

ANDERSON CORASSA

MANANOLIGOSSACARÍDEOS, ÁCIDOS ORGÂNICOS, PROBIÓTICOS E NÍVEIS
DE ÁCIDO FÓLICO EM DIETAS PARA LEITÕES DE 21 A 49 DIAS DE IDADE

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para
a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C788m
2004

Corassa, Anderson, 1978-

Mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos, probióticos e níveis de ácido fólico em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. / Anderson Corassa. – Viçosa : UFV, 2004. Xii, 65f. : il. ; 29cm.

Orientador: Darci Clementino Lopes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Leitão (suíno) -Aditivos. 2. Leitão (suíno) - Estrutura intestinal. 3. Leitão (suíno) - Escherichia coli. 4. Mananