

Com o propósito de aprimoramento da suinocultura interna, a Associação Brasileira dos Criadores de Suínos (ABCS) lançou em 2009 o Projeto Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura (PNDS), que objetiva otimizar o desenvolvimento da suinocultura brasileira, trabalhando para fornecer estabilidade econômica da atividade e benefícios aos produtores, através da ampliação do mercado da carne suína, com modernização da comercialização e medidas de boas práticas de produção, da granja à mesa.

Com relação à suinocultura mundial, segundo o relatório do United States Department of Agriculture, (2017) a produção no ano de 2017 foi de 111,034 milhões de toneladas, com previsão de aproximadamente 113,1 milhões de toneladas para o ano de 2018, com maior expansão na produção chinesa. A forte demanda dos consumidores por carne suína também impulsionará a produção na Rússia, nas Filipinas e no México. Quanto à importação, a China em 2018 continuará sendo o maior importador, porém com queda pelo segundo ano consecutivo devido ao aumento da produção doméstica. A EU continuará sendo a maior exportadora, com inalterados 2,8 milhões de toneladas, mas o crescimento das exportações seguirá sendo desafiado pela queda dos embarques para a China e pela valorização do euro.

2.2 MICROBIOTA DO TRATO GASTROINTESTINAL

O leitão, durante toda a fase intrauterina, apresenta o trato gastrointestinal (TGI) estéril, sendo que a colonização bacteriana se inicia logo ao nascimento, quando o leitão entra em contato com os microrganismos da mucosa vaginal da porca (BERTECHINI; HUSSAIN, 1993), sofrendo naturalmente alterações subsequentes. Segundo Ducluzeau (1983), após 10-12h do nascimento, o leitão apresenta 10^8 - 10^9 unidades formadoras de colônia (UFC) de microrganismo por grama de fezes, estabilizando esses valores após 24 a 48h de vida.

A microbiota se diferencia ao longo dos segmentos do TGI, com quantidade e tipos de bactérias distintas, na qual é influenciada pelo pH, disponibilidade de substratos, secreção de muco, peristaltismo e tempo de trânsito do conteúdo digerido (HEO et al., 2012). Sendo assim, no estômago e intestino delgado (ID), principalmente na porção superior (duodeno), as bactérias estão em menor número, em virtude do maior peristaltismo e pH ácido, comparado com o intestino grosso (IG), dificultando a colonização e a proliferação bacteriana (HAO; LEE, 2004).

A maior prevalência de microrganismos está na região caudal do intestino, com predomínio no IG. Esta maior proporção para estes segmentos está relacionada com o ambiente anaeróbico, temperatura, velocidade de passagem da digesta e pH mais básico, quando comparado ao ID. Nesta porção já foram descritas

cerca de 500 espécies diferentes de microorganismos. Em uma microbiota normal e equilibrada prevalecem os gêneros: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Enterobacter*, *Bacteroides* e *Porphyromona*. Enquanto coliformes, *E. coli* e *Clostridium spp* estão em menores proporções (VONDRUSKOVA et al., 2010).

A partir da ingestão do leite materno ocorre a redução do pH estomacal do leitão pela ação da lactase (produção de ácido láctico), viabilizando o crescimento de microorganismos benéficos como *Lactobacillus* e diminuindo a quantidade e a passagem de bactérias patogênicas como *E. coli* para o ID (SANCHES, 2006).

Algumas bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* também são importantes para a acidificação do TGI e proteção contra o crescimento de microorganismos patogênicos. Estes representam dois dos principais gêneros pertencentes à microbiota intestinal de leitões durante o aleitamento, e são caracterizadas como bactérias ácido-láticas (MIKKELSEN et al., 2003; EVERAERT et al., 2017).

Lactobacillus são mais comumente encontrados na parte não secretora do estômago, em função do baixo pH e se distribuem para o ID (VONDRUSKOVA et al., 2010). Danielson et al. (1989) relatam que *Lactobacillus*, além da proteção do TGI contra bactérias patogênicas através da acidificação, podem inibir a colonização e a multiplicação de *E. coli* através de bloqueios de receptores intestinais e secreção de metabólitos tóxicos.

Os leitões na fase de amamentação possuem alguns mecanismos que possibilitam solucionar a baixa secreção ácida do estômago. *Lactobacillus*, através da fermentação da lactose disponível no leite da porca, produzem o ácido láctico, que é a principal fonte de acidificação do TGI dos leitões, protegendo-os contra patógenos que não toleram o meio mais acidificado, além de possuir uma menor necessidade de secreção transitória de ácidos, devido à ingestão em baixas quantidades, mas em altas frequências (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993). Porém, altas concentrações de ácido láctico no estômago tendem a inibir a secreção de ácido clorídrico (HCl) (LAWLOR et al., 2005), sendo um fator limitante do processo digestivo na fase de pós desmama, como relatam Heo et al. (2012).

Kubasova et al. (2017) correlacionaram positivamente a abundância de *Lactobacillus* com a concentração de lactose (durante o aleitamento) e

negativamente com a concentração de *Clostridium*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Shigella*, *Enterococcus* e *Staphylococcus*. Porém, esses gêneros de bactérias cresciam conforme as concentrações de proteínas na alimentação aumentavam (após o desmame), apontando que a microbiota intestinal é modulada através do aleitamento, ocorrendo redução da infecção bacteriana e ocorrência de doenças entéricas.

A microbiota intestinal se mantém relativamente estável até o momento do desmame (PLUSKE et al., 2002), porém, a secreção ácida insuficiente, somada a todos os diversos fatores estressantes pelas quais os leitões passam no desmame, pode gerar na maioria dos casos desequilíbrio da microbiota intestinal (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993; HEO et al., 2012). A dificuldade do leitão recém desmamado em manter o pH gástrico mais acidificado, dificulta a digestão e favorece a proliferação de patógenos por fornecer substrato e condições favoráveis de pH (TAYLOR, 1959), tendo como característica o aumento da contagem dos coliformes fecais e queda do número *Lactobacillus* no intestino (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993).

Chen et al. (2017) avaliaram a microbiota transitória do leitão, coletando fezes aos 10 dias pré-desmame, ao desmame ao décimo e ao 21º dia pós desmame. Os resultados demonstraram a predominância de *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Escherichia/Shigella* e *Megasphaera*. No pós-desmame, a microbiota bacteriana mudou rapidamente e se estabilizou no décimo dia pós creche. A população foi substituída principalmente por bactérias do gênero *Clostridium*, *Roseburia*, *Paraprevotella* e *Blautia*.

2.3 DEFESAS DO INTESTINO

Com o avançar das pesquisas e aprofundamento sobre os conhecimentos do TGI, o intestino deixou de ser um órgão simples, mais conhecido por participar da digestão e absorção de nutrientes, para assumir um importante papel na imunologia, na prevenção contra agressores externos, através de três componentes: barreira intestinal, sistema imune (tecido linfóide associado ao intestino - GALT, plasmócitos, linfócitos, imunoglobulinas) e a microbiota. (FONSECA; COSTA, 2010).

Alguns fatores não imunológicos do TGI também são capazes de auxiliar/proteger o leitão em momentos mais delicados, dentre eles pode-se listar: colônia de bactérias benéficas que impedem ou dificultam a colonização de possíveis patógenos; movimentos de peristaltismos, que mantêm o fluxo dos constituintes da mucosa, diminuindo a aderência de patógenos nas células epiteliais; suco gástrico e sais biliares intestinais, inibindo o crescimento de microorganismos através da formação de um ambiente desfavorável; secreção de muco, no qual formam uma barreira entre o patógeno e a superfície epitelial (GASKINS, 1998).

Cada seção do intestino é colonizada por uma população estável de bactérias, sendo estas 90% benéficas. Portanto, muitos agentes patogênicos podem ser ingeridos, mas são minoria e muitas vezes não são eficazes ao realizar a adesão e produzir toxinas (BREDA et al., 2010).

O peristaltismo intestinal ocorre como um mecanismo natural e fisiológico. O ritmo normal de ondas peristálticas é desejado, pois assim a população de bactérias é controlada. Quando há perda da função motora do intestino, *Bacteróides*, coliformes e *Bifidobacteria* são encontradas em níveis mais elevados (BREDA et al., 2010).

O aumento da permeabilidade e desequilíbrio da microbiota intestinal acarretará no aumento do pH e a produção de mucopolissacarídeos ficará comprometida, facilitando o aparecimento da diarreia. O estado alterado da microbiota permite a colonização do intestino por bactérias maléficas, que se aderem às microvilosidades intestinais, que podem agravar a situação com a produção de toxinas, como pela *E. coli* enterotoxigenica (ETEC), resultando em pior conversão alimentar (CA) e baixo desempenho dos animais (MORAES, 2009).

2.4 DESAFIOS PÓS DESMAME

O período pós desmame está associado às alterações ambientais, populacionais e nutricionais muito estressoras para o leitão (AUMAITRE et al., 1995). Neste sentido encontram-se os fatores: separação de seus irmãos e da mãe; formação de um novo grupo e nova hierarquia; alojamento em um novo ambiente; alteração da forma física do alimento; ingestão irregular de ração; desafio sanitário ambiental. Este conjunto de desafios resulta em alto estresse para os leitões e uma

excelente oportunidade para a infecção e proliferação por bactérias ou outros agentes infecciosos (MORÉS; MORENO, 2007), sendo a diarreia pós-desmame (DPD) uma das causas de maior agravo econômico da suinocultura (VONDRUSKOVA et al., 2010).

Leitões recém-nascidos apresentam o sistema digestório imaturo, com baixos níveis das enzimas como maltase, sacarase, protease e amilase, entretanto, a enzima lactase está altamente ativa e permanece em níveis altos até os 14-21 dias de vida, tendo uma queda acentuada após este período. Este quadro está relacionado à lactose, principal carboidrato que o leitão tem como alimento nesta fase (BORGES et al., 2015).

A lipase e a protease, mesmo não estando em níveis muito altos (maior atividade para a lipase) enquanto os leitões são lactentes, mostram-se ser suficientes para agir sobre a gordura e a proteína do leite, e seguem aumentando a atividade com o avançar da idade. As enzimas intestinais, sacarase e maltase, e as enzimas pancreáticas, tripsina e quimiotripsina, são baixas ao nascimento e aumentam também com a idade (CHAMONE, et al., 2010).

Deste modo, o leitão apresenta maior aptidão para digerir as proteínas lácteas, lactose e lipídeos de cadeia curta. Com o avançar da idade e com a mudança da apresentação da alimentação, de líquida para sólida, normalmente realizada com breve adaptação, ocorrem mudanças nos níveis enzimáticos para que o animal torne-se gradativamente competente para digerir outras fontes de proteínas, gorduras e carboidratos (BORGES et al., 2015).

No entanto, o leitão no pós-desmame precoce ainda não apresenta o TGI enzimaticamente ativo e preparado para a digestão da ração (menos digestível), quando comparado ao leite durante a maternidade (altamente digestível) como única fonte de alimento (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

O HCL é um dos principais fatores para a digestão da ração. É secretado pela mucosa estomacal e tem a função de ativar a pepsina e iniciar a digestão protéica no estômago. Além do HCl participar do processo de digestão, ele tem o importante papel de reduzir o pH e estimular a ação de enzimas para a hidrólise de proteínas e disponibilização de minerais (BRAZ, 2008) e proteger o animal contra possíveis infecções entéricas, atuando como bactericida, impedindo a colonização de bactérias patogênicas como *E. coli* e *Salmonella*, limitando sua progressão para o ID (SANCHES, 2006; HEO et al., 2012).

O leitão recém-desmamado tem limitações no processo digestivo devido às inúmeras alterações morfológicas e enzimáticas pelas quais passa o TGI, principalmente por não ser capaz de produzir HCl em níveis satisfatórios (SANCHES, 2006) e, quando associado à não ingestão de leite (diminuição da produção de ácido láctico conseqüentemente), cria-se uma oportunidade para o crescimento de bactérias enteropatogênicas (VIOLA; VIEIRA, 2003). Como resultado há uma elevação do pH gástrico, redução na ativação do pepsinogênio (que ocorre rapidamente em pH 2, e tem diminuição da sua expressão em pHs acima de 3,6, e não tem atividade em pH maior que 6) (TAYLOR, 1959), que somada ao maior tempo de retenção do alimento, faz com que este substrato passe a atender o desenvolvimento bacteriano e conseqüentemente o favorecimento da proliferação de patógenos (HEO et al., 2012).

Segundo Blanchard (2000), meios acidificados, com pH variando entre 3,5 e 4 controlam o crescimento de bactérias patogênicas como *E. coli* e *Salmonella*, que apresentam crescimento ótimo em faixas de pH entre 4,3 a 9,5 e 4 a 9, respectivamente. Entretanto, o pH acidificado favorece o crescimento de bactérias benéficas como lactobacilos e bifidobactérias.

Durante todas as fases da vida de um suíno, o período mais estressante e desafiador para o seu desenvolvimento fisiológico e zootécnico ocorre no pós-desmame, que no sistema de produção intensiva atual ocorre por volta de 3 a 4 semanas de idade (desmame precoce), idade na qual o leitão apresenta baixos níveis de imunidade passiva e um sistema imunológico imaturo, deixando-o propenso a potenciais infecções (AUMAITRE et al., 1995; JAYARAMAN; NYACHOTI, 2017). Este período tem como características disfunções na barreira intestinal e problemas digestivos, justamente pelas debilidades fisiológicas do TGI e do sistema imune (COX; COOPER, 2001; SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; PAPADOPOULOS et al., 2017).

Em resumo, Pluske, Hampson e Williams (1997) tratam como sendo cinco os principais grupos de fatores que alteram a estrutura e a funcionalidade do intestino. Dentre eles estão: bactérias enteropatogênicas no intestino delgado; não adaptação aos fatores estressores do desmame; a retirada do leite da dieta; mudança alimentar associada ao desmame e citocinas (interferon, interleucinas e fator de necrose tumoral) como reguladores do crescimento e desenvolvimento de

células epiteliais, incluindo inflamação intestinal e restituição epitelial após lesão na mucosa.

O período pós-desmame possui como característica o baixo consumo de ração e o conseqüente atraso no desenvolvimento (TONEL, 2009). Outro fato, são as diversas mudanças morfológicas em nível de intestino delgado, como atrofia das vilosidades e aumento da profundidade das criptas, que é agravado pelo baixo consumo ou até mesmo pela anorexia nos dias iniciais, além de problemas funcionais do intestino, como distúrbios enzimáticos na borda das vilosidades, ocasionando dificuldades para a digestão e aproveitamento da dieta, predispondo a colonização e a multiplicação de patógenos entéricos (PLUSKE, HAMPSON; WILLIAMS, 1997; KUMMER, et. al., 2009).

Segundo Cera et al. (1988), a atrofia das vilosidades ocorre em conseqüência da colonização bacteriana patogênica nos enterócitos e às toxinas por elas produzidas, devido ao desequilíbrio da microbiota, facilitando a fixação destes microrganismos. Outro contratempo é o longo período para o início do consumo da dieta seca, que leva à atrofia das vilosidades, apoptose das células epiteliais, translocação bacteriana, perda da barreira e alteração da permeabilidade intestinal (FONSECA; COSTA, 2010), redução na área de absorção, ocasionando em queda do desenvolvimento enzimático, redução do transporte de nutrientes e má absorção intestinal (CERA, et al., 1988). Brooks et al. (2003) relatam que 50% dos leitões no pós desmame, começam a se alimentar nas primeiras 24 horas e 10% demoram mais que 48 horas.

Já o aumento da profundidade da cripta ocorre devido à descamação epitelial para dar suporte à renovação celular no ápice dos vilos. Assim, à medida que aumentam as vilosidades e diminui a profundidade das criptas, melhor é a absorção dos nutrientes. (OETING, 2006).

Uma prática muito importante para o período pós desmame é ensinar o leitão a beber água e estar adaptado ao bebedouro durante o período de aleitamento. Está conduta pode ser induzida através da realização *do creep-feeding*, ou seja, ensinar o leitão a comer ração ainda no período de aleitamento, pois quando este se alimenta de sólido, conseqüentemente irá ingerir água (CLOSE, 2000).

O consumo neste período não é alto e não tem como finalidade melhorar o desempenho na maternidade, mas sim o desenvolvimento fisiológico na

fase e gerar uma melhor adaptação no período de creche (KULLER; TOBIAS; VAN NES, 2010). O leitão que não ingerir água, principalmente no pós-desmame imediato, possivelmente irá se desidratar e, um dos sinais clínicos decorrentes da desidratação é a inapetência, limitando o desenvolvimento adequado e favorecendo todas as mudanças inerentes (CLOSE, 2000).

2.4.1 Diarreia Pós-Desmame

Alterações da microbiota intestinal, com predominância de bactérias patogênicas, pH elevado, sistema imune debilitados e fatores estressantes, são a base da ocorrência da diarreia pós-desmame (DPD) (VONDRUSKOVA et al., 2010).

Após o desmame, principalmente nos primeiros dias, a microbiota intestinal do leitão sofre grandes alterações, possibilitando o crescimento de microrganismos patogênicos e a ocorrência de diarreia (HOPWOOD; HAMPSON, 2003). A microbiota do leitão também participa diretamente da regulação do sistema imune intestinal, e quando há disbiose, ou seja, o desequilíbrio da microbiota intestinal com predominância das bactérias patogênicas ocorrerá maior susceptibilidade do leitão a uma infecção intestinal e às desordens imunes (FONSECA; COSTA, 2010). No qual *Escherichia coli* é a bactéria mais relacionada com a DPD (HEO et al., 2012).

Nabuurs et al. (1993) descreveram que os leitões com diarreia no pós-desmame apresentavam as vilosidades dos enterócitos mais curtas e as células da cripta mais profundas, e os animais que vieram a óbito por consequência da grave diarreia possuíam padrões celulares ainda piores, denotando que estas alterações favoreciam a colonização de patógenos na qual *E. coli* e Rotavírus eram protagonistas, agravando a condição celular do intestino.

O desempenho do leitão após a infecção sabidamente fica prejudicado, porém outros fatores endógenos, como a resposta imune, podem agravar a situação por conta de um custo nutricional que se estabelece para se manter vigorosa (RIBEIRO; PINHEIRO; GIANFELICI, 2008).

Após a detecção de um antígeno pelo sistema imune, sendo ele uma substância química ou um agente estranho, o organismo do animal irá responder alterando suas taxas metabólicas e comportamentais. A ativação do sistema imune frente aos antígenos ocasiona a liberação de citocinas que ativam componentes

celulares (macrófagos, células dendríticas, linfócitos intraepiteliais) e humorais (anticorpos), levando ao aumento da produção de calor e temperatura corporal que, por fim, resulta em queda do apetite e consumo (FERREIRA; SOUSA, 2000).

A partir da ativação do sistema imune há uma modificação na repartição dos nutrientes, que resultam num custo nutricional que primordialmente afeta a energia e a proteína mobilizada pelo aumento da taxa metabólica basal. Deste modo, ocorre queda da síntese protéica associada à maior taxa de degradação, que por fim influencia negativamente o desempenho e a demanda nutricional adequada para o suíno (FERREIRA; SOUSA, 2000). Como comprovações deste cenário, destacam-se os estudos nas quais animais alojados em ambientes mais desafiadores sanitariamente apresentaram crescimento retardado e menor consumo, comparados aos animais criados em ambientes mais limpos (RIBEIRO; PINHEIRO; GIANFELICI, 2008).

Segundo Wenk (2003), para diminuir os distúrbios intestinais de leitões, algumas medidas devem ser realizadas, como: redução da quantidade de minerais na ração (Ca <6g/kg e P <5g/kg na ração); utilização de ácidos orgânicos (principalmente ácido fumárico e láctico) e óleos essenciais; fornecimento adequado de proteínas (evitar quantidades elevadas de proteína bruta e fornecer aminoácidos essenciais de acordo com a exigência); utilizar probióticos, prebióticos, fibras alimentares e enzimas; e evitar fatores antinutricionais na dieta.

Porém a ocorrência de distúrbios intestinais nos suínos não é restrito apenas a *E. coli*. Outros agentes entéricos bacterianos como *Clostridium perfringens* Tipo A, Tipo C e *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli*, *Lawsonia intracellularis*, *Yersinia* spp e *Campylobacter* spp (MENIN et al., 2008), além de agentes virais (Coronavírus, Rotavírus e Circovírus suíno tipo-2) e agentes parasitários (*Isospora suis* e *Cryptosporidium* spp) são os principais patógenos envolvidos na diarreia dos suínos (ZLOTOWSKI; DRIEMEIER; BARCELLOS, 2008).

2.4.2 *Escherichia coli*

Dentre as principais bactérias que acometem os leitões desmamados encontra-se *Escherichia coli*, que é uma bactéria gram-negativa anaeróbica, pertence a família *Enterobacteriaceae* e a maioria das estirpes não são

virulentas (BROECK et al., 2000). A *E. coli* pode ser classificada por sorotipagem segundo a determinação dos antígenos O (somático), K (capsular ou microcapsular), H (flagelar) e F (fimbrial). Onde as estirpes patogênicas são classificadas em virotipos, ou seja, segundo a combinação dos fatores de virulência (FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

E. coli enterotoxigenica (ETEC) é o patótipo mais comum relacionado a DPD, gerando distúrbios entéricos e prejuízos à saúde e ao desempenho animal (NABUURS et al., 1993; BRAZ, 2008; HEO et al., 2012). Os principais fatores de virulência são as fímbrias (K88, K99, 987P, F41, F18) além do gene afimbrial AIDA – Adesina Envolvida em Aderência Difusa, que pode estar sozinho ou associada à fímbria F18 e as enterotoxinas termoestáveis (STa e STb) e termolábeis (LT). Outra toxina tem se mostrado difundida na ETEC de suínos, a toxina termoestável enteroagregativa 1 (ESAT-1), que normalmente está envolvida com patótipo de *E. coli* que ocasiona diarreia em humanos (FAIRBROTHER; NADEAU; GYLES, 2005).

As fímbrias F4 (K88) e F18 são as duas principais fímbrias relacionadas com as ETEC envolvidas na DPD (ALFIERI; ALFIERI; BARRY, 2010) e os principais sorogrupos a elas relacionados são: O8; O138; O139; O141; O147; O149; O157, com predominância para o sorogrupo O149 nos casos de DPD. Além destes fatores, altas porcentagens de ETEC têm apresentado capacidade hemolisante (FAIRBROTHER; GYLES, 2012; HEO et al., 2012).

As fímbrias F18 estão tipicamente associadas à DPD, enquanto as fímbrias F4 estão associadas a diarreia em leitões lactentes e em leitões desmamados. F18 possui duas variantes antigênicas F18ab e F18ac que produzem principalmente enterotoxinas termoestáveis STa e STb produzem com maior frequência enterotoxinas termoestáveis STa e STb, com ou sem toxina Shiga 2e (Stx2e), envolvida na doença do edema, e raramente produzem enterotoxinas termolábeis (LT). Já a F4 (K88) possui 3 variantes, F4ab, F4ac e F4ad, porém F4ac é o tipo dominante (FAIRBROTHER; NADEAU; GYLES, 2005; HEO et al., 2012)..

Assim, a colibacilose é a doença entérica de maior impacto em animais neonatos e no pós-desmame, podendo colonizar e infectar toda a extensão do ID por meio da ligação de suas fímbrias (localizado na parede bacteriana) aos receptores específicos localizados na superfície do enterócito (FAIRBROTHER; NADEAU; GYLES, 2005; ALFIERI; ALFIERI; BARRY, 2010), seguida da liberação

de enterotoxinas LT e ST, que agem sobre a barreira funcional da mucosa aumentando a permeabilidade intestinal (GUIGNOT et al., 2007).

As toxinas termolábeis estimulam a atividade da enzima adenilciclase, aumentando os níveis de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) nas vilosidades e criptas, ocasionando efluxo de íons de Na⁺, Cl⁻ e água para o lúmen intestinal; e toxinas termoestáveis, que estimulam a enzima guanilato ciclase que aumenta os níveis de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), reduzindo a absorção de líquido e sais no ID. Como consequencias, se estabelece uma diarreia aquosa do tipo secretória, a desidratação, a queda do consumo de ração, a digestibilidade dos nutrientes e a perda do desempenho (HEO et al., 2012).

Os suínos também podem possuir resistência genética contra a infecção por ETEC, através da não expressão de receptores específicos nos enterócitos, tanto para as fímbrias como para as toxinas. Onde a presença dos receptores específicos nos enterócitos também varia com a idade do animal, estando presente somente em determinada fase de sua vida (HEO et al., 2012)

A imunidade conferida ao animal através da infecção por um patótipo de *E. coli*, não confere imunidade a outros patótipos, além da diversa resistência a vários antibióticos (HOPWOOD; HAMPSON, 2003).

E. coli é uma das espécies de bactérias que apresentam maior relação com plasmídeos contendo genes de resistência múltipla aos antimicrobianos (COSTA et al., 2009) e foi adotada como indicador de resistência antimicrobiana em animais (PISSETTI et al., 2017) devido a resistência de uma droga estar ligada geneticamente a outras. A gentamicina, por exemplo, possui gene de resistência localizado num plasmídeo, que codifica resistência para a tetraciclina, sulfonamidas e penicilinas (COSTA et al., 2009).

Segundo Pissetti et al. (2017), após avaliação de susceptibilidade antimicrobiana a ampicilina, cefotaxima, ceftadzima, cloranfenicol, ciprofloxacina, florfenicol, gentamicina, ácido nalidíxico, sulfonamida e tetraciclina em 183 isolados de *E. coli* em 4 granjas de suínos com diferentes protocolos de utilização de antimicrobianos via ração, localizadas no Oeste do estado do Paraná – BR, apenas 7,65% foram susceptíveis a todos antimicrobianos e 78,14% foram considerados multiresistentes (MDR). Com relação a colistina, 18,6% das cepas de *E.coli* exibiram mínima concentração inibitória (MIC) de 8 µg/mL. Sendo que entre as cepas resistentes, o gene resistente a colistina (*mcr-1*) foi detectado em 77,5% e a maior

preocupação se dá por este gene estar localizado em plasmídeos, podendo ser transferidos entre as bactérias.

2.5 ANTIBIÓTICOS NA SUINOCULTURA

Dentre as possíveis substâncias que estão disponíveis no mercado para evitar/diminuir os impactos causados pelo crescimento de microrganismos indesejáveis no TGI, principalmente no período inicial do desmame, estão os antibióticos (GILLESPIE; FLANDERS, 2009), no qual são amplamente empregados em dietas de creche, como uma forma de reduzir a diarreia e melhorar o desempenho (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993).

Os antibióticos são classificados como pró-nutrientes e definidos como micro-ingredientes utilizados nas rações dos animais (BELLAYER, 2005). Eles são utilizados na suinocultura há mais de 60 anos como forma de tratamento direto dos animais que apresentam alguma doença infecciosa.

Estas substâncias têm seu uso voltado para fins preventivos ou como antibiótico promotor de crescimento (APC) (BELLAYER, 2005; SILVA; ZOTTI, 2010), que após sua descoberta tornou-se desde então uma prática de estratégia nutricional voltada para os animais de produção (CLOSE, 2000), na qual, sob baixas dosagens, resultam em maior eficiência e desempenho zootécnico, melhor aproveitamento dos nutrientes disponíveis na dieta, redução e modulação bacteriana no TGI e redução da morbidade e da mortalidade, por reduzir infecções subclínicas, principalmente em leitões que possuem maior vulnerabilidade (CROMWELL, 2002; BELLAYER, 2005; HEO et al., 2012; THACKER et al., 2013),

Dentre as ações dos promotores de crescimento estão: modificar o processo metabólico do hospedeiro; reduzir a disponibilidade de nutrientes que são metabolizados durante a fase de crescimento de microrganismos prejudiciais ao metabolismo (síntese de vitaminas, microminerais, aminoácidos); aumentar a capacidade de absorção de nutrientes do TGI; funcionar como quelantes intracelulares de microminerais essenciais para o metabolismo de microrganismos patogênicos; agir como antimicrobiano de largo espectro (BELLAYER, 2005).

Porém, sua maior importância, que vêm durante anos justificando o seu uso, é a ação sobre a microbiota no trato gastrointestinal, contendo a competição entre o patógeno e o hospedeiro por nutrientes e a ação dos metabólitos por estes

produzidos, possibilitando o desempenho mais adequado dos animais (GONZALES et al., 2012).

A colistina (polimixina E) aparece como a principal droga utilizada para reduzir o acometimento da diarreia pós desmame em leitões. Esta possui ação seletiva sobre bacilos entéricos gram-negativos, principalmente sobre a *Escherichia coli*, atuando como detergentes catiônicos simples sobre a membrana externa e citoplasmática, desbalanceando os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} e promovendo a ruptura das membranas (MENDES; BURDMANN, 2009). Na medicina humana a colistina é utilizada como um dos principais recursos no tratamento de infecções causadas por bactérias multi-resistentes, porém, bactérias resistentes (*E. coli* por exemplo) já foram relatadas em países da Ásia, África, Europa, América do Norte e América do Sul. No Brasil foi relatado o primeiro caso de *E. coli* resistente a colistina em humanos em 2016 (FERNANDES et al., 2016).

No Brasil, após decreto do MAPA, sob a INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 45, DE 22 DE NOVEMBRO DE 2016 – fica proibida em todo o território nacional, a importação e fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal (BRASIL, 2016).

Mesmo com os diversos benefícios que essas substâncias trazem para a suinocultura, elas têm sido alvo de muita polêmica, em especial sobre o seu uso contínuo na dieta dos animais, no qual estaria facilitando o desenvolvimento de bactérias resistentes (VONDRUSKOVA et al., 2010). De modo geral, os APCs correspondem à forma de administração mais comum relacionada com a seleção de microrganismos resistentes e sobre a transferência desses genes entre bactérias, que podem culminar em bactérias entéricas zoonóticas resistentes, transmitidas dos animais para os humanos (FELS-KLERX et al., 2011), ou através de seus resíduos na carne (VONDRUSKOVA et al., 2010).

Por esta implicação, pela preocupação por parte dos consumidores e pela demanda do mercado internacional pela produção de proteína animal livre da adição de antibióticos (HEO et al., 2012; THACKER et al., 2013), medidas de banimento do seu uso como promotores de crescimento foram tomados na União Européia (COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2003).

Porém, o repentino corte dos APC na suinocultura pode fazer com que aumente a utilização de antibióticos na forma terapêutica, devido a um aumento

da susceptibilidade dos animais às infecções caso ainda não haja um plano técnico alternativo implementado (CLOSE, 2000), como denota Mevius et al., (2007), no qual o uso de tetraciclina, sob a forma terapêutica, aumentou na Holanda após a proibição do uso dos APC em 2006.

Problemas entéricos como a DPD continuam a ser um dos fatores mais impactantes economicamente na suinocultura intensiva e a associação deste problema com os riscos e a preocupação por conta dos consumidores com o uso de antibióticos na produção animal e a poluição ambiental, tanto com os antibióticos quanto com metais pesados, levaram a intensiva busca de aditivos alimentares seguros e eficazes que possam diminuir substancialmente a dependência aos antibióticos (PLUSKE, 2013).

A suinocultura e a avicultura são duas das principais atividades em que mais se utiliza os APC, e os principais aditivos que estão sendo amplamente pesquisados como alternativa ao uso dos antibióticos são os probióticos, prebióticos, acidificantes e extratos vegetais, com destaque aos ácidos orgânicos e óleos essenciais (MORÉS, 2014), estando, todavia, em constantes avaliações para efetivamente participarem como aditivos regulares das rações comerciais (UTCHARIYAKIAT et al., 2016).

O Brasil, como um dos principais produtores de carne suína, está reavaliando as medidas de manejo zootécnico, nutricional e a biossegurança, como forma de se adequar as exigências do segmento, com vistas a aumentar sua participação no mercado internacional, com a produção de suínos livres de APC. Para que haja esta evolução no mercado interno é necessário que ocorra a intensificação de pesquisas com a utilização dos possíveis aditivos substitutos frente aos APC, sem a finalidade de tratamentos clínicos, e que possa diminuir as disfunções do TGI no pós desmame, mantendo a competitividade do desempenho, sem acarretar possíveis danos à saúde animal e humana (HEO et al., 2012).

No entanto, os suinocultores devem ter em mente que o sucesso na produção sem a adição de antibióticos não está ligado a somente aos aditivos substitutos, mas à gestão pertinente das rotinas de manejo e biossegurança da granja (CLOSE, 2000).

2.6 ÁCIDOS ORGÂNICOS (AO)

Os ácidos orgânicos são produtos que estão presentes nas plantas e nos tecidos animais (MROZ, 2005), sendo constituintes naturais destes ou formados pelo processo de fermentação microbiana no IG dos suínos (produtos intermediários ou finais) (GAUTHIER, 2002; PAPATSIROS; CHRISTODOULOPOULOS; FILIPPOPOULOS, 2012). Estes também podem ser denominados de ácidos carboxílicos, por conter uma ou mais carboxilas (COOH) em sua molécula, podendo incluir a esta classe os aminoácidos e os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (BRAZ, 2007).

Estes ácidos são encontrados na forma livre (utilizados principalmente como fonte de energia no intestino) e como sais de cálcio e potássio. A vantagem dos sais sobre os ácidos livres é que geralmente são inodoros, pouco voláteis, estão na forma sólida e, portanto, são de fácil manipulação, em especial quando envolvidos na produção de alimentos e de rações (PARTANEN; MROZ, 1999; DIBNER; BUTTIN, 2002).

Outra vantagem dos sais de ácidos é que têm pouco ou nenhum efeito corrosivo no TGI, destacando-se o di-propionato de amônia, di-formato de potássio, formato de sódio, propionato de cálcio, lactato de cálcio, formato de amônia e outros mais (PAUL et al., 2007). Entre os ácidos mais utilizados temos: o ácido fórmico, acético, propiônico, butírico, láctico, málico, benzóico, sórbico, fumárico e cítrico, sendo os quatro últimos encontrados na forma sólida e os demais na forma líquida como ilustra a Tabela 1 (PARTANEN; MROZ, 1999; GAUTHIER, 2002).

Tabela 1. Fórmulas físicas e características químicas de alguns dos ácidos orgânicos utilizados como acidificantes em dietas de leitões.

Ácido	Fórmula	MM ¹ (g/mol)	Forma	pKa ²
Fórmico	CH ₂ O ₂	46.03	Líquido	3,75
Acético	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	Líquido	4,76
Propiônico	C ₃ H ₆ O ₂	74.08	Líquido	4,88
Butírico	C ₄ H ₈ O ₂	88.12	Líquido	4,82
Lático	C ₃ H ₆ O ₃	90.08	Líquido	3,83
Fumárico	C ₄ H ₄ O ₄	116.07	Sólido	3,02/4,38
Cítrico	C ₄ H ₆ O ₅	192,14	Sólido	3,13/4,76/6,40
Málico	C ₄ H ₆ O ₅	136,06	Líquido	3,4/5,10
Sorbico	C ₆ H ₈ O ₂	112,12	Sólido	4,76
Benzoico	C ₇ H ₆ O ₂	122,12	Sólido	4,21

¹MM – massa molecular expressa em gramas.

²pKa – constante de dissociação

Adaptado de Partanen et al., (1999)

Os ácidos orgânicos são considerados como ácidos fracos, possuem cadeia curta (de 1 a 7 carbonos em sua fórmula) e são monocarboxílico simples e produzem menor quantidade de prótons por molécula ao se dissociarem (BELLAVÉR; SCHEUERMANN, 2004) e podem ser divididos em dois grupos, conforme seus efeitos. Um grupo composto pelos ácidos láctico, fumárico e cítrico, onde o efeito sobre a diminuição das populações bacterianas ocorre de forma indireta, diminuindo o pH do estômago; e o segundo grupo formado pelos ácidos fórmico, acético, propiônico e sorbico, no qual possui efeito direto em diminuir o pH do TGI, com ação na parede das bactérias gram-negativas, prevenindo a replicação do ácido desoxirribonucléico (VONDRUSKOVA et al., 2010).

2.6.1 Modo de Ação dos Ácidos Orgânicos

Os acidificantes/ácidos orgânicos foram inicialmente incluídos nas rações de leitões devido a incapacidade destes, nesta categoria, manterem o pH do TGI sob níveis ótimos no período pós-desmama, porém, com novas pesquisas, foram relatadas diversas outras facetas que estes detêm, que explicam a possível melhora que determinam no desempenho e na eficiência alimentar (KIM et al., 2005).

Os ácidos orgânicos estão sendo utilizados como aditivos alimentares na ração dos suínos, principalmente direcionados para leitões, por terem a capacidade de modular a microbiota intestinal atuando como agentes bactericidas ou bacteriostáticos conforme sua inclusão na dieta. Porém, também atuam como conservantes de alimentos na ração animal, fonte de energia, melhoram a utilização de minerais e nutrientes, além de estimularem a secreção de enzimas endógenas e a morfologia intestinal (DIBNER; BUTTIN, 2002; PAPATSIROS, CHRISTODOULOPOULOS; FILIPPOPOULOS, 2012; SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

2.6.1.1 Atividade Antibacteriana dos Ácidos Orgânicos

Quanto aos efeitos clássicos antibacterianos dos ácidos orgânicos na microbiota intestinal, são atribuídos dois mecanismos: a redução do pH dos alimentos e do sistema digestório, criando um ambiente negativo para o crescimento de microrganismos patogênicos; e o efeito antimicrobiano específico devido à forma não dissociada dos ácidos, que leva à alteração de diversos processos essenciais para a vida destes agentes, ocasionando mudanças qualitativas e quantitativas dos microrganismos no TGI (PARTANEN; MROZ, 1999; DAVIDSON; TAYLOR, 2007).

Cada ácido possui diferentes espectros de atividade antibacteriana, podendo ser utilizados de forma isolada ou em conjunto, (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015), de forma que venham a manifestar uma atividade antimicrobiana cuja ação pode ser direta ou indireta.

Na forma direta possuem a capacidade de penetrar a membrana celular externa das bactérias patogênicas, incluindo *E. coli*, *Samonella spp*, *Clostridium spp*, *Listeria spp* e de alguns tipos de coliformes no estomago e ID (SURYANARAYANA et al., 2012). Os ácidos orgânicos não dissociados atuam difundindo-se passivamente pela parede bacteriana e posteriormente dissociando-se, caso a constante de dissociação (pKa) seja inferior ao pH no interior da célula (GAUTHIER, 2005), no qual os ácidos orgânicos liberam prótons de H⁺, que resultará em acidificação do meio, alteração do metabolismo bacteriano e esgotamento do microrganismo na tentativa de eliminar o excesso de prótons H⁺ (RUTZ et al. 2007), através da bomba ATPase (CHIQUIERI et al. 2009). Deste modo ocorre a supressão das enzimas bacterianas como descarboxilases e catalases e o

controle das bactérias que não suportam as condições do meio acidificado (GAUTHIER, 2005; MORÉS, 2014).

Agindo de forma indireta, há a dissociação dos ácidos orgânicos no intestino pela acidificação do meio, desempenhando um papel de proteção contra a colonização bacteriana. Já no estômago, reduz o pH em conjunto com o ácido clorídrico, ocasionando liberação de íons H^+ após a hidrólise gástrica, resultando em aumento da atividade das enzimas proteolíticas e no tempo de retenção gástrica, e por consequência resultando em melhora da digestão protéica e inibição do crescimento bacteriano (PARTANEN; MROZ, 1999; MROZ, 2005).

Estas ações conduzem à modulação da microbiota do trato gastrointestinal, favorecendo as bactérias benéficas em detrimento das patogênicas (NAMKUNG et al. 2004), provendo melhores condições de saúde, morfologia intestinal, digestão, aproveitamento alimentar e desempenho zootécnico (PLUSKE et al., 2002). Segundo Vondruskova et al. (2010), a alteração na microbiota no IG e ceco pode não ser tão acentuada, resultando em variações distintas em pesquisas quanto a contagem de *E. coli* e coliformes no TGI, além de também evidenciar ação dos ácidos orgânicos contra bactérias benéficas como *Lactobacillus* spp e *Bifidobacterium* spp, reduzindo a contagem destas no ID e IG (TUNG; PETTIGREW, 2006; KIL; KWON E KIM, 2011).

2.6.1.2 Ação Sobre a Morfologia Intestinal

Os ácidos orgânicos influenciam na morfologia da mucosa intestinal através da estimulação direta sobre a proliferação das células epiteliais, melhorando a relação da altura das vilosidades e da profundidade das criptas (DIBNER; BUTTIN, 2002). Mroz (2005) cita os ácidos orgânicos como elementos que agem como substrato energético ou modulador para o desenvolvimento da mucosa, sendo precursores para a síntese de aminoácidos não essenciais, DNA e lipídeos, necessário para o crescimento de células epiteliais, possibilitando a maior capacidade de absorção intestinal. Vilosidades mais longas indicam maior capacidade de absorção, maior produção enzimática e mais saúde do intestino, com resultados superiores no desempenho e no controle da diarreia (PLUSKE et al., 1997).

Sob uma ótica convergente com a qualidade intestinal, Grilli et al. (2010), utilizando ácidos orgânicos microencapsulados (ácido cítrico e ácido ascórbico) na ração de leitões desmamados, observaram uma maior produção de ácidos graxos voláteis (AGV) no intestino grosso. A rápida absorção desses ácidos graxos do cólon dos suínos, junto com as altas concentrações normalmente presentes como resultado da digestão microbiana do carboidrato solúvel, sugere que os AGV podem fornecer uma importante fonte de energia para esses animais (ARGENZIO; SOUTHWORTH, 1975).

Os AGV representam uma fonte importante de energia para os enterócitos e tecidos adjacentes, além de atuarem na redução de processos inflamatórios e na diminuição do crescimento de bactérias patogênicas (BLAUT; CLAVEL, 2007; RICHARDS; GONG; LANGE, 2005). Neste particular, o ácido butírico é a principal fonte de energia para as células epiteliais do intestino grosso, guardando alta eficiência na promoção do desenvolvimento epitelial (GÁLFI; BOKORI, 1990).

Callegari et al. (2016) verificaram que o uso de diferentes misturas e doses de ácidos orgânicos microencapsulados foram efetivos no controle da diarreia de leitões desmamados, sendo que as dietas com ácidos (comparadas com dietas isentas destes) promoveram a redução do pH gástrico e o aumento da produção de AGV no ceco, principalmente quando associadas aos óleos essenciais.

2.6.1.3 Conservantes de Alimentos e Intensificadores de Sabor

Em geral os ingredientes utilizados na elaboração das rações, como grãos e alguns produtos de origem animal, têm alguma contaminação microbiana presente (bactérias, fungos e protozoários), sendo esta oriunda da planta ainda na lavoura e/ou decorrente de condições desfavoráveis durante seu armazenamento. Como são substratos ricos nutricionalmente, estes ingredientes e a própria ração suportam o crescimento destes agentes, que podem gerar danos aos animais quando são diretamente ingeridos ou indiretamente através de suas toxinas.

Neste cenário, os ácidos orgânicos e seus derivados são frequentemente utilizados como conservantes devido às alterações que promovem no alimento pela queda do pH que imprimem, gerando um meio inapropriado para o desenvolvimento microbiano (PAPATSIROS; BILLINIS, 2012). Neste caso, a

contaminação inicial de um alimento pode ser minimizada pela adição de ácidos antes e durante seu processamento (DIXON; HAMILTON, 1981; QUITMANN et al., 2013).

Outro fator importante na conservação de alimentos se deve ao potencial dos ácidos orgânicos e de seus derivados em atuar como antioxidantes ou em sinergia com este efeito. Os ácidos fenólicos, como o ácido gálico ou ácido ferúlico e seus derivados, atuam como antioxidantes primários. Já o ácido ascórbico e o ácido cítrico, bem como seus derivados, são exemplos de substâncias sinérgicas, pois melhoram a estabilidade do antioxidante primário e dos lipídios, acidificando o meio. Além disso, desativam íons metálicos pró-oxidantes, como ferro e o cobre, formando quelatos. O ácido ascórbico e seus derivados podem também eliminar o oxigênio e regenerar antioxidantes primários, como os tocoferóis (QUITMANN et al., 2013).

Outra particularidade destes aditivos é a capacidade que têm em melhorar a palatabilidade dos alimentos, intensificando o sabor sem efetivamente imprimir um perfil ácido próprio, equilibrando com a sua acidez o sabor doce de um alimento (QUITMANN et al., 2013), aumentando o interesse dos animais, o consumo e conseqüentemente o desempenho (LEI et al., 2017; LUISE et al., 2017). No entanto, considera-se que altos níveis dietéticos de certos ácidos orgânicos podem reduzir substancialmente a palatabilidade da dieta e afetar o consumo de ração dos suínos (RUDBÄCK, 2013), sendo que o ácido cítrico e os ácidos tartárico e fórmico podem implicar negativamente no consumo dos leitões por apresentarem cheiro e sabor muito acentuado. Porém, esta inferência no consumo pode estar mais relacionada à faixa etária dos suínos, em que leitões mais jovens são mais propensos a sentirem as mudanças de palatabilidade na ração (PARTANEN; MROZ, 1999).

2.6.1.4 Estimulantes da Secreção de Enzimas Endógenas

Os ácidos orgânicos atuam diretamente na estimulação da secreção de enzimas devido a influência sobre a secreção pancreática e biliar, além de servirem como substratos para o metabolismo intermediário, contribuindo para a melhora da digestão, da absorção e do aproveitamento dos nutrientes dietéticos (THAELA et al., 1998). Os mecanismos de ação propostos incluem a redução ou

estabilização do pH gástrico, resultando em aumento da atividade das enzimas proteolíticas e do tempo de retenção gástrica, melhorando, portanto, a digestão proteica e conseqüentemente de aminoácidos (PARTANEN; MROZ, 1999).

2.6.1.5 Absorção de Minerais

A absorção de minerais pode ser melhorada pela inclusão de ácidos orgânicos na dieta, pois os ânions destes ácidos podem formar complexos com o cálcio, fósforo, magnésio e zinco, incrementando a digestão desses minerais e reduzindo a excreção de minerais suplementares e do nitrogênio (PARTANEN; MROZ, 1999; SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Do mesmo modo, uma diminuição no pH intestinal é favorável para a solubilidade de alguns minerais, especialmente para o fósforo, melhorando sua absorção (JONGBLOED et al., 2000), mas ainda há divergências sobre a redução do pH no TGI. Li et al. (2008) relataram que a utilização dos ácidos butírico, fumárico e benzóico a 0,5% e 1% não promoveu redução do pH da digesta no estômago, duodeno, jejuno e íleo de leitões desmamados.

2.6.2 Ácido Propiônico

O ácido propiônico está sob a forma líquida/oleoso e possui odor rançoso desagradável, sendo produzido pela *Propionibacterium* na fabricação de queijo (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015) e é um dos principais produtos finais da fermentação bacteriana de fibras no cólon do suíno e como metabólito da degradação de valina (PARTANEN; MROZ, 1999). O ácido propiônico apresenta maior efeito antifúngico do que antimicrobiano, apresentando uma concentração mínima inibitória (CMI) de até cinco vezes maior do que o ácido fórmico para inibir o crescimento de *E. coli* (GIANNENAS, 2017).

Alguns testes utilizando um produto comercial a base de ácido propiônico (53,5%), normalmente a 0,3 – 1% para leitões, não mostraram a possibilidade de afetar a contagem de *Lactobacillus* spp e *E. coli*, diminuir o pH e aumentar a produção de AGCC nos diferentes segmentos do TGI (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Segundo a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), o limite máximo seguro de ácido propiônico para suínos é de 30 g/kg de ração e de 10g por litro de água. Porém, sob a dosagem de 20g/kg há relatos de perda de palatabilidade da ração pelo odor rançoso que imprime (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993; GIANNENAS, 2017). Segundo Mc Donald et al. (2002), a recomendação de inclusão do ácido propiônico na ração de suínos está entre 0,8-1%.

2.6.3 Ácido Fórmico

O ácido fórmico está sob a forma líquida, é incolor e transparente com odor pungente e solúvel em água (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). O formato (sal do ácido fórmico) é um constituinte natural do tecido animal e do sangue, e serve como substrato para a biossíntese de bases purinas e, conseqüentemente, de ácidos nucléicos (PARTANEN; MROZ, 1999).

O ácido fórmico depois de ingerido é rapidamente absorvido nas membranas mucosas, e apresenta certo potencial tóxico. A dose letal média (DL50) após a ingestão de ácido fórmico é de 1 ± 2 g/kg de peso corporal, já os sais do ácido fórmico (formatos de sódio e potássio), demonstram menor toxidez (PARTANEN & MROZ, 1999) e são ótimas alternativas aos problemas com a manipulação do ácido fórmico. Tanto o ácido, quanto o seu sal, denotam efeitos positivos para leitões, e demonstram a capacidade de melhorar o desempenho. Porém, a adição em níveis acima de 18g/kg de ração causam problemas como retardo no desempenho, correspondente a uma menor palatabilidade e queda no consumo (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993; KIM et al., 2005).

O ácido fórmico é capaz de difundir-se rapidamente pelas membranas celulares bacterianas, conferindo a este poder antimicrobiano duas vezes mais forte do que o ácido propiônico e três vezes mais forte do que o ácido láctico contra importantes bactérias patogênicas aos suínos, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*. Por esta característica ele se mostra eficaz mesmo em pequenas doses (GIANNENAS, 2017). Já bactérias ácido lácticas e fungos apresentam maior resistência em sua presença (KIM et al., 2005).

Segundo Mc Donald et al. (2002), a recomendação de inclusão do ácido fórmico na ração de suínos está entre 0,6-0,8%, no entanto, quando incluídos em níveis de 0,6% a 2,40% na dieta não resultou em alterações na contagem de *Lactobacillus/Bifidobacterium* no duodeno, jejuno e íleo e ainda ocasionou aumento da *E. coli* no duodeno com 1,8% de inclusão. Já no ceco, promoveu redução tanto de *Lactobacillus/Bifidobacterium* e *E. coli*. Contudo, sob uma inclusão 1,24% e 1,38% com uma mistura de ácido fórmico + ácido láctico, possibilitou menor contagem de coliformes no ID (TUNG; PETTIGREW, 2006).

2.6.4 Ácido Fumárico

O ácido fumárico está sob a forma sólida, sendo menos volátil e inodoro do que os ácidos sob a forma líquida, além de ser moderadamente solúvel em água, é cristalino e apresenta sabor ácido. No suíno o ácido fumárico surge como um metabolito da degradação da fenilalanina e da tirosina e ocorre como produto intermediário no ciclo da ureia e durante a síntese da purina (PARTANEN; MROZ, 1999). Assim como o ácido cítrico, o fumárico é destinado ao ciclo do ácido cítrico e serve como metabólito intermediário (KIM et al., 2005) e pode servir como fonte de energia imediata para as células epiteliais intestinais (KIL; KWON E KIM, 2011).

Este ácido pode melhorar a absorção dos nutrientes no ID por ser utilizado como fonte de energia prontamente disponível para as células da mucosa intestinal, favorecendo o aumento da superfície do órgão (VIOLA; VIEIRA, 2004). O ácido fumárico é um dos ácidos preteridos para leitões desmamados (KIM et al., 2005), o qual há tempos, demonstraram a possibilidade de melhorar importantes índices zootécnicos como ganho de peso e conversão alimentar de leitões desmamados, com doses variando entre 20 a 40g/kg de ração (RAVINDRAN; KORNEGAY, 1993). Giesting e Easter (1985) relataram que níveis crescentes de 0, 1, 2, 3 e 4% de ácido fumárico na dieta de leitões resultaram em progressiva melhora de todos os parâmetros de desempenho, porém, normalmente este ácido não demonstra afetar a digestibilidade dos nutrientes (KIM et al., 2005).

Segundo Mc Donald et al. (2002), a recomendação de inclusão do ácido fumárico na ração de suínos está entre 1,0-1,5%. Gomes et al. (2007), trabalhando com leitões desmamados aos 15 dias de idade, alcançaram melhores

índices de ganho de peso e consumo de ração com a adição de 0,5% e 1% de ácido fumárico na dieta basal, além de maior altura das vilosidades do duodeno somente com o ácido fumárico ou quando combinado aos ácidos butírico (1%) e fórmico (0,5%). Porém, este resultado não prevaleceu no jejuno e íleo. Já sob a inclusão de 1,5%, melhorou o ganho de peso e a conversão alimentar na primeira semana pós-desmame (RADECKI; JUHL; MILLER, 1988) e não ocasionou alterações na contagem de *Lactobacillus* ou *E. coli* em todos os segmentos do TGI de leitões desmamados aos 21 dias de idade (RISLEY, et al., 1992).

2.6.5 Ácido Acético

O ácido acético é produzido através da oxidação do álcool pelas por bactérias do gênero *Acetobacter*. Está sob a forma líquida, é incolor, altamente solúvel em água e apresenta odor pungente (PARTANEN; MROZ, 1999). O ácido acético, assim como o butírico e propiônico, é um dos AGCC produzidos pela fermentação bacteriana de carboidratos no IG, com capacidade de estimular a proliferação de células epiteliais.

Os AGCC podem influenciar os padrões de fermentação no ID e de forma indireta alterar padrões da morfologia intestinal, como aumento das microvilosidades e profundidade de criptas, melhorando a absorção de nutrientes (KIM et al., 2005), porém dentre os ácidos butírico, propiônico e acético, o último apresenta menor capacidade de alteração da morfologia intestinal (GIANNENAS, 2017). Sua inclusão em níveis de 1% na dieta pode beneficiar ganho de peso e a conversão alimentar de leitões no pós-desmame, tendo sua ação suprimida com o avançar da idade (BASNIAK, 2010).

2.6.6 Utilização de Ácidos Orgânicos na Ração de Leitões Desmamados

Utilizando ácidos orgânicos microencapsulados (ácido cítrico e ácido ascórbico) na ração de leitões desmamados, Grilli et al. (2010) obtiveram bons resultados no desempenho zootécnico, além de aumento na produção de AGV no intestino grosso. Callegari et al. (2016) mostraram que o uso de diferentes misturas e doses de ácidos orgânicos microencapsulados são efetivos no controle da diarreia, sendo que as dietas com ácidos promoveram redução do pH gástrico e aumento da

produção de AGV no ceco, quando comparados a dieta basal sem adição de ácidos orgânicos.

Já, Lei et al. (2016) desafiaram leitões de 28 dias de idade com *E. coli* K88 e testaram o efeito de um *blend* de ácidos orgânicos na ração (17% de ácido fumárico, 13% de ácido cítrico, 10% de ácido málico, e 1,2% de ácidos graxos de cadeia média), com inclusão de 0,2% e 0,4% em uma dieta basal (grupo controle). Ambas as dietas promoveram maior consumo diário de ração, ganho de peso diário, melhoraram a conversão alimentar e diminuíram a incidência de diarreia quando comparadas ao grupo controle.

Diversos testes são realizados comparando os efeitos dos ácidos orgânicos com APC, e indicam a possibilidade de seu uso como alternativa a estas drogas para leitões recém-desmamados, no qual seu efeito aparece principalmente na modulação da microbiota intestinal.

Nesta linha se encontra a pesquisa de Long et al. (2017), na qual o uso de ácido fórmico, acético, propiônico mais ácidos graxos de cadeia média (tratamento ácidos 1), na dose de 3g/kg ração, e ácido sórbico mais butirato (tratamento ácidos 2), na dose de 2g/kg de ração se mostraram efetivos substitutos dos APC, gerando ótimos resultados de desempenho (resultados semelhantes ao tratamento APC - 10 mg/kg de ração de bacitracina de zinco, 5 mg/kg de ração de sulfato de colistina e 5 mg/kg de ração de olaquinox), além de melhorarem a morfologia intestinal, reduzirem a quantidade de *E. coli* nas fezes e promoverem maiores respostas imunes e menor incidência de diarreia.

Namkung et al. (2004) através do uso de 1,1% de ácido acético, propiônico, fosfórico e cítrico com ou sem a inclusão de mais 1% de ácido láctico, conseguiram resultados equivalentes de desempenho quando comparado ao grupo de leitões que receberam 110ppm de lincomicina na dieta. Os animais pertencentes ao grupo que receberam estes ácidos apresentaram menor pH no cólon e reduziram a população de coliformes no intestino comparados ao grupo controle. O tratamento com lincomicina também reduziu a quantidade de coliformes, porém, teve um decréscimo na quantidade de *Lactobacillus*, que apresentam potencial benéfico ao intestino.

Diferente dos estudos citados, em que foram utilizados misturas de ácidos, Luise et al. (2017) empregaram somente o ácido fórmico em duas doses distintas, 1,4 g/kg e 6,4 g/kg, em comparação com uma dieta basal. Os leitões que

consumiram o ácido, independente da dose, apresentaram melhor ganho de peso nas três semanas iniciais e tenderam a melhorar o consumo e a conversão alimentar.

Tsiloyiannis et al. (2001) trabalharam com a adição de apenas um ácido por tratamento. Os ácidos e a inclusão foram respectivamente: 1% ácido propiônico; 1,6% ácido láctico; 1,2% ácido fórmico; 1,2% de ácido málico; 1,5% ácido cítrico e 1,5% ácido fumárico. Outros dois tratamentos foram utilizados para a comparação. O tratamento controle, que era apenas a dieta basal e o tratamento APC – 44ppm de lincomicina e 44ppm de espectromicina. O desempenho foi enriquecido com o uso dos ácidos orgânicos, resultando em melhores índices de consumo, conversão alimentar, incidência de diarreia do que o tratamento controle negativo, e resultados semelhantes aos APC, principalmente a ração que continha ácido láctico, revelando-se como um excelente recurso no controle da diarreia pós desmame.

Upadhaya, Lee e Kim (2014) pesquisaram a inclusão de 0,1% e 0,2% de um *blend* de ácidos orgânicos e ácidos graxos de cadeia média (AGCM) protegidos para suínos em terminação. As misturas continham 17% de ácido fumárico, 13% de ácido cítrico, 10% de ácido málico e 1,2% de ácido cáprico e caprílico. Os resultados com a inclusão do *blend* de ácidos foram promissores, principalmente com 0,2% de inclusão, repercutindo em aumento GPD, aumento da digestibilidade da matéria seca, nitrogênio e da energia, redução da emissão de gases, melhora da qualidade de carne, além de diminuir a contagem de *E. coli* nas fezes (possivelmente pela acidificação do TGI com os ácidos protegidos) e aumentar a contagem de *Lactobacillus spp.*

Em controvérsia aos resultados descritos, Boas et al. (2016), utilizando um *blend* de ácidos orgânicos que continha 21% de ácido láctico, 18% de ácido fórmico e 10% de ácido cítrico, não observaram diferença em relação à dieta basal (controle) no desempenho dos leitões. Do mesmo modo, Che et al. (2012) não obtiveram resultados significantes com a utilização de uma mistura com ácido cítrico e ácido fumárico, na qual os leitões que consumiram esta dieta sem o uso de APC demonstraram pior consumo diário de ração e menor ganho de peso diário.

Ahmed et al. (2014) não alcançaram resultados positivos utilizando ácido cítrico a 0,5% ou um *blend* de ácidos a 0,4% (fórmico, propiônico, láctico e fosfórico) comparado ao uso de 0,002% de apramicina para leitões desafiados com

E. coli e *Salmonella typhimurium* frente as variáveis consumo diário de ração, ganho diário de peso, contagem de *E. coli* e *Salmonella* fecal, igualando-se apenas para a contagem de *Lactobacillus spp.*

Em comparação com o grupo controle (dieta não acidificada), Basniak (2010), utilizando acidificantes de forma isolada, os ácidos cítrico, láctico, málico e propionico, não denotou melhorias com relação ao consumo de ração e ao ganho de peso para leitões, já o ácido fórmico causou menor consumo e o ácido benzóico melhorou todos os parâmetros de desempenho. Analisando misturas de acidificantes, a mistura de ácido fumárico + ácido fórmico piorou o consumo em 9,29%, o ganho em 13,98% e a conversão alimentar em 8,98%. No geral as associações não trouxeram melhores resultados para as variáveis de desempenho, somente quando o ácido láctico estava presente, além de queda de consumo de ração quando havia o ácido fumárico.

Segundo Risley et al. (1992), o fornecimento de 1,5% de ácido fumárico ou 1,5% de ácido cítrico, para leitões desmamados aos 21 dias de idade e desafiados com *E. coli* K88 (10^{10} UFC) nos dias 3, 4 e 7 pós desmame, não resultou em diferença na contagem de *Lactobacillus spp* no ceco, redução da diarreia, não reduziu significativamente o pH intestinal e não alterou a microbiota e seu metabolismo. As mudanças que houveram com relação a microbiota condizem apenas com a transição bacteriana normal do TGI.

A utilização de ácidos orgânicos (0.416% de ácido fumárico e 0.328% de ácido láctico) adicionados a 1,05% em uma dieta controle a base de cevada, milho e farelo de soja para leitões desmamados aos 25 dias de idade não trouxe melhora nas variáveis de desempenho e não alterou a contagem de bactérias como lactobacilos, bifidobactérias, *E. coli* e enterobactérias no ID e no ceco, porém, os diminuíram a contagem celular de enterotoxina termoestável-STb na digesta do cólon, denotando o poder de redução da patogenicidade da *E. coli* para leitões (ZENTEK et al., 2013).

2.6.7 Resumo Sobre a Utilização dos Ácidos Orgânicos Como Aditivos Alimentares

Devido a estes diversos benefícios, os ácidos orgânicos vêm sendo utilizados há mais de 25 anos, sendo sustentado por resultados positivos obtidos, em especial, em rações destinadas a leitões desmamados, sobretudo pelo fato de

que os leitões têm uma produção limitada de ácido clorídrico e baixa capacidade em manter o pH gástrico adequado neste período (BELLAYER; SCHEUERMANN, 2004; BELLAYER; 2006).

O beneficiamento do desempenho dos suínos alimentados com ácidos orgânicos em sua dieta pode ser explicado através da diminuição da competição do hospedeiro com os microorganismos por nutrientes, reduzindo os riscos de infecção e produção de toxinas bacterianas, que por fim diminui a resposta imune, que pode ser outro fator de competição por nutrientes (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Os estudos visam, principalmente, resultados sobre o desempenho zootécnico, morfologia intestinal, função digestiva, melhora no consumo de ração devido ao aumento da palatabilidade do alimento, modulação da microbiota intestinal e redução da diarreia pós desmame (NAMKUNG et al., 2004; PARTANEN; JALAVA; VALAJA, 2007; GONG et al., 2008; CHRISTODOULOPOULOS; FILIPPOPOULOS, 2012; LONG et al., 2017).

Mesmo com todos esses atributos, ainda existem resultados contraditórios quanto ao uso dos ácidos orgânicos, como: qual ácido utilizar e quais as possíveis combinações e porcentagens de inclusão nas dietas. Segundo Bellaver (2006), a quantidade de acidificante adicionada à ração dependerá do pH do trato gastrointestinal e da capacidade tamponante dos ingredientes da ração.

As divergências de resultados com ácidos orgânicos para leitões ainda são amplas (BASNIAK, 2010), porém, os resultados positivos em relação à melhora do desempenho e redução da porcentagem de leitões acometidos por diarreia na fase de creche, estendendo estes resultados até a terminação (SILVEIRA et al., 2018), levam a crer que estes aditivos podem sim substituir potencialmente estas drogas.

Tais variações podem estar implicadas devido à capacidade tamponante da dieta (que pode exceder a capacidade de acidificação do ácido), combinação de ingredientes e aditivos (BASNIAK, 2010), tipo, pKa dos ácidos, porcentagem de inclusão, diferenças de produção intraluminal de ácidos no TGI, quantidade de substratos de carboidratos fermentáveis disponível na dieta, condição corporal, sanidade e idade dos animais (MROZ, 2005). Segundo Basniak (2010), o nível de acidificação da dieta apresenta uma correlação positiva com as médias de

ganho de peso e consumo de ração, porém uma correlação negativa com a conversão alimentar.

A ineficácia da adição dos ácidos orgânicos para suínos com relação ao desempenho e modulação da microbiota parece estar ligada com a ausência da proteção (encapsulação) dos ácidos, concedendo rápida absorção e metabolismo no TGI, limitando sua ação propriamente dita (MEUNIER et al., 2006; PIVA et al., 2007b).

Tung e Pettigrew (2006), Basniak (2010) e Kil, Kwon e Kim (2011), sustentados em dados de revisão bibliográfica, concluíram que os ácidos orgânicos e seus sais possuem sim capacidade de melhorar o desempenho de leitões desmamados, melhorar a digestibilidade da dieta e promover mudanças na população microbiana, porém, possui efeito marcante na primeira semana após o desmame e vai regredindo progressivamente com o avançar da idade (com variações conforme os ácidos e dose inclusa). Com relação à ação redutora do pH, está mais claro na dieta do que no TGI, possivelmente devido a rápida absorção.

2.7 FITOGÊNICOS - ÓLEOS ESSENCIAIS (OE)

Os fitogênicos, como os óleos essenciais, são compostos bioativos (líquidos oleosos, aromáticos e voláteis) oriundos de partes das plantas, como flores, folhas, brotos, galhos, ervas, raízes, frutas, sementes, cascas e madeira; extraídos através da destilação a vapor e/ou água (OMONIJO et al., 2017) e possuem o odor e outras propriedades características da planta na qual foi extraído (WENK, 2003). Em sua maior parte os óleos essenciais consistem em misturas de hidrocarbonetos (terpenos, sesquiterpenos), compostos oxigenados (ex: álcool, ésteres, aldeídos e cetonas) e uma pequena porcentagem de resíduos não voláteis (LOSA, (2001).

São solúveis em álcool, éter e óleos fixos, porém são insolúveis em água e líquidos em temperatura ambiente. São encontrados no citoplasma de células epidérmicas, células secretoras internas, tricomas e bolsas secretoras (DHIFI et al., 2016). Estes compostos são os responsáveis pela defesa das plantas contra o estresse fisiológico (falta de água ou de nutrientes), fatores ambientais (mudanças climáticas), predadores e patógenos (OETTING et al., 2006; NAZARRO et al., 2017).

Aproximadamente 3000 tipos de óleos essenciais são conhecidos atualmente, sendo que somente 300 são comercialmente importantes e utilizados,

principalmente no mercado de sabores, fragrâncias (VAN DE BRAAK; LEIJTEN, 1999) e como aditivos alimentares (WENK, 2003). Os OE que apresentam maior aplicação na suinocultura são compostos por cinamaldeído, carvacrol, eugenol e timol (THACKER et al., 2013). Geralmente os óleos essenciais são reconhecidos como seguros pela Food and Drug Administration (FDA), órgão regulador dos Estados Unidos da América.

Os extratos vegetais, assim como os óleos essenciais e seus componentes individuais estão sendo amplamente utilizados para novas e significativas aplicações na saúde humana e animal, na agricultura e no meio ambiente (LOSA, 2001; DHIFI et al., 2016). Na esfera da produção animal os óleos essenciais se apresentam como um excelente aditivo natural, com alta competência no que diz respeito às melhorias na qualidade de carne, desempenho animal, sistema digestivo, modulação da microbiota do TGI com aumento das bactérias benéficas em detrimento das patogênicas e diminuição da oxidação lipídica, sem acarretar em problemas secundários como os aditivos sintéticos causam (SIMITZIS, 2017).

Franz, Baser e Windisch (2009) realizaram um levantamento de algumas das principais espécies de plantas que são utilizadas na Europa visando à saúde animal. Dentre elas estão: Mil-folhas, Alcavaria, frutas do gênero Citrus, Camomila, Menta, Anis, Gengibre, Cravo, Sálvia e Pinus.

2.7.1 Modo de Ação dos Óleos Essenciais

Os componentes bioativos dos óleos essenciais foram identificados e alguns progressos foram feitos a fim de elucidar seus mecanismos e funções nos animais. Porém, maiores esforços no âmbito das pesquisas devem ser realizados para o seu uso como substitutos aos antibióticos dentro da nutrição animal (Li et al., 2012).

Dentro dos diversos compostos ativos dos óleos essenciais, os que possuem compostos fenólicos apresentam maior atividade antimicrobiana. A atividade antimicrobiana é devido ao potencial hidrofóbico dos compostos, que desintegram a membrana celular bacteriana como *E. coli* e *Salmonella*, permitindo uma alteração de microbiota, favorecendo o crescimento de bactérias ácido lácticas e redução da carga de bactérias patogênicas (THACKER et al., 2013).

Dentre as diversas propriedades que os compostos bioativos dos óleos essenciais apresentam sobre a saúde e produção animal estão: atividade antibacteriana (Tabela 2) (BURT, 2004), atividade antioxidante, atividade anti-inflamatória e ação sobre a palatabilidade, digestibilidade e metabolismo dos nutrientes (DHIFI et al., 2016; CHOUHAN, SHARMA; GULERIA, 2017; OMONIJO et al., 2017; SIMITZIS, 2017).

Tabela 2. Seleção dos principais óleos essenciais que apresentam propriedades antibacterianas.

Nome comum	Principal componente	Composição aproximada em %
Coentro (folhas imaturas)	Linalool	26%
	E-2-decanal	20%
Coentrrro (sementes)	Linalool	70%
	E-2-decanal	-
Canela	Trans-cinamaldeido	65%
Orégano	Carvacrol	Traços – 80%
	Timol	Traços – 64%
	y-Terpinene	2-52%
	p-Cimeno	Traços – 52%
Alecrim	a-pinene	2 – 25%
	Acetato de bornila	0 – 17%
	Cânfora	2 – 14%
	1,8-cineole	3 – 89%
Sálvia	Cânfora	6 – 15%
	a-pinene	4 – 5%
	B-pinene	2 – 1%
	1,8-cineole	6 – 14%
	a-tujone	20 – 42%
Cravo-da-índia (borto)	Eugenol	75 – 85%
	Acetato de eugenila	8 – 15%
Tomilho	Timol	10 – 64%
	Carvacrol	2 – 11%
	y-tepinene	2 – 31%
	p-Cimeno	10 – 56%

OE que apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* ou em modelos alimentares nos quais podem ser encontrados na literatura.

Adaptado de Burt (2003.)

2.7.1.1 Atividade Antibacteriana

Os óleos essenciais são classificados à ordem dos antimicrobianos naturais e estão sendo amplamente pesquisados com relação a sua utilização nas dietas dos animais de produção (DORMAN; DEANS, 2000; COSTA et al., 2013) e sua contribuição para uma microbiota equilibrada, protegendo os leitões contra bactérias patogênicas (WENK, 2003).

Os óleos essenciais e seus componentes são hidrofóbicos, característica que lhes permite atravessar pela membrana celular lipídica das bactérias, acarretando no seu acúmulo na camada lipídica e, conseqüentemente, ocasionam a perda de integridade da membrana e transporte de íons, resultando em distúrbios da pressão osmótica celular. Em síntese, há uma acelerada perda de gradientes de íons H^+ e K^+ e esgotamento rápido de ATP intracelular através da redução da síntese de ATP e simultaneamente aumento da hidrólise (BARTOL; BARICEVIC, 2014; SIMITZIS, 2017).

A redução do potencial elétrico transmembrana, sendo a força motriz da síntese de ATP, aumenta a permeabilidade da membrana, ocasionando em extravasamento de conteúdo celular (moléculas e íons de sódio e potássio), resultando em perda de ativação de uma série de enzimas citoplasmáticas, manutenção da pressão osmótica e na regulação do pH intracelular, levando à morte celular (FRANZ; WINDISCH, 2009; OMONIJO et al., 2017).

Os óleos essenciais atuam tanto sobre bactérias Gram-positivas (G+), como as Gram-negativas (G-). Porém, apresentam menor ação antimicrobiana sobre as bactérias G- devido as diferenças na parede celular bacteriana (BURT, 2004). As G+ possuem uma camada de peptidoglicano, que permite a penetração dos agentes hidrofóbicos no interior das células afetando o metabolismo bacteriano. Já as G- possuem uma membrana externa dupla de fosfolipídeos sobre a camada de peptidoglicano, reduzindo a permeabilidade e tornando-as mais resistentes aos óleos essenciais (OMONIJO et al., 2017).

2.7.1.2 Atividade Antioxidante

Apesar de o oxigênio ser essencial para o metabolismo e crescimento de organismos vivos, ele também é responsável por reações

indesejadas, como a auto-oxidação. Esse tipo de oxidação leva à destruição de moléculas essenciais presentes na dieta dos animais, além de danos celulares dos organismos. Através da oxidação há a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) que podem acarretar em doenças (KAMEL, 2000).

Diversas plantas e óleos essenciais são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, devido aos compostos fenólicos que estão presentes no óleo, porém, essas características não são restritas a estas plantas. Os outros compostos, como os flavonóides (encontrados em orégano e tomilho) e terpenoides (timol, carvacrol e eugenol, princípios ativos de tomilho, orégano e cravo, respectivamente) protegem alimentos, tecidos e células contra o efeito deletério da oxidação (FRANZ; BASER; WINDISCH, 2010; COSTA et al., 2013).

A habilidade destes compostos em eliminar os radicais livres ajuda na prevenção contra doenças causadas por estes (KAMATOU; VILJOEN, 2010), além de quelar os metais de transição e saturar os oxigênios singlete e tripleto por deslocamento ou decomposição de peróxidos, evitando a disseminação da oxidação (SIMITZIS, 2017).

A oxidação lipídica dos produtos cárneos, em graus variados, resulta na formação de compostos que imprimem sabores desagradáveis, restringindo a aceitação pelos consumidores (LEE; SHIBAMOTO, 2002). Estes compostos, portanto, podem ser adicionados à carne ou aos seus produtos e à dieta dos animais, substituindo os aditivos sintéticos utilizados para este fim (RACANICCI et al., 2004). Hanczakowska, Świątkiewicz e Grela (2015) observaram que a utilização de uma mistura de extratos de ervas (sálvia, urtiga, bálsamo de limão e echinácea), adicionada na ração de suínos em fase de engorda, melhorou significativamente a estabilidade oxidativa na carne, diminuiu o teor de colesterol e aumentou o nível de ácidos graxos polinsaturados.

2.7.1.3 Atividade Antinflamatória

A inflamação é uma resposta inata de proteção dos animais induzida pela lesão tecidual, podendo ser biológica, química ou física, e que tem como objetivo a eliminação dos microrganismos invasores e a remoção de células hospedeiras mortas ou danificadas (STEVENSON; HURST, 2007). No entanto, às vezes, a inflamação pode persistir por mais tempo do que é necessário, causando

mais danos do que benefícios (ASHLEY et al., 2012). Felizmente, existem inúmeras maneiras de controlar a inflamação e promover a saúde geral no processo.

Os fitogênicos são capazes de exercer atividade antiinflamatória através de alguns de seus compostos, por exemplo: limoneno, α -terpineol, δ -3-carene α -pinene e 1,8-cineol. Estes compostos operam a partir da inibição da liberação de histamina e leucotrienos, reduzindo a produção de mediadores inflamatórios, inibição da ciclooxigenase-2 (COX-2), e conseqüentemente, inibindo a produção de prostaglandina, além de interações com as cascatas de sinalizações, envolvendo fatores regulatórios de transcrição e expressão de genes pró-inflamatórios (DHIFI et al., 2016), resultando em menores níveis plasmáticos de citocinas inerentes ao processo inflamatório (VIEIRA et al., 2014).

Um teste *in vitro* com macrófagos alveolares suínos revelou a capacidade antiinflamatória do carvacrol, oleoresina de capsicum, cinamaldeído, eugenol, anetol e oleoresina de açafrão, através da supressão da produção de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 1 beta (IL-1 β) de macrófagos estimulados por lipopolissacarídeo (LPS). O modo de ação da atividade antiinflamatórias dos fitogênicos não estão bem esclarecidos, porém, os resultados sugerem que os efeitos são parcialmente mediados pelo bloqueio da via de ativação do fator nuclear kappa B (LILLEHOJ et al., 2011), que é um fator de transcrição envolvido no controle da expressão de diversos genes ligados à resposta inflamatória (ARAGÃO-FILHO, 2009).

Em razão dos efeitos antiinflamatórios que detém, os fitogênicos são adicionados às dietas de suínos com o objetivo de controlar a inflamação intestinal, que é inerente e constante, resultado da exposição contínua do órgão a vários agentes infecciosos, aos antígenos alimentares e aos desafios de manejo (YANG et al., 2015). O intestino inflamado leva a um comprometimento da função intestinal, tanto no crescimento, desenvolvimento, como na absorção de nutrientes, afetando consideravelmente o desempenho animal (WATERS et al., 1999).

Fiesel et al. (2014) relataram uma menor expressão de vários genes pró-inflamatórios na mucosa intestinal, além de um efeito benéfico na função absorptiva do intestino (aumento da superfície de absorção) de suínos jovens suplementados com produtos de origem vegetal ricos em polifenóis. Em leitões desmamados a adição de óleo de canela (50 mg/kg dieta) reduziu significativamente as lesões induzidas pelo lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* devido à supressão

da inflamação, assim como também a redução do estresse oxidativo na mucosa intestinal (WANG et al., 2015). Também em frangos, a adição de doses baixas (2-5 mg/kg dieta) de três compostos fitoquímicos derivados do orégano, canela e pimenta (carvacrol, cinamaldeído e capsicum respectivamente) induziu a modulação da resposta inflamatória, resultando em melhor proteção contra coccidiose (LILLEHOJ et al., 2011).

2.7.1.4 Palatabilidade, Digestibilidade e Desempenho

Os fitogênicos, através do odor e sabor que conferem à ração, promovem a melhora da palatabilidade e, por consequência, o aumento do consumo de alimento, em especial quando a espécie alvo é o suíno (ZENG et al., 2015). Também cabe renovar a atividade antioxidante que estes princípios têm, minimizando os processos oxidativos da dieta, que resultariam na presença de odores desagradáveis e na perda de palatabilidade (SOLA-ORIOLO; ROURA; TORRALLARDONA, 2011).

Alguns metabólitos secundários dos fitogênicos apresentam sabores fortes, que podem afetar as características sensoriais da ração (WENK, 2003), e dependendo do nível de inclusão ou das misturas entre diferentes óleos, pode gerar odores fortes e sabores não tão agradáveis, constituindo em queda da palatabilidade e menor ingestão da ração (YAN et al., 2012).

A melhoria da digestibilidade e da disponibilidade de nutrientes está relacionada com a capacidade que diversos compostos ativos dos óleos essenciais têm em aumentar a atividade enzimática, estimular secreções de bile, muco, glândulas salivares, suco gástrico e pancreático (COSTA et al., 2013). O mecanismo de ação não está bem elucidado, porém, acredita-se que seja possível por intermédio da detecção desses compostos por receptores específicos no sistema quimiossensorial intestinal (OMONIJO, 2017), que traduzem informações sobre o nutriente e sua concentração no lúmen intestinal, para regular a expressão gênica (LIU et al., 2014), enzimas digestivas e secreção de peptídeos para controlar a ingestão, digestão, absorção e o metabolismo (AHMED et al., 2013).

Vários estudos associam o uso dos fitogênicos com a melhora da digestibilidade e do desempenho. A adição de óleos essenciais microencapsulados de cravo, tomilho e orégano, acrescido dos princípios ativos eugenol e carvacrol

induziu uma maior digestibilidade dos nutrientes dietéticos e melhorou o desempenho de leitões recém-desmamados (OETING, 2006). Resultados similares foram descritos na primeira semana pós desmame em leitões que receberam dietas suplementadas com uma mistura de extratos de trigo mourisco, tomilho, curcuma, pimenta preta e gengibre sob a dose de 250 mg/kg (YAN, MENG, KIM, 2012). Li et al., (2012) ao incluírem óleos essenciais encapsulados (timol e cinamaldeído) na dieta de leitões desmamados, verificaram uma melhora em todos os parâmetros de desempenho da fase, quando comparado com o grupo que não recebeu estes princípios.

Os óleos essenciais timol, carvacrol, cinamaldeído, eugenol, coentro, anis estrelado, gengibre, alho, alecrim, açafrão, manjeriço, limão e sálvia usados individualmente ou em combinações, têm demonstrado melhorar a saúde e o desempenho de monogástricos, porém, com variação nos resultados, por exemplo com a utilização do cinamaldeído (LILLEHOJ et al., 2018).

De modo geral, há consenso de que os fitogênicos se mostram como uma excelente alternativa para melhorar a digestibilidade da dieta e para promover o ganho de peso após o desmame, uma fase crítica onde os leitões ainda são pouco eficientes fisiológica e enzimaticamente para aproveitar dietas diferentes do leite materno (HUANG et al. 2010).

2.7.1.5 Efeitos Sobre a Morfologia Intestinal

Os benefícios do uso de fitogênicos para suínos, em especial para leitões desmamados, se estendem às respostas na morfologia intestinal. Li et al. (2012) observaram uma melhora na relação da altura das vilosidades com a profundidade das criptas no jejuno de suínos alimentados com dietas contendo óleos essenciais em relação àqueles submetidos a uma dieta controle (isenta deste aditivo).

Zou et al. (2016) verificaram que suínos tratados com óleos essenciais induziram uma diminuição do nível de endotoxina no soro e aumento da altura das vilosidades e na expressão de ocludina e zônula ocludens-1 no jejuno (proteínas estas relacionadas com o estabelecimento da barreira entre os enterócitos, controlando o fluxo de moléculas no espaço intercelular entre as células do epitélio). Estes resultados indicam que há melhora da integridade da barreira

intestinal quando os animais são expostos aos óleos essenciais na dieta. Estas mudanças na morfologia do intestino são acompanhadas pelo incremento da digestão e absorção de nutrientes, e menor ocorrência e intensidade de diarreias, promovendo assim mais ganhos.

2.7.2 Óleo Essencial de Canela

A canela é uma especiaria comum usada por diferentes culturas ao redor do mundo por vários séculos. É obtida da casca das árvores do gênero *Cinnamomum*, uma planta tropical perene que possui duas variedades principais; *Cinnamomum zeylanicum* (CZ), conhecida como canela verdadeira e *Cinnamomum cassia* (CC), conhecida como canela chinesa. A partir das cascas, folhas e raízes é possível extrair óleos essenciais. O principal componente bioativo do óleos essenciais varia conforme o local de extração do óleo, no caso do óleo essencial extraído da casca tem o cinamaldeído como principal componente, já o óleo essencial da folha tem o eugenol, e por fim, a canfora do óleo essencial extraído da raiz (RANASINGHE et al., 2013). No óleo essencial da casca de CZ a porcentagem de trans-cinamaldeído varia entre 49,9-62,8% da composição total (RANASINGHE et al., 2013).

O óleo essencial de canela possui atividade antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antiinflamatória, nematicida, larvicida, inseticida, antimicótico e anticancerígeno (PRABUSEENIVASAN; JAYAKUMAR; IGNACIMUTHU, 2006; RANASINGHE et al., 2013; SHAHID et al., 2018), com mínima toxicidade e efeitos colaterais (RANASINGHE et al., 2013). A pronunciada ação do óleo essencial de canela contra a oxidação lipídica (WENK, 2003) permite a substituição de agentes antioxidantes sintéticos (SHAHID et al., 2018).

O óleo essencial de canela pode ser considerado um ótimo agente antibacteriano. Em testes *in vitro* ele apresenta atividade inibitória de crescimento de diversas bactérias (gram positivas e gram negativas) mesmo em baixas concentrações (PRABUSEENIVASAN; JAYAKUMAR; IGNACIMUTHU, 2006).

Utcharykiat et al. (2016) analisando o potencial antibacteriano do óleo essencial de canela, assim como o cinamaldeído (principal principio ativo do óleo essencial de canela) e sua combinação com a colistina contra *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente *in vitro*, revelaram boa ação antibacteriana e atuação

dose dependente de ambos, e quando associados com a colistina apresentaram efeito sinérgico de 16,7% com o óleo essencial de canela e 10% com o cinamaldeído.

Segundo Zeng et al. (2014), a utilização de um óleo essencial a 0,25g/kg de ração contendo 4,5% cinamaldeído e 13,5% timol, pode alterar a densidade nutricional da dieta de leitões através da melhoria na absorção de nutrientes, ou seja, o cinamaldeído e o timol adicionados a uma dieta de baixa densidade energética melhora o desempenho dos leitões, equiparando-os aos animais que receberam uma dieta de densidade energética padronizada.

Analisando os efeitos antissecretores gástrico e efeito protetor contra úlcera gástrica em ratos, Alqasoumi (2012), através do fornecimento de uma suspensão aquosa de canela extraída da casca de CZ, na dose de 250-500mg/kg, observou que aqueles ratos que receberam a suspensão aquosa de canela tiveram menor secreção ácida gástrica ligada ao piloro e, conseqüentemente, menos ulcerações, além do aumento da secreção de muco na parede do estômago. Deste modo, os efeitos gastroprotetores da canela são atribuídos a inibição da secreção gástrica basal e estímulo da secreção de muco, porém, os mecanismos de ação não são bem elucidados.

2.7.3 Utilização de Óleos Essenciais na Ração de Leitões Desmamados

Assim como os ácidos orgânicos, os óleos essenciais estão sendo largamente pesquisados em dietas para leitões no pós-desmame devido aos desafios já citados, com o propósito de minimizar os impactos nesta fase e servir como substituto dos APC. Porém, ainda há muita divergência sobre os resultados obtidos por pesquisadores quanto à dose, sinergismo entre os óleos essenciais e utilização destes junto a outros aditivos.

Oeting (2006) testou o efeito dos óleos essenciais microencapsulados do cravo, tomilho e orégano, acrescido dos princípios ativos eugenol e carvacrol, em comparação com uma dieta basal e outra contendo APC. Os animais alimentados com óleos essenciais obtiveram maior digestibilidade dos nutrientes em comparação as outras dietas e melhor desempenho do que o grupo

controle. Nesta pesquisa a morfometria intestinal não foi influenciada pelo uso dos óleos essenciais.

Huang et al. (2010) analisaram o efeito de um mix de óleos essenciais derivados do orégano, canela, cravo da Índia, tomilho e alecrim à 0,1% na dieta dos leitões, acrescido ou não de ácido benzóico ou tilosina. Como resultado, houve melhora de ganho de peso no pós-desmame, sustentado pela maior digestibilidade do tratamento contendo óleos essenciais, além de conferir melhores características fecais (menor pH e emissão de amônia) do que o grupo suplementado com tilosina.

Um dos grandes motivos da utilização dos óleos essenciais é devido sua atividade antimicrobiana, no qual apresenta efeitos satisfatórios na modulação bacteriana com diminuição da contagem de *E. coli*, como mostra as pesquisas de Yan, Meng e Kim (2012), que utilizando um mix de extratos de ervas observaram menor concentração de *E. coli* nas fezes e melhor digestibilidade e resposta imunológica. Do mesmo modo, Jiang et al. (2015), utilizando timol e cinamaldeído com ou sem combinação de enzimas (xilanasase e B-glucanase), observaram redução na contagem de *E. coli* e coliformes, além de melhores características morfológicas ao intestino delgado.

Li et al. (2012) testaram os efeitos da adição de óleo essencial a 0,01% (18% de cinamaldeído e timol) e uma mistura de antibióticos a 0,19% (150 ppm de clortetraciclina, 80 ppm de sulfato de colistina e 50 ppm de kitasamicina) em comparação com a dieta controle sem adição de nenhum aditivo, sobre o desempenho e saúde intestinal de leitões desmamados. Sobre o desempenho houve melhora do ganho de peso e consistência fecal para os tratamentos com óleos essenciais e antibióticos, porém, o consumo de ração e a conversão não foram afetados. O número de *E. coli* foi reduzido no ceco, cólon e reto para os leitões alimentados com óleos essenciais e antibióticos e no cólon, a proporção de *Lactobacillos* para *E. coli* aumentou para o grupo que recebeu óleos essenciais em comparação com o grupo controle.

Suzuki, Flemming e Silva (2008), além de testarem os efeitos dos óleos essenciais (carvacrol e timol) em comparação com a dieta acrescida de APC (lincomicina, colistina, doxiciclina e amoxiciclina) sobre o desempenho, analisaram os custos de produção dos diferentes tratamentos, observando que o tratamento

com óleos essenciais reduziu o custo em quase seis vezes e manteve o desempenho dos animais igual aos do grupo APC.

Testes *in vitro* são comumente utilizados com o intuito de testar as atividades antimicrobianas dos óleos essenciais. Dorman e Deans (2000) testaram a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de diversas plantas, contra 25 gêneros de bactérias (9 Gram positivas e 16 Gram negativas), no qual todos apresentaram resposta antibacteriana em maior ou menor escala.

Michiels et al. (2007), em uma pesquisa *in vitro*, mimetizando a fermentação gástrica e intestinal dos suínos, testaram o efeito antimicrobiano do carvacrol, timol, eugenol e *trans-cinnamaldeído* contra os principais componentes da microbiota do suíno. O carvacrol e o timol apresentaram alto espectro de inibição do crescimento microbiano no TGI, sem seleção bacteriana (acomentando lactobacilus e coliformes), diferente do eugenol e do *trans-cinnamaldeído*, que mostraram menor atividade inibitória sobre os *Lactobacilus* e alta atividade inibitória sobre os coliformes, mesmo em doses mais baixas que o carvacrol, timol e eugenol. Dentre as combinações apenas carvacrol e timol apresentaram um fraco sinergismo.

Contudo, nem sempre os resultados são satisfatórios, como mostra a pesquisa de Spitzer et al. (2014), que utilizaram diversos aditivos na prevenção da diarreia causada através do desafio com *E. coli* F4, e observaram que o óleos essenciais de tomilho, adicionado a 0,15% na dieta basal, não apresentou efeito preventivo nas condições do estudo.

Muhl e Liebert (2007) utilizaram um aditivo fitogênico contendo carvacrol e timol, e também, mesmo sob diferentes níveis na ração (0,05%, 0,1% e 0,15%), o desempenho, a contagem microbiana nas fezes e nas amostras intestinais não mostrou respostas significativas.

2.7.4 Resumo Sobre a Utilização dos Óleos Essenciais Como Aditivos Alimentares

Diversas revisões denotam a capacidade dos óleos essenciais em melhorar o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Segundo a revisão de Zeng et al. (2015) os óleos essenciais e ou extratos vegetais podem melhorar o desempenho de suínos em média 3%, porém com variações entre os resultados nos experimentos *in vivo*. Estes também são capazes de auxiliar na fase de pós desmame por conseguir atuar contra bactérias patogênicas como *E. coli* e

Salmonella spp e apresentar pouca ação bacteriana contra *Lactobacillus* spp e bifidobacterias, regulando a microbiota intestinal do leitão (LANGE et al., 2010).

Por se tratar de produtos naturais, fatores como diferentes origens dos óleos essenciais ou espécies de ervas, quantidade adicionada à ração e as condições ambientais experimentais (ZENG et al., 2015), diversidade de condições ambientais e de crescimento, tempo de colheita e estado de maturação, método e duração de conservação, armazenamento, efeitos sinérgicos e antagônicos, método de extração das plantas e contaminação podem dificultar a padronização e afetar os resultados (WENK, 2003).

A rápida absorção no estômago e ID proximal após o consumo, também sugere uma das principais causas para a queda dos benefícios dos óleos essenciais. Tal fato sugere que, assim como os ácidos orgânicos, os óleos essenciais também sejam protegidos para que possam perdurar e agir por mais tempo no TGI (LANGE et al., 2010).

Apesar dos resultados com óleos essenciais *in vitro* serem promissores, deve haver cuidado ao interpretar os resultados, pois as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais podem reduzir substancialmente quando estão em contato com o alimento, pois ocorre a sua adsorção nas partículas de alimentos, dificultando sua ação intraluminal (PLUSKE, 2013).

2.8 ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS (AGV)

Os ácidos graxos AGV, também conhecidos como ácidos graxos de cadeia curta, possuem de um a sete átomos de carbono e são provenientes da fermentação microbiana de matérias vegetais no intestino grosso, como celulosas, fibras, amidos e açúcares. Dentro do grupo dos AGV, o ácido acético, propiônico e o butírico são os que se encontram em maiores concentrações. Devido ao tipo de alimentação, os AGV são produzidos em maiores quantidades em herbívoros e, em menor grau nos onívoros, no qual se enquadra os suínos e os humanos. Já em carnívoros, a porcentagem é ainda menor, pelo fato do alimento conter nutrientes prontamente digeríveis e baixa quantidade de células vegetais (BERGMAN, 1990).

Nos suínos, o principal local de produção de AGV é no intestino grosso, através da fermentação da digesta (carboidratos e fibras) pela população microbiana, principalmente no ceco e depois no cólon. Porém, também há produção

AGV em menores concentrações no estômago e intestino delgado (CLEMENS; STEVENS; SOUTHWORTH, 1975).

Os ácidos butírico, láctico, propiônico e acético são considerados benéficos para a mucosa intestinal e para o equilíbrio dinâmico do TGI, sendo que cada AGCC apresenta uma especificidade de ação. Estas ações incluem o fornecimento de energia para as células do epitélio e tecidos adjacentes, redução do processo inflamatório imunomediado, acidificação do meio para reduzir o crescimento de bactérias patogênicas e estímulo à proliferação celular (RICHARDS; GONG; LANGE, 2005; BLAUT; CLAVEL, 2007), além de ações específicas, como a modulação das junções de oclusão via proteínas-quinases pelo ácido butírico (PENG et al., 2009).

Com a redução do pH e a modulação bacteriana do TGI através do auxílio dos ácidos orgânicos e dos extratos vegetais no lúmen intestinal, promove-se a redução de patógenos como a *E. coli* e a *Salmonella*, e a diminuição conseqüentemente de seus metabolitos tóxicos, em detrimento das bactérias benéficas, resultando em equilíbrio da microbiota intestinal (KASPROWICZ-POTOCKA et al., 2009; SANTOS, 2010). Essa alteração de pH e da microbiota no ID e, principalmente, no IG, repercute sobre a fermentação microbiana e a produção de AGV (PIVA; CASADEI; BIAGI, 2002).

Por estas razões, a atividade fermentativa no intestino grosso e, conseqüentemente, o padrão de AGV produzido, pode sofrer alterações com o uso destes aditivos, garantido energia para os enterócitos e manutenção da mucosa intestinal (SANTOS, 2010).

Callegari et al. (2016) demonstraram que a utilização de um *blend* de ácidos orgânicos com óleos essenciais microencapsulados (fumárico: 10,5%, ácido málico: 8,0% e óleo essencial de limão) afetou positivamente a produção de AGV em relação a dieta controle, possivelmente pela modulação bacteriana e redução do pH do TGI.

Os ácidos orgânicos fornecidos na dieta podem também apresentar um efeito modulador no padrão dos AGV produzidos no intestino. Kasprowicz-Potocka et al. (2009), demonstraram que há alteração no padrão dos AGV com o uso de formato de sódio e ácido benzóico, em comparação com a dieta basal. Os ácidos orgânicos também podem interagir com a mucosa, acelerando a atividade mitótica e aumentando o número de células e, conseqüentemente, o tamanho dos

vilos (BLAUT; CLAVEL, 2007).

Porém em alguns casos, pode ser que não haja alteração, como denota a pesquisa de Gabert e Sauer (1995), onde a inclusão de ácido fumárico na dieta dos leitões não afetou a concentração de AGV.

REFERÊNCIAS

AHMED, S. T.; HOSSAIN, M. E.; KIM, G. M.; HWANG, J. A.; JI, H.; YANG, C. J. Effects of Resveratrol and Essential Oils on Growth Performance, Immunity, Digestibility and Fecal Microbial Shedding in Challenged Piglets. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n. 5, p.683-690, 2013.

ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; BARRY, A. Diarreias em suínos. In: ALFIERI, A. F.; BARRY, A. F.; ALFIERI, A. A.; SILVA, C. A.; DALLANORA, D.; ZOTTI, E.; ALBERTON, G. C.; RODRIGUES, I.; MACHADO, I. P.; GRIESSLER, K.; MORES, M. A. Z.; DITTRICH, R. L.; STARKL, V. **Tópicos em Sanidade e manejo de suínos**. Campinas: Sanphar, 2010. Cap. 4. p. 165-206.

ALQASOUMI, S. Anti-secretagogue and antiulcer effects of Cinnamon *Cinnamomum zeylanicum* in rats. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 4, n. 4, p.53-61, 2012.

ARAGÃO-FILHO, W. C. **O papel do fator nuclear kappa B (NF-kB) e do eixo IL-12/23-IFN-g na ativação do sistema NADPH oxidase**, 2009. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, 2009.

ARGENZIO, R.; SOUTHWORTH, M. Sites of organic acid production and absorption in gastrointestinal tract of the pig. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 228, n. 2, p.454-460, 1975.

ASHLEY, N. T.; WEIL, Z. M.; NELSON, R. J. Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 43, n. 1, p. 385–406, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório anual de atividades 2017**. São Paulo, 2017.

AUMAITRE, A.; PEINIAU, J.; MADEC, F. Digestive adaptation after weaning and nutritional consequences in the piglet. Review article. **Pig News**, v.16, n.3, p.73-79, 1995.

BARTOL, T.; BARICEVIC, D. Phytogetic Feed Additives in Animal Nutrition. In: MÁTHÉ, A. **Medicinal and Aromatic Plants of the World**. Budapest. Faculty of Agriculture and Food Science University of West Hungary Budapest, Hungary, 2014. Cap. 19. p. 403-423.

BASNIAK, P. A. **Avaliação da eficiência de acidificantes em dietas de leitões: uma aplicação de revisão sistemática de literatura e metanálise**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

BELLAVER, C. **Utilização de melhoradores de desempenho na produção de suínos e de aves**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006.

BELLAVER, C.; SCHEUERMANN, G. **Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte**. In: Seminário Internacional de Aves e Suínos, 2004.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological reviews**, v. 70, n. 2, p.567-590, 1990.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. 1. ed. Lavras: UFLA, 2006. 301 p.
BLANCHARD, P. Less buffering more enzymes and organic acids. **Pig Progress**, v.16, n. 3, p. 23-25, 2000.

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

BLAUT, M.; CLAVEL, T. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implication for health and disease. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 3, p.751-755, 2007.

BOAS, A. D. C. V.; BUDIÑO, F. E. L.; NETO, M. A.; SCHMIDT, A.; DADALT, J. C.; MONFERDINI, R. P.; SITANAKA, N. Y.; MORAES, J. E.; PIZZOLANTE, C. C. 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, 2016.

BORGES, K. M.; OLIVEIRA, H. F.; XAVIER, H. P. F.; MASCARENHAS, A. G. USO DE ACIDIFICANTES NA NUTRIÇÃO DE SUÍNOS. **Nutritime**, v. 12, n. 2, p.4004-4015, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 nov. 2016, Seção 1, Edição 229 p. 6.

BRAZ, D. B. **Acidificantes como alternativas aos antibióticos melhoradores do desempenho de leitões na fase de creche**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

BREDA, A.L ; PEREIRA, M. M.; DE OLIVEIRA, A. P.; BATISTA, P. B.; FARIAS, P. G.; DIAS, D. L. S.; MACÊDO, J. F.; LIMA, K. S.; BRANDÃO, R. K. C. Manipulação de microrganismos intestinais em monogástricos: Revisao de literatura. **PUBVET**, v. 4, n. 1, p.710-716, 2010.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, n. 1–2, p.1–14, 2010.

BROECK, W. V.; COX, E.; OUDEGA, B.; GODDEERIS B. M. The F4 fimbrial antigen of Escherichia coli and its receptors. **Veterinary Microbiology**, v. 71, n. 3-4, p.223-244, 2000.

BROOKS P. H.; MORAN, C. A.; BEAL, J.; DEMECKOVA, V.; CAMPBELL, A. Liquid feeding for the young piglet. In: VARLEY, M. A.; WISEMAN, J. editors. **The Weaner Pig: Nutrition and management**. Wallingford. Oxon: CAB International; 2003. p.153–78.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p.223-253, ago. 2004.

CALLEGARI, M. A.; NOVAIS, A. K.; OLIVEIRA, E. R.; DIAS, C. P.; SCHMOLLER, D. L.; PEREIRA, M. J.; DÁRIO, J. G. N.; ALVES, J. B., SILVA, C. A. Microencapsulated acids associated with essential oils and acid salts for piglets in the nursery phase. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p.2193-2208, 2016.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS R. F.; REINHART, G. A.; WHITMOYER, R. E. Effect of Age, Weaning and Postweaning Diet on Small Intestinal Growth and Jejunal Morphology in Young Swine. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 2, p.574-584, 1988.

CHAMONE, J. M. A.; MELO, M. T. P.; AROUCA C. L. C.; BARBOSA, M. M.; SOUZA, F. A.; SANTOS, D. Fisiologia Digestiva De Leitões. **Nutritime**, v. 7, n. 5, p.1353-1363, 2010.

CHE, T. M.; ADEOLA, O.; AZAIN, M. J.; CARTER, S. D.; CROMWELL, G. L.; HILL, G. M.; MAHAN, D. C.; MILLER, P. S.; PETTIGREW, J. E. Effect of Dietary Acids on Growth Performance of Nursery Pigs: A Cooperative Study. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 12, p.4408-4413, 2012.

CHEN L, XU Y, CHEN X, FANG C, ZHAO L AND CHEN F. The Maturing Development of GutMicrobiota in Commercial Pigletsduring the Weaning Transition.**Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1688-1698, 2017.

CHIQUIERI, J.; SOARES, R.T.R.N.; LYRA, M.S.; HURTADO, V.L.N. E FONSECA, J.B. Ácidos orgânicos na alimentação de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v. 58: p.609-612. 2009.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; ORCID, S. G.. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p.58-79, 2017.

CLEMENS, E. T.; STEVENS, C. E.; SOUTHWORTH, M. Sites of organic acid production and pattern of digesta movement in the gastrointestinal tract of swine. **The Journal of nutrition**, v. 105, n. 6, p. 759-768, 1975.

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

COLOMBO, S. G. **Estudo de procedimentos de segurança alimentar e rastreabilidade na produção primária de carne suína para o mercado internacional: o caso de cooperativas paranaenses**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

COSTA, L. B.; LUCIANO, F. B.; MIYADA, V. S.; GOIS, F. D. Herbal extracts and organic acids as natural feed additives in pig diets. **South African Journal of Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 181-193, 2013.

COSTA, M. M.; MABONI, F.; WEBER, S. S.; FERRONATO, A. I.; SCHRANK, I. S.; VARGAS, A. P. C. Patotipos de *Escherichia coli* na suinocultura e suas implicações ambientais e na resistência aos antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 3, p. 509-516, 2009.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. **Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingstuffs**, 2003.

COX, L. N.; COOPER, J. J. Observations on the pre- and post-weaning behaviour of piglets reared in commercial indoor and outdoor environments. **Animal Science**, v. 72, n. 01, p.75-86, 2001.

CROMWELL, G. L. Why and how antibiotics are used in swine production. **Animal Biotechnology**, v. 13, n. 1, p.7-27, 2002.

DANIELSON, A. D.; PEO Jr, E. R.; SAHAN, K. M.; WHALER, P. J.; AMER, M. A. Anticholesteremic Property of Lactobacillus Acidophilus Yogurt Fed to Mature Boars. **Journal of Animal Science**. v. 67, n. 4, p.966-974, 1989.

DAVIDSON, P. M.; TAYLOR, T. M. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. In: DOYLE, M.; BEUCHAT, L. (ed). **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 3rd ed. Washington DC: ASM Press, p.713–745, 2007.

DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p.25-41, 2016.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453–463, 2002.

DIXON, R. C.; HAMILTON, P. B. Evaluation of Some Organic Acids as Mold Inhibitors by Measuring CO₂ Production from Feed and Ingredients. **Poultry Science**, v. 60, n. 10, p. 2182–2188, 1981.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 2, p.308-316, 2000.

DUCLUZEAU, R. Implantation and development of the gut flora in the newborn animal. **Annales de recherches vétérinaires**. v. 14. n. 4, p.354-359, 1983.

EVERAERT, N.; VAN CRUCHTEN, S.; WESTRÖM, B.; BAILEY, M.; VAN GINNEKEN, C.; THYMANN, T.; PIEPER, R. A review on early gut maturation and colonization in pigs, including biological and dietary factors affecting gut homeostasis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 233, n. 1, p.327-339, 2017.

FAIRBROTHER, J. M.; NADEAU, É.; GYLES, C. L. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford, v. 6, n. 1, p. 17-39,

2005.

FAIRBROTHER, J. M.; GYLES C. L.; Colibacillosis. In: ZIMMERMAN, J.J.; KARRIKER, L. A.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, G. W. S. **Diseases of Swine**. 10. ed. Ames: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 723-749.

FELS-KLERX, H. J.; PUISTER-JANSEN, L.F.; VAN-ASSELT, E. D.; BURGERS, S. L. Farm factors associated with the use of antibiotics in pig production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 6, p.1922-1929, 2011.

FERNANDES, M. R.; MCCULLOCH, J. A.; VIANELLO, M. A.; MOURA, Q.; PÉREZ-CHAPARRO, P. J.; ESPOSITO, F.; MAMIZUKA, E. M. First Report of the Globally Disseminated IncX4 Plasmid Carrying the mcr-1 Gene in a Colistin-Resistant Escherichia coli Sequence Type 101 Isolate from a Human Infection in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 10, p.6415-6417, 2016.

FERREIRA, R. A.; SOUSA, R.; V.. **O desenvolvimento do sistema imune de leitões e suas correlações com as práticas de manejo**. 46. ed. Lavras: Editora Ufla, 2000. 39 p.

FIGESEL, A.; GESSNER, D. K.; MOST, E.; EDER, K. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 196-206, 2014.

FONSECA, F. C. P.; COSTA, C. L. Influência da nutrição sobre o sistema imune intestinal. **CERES: Nutrição & Saúde**, v.5, n. 3. P. 163-174. 2010.

FRANZ, C.; BASER, K. H. C.; WINDISCH, W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European perspective. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 327-340, 2010.

GABERT, V.M.; SAUER, W.C. The effect of fumaric acid and sodium fumarate supplementation to diets for weanling pigs on amino acid digestibility and volatile fatty acid concentrations in ileal digesta. **Animal Feed Science and Technology**, v. 53, n. 3-4, p.243-254, 1995.

GÁLFI, P.; BOKORI, J. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 38, n. 1–2, p. 3–17, 1990.

GASKINS, H.R.; KELLEY K.W. Immunology and neonatal mortality. In: Varley MA, editor. **The Neonatal Pig: Development and Survival**. Wallingford, Oxon: CAB International; 1995. p. 39–55.

GAUTHIER, R. The mode of action of acidifiers and the interest they generate in the growing-finishing phase. In: CURRENT DEVELOPMENTS IN PIG PRODUCTION, 2002, Maison-Alfort. **Anais [...]**. Maison-Alfort, 2002. p. 16-23.

GIANNENAS I. A. Organic acids in pig and poultry nutrition. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 57, n. 1, p.51-62, 2017.

GIESTING, D. W.; EASTER, R. A.. Response of Starter Pigs to Supplementation of Corn-Soybean Meal Diets with Organic Acids. **Journal Of Animal Science**, v. 60, n. 5, p.1288-1294, 1985.

GILLESPIE, J. R.; FLANDERS, F.. Modern livestock & poultry production. In: GILLESPIE, J. R.; FLANDERS, F. **Anatomy, Physiology, Feeding, and Nutrition**, Nova York: DELMAR Cengage Learning, 2009. Cap. 2. p. 104-157.

GOMES, F.E.; FONTES, D.O.; SALIBA, E.O.S.; FERREIRA, W.M.; FIALHO, E.T.; SILVA, F.C.O.; SILVA, M.A.; CORRÊA, G.S.S.; SALUM G. M.. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p.1270-1277, 2007.

GONG, J.; YU, H.; LIU, T.; LI, M.; SI, W.; DE LANGE, C. F.; DEWEY, C. Characterization of ileal bacterial microbiota in newly-weaned pigs in response to feeding lincomycin, organic acids or herbal extract. **Livestock Science**, v. 116, n. 1-3, p.318-322, 2008.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, v.13 n. 13, p. 48–53, 2012.

GRILLI, E.; MESSINA, M. R.; TEDESCHI, M.; PIVA, A. Feeding a microencapsulated blend of organic acids and nature identical compounds to weaning pigs improved growth performance and intestinal metabolism. **Livestock Science**, v. 133, n. 1-3, p.173-175, 2010.

GUIGNOT, J.; CHAPLAIS, C.; COCONNIER-POLTER, M. H.; SERVIN, A. L. The secreted autotransporter toxin, sat, functions as a virulence factor in Afa/Dr diffusely adhering Escherichia coli by promoting lesions in tight junction of polarized epithelial cells. **Cellular Microbiology**, n. 9, v. 1, p. 204-221, 2007.

GUIMARÃES, D.; AMARAL, G.; MAIA, G.; LEMOS, M.; ITO, M.; CUSTODIO, S. **Suinocultura: Estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES**, 2017.

HANCZAKOWSKA, E.; ŚWIĄTKIEWICZ, M.; GRELA, E. R. Effect of dietary inclusion of a herbal extract mixture and different oils on pig performance and meat quality. **Meat Science**, v. 108, p.61-66, 2015.

HAO, W; LEE, Y. Microflora of the Gastrointestinal Tract: A Review. **Public Health Microbiology**, v. 268, p.491-502, 2004.

HEO, J. M.; OPAPEJU, F. O.; PLUSKE, J. R.; KIM, J. C.; HAMPSON, D. J.; NYACHOTI, C. M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition**, v. 97, n. 2, p.207-237, 2012.

HOPWOOD, D. E.; HAMPSON, D.J. Interactions between the intestinal microflora, diet and diarrhoea, and their influences on piglet health in the immediate post-weaning period. In: Pluske, J.R.; Le Dividich, J. and Verstegen, M.W.A. **Weaning the pig: Concepts and consequences**. p. 199-218. 2003.

HUANG, Y., YOO, J. S., KIM, H. J., WANG, Y., CHEN, Y. J., CHO, J. H., & KIM, I. H. Effects of dietary supplementation with blended essential oils on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal characteristics in weaning pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 5, p.607-613, 2010.

JAYARAMAN, B.; NYACHOTI, C. M. Husbandry practices and gut health outcomes in weaned piglets: A review. **Animal Nutrition**, v. 3, n. 3, p.205-211, 2017.

JIANG, X. R.; AGAZZI, A.; AWATI, A.; VITARI, F.; BENTO, H.; FERRARI, A.; ALBORALI, G. L.; CRESTANI, M.; DOMENEGHINI, C.; BONTEMPO, V. Influence of a blend of essential oils and an enzyme combination on growth performance, microbial counts, ileum microscopic anatomy and the expression of inflammatory mediators in weaned piglets following an Escherichia coli infection. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p.219-229, 2015.

JONGBLOED, A.; MROZ, Z.; WEIJ-JONGBLOED, R. V. D; KEMME, P. The effects of microbial phytase, organic acids and their interaction in diets for growing pigs. **Livestock Production Science**, v. 67, n. 1–2, p. 113–122, 2000.

KAMATOU, G. P. P.; VILJOEN, A. M. A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 87, n. 1, p.1-7, 29 2009.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. The focus on herbs and spices in modern animal feeding is too often forgotten. Since the prohibition of most of the anti-microbial growth promoters, plant extracts have gained interest in alternative feed strategies. **Feed mix**, v. 8, n. 4; p.19-23, 2000.

KASPROWICZ-POTOCKA, M.; FRANKIEWICZ, A.; SELWET, M.; CHILOMER, K. Effect of salts and organic acids on metabolite production and microbial parameters of piglets' digestive tract. **Livestock Science**, v. 126, n. 1-3, p.310-313, 2009.

KIL, D. Y.; KWON, W. B.; KIM, B. G.. Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. **Rev Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 231-247, 2011.

KIM, Y. Y.; KIL, D. Y.; OH, H. K.; HAN, K. Acidifier as an Alternative Material to Antibiotics in Animal Feed. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, v. 18, n. 7, p.1048-1060, 2005.

KUBASOVA, T.; DAVIDOVA-GERZOVA, L.; MERLOT, E.; MEDVECKY, M.; POLANSKY, O.; GARDAN-SALMON, D. Housing Systems Influence Gut Microbiota Composition of Sows but Not of Their Piglets. **Plos One**, v. 12, n. 1, p.1-10, 2017.

KULLER, W.I.; TOBIAS, T.J.; VAN NES, A.. Creep feed intake in unweaned piglets is increased by exploration stimulating feeder. **Livestock Science**, v. 129, n. 1-3, p.228-231, 2010.

KUMMER, R.; GONÇALVES, M. A. D.; LIPPKE, R. T.; MARQUES, B. M. F. P. P.; MORES, T. J. Fatores que influenciam o desempenho dos leitões na fase de creche. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37.p.195-209. 2009.

LANGE, C. F. M.; PLUSKE, J.; GONG, J.; NYACHOTI, C. M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, v. 134, n. 1-3, p.124-134, 2010.

LAWLOR, P. G.; LYNCH, P. B.; CAFFREY, P. J.; O'REILLY, J. J.; O'CONNELL, M. K. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**. v. 58, n. 8, p.447-452, 2005.

LEE, K.; SHIBAMOTO, T. Determination of Antioxidant Potential of Volatile Extracts Isolated from Various Herbs and Spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p.4947-4952, 2002.

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

LI, P.; PIAO, X.; RU, Y.; XUE, L.; ZHANG, H. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p. 1617–1626, 2012

LI, S. Y.; RU, Y. J.; LIU, M.; XU, B.; PÉRON, A.; SHI, X. G. The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. **Livestock Science**, v. 145, n. 1-3, p.119-123, 2012.

LI, Z.; YI, G.; YIN, J.; SUN, P.; LI, D.; KNIGHT, C. Effects of Organic Acids on Growth Performance, Gastrointestinal pH, Intestinal Microbial Populations and Immune Responses of Weaned Pigs. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 2, p.252-261, 2008.

LILLEHOJ, H. S.; KIM, D. K.; BRAVO, D. M.; LEE, S. H. Effects of dietary plant-derived phytonutrients on the genome-wide profiles and coccidiosis resistance in the broiler chickens. **BMC Proceedings**, v. 5, n. 4, p. 34-41, 2011.

LIU, Y.; SONG, M.; CHE, T. M.; BRAVO, D.; MADDOX, C. W.; PETTIGREW, J. E. Effects of capsicum oleoresin, garlic botanical, and turmeric oleoresin on gene expression profile of ileal mucosa in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 8, p.3426-3440, 2014.

LONG, S. F.; XU, Y. T.; PAN, L.; WANG, Q. Q.; WANG, C. L.; WU, J. Y.; PIAO, X. S. Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. **Animal Feed Science and**

Technology, v. 235, p.23-32, 2017.

LOSA, R. The use of essential oils in animal nutrition. **Cahiers Options Mediterraneennes**, v. 54, p. 39-44, 2001.

LUISE, D.; MOTTA, V.; SALVARANI, C.; CHIAPPELLI, M.; FUSCO, L.; BERTOCCHI, M.; MAZZONI, M.; MAIORANO, G.; COSTA, L. N.; MILGEN, J. V.; BOSI, P. Long-term administration of formic acid to weaners: Influence on intestinal microbiota, immunity parameters and growth performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p.160-168, 2017.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A J.; GREENHALGH, F. D.; MORGAN, C. A.; SINCLAIR, R. L. A.; WILKINSON, G. In: **Food Additives**, Reino Unido: Pearson, 2002. Cap. 24. p. 598-608.

MENDES, C. A. C.; BURDMANN, E. A. Polymyxins: review with emphasis on nephrotoxicity. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 752-759, 2009.

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de Escherichia coli e Salmonella spp. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p.1687-1693, 2008.

MEUNIER, J.-P.; CARDOT, J.-M.; GAUTHIER, P.; BEYSSAC, E.; ALRIC, M. Use of rotary fluidized-bed technology for development of sustained-release plant extracts pellets: potential application for feed additive additive delivery. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1850-1859, 2006.

MEVIUS, D. J.; WIT, B.; VAN PELT, W.; PUISTER-JANSEN, L. F.; BONDT, N.; BERGEVOET, R. H. M.; VAN GEIJLSWIJK, I. **MARAN 2007: monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2006/2007**. p.103. 2009.

MICHIELS, J.; MISSOTTEN, J.; FREMAUT, D.; SMET, S. D.; DIERICK, N. In vitro dose–response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. **Livestock Science**, v. 109, n. 1-3, p.157-160, 2007.

MIKKELSEN, L. L.; BENDIXEN, C.; JAKOBSEN, M.; JENSEN, B. B. Enumeration of Bifidobacteria in Gastrointestinal Samples from Piglets. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 69, n. 1, p.654-658, 2003.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Projeções do agronegócio: Brasil 2017/18 a 2027/28 projeções de longo prazo**. 9. ed. Brasília: MAPA/ACE, 2018a. 112p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/banner_site-03-03-1.png/view>.

MORAES, K. M. C. M. T. **Probióticos para leitões lactentes e na fase de creche**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009.

MORÉS, N. **É possível produzir suínos sem o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho?** São Pedro: Embrapa Suínos e Aves, 2014.

MORÉS, N; MORENO, A. M.. Síndrome da diarreia pós desmame. In: SOBESTIANSKY, Jury; BARCELLOS, D. **Doenças dos suínos**. Goiânia: Cãnone Editorial, 2007. Cap. 3. p. 203-206.

MROZ, Z. Organic Acids as Potential Alternatives to Antibiotic Growth Promoters for Pigs. **Advances in Pork Production**, Edmonton, v. 16, p.169-182, 2005.

MUHL, A.; LIEBERT, F. Growth and parameters of microflora in intestinal and faecal samples of piglets due to application of a phytogenic feed additive. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, n. 9-10, p.411-418, 2007.

NABUURS, M. J. A.; HOOGENDOORN, A.; VAN DER MOLEN, E. J.; VAN OSTA, A. L. M. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. **Research in Veterinary Science**, v. 55, n. 1, p.78-84, 1993.

NAMKUNG, H.; LI J.; GONG, M.; YU, H.; COTTRILL, M.; DE LANGE, C. F. M. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 4, p.697-704, 2004.

NAZZARO, F. F.; COPPOLA, R.; FEO, V. D. Essential Oils and Antifungal Activity. **Pharmaceuticals**. v. 10, n. 4, p.86-106, 2017.

OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U.S.; MIYADA, V. S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1389-1397. 2006.

OMONIJO, F. A.; NI, L.; GONG, J.; WANG, Q.; LAHAYE, L.; YANG, C. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p.1-11, 2017.

PAPADOPOULOS, G.; POUTAHIDIS, T.; TALLARICO, N.; HARDAS, A.; TELIOUSIS, K.; ARSENOS, G.; FORTOMARIS, P., D. Dietary supplementation of encapsulated organic acids enhances performance and modulates immune regulation and morphology of jejunal mucosa in piglets. **Research in Veterinary Science**, v. 115, p.174-182, 2017.

PAPATSIROS, V. G., CHRISTODOULOPOULOS, G., FILIPPOPOULOS, L. C. The use of organic acids in monogastric animals (swine and rabbits). **Journal of Cell and Animal Biology**, v. 6, n. 10, p.154-159, 2012.

PAPATSIROS, V. G.; BILLINIS, C. The Prophylactic Use of Acidifiers as Antibacterial Agents in Swine. In: **Antimicrobial agents**. Dr. Varaprasad Bobbarala (Ed.). InTech, Rijeka, Croatia, p. 295–310, 2012.

PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 117, 1999.

PARTANEN, K.; JALAVA, T.; VALAJA, J.. Effects of a dietary organic acid mixture and of dietary fibre levels on ileal and faecal nutrient apparent digestibility, bacterial nitrogen flow, microbial metabolite concentrations and rate of passage in the digestive tract of pigs. **Animal**, v. 1, n. 03, p.389-401, 2007.

PAUL, S.; SAMANTA, G.; HALDER, G.; BISWAS, P. Effect of a combination of organic acid salts as antibiotic replacer on the performance and gut health of broiler chickens. **Livestock Research for Rural Development**, v. 19, n. 11, 2007.

PENG, L.; LI, Z. R.; GREEN, R. S.; HOLZMAN, I. R.; LIN, J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. **The Journal of Nutrition**, v. 139, n. 9, p. 1619–1625, 2009.

PISSETTI, C.; KICH, J. D.; ALLEN, H. K.; NAVARRETE, C.; PELLEGRINI, D. D. C. P.; MORÉS, N.; CARDOSO, M. Escherichia coli resistance and gut microbiota profile in pigs raised with different antimicrobial administration in feed. **International Conference On The Epidemiology And Control Of Biological, Chemical And Physical Hazards In Pigs And Pork**, p.143-147, 2017.

PIVA, A.; CASADEI, G.; BIAGI, G.. An organic acid blend can modulate swine intestinal fermentation and reduce microbial proteolysis. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 82, n. 4, p.527-532, 2002.

PIVA, A.; PIZZAMIGLIO, V.; MORLACCHINI, M.; TEDESCHI, M.; PIVA, G. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 486-493, 2007b.

PLUSKE, J. R.; PETHICK, D. W.; HOPWOOD, D. E.; HAMPSON, D. J. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. **Nutrition Research Reviews**, v. 15, n. 02, p.333-372, 2002.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, n. 1–3, p. 215–236, 1997.

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

PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M.; IGNACIMUTHU, S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. **Bmc Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, n. 1, p.39-46, 2006.

QUITMANN H.; FAN R.; CZERMAK P. Acidic Organic Compounds in Beverage, Food, and Feed Production. In: Zorn H., Czermak P. (eds). **Biotechnology of Food and Feed Additives**. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, vol 143. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 91–141, 2013.

RACANICCI, A. M., DANIELSEN, B., MENTEN, J. F. M., REGITANO-D'ARCE, M. A., & SKIBSTED, L. H. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 6, p.521-524, 2004.

RADECKI, S. V.; JUHL, M. R.; MILLER, E. R. Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 10, p. 2598-2605, 1988.

RANASINGHE, P.; PIGERA, S.; PREMAKUMARA, G. S.; GALAPPATHTHY, P.; CONSTANTINE, G. R.; KATULANDA, P. Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. **Bmc Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p.275-284, 2013.

RAVINDRAN, V; KORNEGAY, T. Acidification of weaner pig diets: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 62, n. 4, p.313-322, 1993.

RIBEIRO, A. M. L.; PINHEIRO, C. C.; GIANFELICI, M. F. Nutrientes que afetam a imunidade dos leitões. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 1, p.119-124, 2008.

RICHARDS, J. D.; GONG, J.; LANGE, C. F. M. The gastrointestinal microbiota and its role in monogastric nutrition and health with an emphasis on pigs: current understanding, possible modulations, and new technologies for ecological studies. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 85, n. 4, p. 421-435, 2005.

RISLEY, C. R.; KORNEGAY, E. T.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M.; EIGEL, W. N. Effect of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 1, p. 196-206, 1992.

RUDBÄCK, L. **Organic acids in liquid feed for pigs - palatability and feed intake**. 2013. Dissertação (mestrado em Ciencia Animal). Swedish University of Agricultural Sciences, Ultuna, 2013.

RUTZ, F.; FERKET, P.R.; SANTOS, A.A.; OVIEDO-RANDÓN, E. Antibióticos como promotores e impacto na saúde animal. In: BRIDI, A.M.; FONSECA, N.A.N.; SILVA, C.A.; PINHEIRO, J.W. **A zootecnia frente a novos desafios**. Londrina: UEL, 2007. p.369-406.

SANCHES, A. L.; LIMA, J.A.F; FIALHO, E.T.; MURGAS, L.D.S.; ALMEIDA, E.C.; VIEIRA NETO, J.; FREITAS, R.T.F. Probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame. **Ciência Agrotecnológica**, v. 30, n. 4, p. 774-777, 2006.

SANTOS, C. M. R. **Efeito da utilização de óleos essenciais e ácidos orgânicos microencapsulados na alimentação do leitão**. 2010. (Mestrado em Engenharia Zootécnica) – Instituto Superior de Agronomia Universidade Técnica Lisboa, Lisboa, 2010.

SHAHID, M. Z.; SAIMA, H.; YASMIN, A.; NADEEM, M. T.; IMRAN, M.; AFZAAL, M. Antioxidant capacity of cinnamon extract for palm oil stability. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p.116-123, 2018.

SILVA, C. A.; ZOTTI, E. Antimicrobianos na suinocultura: aspectos técnicos e práticos de uso. In: BARRY, A. F.; ALFIERI, A. A.; SILVA, C. A.; DALLANORA, D.; ZOTTI, E.; ALBERTON, G. C.; RODRIGUES, I. M. T. C.; MACHADO, I. P.; GRIESSLER, K.; MORES, M. A. Z.; DITTRICH, R. L.; STARKL, V. (Org.). **Tópicos em sanidade e manejo de suínos**. Campinas: SANPHAR, 2010. p. 137-164.

SILVEIRA, H., AMARAL, L. G. D. M., GARBOSSA, C. A. P., RODRIGUES, L. M., SILVA, C. C. D., & CANTARELLI, V. D. S. Benzoic acid in nursery diets increases the performance from weaning to finishing by reducing diarrhoea and improving the intestinal morphology of piglets inoculated with *Escherichia coli* K88+. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 6, p.1675-1685, 2018.

SIMITZIS, P. E. Enrichment of Animal Diets with Essential Oils—A Great Perspective on Improving Animal Performance and Quality Characteristics of the Derived Products. **Medicines**, v. 4, n. 2, p.35-56, 2017.

SOLA-ORIOLO, D.; ROURA, E.; TORRALLARDONA, D. Feed preference in pigs: Effect of selected protein, fat, and fiber sources at different inclusion rates. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p.3219-3227, 2011.

SOLA-ORIOLO, D.; ROURA, E.; TORRALLARDONA, D.. Feed preference in pigs: Effect of selected protein, fat, and fiber sources at different inclusion rates. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p.3219-3227, 13 maio 2011.

SPITZER, F.; VAHJEN, W.; PIEPER, R.; MARTINEZ-VALLESPIN, B.; ZENTEK, J. A standardised challenge model with an enterotoxigenic F4+*Escherichia coli* strain in piglets assessing clinical traits and faecal shedding of enterotoxin genes. **Archives of Animal Nutrition**, v. 68, n. 6, p.448-459, 2014.

STEVENSON, D. E.; HURST, R. D. Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 22, p.2900-2916, 2007.

SUIRYANRAYNA, M. V. A. N.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 45, 2015.

SURYANARAYANA, M. V. A. N.; SURESH, J.; RAJASEKHAR, M. V. Organic acids in swine feeding: a review. **Agricultural Science Research Journals**, v. 2, n. 9, p. 523- 533, 2012.

SUZUKI, O. H.; FLEMMING, J. S.; SILVA, M. E. T. USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NA ALIMENTAÇÃO DE LEITÕES. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 6, n. 4, p.519-526, 2008.

TAYLOR, W. H. Studies on gastric proteolysis. The proteolytic activity of human gastric juice and pig and calf gastric mucosal extracts below pH 5. **Biochemical Journal**, v. 71, n. 1, p. 73-83, 1959.

THACKER, P. A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p.35-46, 2013.

THAELA, M.-J.; JENSEN, M.; PIERZYNOWSKI, S.; JAKOB, S.; JENSEN, B. Effect of lactic acid supplementation on pancreatic secretion in pigs after weaning. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 7, n. 1, p. 181–183, 1998.

TONEL, I.S.P.A. **Efeito da utilização de butirato de sódio na digestibilidade, atividade fermentativa e morfologia intestinal de leitões desmamados**. 2009. Dissertação (Mestrado) Instituto Superior de Agronomia – Escola Técnica de Lisboa, 2009.

TSILOYIANNIS, V. K.; KYRIAKIS, S. C.; VLEMMAS, J.; SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. **Research in Veterinary Science**, v. 70, n. 3, p.287-293, 2001.

TUNG, C. M.; PETTIGREW, J. E. Critical review of acidifiers. **Report NPB**, n. 5, v. 169, p. 1-48, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Livestock and poultry: World markets and trade**. 2017.

UPADHAYA, S. D.; LEE, K. Y.; KIM, I. H.. Protected Organic Acid Blends as an Alternative to Antibiotics in Finishing Pigs. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 11, p.1600-1607, 2014.

UTCHARIYAKIAT, I.; SURASSMO, S.; JATURANPINYO, M.; KHUNTAYAPORN, P.; CHOMNAWANG, M. T. Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on anti-multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. **Bmc Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p.158-164, 2016.

VAN DE BRAAK, S. A. A. J.; LEIJTEN, G.C.J.J. **Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and Other Major Markets in the European Union**. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, p. 116, 1999.

VIEIRA, N. A.; TOMIOTTO, F. N.; MELO, P. G.; MANCHOPE, M. F; LIMA, N. R.; OLIVEIRA, G. G.; WATANABE, M. A. E. Efeito anti-inflamatório do gengibre e possível via de sinalização. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 35, n. 1, p.149-162, 2014.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Ácidos orgânicos e suas misturas em dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: CBNA, 2003. p. 255-284.

VONDRUSKOVA, H.; SLAMOVA, R.; TRCKOVA, M.; ZRALY, Z.; PAVLIK, I. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 55, n. 5, p.199-224, 2010.

WANG, L.; HOU, Y.; YI, D.; et al. Beneficial roles of dietary oleum cinnamomi in alleviating intestinal injury. **Frontiers in bioscience**, v. 20, p. 814–828, 2015.

WATERS, W. R.; SACCO, R. E.; DORN, A. D.; HONTECILLAS, R.; ZUCKERMANN, F. A.; WANNEMUEHLER, M. J. Systemic and mucosal immune responses of pigs to parenteral immunization with a pepsin-digested *Serpulina hyodysenteriae* bacterin. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 69, n. 1, p.75-87, 1999.

WENK, C. Herbs and Botanicals as Feed Additives in Monogastric Animals. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 2, p.282-289, 2003.

YAN, L.; MENG, Q. W.; KIM, L. H. Effect of an herb extract mixture on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, and fecal microbial shedding in weanling pigs. **Livestock Science**, v. 145, n. 1-3, p.189-195, 2012.

YANG, C.; CHOWDHURY, M. A.; HUO, Y.; GONG, J. Phytogetic Compounds as Alternatives to In-Feed Antibiotics: Potentials and Challenges in Application. **Pathogens**, v. 4, n. 1, p.137-156, 2015.

ZENG, Z.; ZHANG, S.; WANG, H.; PIAO, X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p.7-17, 2015.

ZENG, Z.; XU, X.; ZHANG, Q.; LI, P.; ZHAO, P.; LI, Q.; PIAO, X. Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 3, p.279-285, 2014.

ZENTEK, J. F, F.; PIEPER, R.; TEDIN, L.; MEYER, W.; VAHJEN, W. Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 7, p.3200-3210, 2013.

ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D. E. S. N. Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 1, p.81-86, 2008.

ZOU, Y.; XIANG, Q.; WANG, J.; PENG, J.; WEI, H. Oregano Essential Oil Improves Intestinal Morphology and Expression of Tight Junction Proteins Associated with Modulation of Selected Intestinal Bacteria and Immune Status in a Pig Model, **Biomed Research International**, v. 2016, 2016.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar os efeitos da adição de ácidos orgânicos associados com óleo essencial via ração e ácidos orgânicos via água para leitões em fase de creche desafiados com *Escherichia coli* K88.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho zootécnico;
- Avaliar a incidência de diarreia;
- Avaliar a contagem de *E. coli* K88, recuperada das fezes frescas nos dias 1, 2, 3, 5, 7, 14 e 21 após o desafio;
- Avaliar o perfil bacteriológico do conteúdo cecal;

4 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

EFEITOS DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E DO ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA CECAL E NO DESEMPENHO DE LEITÕES DESMAMADOS DESAFIADOS COM *ESCHERICHIA COLI* K88

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição de uma mistura de ácidos orgânicos associado ao óleo essencial de canela frente a colistina, sobre o desempenho, controle da diarreia e modulação da microbiota intestinal de leitões em fase de creche desafiados com *Escherichia coli* K88. Foram utilizados 114 leitões desmamados, metade machos castrados e metade fêmeas, com idade média inicial de 28 dias e 6,60 Kg \pm 0,25 Kg de peso vivo, submetidos a 3 tratamentos durante 35 dias, que corresponderam a: Controle (CON): ração livre de antimicrobianos e aditivos; Colistina (COL): Controle + Colistina (200 mg/kg); Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton AO+OE (ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela) + AO (ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L) via água potável (para atingir um pH de 4,5). Todos os animais foram desafiados com *Escherichia coli* (*E. coli*) K88 por via oral (5mL $1,1 \times 10^9$ UFC/mL). A unidade experimental foi representada pela baía para as variáveis de desempenho e análise bacteriológica, e pelo animal para a análise metagenômica e ocorrência de diarreia. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o desempenho (351, 377 e 354 g/dia; 637, 667 e 605 g/dia; 1,826, 1,769 e 1,709 para o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar na fase, para CON, AO+OE e COL, respectivamente) A COL mostrou maior efetividade contra a infecção induzida com *E. coli*, apresentando menor número de animais acometidos com diarreia ($P < 0,05$) e menor quantidade de *E. coli* nas fezes ($P < 0,05$), no entanto, houve tendência ($P < 0,10$) de aumento na quantidade de bactérias da ordem Bifidobacteriales no grupo AO+OE. A dose terapêutica da colistina foi mais efetiva sobre a prevenção da diarreia e excreção de *E. coli* nas fezes. A associação AO+OE demonstrou efetividade nos parâmetros de desempenho, com um efeito de tendência da modulação da microbiota benéfica do trato gastrointestinal.

Palavras chaves: Diarreia pós-desmame. Acidificante. Fitogênico.

EFFECTS OF ORGANIC ACIDS AND CINNAMON ESSENTIAL OIL ON CECAL MICROBIOTA MODULATION AND PERFORMANCE OF WEANED PIGLETS CHALLENGED WITH *ESCHERICHIA COLI* K88

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of the addition of a mixture of organic acids associated to the essential cinnamon oil against the Colistin on performance, control of diarrhea and intestinal microbiota modulation of nursery pigs challenged with *Escherichia coli* k88. A total of 114 weaned piglets were used, half males castrated and half females, with a mean initial age of 28 days and 6.60 Kg \pm 0,250 Kg of live weight, submitted to 3 treatments during 35 days, corresponding to: Control (CON): antibiotic free ration and additives; Colistin (COL): Control + colistin (200 mg/Kg); Organic acids + essential oil (AO+OE): Control + 1Kg/ton AO+OE (formic acid (180000 mg/Kg); Acetic acid (90000 mg/Kg); Propionic acid (45000 mg/Kg); Fumaric acid (35000 mg/Kg); Cinnamon essential oil) + AO (formic acid (180000 mg/L); Acetic acid (90000 mg/L); Propionic acid (45000 mg/L); Fumaric acid (35000 mg/L) via potable water (in order to achieve a pH of 4,5). All the animals were oral challenged with *Escherichia coli* (*E. coli*) K88 (5 mL 1,1 x 10⁹ UFC/mL). The experimental unit was represented by the pen for the variables of performance and bacteriological analysis and by the animal for a metagenomics analysis and incidence of diarrhea. No difference was observed ($P > 0,05$) between the treatments for the performance (351, 377 e 354 g/day; 637, 667 e 605 g/day; 1,826, 1,769 e 1,709 for feed intake, weight gain and feed conversion in the phase for CON, AO+OE and COL, respectively). The COL treatment showed greater efficacy against the induced infection with *E. coli*, presenting a lower number of animals affected by diarrhea ($P < 0,05$) and a lower amount of *E. coli* in feces ($P < 0,05$), however, there was a tendency ($P < 0,10$) of increase in the bacteria amount of the order Bifidobacteriales in the AO+OE group. The therapeutic dose of colistin was more effective in preventing diarrhea and on excretion of *E. coli* in feces. The AO+OE association showed effectiveness in the performance parameters with a tendency effect of the modulation of the beneficial gastrointestinal tract microbiota.

Keywords: Post-weaning diarrhea. Acidifying. Phytogetic.

4.1 INTRODUÇÃO

A diarreia pós desmame (DPD) é uma afecção clássica da suinocultura, sendo uma das causas contemporâneas de maior agravo econômico (VONDRUSKOVA et al., 2010). Os fatores estressores pelos quais os leitões são submetidos neste período, somado à imaturidade fisiológica do trato gastrointestinal (TGI) (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015) e do sistema imunológico que detém (JAYARAMA; NNYACHOTI, 2017), favorece o crescimento de microrganismos patogênicos e a ocorrência de diarreias, comprometendo o desempenho zootécnico e aumentando a ocorrência de mortes (HOPWOOD; HAMPSON, 2003).

Neste sentido, os antibióticos vêm sendo regularmente adicionados às dietas iniciais a fim de minimizar a morbidade e as consequências negativas que se apresentam (THACKER et al., 2013). Estes aditivos agem na microbiota do TGI, diminuindo a competição entre o patógeno e o hospedeiro por nutrientes e, por consequência, os metabólitos por estes produzidos (GONZALES et al., 2012). Dentre os vários princípios disponíveis, a colistina (polimixina E) tem representado um dos antibióticos de eleição para o controle da DPD em leitões, apresentando ação seletiva sobre diversos bacilos entéricos gram-negativos, com destaque à *Escherichia coli* (MENDES; BURDMANN, 2009).

No entanto, o uso dos antibióticos na dieta animal tem sido amplamente contestado pela capacidade que apresentam em selecionar bactérias resistentes (VONDRUSKOVA et al., 2010). A utilização dos antibióticos como promotores de crescimento (APC), cuja administração se dá por meio de doses subterapêuticas, é a forma mais comum relacionada a esta adversidade (FELSKLERX et al., 2011), não obstante também na condição terapêutica abusiva tenha o seu uso também questionado. Por tais motivos, os APC tornaram-se um risco para a segurança alimentar e a saúde humana, sendo banidos pela União Européia desde 2006 (MEVIUS et al., 2009).

Como consequência, há um posicionamento global latente de uso de aditivos alternativos aos APC que resulte na criação efetiva de suínos livres destes antimicrobianos, destacando os ácidos orgânicos e os óleos essenciais (MORÉS, 2014). Estes, além de promoverem a melhora do desempenho por meio de ações antimicrobianas, antiinflamatórias e antioxidantes, melhoram a digestibilidade e estimulam a secreção enzimática e o desenvolvimento do TGI (PAPATSIROS, CHRISTODOULOPOULOS; FILIPPOPOULOS, 2012; DHIFI et al., 2016;

CHOUHAN, SHARMA; ORCID, 2017; LONG et al., 2017; OMONIJO et al., 2017; SIMITZIS, 2017).

Os resultados do uso desses aditivos são consistentes na melhora do desempenho e no controle das diarreias em leitões (LI et al., 2012; LEI et al., 2016), porém, uma vez que são produtos naturais oriundos de diferentes origens, têm uma condição de padronização de seus princípios ativos (concentração, eficiência etc.) menos efetiva, gerando por vezes divergências nos resultados, principalmente em relação às diferentes condições experimentais empregadas (BASNIAK, 2010; KIL; KWON; KIM, 2011; ZENG et al., 2015).

Assim, objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos da adição de uma mistura de ácidos orgânicos e óleo essencial de canela frente a colistina, sobre o desempenho, controle da diarreia e modulação da microbiota cecal de leitões em fase de creche desafiados com *Escherichia coli* K88.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Animais, desenho experimental e dietas

O presente experimento foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais sob o protocolo CEUA nº 13812,2017,19.

Foram utilizados 114 leitões da genética PIC® (metade machos castrados e metade fêmeas), com idade média inicial de 28 dias e 6,60 kg \pm 0,250 Kg de peso vivo. Os animais foram alojados em 30 baias, sendo 15 baias com fêmeas e 15 baias com machos castrados. As baias eram de alvenaria com piso parcialmente ripado e área de 1,5 m², com comedouro linear de 6 bocas e bebedouro tipo chupeta. O aquecimento das baias foi realizado através de lâmpadas infravermelhas de 250W e manejo das cortinas. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, de acordo com o peso inicial, com três tratamentos e 10 repetições. A unidade experimental foi representada pela baia para as variáveis de desempenho e análise bacteriológica, e pelo animal como unidade experimental para a análise metagenômica e ocorrência de diarreia.

As dietas foram formuladas por meio das recomendações de Rostagno et al. (2011), cumprindo as exigências nutricionais para leitões de alto potencial genético, conforme a idade em que se encontravam. Para o experimento

foram definidas três fases de alimentação (Tabela 3): pré-inicial II (28 - 38 dias), inicial I (39 - 50 dias) e inicial II (50 - 63 dias). Rações e água foram disponibilizadas à vontade durante todo o período experimental.

Os tratamentos experimentais corresponderam a: Controle (CON): ração livre de antimicrobianos e aditivos; Colistina (COL): Controle + colistina (200 mg/kg); Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton [(ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela)] + [(ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90000 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L)], via água potável para atingir um pH de 4,5. Todos os animais dos tratamentos foram desafiados com *Escherichia coli* K88. (*E. coli* K88).

Tabela 3. Composição centesimal e nutricional das rações experimentais.

Ingredientes (%)	Pré-Inicial	Inicial I	Inicial II
Milho	39,94	47,70	69,80
Farelo de soja	20,06	27,30	25,20
Núcleo ¹	40,00	0,00	0,00
Núcleo ²	0,00	25,00	0,00
Núcleo ³	0,00	0,00	5,00
Total	100,00	100,00	100,00
Níveis Nutricionais			
Proteína (%)	19,00	19,00	18,00
Gordura (%)	4,59	3,52	2,68
Cálcio (%)	0,91	1,00	0,75
Fósforo disponível (%)	0,46	0,48	0,40
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3403	3310	3195
Lisina Dig (%)	1,45	1,35	1,12
Met+Cist Dig. (%)	0,81	0,75	0,64
Treonina Dig. (%)	0,97	0,90	0,73
Triptofano Dig (%)	0,28	0,26	0,21
Lactose total (%)	9,85	5,11	0,00
Matéria mineral (%)	6,45	6,62	6,20

¹ Níveis de garantia por kg do produto Núcleo Maxi 400 utilizado na ração Pré Inicial I: Umidade (máx.) 100,00 g; Proteína Bruta (mín.) 154,00 g; Extrato Etéreo (mín.) 73,00 g; Fibra Bruta (máx.) 50,00 g; Matéria Mineral (máx.) 300,00 g; Cálcio (mín. / máx.) 16,00/24,00 g; Sódio (mín.) 8.000,00 mg; Fósforo (mín.) 10,00 g; Lisina (mín.) 24,00 g; Metionina (mín.) 7.800,00 mg; Treonina (mín.) 15,00 g; Triptofano (mín.) 3.300,00 mg; Cobalto (mín.) 2,00 mg; Ferro (mín.) 142,00 mg; Iodo (mín.) 2,00 mg; Manganês (mín.) 100,00 mg; Selênio (mín.) 1,00 mg; Ácido Fólico (mín.) 9,00 mg; Colina (mín.) 1.225,00 mg; Niacina (mín.) 95,00 mg; Pantotenato de Cálcio (mín.) 31,00 mg; Vitamina A (mín.) 32.000,00 UI; Vitamina B1 (mín.) 6,00 mg; Vitamina B12 (mín.) 96,00 mcg; Vitamina B2 (mín.) 19,00 mg; Vitamina B6 (mín.) 9,00 mg; Vitamina D3 (mín.) 6.400,00 UI; Vitamina E (mín.) 160,00 UI; Vitamina H (mín.) 0,60 mg; Vitamina K (mín.) 6,00 mg. Principais ingredientes: Farelo de Bolacha (27%), Soja Integral Extruzada (9%), Plasma (5%), Fosfato Bicalcico (3%), Calcário Calcítico (2%), Sal Comum (1%), Açúcar (15%), Soro Leite (33%), Leite pó (4%).

² Níveis de garantia por kg do produto Núcleo Maxi 250 utilizado na ração Inicial I: Umidade (máx.) 100,00 g; Proteína Bruta (mín.) 84,00 g; Extrato Etéreo (mín.) 63,00 g; Fibra Bruta (máx.) 50,00 g; Matéria Mineral (máx.) 300,00 g; Cálcio (mín. / máx.) 28,00/44,00 g; Fósforo (mín.) 15,00 g; Sódio (mín.) 11,00 g; Lisina (mín.) 20,00 g; Metionina (mín.) 4.900,00 mg; Treonina (mín.) 10,00 g; Cobalto (mín.) 5,00 mg; Ferro (mín.) 251,00 mg; Iodo (mín.) 5,00 mg; Manganês (mín.) 200,00 mg; Selênio (mín.) 2,00 mg; Ácido Fólico (mín.) 3,00 mg; Colina (mín.) 2.672,00 mg; Niacina (mín.) 129,00 mg; Pantotenato de Cálcio (mín.) 60,00 mg; Vitamina A (mín.) 38.000,00 UI; Vitamina B1 (mín.) 8,00 mg; Vitamina B12 (mín.) 129,00 mcg; Vitamina B2 (mín.) 25,00 mg; Vitamina B6 (mín.) 12,00 mg; Vitamina D3 (mín.) 9.000,00 UI; Vitamina E (mín.) 807,00 UI; Vitamina H (mín.) 0,50 mg; Vitamina K (mín.) 9,00 mg. Principais ingredientes: Farelo de Bolacha (33%), Fosfato Bicalcico (7%), Calcário Calcítico (4%), Sal Comum (2%), Açúcar (19%), Soro Leite (29%).

³ Níveis de garantia por kg do produto Núcleo Maxi 50 utilizado na ração Inicial II: Umidade (máx.) 100,00 g; Matéria Mineral

(máx.) 800,00 g; Cálcio (mín. / máx.) 104,00/156,00 g; Fósforo (mín.) 59,00 g; Sódio (mín.) 39,00 g; Lisina (mín.) 33,00 g; Cobalto (mín.) 20,00 mg; Ferro (mín.) 1.000,00 mg; Iodo (mín.) 20,00 mg; Manganês (mín.) 800,00 mg; Selênio (mín.) 9,00 mg; Niacina (mín.) 599,00 mg; Pantotenato de Cálcio (mín.) 280,00 mg; Ácido Fólico (mín.) 17,00 mg; Colina (mín.) 1.279,00 mg; Vitamina A (mín.) 180.000,00 UI; Vitamina B1 (mín.) 40,00 mg; Vitamina B12 (mín.) 600,00 mcg; Vitamina B2 (mín.) 120,00 mg; Vitamina B6 (mín.) 59,00 mg; Vitamina D3 (mín.) 45.000,00 UI; Vitamina E (mín.) 960,00 UI; Vitamina H (mín.) 2,00 mg; Vitamina K (mín.) 44,00 mg. Principais ingredientes: Fosfato Bicalcico (31%), Calcário Calcítico (13%), Sal Comum (10%), Açúcar (16%).

4.2.2 Preparação do inóculo e inoculação

A estirpe de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) utilizada na pesquisa foi gentilmente cedida pelo laboratório de medicina aviária da Universidade Estadual de Londrina. O experimento iniciou com a indução de resistência nos isolados de *E. coli* enterotoxigênica K88 à rifampicina (Rif) e ao ácido nalidíxico (Nal) como descrito por Daudelin et al. (2011).

Sete dias após o início dos tratamentos os animais receberam uma dose única por via oral, contendo 5ml do inóculo de *E. coli* K88:LT, $1,1 \times 10^9$ UFC/ml (RHOUMA et al., 2015). Após o inóculo, os animais receberam 10 mL de carbonato de cálcio (CaCO₃). Para todos os procedimentos houve contenção adequada dos animais, possibilitando uma administração segura das dosagens, que foram realizadas utilizando seringas distintas. O CaCO₃ foi usado para aumentar a sobrevivência bacteriana no estômago e possibilitar a chegada do inóculo ao intestino delgado (RHOUMA et al., 2015).

4.2.3 Análise da recuperação bacteriana

Para as contagens bacterianas foram coletadas 10g de fezes, na forma de *pool*, nos dias 1, 2, 3, 5, 7, 14 e 21 após o desafio com *E. coli*. O coleta se deu por meio de massagem retal, sendo as amostras acondicionadas em potes de plástico estéreis. Em seguida, as amostras foram preparadas e analisadas conforme Coddens et al. (2017).

Foi priorizada a coleta na primeira semana pós-desafio, devido à maior facilidade de recuperação bacteriana neste período. Antes do desafio com *E. coli* resistente ao Nal e Rif, foi realizada a coleta fecal dos leitões para identificar uma possível pré colonização por *E. coli* resistente a estes antibióticos.

4.2.4 Análise do desempenho

Foram avaliados semanalmente o consumo diário de ração (CDR), ganho de peso diário (GPD) e a conversão alimentar (CA). A presença de diarreia foi observada individualmente e diariamente, registrando o número dos animais acometidos e classificando-os de acordo com as pontuações: 0 = normal, 1 = fezes pastosas, 2 = fezes líquidas (SOBESTIANSKY et al., 1998). Apenas fezes com pontuação 2 foram consideradas diarréicas. Os animais não foram medicados contra esta patologia devido à recuperação bacteriana de *E. coli* que ocorreu após o desafio.

4.2.5 Análise Metagenômica

Cinco dias após o desafio foi realizada uma amostragem de seis animais de cada grupo, que foram selecionados de forma aleatória no início do experimento. Para a realização da eutanásia e respeitando as medidas de bem-estar animal, os animais foram insensibilizados via corrente elétrica, com um equipamento da marca Petrovina IS 2000 com dois eletrodos, utilizando-se voltagem de 350 volts e 1,3A por três segundos. Para a sangria, foi realizada a incisão dos grandes vasos do pescoço.

Após a eutanásia, amostras do conteúdo do segmento cecal foram coletadas. O conteúdo intestinal (2g) foi transferido para um tubo Eppendorf, sendo refrigerado para a manutenção e imediatamente congelado a -80°C. As amostras foram enviadas congeladas para o laboratório Neoprospecta Microbiome Technologies SA (Florianópolis, SC, Brasil) para realização da análise metagenômica, utilizando protocolo próprio, baseada na amplificação e sequenciamento das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA (WANG; QIAN, 2009; CAPORASO et al., 2010).

4.2.6 Análise Estatística

Para a análise estatística os dados paramétricos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, pelo programa R versão 3.3.0. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram

transformados e analisados pelos mesmos procedimentos. P valores $\leq 0,05$ foram considerados significantes e P valores $\leq 0,10$ foram admitidos como tendência à significância.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o desempenho houve somente diferença ($P \leq 0,05$) para o GPD na quarta semana de experimento, na qual o tratamento COL apresentou-se superior ao grupo AO+OE. Considerando todo o período experimental, não houve diferenças significativas ($P \geq 0,05$) para nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 4).

Tabela 4. Médias do peso inicial e peso final de leitões, ganho de peso diário (GPD), consumo diário de ração (CDR) e conversão alimentar (CA) de acordo com as semanas de avaliação e tratamentos experimentais (valores expressos em kg).

Parâmetros	Tratamentos			p-valor	CV (%)
	CON ¹	COL ²	AO+OE ³		
Peso Inicial	6,703	6,530	6,570	0,66	6,75
Semana 1					
Peso	8,464	8,380	8,145	0,58	8,11
GPD	0,251	0,264	0,225	0,36	24,09
CDR	0,391	0,381	0,400	0,88	21,26
CA	1,567	1,487	1,819	0,07	19,15
Semana 2					
Peso	10,242	10,453	10,172	0,87	12,21
GPD	0,254	0,296	0,289	0,61	36,22
CDR	0,504	0,530	0,502	0,67	15,17
CA	2,666	1,875	1,829	0,20	52,83
Semana 3					
Peso	12,654	13,447	12,999	0,59	13,33
GPD	0,344	0,397	0,399	0,39	26,18
CDR	0,636	0,700	0,620	0,27	17,39
CA	2,202	1,825	1,565	0,27	44,86
Semana 4					
Peso	15,686	16,705	15,763	0,46	12,64
GPD	0,433ab	0,465a	0,399b	0,05	12,83
CDR	0,826	0,857	0,780	0,41	14,96
CA	1,911	1,851	1,978	0,58	13,88
Semana 5					
Peso	19,007	19,949	19,000	0,62	12,84
GPD	0,474	0,463	0,461	0,93	18,46
CDR	0,967	0,974	0,901	0,53	16,06
CA	2,030	2,108	1,997	0,45	9,44
Período Total					
GPD	0,351	0,377	0,354	0,57	16,11
CDR	0,637	0,667	0,605	0,38	14,46
CA	1,826	1,769	1,709	0,19	7,67

¹Controle: ração livre de antimicrobianos e aditivos; ²Colistina: Controle + Colistina (200 mg/kg); ³Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton [(ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela)] + [(ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90000 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L)], via água potável para atingir um pH de 4,5

*Letras diferentes na linha representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey (P <0,05)

O alto desafio sanitário pelas quais os animais foram submetidos, representado pela inoculação por via oral de *E. coli* K88, gerou graves quadros diarreicos (Tabela 5) em todos os grupos experimentais, o que pode explicar o desempenho zootécnico abaixo dos padrões previstos.

Considerando que a utilização dos ácidos orgânicos e óleos essenciais mostra-se efetiva para leitões recém-desmamados (DIBNER; BUTTIN, 2002; SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015; DHIFI et al., 2016; CHOUHAN, SHARMA; GULERIA, 2017), em especial por controlar a microbiota patogênica em detrimento da modulação da microbiota desejável, além de potencializar a utilização de minerais e nutrientes, estimular a secreção de enzimas endógenas e do desenvolvimento intestinal e pela ação antioxidante e antiinflamatória (PAPATSIROS, CHRISTODOULOPOULOS; FILIPPOPOULOS, 2012; DHIFI et al., 2016; CHOUHAN, SHARMA; GULERIA, 2017; LONG et al., 2017; OMONIJO et al., 2017; SIMITZIS, 2017), é possível que o insuficiente êxito desta associação seja decorrente do desafio inerente do próprio desmame, associado provavelmente à inoculação de *E. coli*, uma vez que outros agentes estressores não foram computados.

Por outro lado, deve-se considerar também que ainda há divergências nos resultados zootécnicos de leitões desmamados submetidos à dietas com diferentes ácidos orgânicos associados ou não com óleos essenciais ou extratos herbais, na qual tampouco comparados com dietas isentas destes geraram benefícios no desempenho (KIL et al., 2005; MUHL; LIEBERT, 2007; GOMES et al., 2011; SPITZER et al. 2014; CHE et al. 2012). Pode-se atribuir que, por se tratarem de produtos naturais, fatores relacionados à sua origem, à sua concentração e à atividade dos princípios ativos (ZENG et al., 2015), podem justificar a inconsistência dos resultados (WENK, 2003). Também as diversidades nos resultados podem ser explicadas principalmente pela composição da dieta, sua capacidade de tamponamento, nível de produção intraluminal de ácidos graxos de cadeia curta nos diferentes segmentos do TGI, quantidade de substratos fermentáveis na dieta, colonização e atividade microbiana no TGI, idade, e estado sanitário e de bem-estar dos animais (MROZ, 2005).

Os ácidos orgânicos são rotineiramente utilizados para diminuir a ação tamponante da dieta e aumentar a digestibilidade, porém, segundo Bellaver (2006), a quantidade de acidificante adicionada à ração dependerá do pH do TGI e

da capacidade tamponante dos ingredientes da ração. Quando a capacidade de tamponamento da dieta é alta, a eficiência dos ácidos orgânicos em melhorar a digestibilidade dos aminoácidos é reduzida (COSTA et al., 2013), e o conteúdo intestinal com um pH mais básico torna sua ação menos proeminente, exigindo quantidades de inclusão mais altas de ácidos para expressar o seu potencial (BOAS et. al., 2016).

Este comportamento pode ser explicado pela capacidade de ligação ácida/tamponamento dos ingredientes da ração (LAWLOR et al., 2005). Na ordem dos alimentos que possuem maior ligação ácida e poder tamponante sobre a ação destes, implicando diretamente com os resultados deste experimento, estão os minerais, com destaque ao calcário e ao fosfato bicálcico, que, como observado, quando somados, atingiram valores superiores a 2% em todas as dietas.

Segundo Lawlor et al. (2005), estes minerais são um dos principais agentes tamponantes das dietas para suínos, e o aumento da suplementação mineral de 0 a 4% pode triplicar o valor de tamponamento, assim como o farelo de soja na categoria de vegetais protéicos, que como regra deve apresentar níveis inferiores a 14% nas primeiras rações. Assim, os ácidos que limitam estes efeitos de tamponamento, também têm as demais atividades comprometidas através do alto poder tampão da dieta (BLANK et al., 2001).

Adicionalmente, deve-se considerar que os valores dos produtos lácteos nas rações (soro de leite em pó e o leite integral em pó), cujas doses conferiram, respectivamente, níveis de 9,85% e 5,11% nas rações pré-inicial II e inicial I, são substratos que, quando fermentados no TGI, se convertem em ácido láctico, reduzindo o pH do conteúdo, limitando, por sua vez, a ação dos ácidos orgânicos (SILVA et al., 2008). Por esta razão, os acidificantes têm-se mostrado mais eficazes quando estes são incluídos em dietas mais simples, sem adição de ingredientes lácteos e de proteínas de origem animal (BOAS et. al., 2016).

Associada aos resultados divergentes das ações previstas destes aditivos, está a relação dos ácidos com a queda de pH no TGI. Li et al. (2008) verificaram que a utilização dos ácidos butírico, fumárico e benzóico a 0,5% e 1% para leitões desmamados não promoveu redução do pH da digesta tanto no estômago, como no duodeno, jejuno e íleo. Como também observaram Piva et al. (2007b), que trabalharam com um *blend* de ácidos orgânicos e óleos essenciais microencapsulados. Estes resultados estão relacionados com a rápida absorção dos

ácidos quando deixam o estômago, principalmente quando estão na forma livre (CALEGARI, et. al., 2016). No entanto, não foram realizadas em nosso trabalho análises sobre a redução do pH no TGI e digestibilidade da dieta.

Segundo Silva et al. (2008), outro fator que pode estar associado com os resultados obtidos é a realização do manejo de *creep-feeding* na maternidade. Os leitões utilizados nesta pesquisa foram submetidos a este manejo, que tem por meta preparar fisiologicamente e enzimaticamente o leitão para o desmame, fazendo que o papel dos ácidos e dos óleos seja restringindo sobre a melhora da digestibilidade da ração.

Neste sentido, os resultados obtidos identificam-se com os observados por Manzanilla et al. (2004), Kommera et al. (2006), Santos (2010) e Castro (2015) no qual, ao utilizarem, respectivamente, dietas com a inclusão de ácido fórmico + carvacrol, cinamaldeído e oleoresina de capsicum (5,15 e 5,3g/kg); ácido láctico + óleo de anis, cítrico e de orégano (4g/kg); e ácido fumárico e málico + carvacrol, eugenol e cinamaldeído (1g/kg) e ácido láctico, fórmico e formiato de amônio + óleo essencial (0,5g/kg); não verificaram vantagens nos índices zootécnicos em relação ao grupo controle.

Por outro lado, os resultados contrastam com os achados de Rodrigues (2016), que associou o ácido benzóico a um *blend* de óleos essenciais encapsulados (timol, 2-metoxifenol, eugenol, piperina e curcumina) na dose de 3g/kg para leitões desafiados com *E. coli* K88, e obteve melhor consumo de ração, ganho de peso e peso final comparado ao grupo controle e similar ao grupo submetido a uma dieta com 40ppm de colistina.

Também Huang et al. (2010), ao analisarem o efeito de um mix de óleos essenciais derivados do orégano, canela, cravo da Índia, tomilho e alecrim sob a dose de 1g/kg na dieta dos leitões, acrescido ou não de ácido benzóico ou tilosina, observaram melhor ganho de peso no pós-desmame, além de melhores características fecais. Luise et al. (2017), utilizando somente o ácido fórmico em duas doses distintas, 1,4 g/kg e 6,4 g/kg, em comparação com uma dieta basal, verificaram que os leitões, independente da dose, apresentaram superior ganho de peso nas três semanas iniciais e tenderam a melhorar o consumo e a conversão alimentar.

Quanto ao consumo de ração, contrariando a expectativa de que os ácidos orgânicos (LEI et al., 2017) e óleos essenciais (FRANZ; BASER; WINDISCH

2010) na dieta dos leitões melhoram o parâmetro, houve uma identificação com os resultados obtidos por Namkung et al. (2004), que verificaram que ambos os aditivos, usados conjuntamente, não melhoraram o consumo em relação aos grupos controle negativo e positivo (110ppm de lincomicina na dieta). Por sua vez, os resultados mostram-se distintos dos observados por Zeng et al. (2015) e Luise et al. (2017), onde estes aditivos, através do odor e sabor que conferem à ração, podem aumentar a palatabilidade, o interesse e o consumo pelos animais.

Pode-se atribuir que a elevada participação de produtos de alto valor nutritivo e que conferem palatabilidade às rações, como o plasma, os derivados lácteos e o farelo de bolacha, tenham se sobreposto ao efeito dos ácidos e dos óleos essenciais, limitando seus benefícios neste sentido.

Todavia, os resultados contrariam Rudbäck (2013), que trata que certos ácidos orgânicos, dependendo dos níveis dietéticos empregados, por possuírem um odor mais pungente e sabor muito acentuado, podem reduzir substancialmente a palatabilidade da dieta e afetar o consumo de ração dos suínos, destacando os ácidos propiônico, fumárico, fórmico e acético na forma livre, todos utilizados neste trabalho.

Quanto à ocorrência de diarreia, todos os tratamentos apresentaram uma casuística elevada de animais com o problema (Tabela 5). A efetividade do desafio induzido pela *E. coli* mostrou ser positiva, resultando rapidamente em distúrbios gastrintestinais, que persistiram, pois não foi realizada qualquer medicação com antibióticos devido à proposta do protocolo de recuperação da *E. coli* K88 (rNal, rRif) nas fezes frescas dos animais.

Os resultados mostram-se diferentes aos encontrados por Kommera et al. (2006), no qual o grupo de leitões que recebeu uma combinação de ácidos e óleos essenciais (ácido láctico e ácido fosfórico 2g/kg + óleo de anis, cítrico e de orégano na dosagem de 4g/kg) apresentou índices de diarreia semelhantes ao grupo tratado com Carbadox (50mg/kg) e ambos melhores que o grupo controle (isento de aditivos promotores do crescimento).

Tabela 5. Número de leitões com diarreia durante todo o período experimental segundo os tratamentos.

Tratamentos	CON ¹	COL ²	AO+OE ³	Pvalor
Animais com diarreia/animais avaliados	28/38b	8/38a	23/38b	P<0,05

¹Controle: ração livre de antimicrobianos e aditivos; ²Colistina: Controle + Colistina (200 mg/kg); ³Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton [(ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela)] + [(ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90000 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L)], via água potável para atingir um pH de 4,5
Para letras diferentes, valores diferentes significativamente pelo teste do Qui Quadrado.

Também, os resultados divergem dos obtidos por Tsiloyiannis et al. (2001), que testando ácidos orgânicos de forma isolada, ácidos fumárico (1,5%), propiônico (1,0%) e fórmico (1,2%) *versus* um grupo tratado com antibióticos (44ppm de lincomicina e 44ppm de espectromicina) e um grupo controle negativo, observaram menores taxas de diarreia para os leões tratados com os ácidos e para o grupo tratado com antibióticos em relação ao controle, mas somente os animais que receberam a dieta com ácido láctico na ração mostraram resultados equivalentes aos antibióticos.

Através da análise microbiológica das amostras fecais (Tabela 6), verificou-se que a excreção de *E. coli* K88 (rNal, rRif), recuperada das fezes nos dias 1, 2, 3, 5, 7, 14 e 21 após o desafio, garantiu a efetividade do procedimento de inoculação e da cepa como potente colonizadora, especialmente para os grupos CON e AO+OE.

Tabela 6. Quantidade de *Escherichia coli* recuperada das fezes de leitões após administração oral de $1,1 \times 10^9$ UFC / mL.

Tratamentos	Contagem bacteriana (\log_{10} UFC/mL)						
	Dias após desafio (dpd)						
	1	2	3	5	7	14	21
¹ CON	5,95 B d	3,95 B c	1,94 B b	0,89 A ab	1,09 A ab	0,27 A a	0,38 A a
² COL	0,00 A a	0,00 A a	0,00 A a	0,00 A a	0,00 A a	0,00 A a	0,00 A a
³ AO+OE	5,79 B d	3,99 B c	1,71 B b	0,62 A ab	0,88 A ab	0,00 A a	0,00 A a

¹Controle: ração livre de antimicrobianos e aditivos; ²Colistina: Controle + Colistina (200 mg/kg); ³Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton [(ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela)] + [(ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90000 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L)], via água potável para atingir um pH de 4,5

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna ou letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A presença de *E. coli* nas fezes dos animais desafiados não foi detectada no grupo COL durante o período experimental, no entanto, foi possível detectar a *E. coli* nos grupos CON e AO+OE. Como demonstrado (Tabela 6), todos os grupos tratados apresentaram uma diminuição significativa ($P < 0,05$) na média de recuperação da ETEC após o desafio, igualando-se ao grupo COL no 5º dia, mostrando capacidade de diminuição da eliminação de *E. coli* independentemente da adição de AO+OE na dieta.

Apesar da boa recuperação bacteriana até três dias pós inoculação, não houve diferença entre os grupos AO+OE e CON, sendo a maior média observada no grupo CON no 1º dia pós-desafio, embora a média não tenha diferido significativamente do grupo AO+OE.

Os resultados mostram-se semelhantes aos obtidos por Rodrigues (2016), que forneceu uma associação de ácido benzóico mais um *blend* de óleos essenciais encapsulados (timol, 2-metoxifenol, eugenol, piperina e curcumina) na dose de 2, 3 e 4g/kg para leitões desafiados com *E. coli* K88, e não observou diferenças na contagem desta bactéria nas fezes no 4º dia pós desafio, comparadas com o grupo controle. Porém, contrariamente, neste trabalho, também não houve diferença em relação ao grupo que recebeu 40 ppm de colistina.

Long et al. (2017), utilizando um *blend* de ácido fórmico, acético, prôpionico mais ácidos graxos de cadeia média, na dose de 3g/kg, ou ácido sórbico mais butirato, na dose de 2g/kg, para leitões desmamados, obtiveram menor contagem de *E. coli* nas fezes e incidência de diarreia, além de resultados zootécnicos superiores ao grupo controle e igual ao grupo que recebeu bacitracina de zinco (10 mg/kg); sulfato de colistina (5 mg/kg); olaquinox (5 mg/kg).

Esperava-se uma diferença significativa na redução da excreção de *E. coli* nas fezes do grupo tratado com AO+OE, com relação ao grupo CON devido à ação antibacteriana direta destes aditivos, ou pela ação de redução do pH do TGI, que leva a um ambiente inapropriado para a bactéria se aderir e colonizar. Porém, como tratado, alguns fatores podem estar implicados nesta limitação da expressão dos resultados esperados, com observaram Li et al. (2008) e Callegari et. al. (2016), que não obtiveram redução significativa do pH em diferentes segmentos do TGI com o uso de ácidos.

A canela, por apresentar efeitos gastroprotetores, como inibição da secreção gástrica e estímulo da secreção de muco (ALQASOUMI, 2012), pode ter

influenciado negativamente a redução do pH gástrico pelos ácidos orgânicos em conjunto com o HCL, facilitando a sobrevivência gástrica e a disseminação da *E. coli* para o intestino delgado, identificando-se com os resultados encontrados em pesquisas *in vitro* ou *in vivo* (RICKE, 2003).

Apesar dos resultados com óleos essenciais *in vitro* serem promissores, deve-se atentar para sua interpretação, pois as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais podem ser reduzidas substancialmente quando estão em contato com o alimento, pois ocorre a sua adsorção nas partículas deste, dificultando sua ação intraluminal (PLUSKE, 2013).

Com relação ao papel modulador dos tratamentos na microbiota cecal (Tabela 7), verifica-se que não houve diferença ($P > 0,05$) entre as bactérias pertencentes à ordem Clostridiales, Lactobacillales, Bifidobacteriales e Enterobacteriales, que representaram a maioria das bactérias da contagem total. No entanto, houve tendência ($P < 0,10$) de aumento na quantidade de bactérias da ordem Bifidobacteriales no grupo AO+OE, em relação ao grupo COL, sinalizando um efeito importante para uma ordem de bactérias benéfica para o trato.

Tabela 7. Resultado da análise metagenômica - Contagem média bacteriana (unidades) no conteúdo cecal dos leitões 12 dias após o início dos tratamentos.

ORDEM	CON ¹	COL ²	AO+OE ³	P-valor	CV (%)
Clostridiales	7906	7084	5518	0,63	63,8
Lactobacillales	17446	29458	19475	0,22	55,1
Bifidobacteriales	1112	123	2658	0,07	52,7
Enterobacteriales*	4,445	1,671	4,221	0,31	79,1
TOTAL	29827	36699	28329	0,54	41,8

¹Controle: ração livre de antimicrobianos e aditivos; ²Colistina: Controle + Colistina (200 mg/kg); ³Ácidos orgânicos + óleo essencial (AO+OE): Controle + 1kg/ton [(ácido fórmico (180 mg/Kg); ácido acético (90 mg/Kg); ácido propiônico (45 mg/Kg); ácido fumárico (35 mg/Kg); óleo essencial de canela)] + [(ácido fórmico (180000 mg/L); ácido acético (90000 mg/L); ácido propiônico (45000 mg/L); ácido fumárico (35000 mg/L)], via água potável para atingir um pH de 4,5

*Os valores das quantidades de bactérias pertencentes à ordem Bifidobacteriales e Enterobacteriales estão representadas em Log₁₀, pois tiveram que ser transformadas por não apresentarem normalidade no teste de análise de variância.

Para a contagem de bactérias da ordem Lactobacillales, (*Lactobacillus ssp*) e Enterobacteriales (*E. coli* e *Salmonella ssp*), apesar de não ter ocorrido diferença, houve uma menor quantidade de Enterobactérias para o grupo COL, possivelmente devido a maior quantidade de *Lactobacillus*, quando relacionada ao grupo CON e AO+OE.

As bifidobactérias, assim como os lactobacilos são dois dos principais gêneros pertencentes à microbiota intestinal de leitões, caracterizadas como bactérias ácido-láticas, exercendo, através da acidificação no TGI, proteção contra o crescimento de microrganismos patogênicos (MIKKELSEN et al., 2003; EVERAERT et al., 2017), como a *E. coli* e a *Salmonella* spp, que não toleram ambientes com pHs mais baixos (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Com os resultados da recuperação bacteriana e análise metagenômica, observa-se que a colistina figurava com importante impacto na prevenção da infecção por *E. coli*, reduzindo o acometimento da diarreia em leitões, principalmente nas primeiras fases pós desmame (MENDES; BURDMANN, 2009).

As expectativas de uma consistente modulação da microbiota do ceco pelo uso dos ácidos associados aos óleos essenciais não foram efetivas, estando em concordância com os achados de Namkung et al. (2004) que, submeteram leitões desmamados à dietas com 1,1% de ácido acético, propiônico, fosfórico e cítrico com ou sem a inclusão de mais 1% de ácido lático e 0,75% de extratos herbais de canela, tomilho e orégano, e não obtiveram vantagens nas contagens de Coliformes e *Lactobacillus* no conteúdo ileal.

Porém, os resultados mostraram ser distintos dos observados por Mananzilla et al. (2004), que utilizando carvacrol, cinamaldeído e oleoresina de capsicum (300mg/kg), observaram melhor relação *Lactobacillus/Enterobactérias*. Assim como os obtidos por Li et al. (2012), que utilizaram OE encapsulados (quando detém uma camada protetora), com timol e cinamaldeído como compostos ativos na dosagem de 100g/ton em rações para leitões desmamados, e observaram melhor relação de *Lactobacillus/E. coli*, demonstrando o potencial do OE em modular a microbiota intestinal dos leitões.

Os OE atuam tanto sobre bactérias Gram-positivas, como as Gram-negativas, porém, apresentam menor ação antimicrobiana sobre as bactérias Gram-negativas devido às diferenças na parede celular bacteriana (BURT, 2004). No entanto, uma das possíveis explicações para os resultados obtidos pode estar relacionada à forma como estes aditivos foram veiculados.

Quando livres, como foi o caso do presente trabalho, são rapidamente absorvidos no duodeno, impossibilitando a ação nos segmentos posteriores. Já, quando encapsulados, estes princípios são liberados de modo mais lento e gradual, permitindo a disponibilidade em quantidades adequadas ao longo

dos segmentos do TGI, possibilitando a obtenção de resultados mais pronunciados (MEUNIER et al., 2006; PIVA et al., 2007b; LANGE et al., 2010).

4.4 CONCLUSÕES

A utilização de 200 mg/kg de colistina apresentou respostas mais eficientes no controle da diarreia e na contagem bacteriana frente ao desafio com *E. coli* K88. O grupo de animais que recebeu os ácidos orgânicos associados ao óleo essencial de canela, via ração, mais ácidos orgânicos, via água, apresentou resultados de desempenho semelhantes aos animais que foram tratados com a dosagem terapêutica de colistina, além de apresentar tendência na modulação da microbiota cecal, com aumento desejável de bifidobacterias.

REFERÊNCIAS

- ALQASOUMI, S. Anti-secretagogue and antiulcer effects of Cinnamon *Cinnamomum zeylanicum* in rats. **Journal of Pharmacognosy And Phytotherapy**, v. 4, n. 4, p.53-61, 2012.
- BASNIAK, P. A. **Avaliação da eficiência de acidificantes em dietas de leitões: uma aplicação de revisão sistemática de literatura e metanálise**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- BELLAVER, C. Utilização de melhoradores de desempenho na produção de suínos e de aves. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 2006, Concórdia. **Anais [...]**. Embrapa Suínos e Aves, 2006 p. 1-30.
- BLANK, R.; SAUER, W. C.; MOSENTHIN, R.; ZENTEK, J.; HUANG, S.; ROTH, S. Effect of fumaric acid supplementation and dietary buffering capacity on the concentration of microbial metabolites in ileal digesta of young pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 3, p.345-353, 2001.
- 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. 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, 2016.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p.223-253, 2004.
- CALLEGARI, M. A.; NOVAIS, A. K.; OLIVEIRA, E. R.; DIAS, C. P.; SCHMOLLER, D. L.; PEREIRA, M. J.; DÁRIO, J. G. N.; ALVES, J. B., SILVA, C. A. Microencapsulated acids associated with essential oils and acid salts for piglets in the nursery phase. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p.2193-2208, 2016.
- CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C. A.; TURNBAUGH, P. J.; Fierer, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 108, n. 1, p.4516-4522, 2010.
- CASTRO, F. F. **Fitogênicos ou mono e diglicerídeos associados com ácidos orgânicos em dietas para leitões recém-desmamados**. 2015. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015.
- CHE, T. M.; ADEOLA, O.; AZAIN, M. J.; CARTER, S. D.; CROMWELL, G. L.; HILL, G. M.; MAHAN, D. C.; MILLER, P. S.; PETTIGREW, J. E. Effect of Dietary Acids on Growth Performance of Nursery Pigs: A Cooperative Study. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 12, p.4408-4413, 2012.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; ORCID, S. G. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p.58-79, 2017.

CODDENS, A.; LOOS, M.; VANROMPAY, D.; REMON, J. P.; COX, E. Cranberry extract inhibits in vitro adhesion of F4 and F18 + Escherichia coli to pig intestinal epithelium and reduces in vivo excretion of pigs orally challenged with F18 + verotoxigenic E. coli. **Veterinary Microbiology**, v. 202, p.64-71, 2017.

COSTA, L. B.; LUCIANO, F. B.; MIYADA, V. S.; GOIS, F. D. Herbal extracts and organic acids as natural feed additives in pig diets. **South African Journal of Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 181-193, 2013.

DAUDELIN, J. F., LESSARD, M., BEAUDOIN, F., NADEAU, É., BISSONNETTE, N., BOUTIN, Y., BROUSSEAU, J. P., LAUZON, K., FAIRBROTHER, J. M. Administration of probiotics influences F4 (K88)-positive enterotoxigenic Escherichia coli attachment and intestinal cytokine expression in weaned pigs. **Veterinary Research**, v. 42, n. 1, p.59-69, 2011.

DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p.25-41, 2016.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453–463, 2002.

EVERAERT, N.; VAN CRUCHTEN, S.; WESTRÖM, B.; BAILEY, M.; VAN GINNEKEN, C.; THYMANN, T.; PIEPER, R. A review on early gut maturation and colonization in pigs, including biological and dietary factors affecting gut homeostasis. **Animal Feed Science And Technology**, p.327-339, 2017.

FELS-KLERX, H. J.; PUISTER-JANSEN, L.F.; VAN-ASSELT, E. D.; BURGERS, S. L. Farm factors associated with the use of antibiotics in pig production. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 6, p.1922-1929, 2011.

FRANZ, C.; BASER, K. H. C.; WINDISCH, W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European prespective. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 327-340, 2010.

GOMES, F. E.; FONTES, D. O.; VASCONCELLOS, C. H. F.; SILVA, F. C. O. Ácido fumárico e sua combinação com ácido láctico ou propionato de cálcio em dietas de leitões recém-desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p.678-686, 2011.

GOMES, F.E.; FONTES, D.O.; SALIBA, E.O.S.; FERREIRA, W.M.; FIALHO, E.T.; SILVA, F.C.O.; SILVA, M.A.; CORRÊA, G.S.S.; SALUM G. M.. Ácido fumárico e sua combinação com os ácidos butírico ou fórmico em dietas de leitões recém desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p.1270-1277, 2007.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, v. 13, n. 13, p. 48–53, 2012.

HOPWOOD, D.E.; HAMPSON, D.J. Interactions between the intestinal microflora, diet and diarrhoea, and their influences on piglet health in the immediate post-weaning period. In: PLUSKE, J.R.; LE DIVIDICH, J.; VERSTEGEN, M.W.A. **Weaning the pig: Concepts and consequences**. p. 199-218, 2003.

HUANG, Y.; YOO, J. S.; KIM, H. J.; WANG, Y.; CHEN, Y. J.; CHO, J. H.; KIM, I. H. Effects of dietary supplementation with blended essential oils on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal characteristics in weanling pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 5, p.607-613, 2010.

JAYARAMAN, B.; NYACHOTI, C. M. Husbandry practices and gut health outcomes in weaned piglets: A review. **Animal Nutrition**. v. 3, n. 3, p.205-211, 2017.

KIL, D. Y.; PIAO, L. G.; LONG, H. F.; LIM, J. S.; YUN, M. S.; KONG, C. S.; JU, W. S.; LEE, H. B.; KIM, Y. Y. Effects of Organic or Inorganic Acid Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestibility and White Blood Cell Counts in Weanling Pigs. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 2, p.252-261, 2005.

KIL, D. Y.; KWON, W. B.; KIM, B. G. Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. **Rev Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 231-247, 2011.

KOMMERA, S. K.; MATEO, R. D.; NEHER, F. J.; KIM, S. W. Phytobiotics and Organic Acids As Potential Alternatives to the Use of Antibiotics in Nursery Pig Diets. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 12, p.1784-1789, 29 2006.

LANGE, C. F. M., PLUSKE, J., GONG, J., & NYACHOTI, C. M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**. v. 134, n. 1-3, p.124-134, 2010.

LAWLOR, P. G.; LYNCH, P. B.; CAFFREY, P. J.; O'REILLY, J. J.; O'CONNELL, M. K. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**. v. 58, n. 8, p.447-452, 2005.

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

LI, P.; PIAO, X.; RU, Y.; XUE, L.; ZHANG, H. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.25, p. 1617–1626. 2012

LI, Z.; YI, G.; YIN, J.; SUN, P.; LI, D.; KNIGHT, C. Effects of Organic Acids on Growth Performance, Gastrointestinal pH, Intestinal Microbial Populations and Immune Responses of Weaned Pigs. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 2, p.252-261, 2008.

LONG, S. F.; XU, Y. T.; PAN, L.; WANG, Q. Q.; WANG, C. L.; WU, J. Y.; PIAO, X. S. Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, serum immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p.23-32, 2017.

LUISE, D.; MOTTA, V.; SALVARANI, C.; CHIAPPELLI, M.; FUSCO, L.; BERTOCCHI, M.; MAZZONI, M.; MAIORANO, G.; COSTA, L. N.; MILGEN, J. V.; BOSI, P. Long-term administration of formic acid to weaners: Influence on intestinal microbiota, immunity parameters and growth performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p.160-168, 2017.

MANZANILLA, E. G.; PEREZ, J. F.; MARTIN, M.; KAMEL, C.; BAUCCELLS, F.; GASA, J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 11, p.3210-3218, 2004.

MENDES, C. A. C.; BURDMANN, E. A. Polymyxins: review with emphasis on nephrotoxicity. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 752-759, 2009.

MEUNIER, J. P.; CARDOT, J.M.; GAUTHIER, P.; BEYSSAC, E.; ALRIC, M. Use of rotary fluidized-bed technology for development of sustained-release plant extracts pellets: potential application for feed additive delivery. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1850-1859, 2006.

MEVIUS, D. J.; WIT, B.; VAN PELT, W.; PUISTER-JANSEN, L. F.; BONDT, N.; BERGEVOET, R. H. M.; VAN GEIJLSWIJK, I. **MARAN 2007: monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2006/2007**. p.103. 2009.

MICHIELS, J.; MISSOTTEN, J.; FREMAUT, D.; DE SMET, S.; DIERICK, N. In vitro dose-response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. **Livestock Science**, v. 109, n. 1-3, p.157-160, 2007.

MIKKELSEN, L. L.; BENDIXEN, C.; JAKOBSEN, M.; JENSEN, B. B. Enumeration of Bifidobacteria in Gastrointestinal Samples from Piglets. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 1, p.654-658, 2003.

MOHITI-ASLI, M.; GHANAATPARAST-RASHTI, M. Comparing the effects of a combined phyto-genic feed additive with an individual essential oil of oregano on intestinal morphology and microflora in broilers. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p.184-189, 2017.

MORÉS, N. É possível produzir suínos sem o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho? In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL,

6., 2014, São Pedro. **Anais [...]**. São Pedro: CBNA, 2014. p. 1-10.

MROZ, Z. Organic Acids as Potential Alternatives to Antibiotic Growth Promoters for Pigs. **Advances in Pork Production**, v. 16, p.169-182, 2005.

MUHL, A.; LIEBERT, F.. Growth and parameters of microflora in intestinal and faecal samples of piglets due to application of a phytogenic feed additive. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 91, n. 9-10, p.411-418, 2007.

NAMKUNG, H.; LI J.; GONG, M.; YU, H.; COTTRILL, M.; DE LANGE, C. F. M. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 4, p.697-704, 2004.

OMONIJO, F. A.; NI, L.; GONG, J.; WANG, Q.; LAHAYE, L.; YANG, C. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, p.1-11, 2017.

PAPATSIROS, V. G., CHRISTODOULOPOULOS, G., FILIPPOPOULOS, L. C. The use of organic acids in monogastric animals (swine and rabbits). **Journal of Cell and Animal Biology**, v. 6, n. 10, p.154-159, 2012.

PIVA, A.; PIZZAMIGLIO, V.; MORLACCHINI, M.; TEDESCHI, M.; PIVA, G. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 486-493, 2007b.

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

RHOUMA, M., BEAUDRY, F., THÉRIAULT, W., BERGERON, N., LAURENT-LEWANDOWSKI, S., FAIRBROTHER, J. M., LETELLIER, A. Gastric stability and oral bioavailability of colistin sulfate in pigs challenged or not with *Escherichia coli* O149: F4 (K88). **Research in Veterinary Science**, v. 102, p.173-181, 2015.

RIBEIRO, A. M. L.; PINHEIRO, C. C.; GIANFELICI, M. F. Nutrientes que afetam a imunidade dos leitões. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 1, p.119-124, 2008.

RICKE, S.. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p.632-639, 2003.

RODRIGUES, L. M. **Ácido benzóico e óleos essenciais em rações de leitões desafiados com *E. coli* K88+**. 2016. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.

RUDBÄCK, L. **Organic acids in liquid feed for pigs - palatability and feed intake**.

Dissertação (mestrado em Ciencia Animal). Swedish University of Agricultural Sciences, Ultuna, 2013.

SILVA, A. M R.; BERTO, D.A.; LIMA, G.J. M. M.; WECHSLER, F.S.; PADILHA, P.M.; CASTRO, V. S. Valor nutricional e viabilidade econômica de rações suplementadas com maltodextrina e acidificante para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 286-295, 2008.

SIMITZIS, P. E. Enrichment of Animal Diets with Essential Oils—A Great Perspective on Improving Animal Performance and Quality Characteristics of the Derived Products. **Medicines**, v. 4, n. 2, p.35-56, 2017.

SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S.; SESTI, L.A.C. **Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Brasília: EMBRAPA–SPI. Concórdia, S.C. EMBRAPA Suínos e Aves. 1998. 388p.

SPITZER, F.; VAHJEN, W.; PIEPER, R.; MARTINEZ-VALLESPIN, B.; ZENTEK, J. A standardised challenge model with an enterotoxigenic F4+Escherichia coli strain in piglets assessing clinical traits and faecal shedding of enterotoxin genes. **Archives of Animal Nutrition**, v. 68, n. 6, p.448-459, 2014.

SUIRYANRAYNA, M. V. A. N.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 45, 2015.

THACKER, P. A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. **Journal of Animal Science And Biotechnology**, v. 4, n. 1, p.35-46, 2013.

TSILOYIANNIS, V. K., KYRIAKIS, S. C., VLEMMAS, J., & SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. **Research in Veterinary Science**. v. 70, n. 3, p.287-293, jun. 2001.

TUNG, C. M.; PETTIGREW, J. E. Critical review of acidifiers. **Report NPB**, n. 5, v. 169, p. 1-48, 2006.

VONDRUSKOVA, H.; SLAMOVA, R.; TRCKOVA, M.; ZRALY, Z.; PAVLIK, I. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. **Veterinarni Medicina**, v.55, n.5, p.199-224, 2010.

WANG, Y.; QIAN, P. Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. **Plos One**, v. 4, n. 10, p.7401-7409, 2009.

WENK, C. Herbs and Botanicals as Feed Additives in Monogastric Animals. **Asian-australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 2, p.282-289, 2003.

ZENG, Z.; ZHANG, S.; WANG, H.; PIAO, X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p.7-17, 2015.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de suínos sem a utilização de antibióticos como promotores de crescimento ou de forma preventiva não é uma tarefa fácil e simples de ser implementada, principalmente para leitões desmamados, que ainda não possuem um equilíbrio das funções do TGI e sistema imune, somados a uma alteração da microbiota neste período. Os ácidos orgânicos e os óleos essenciais detêm potencial de agirem como promotores de crescimento em leitões, através das inúmeras certificações sobre as atividades antibacterianas, além de diversas outras atividades que subsidiam um melhor desenvolvimento dos leitões, porém deve-se ter em mente que o sucesso na produção sem a adição de antibióticos, não está ligado a somente encontrar aditivos substitutos, mas também adequar, reconsiderar e gerir de forma pertinente as rotinas de manejo e biosseguridade da granja, pois não se pode lançar mão do uso dos aditivos ou antimicrobianos como substitutos de práticas básicas de manejo. Dessa forma, os países que passam por um período de transição ou que buscam a produção de suínos sem o uso dos APC ou dos preventivos, devem tomar como exemplo as técnicas de manejo e biosseguridade de países que possuem esta prática inserida e mais avançada no método de produção, juntamente com aditivos que possam beneficiar a saúde dos leitões e, conseqüentemente o desempenho.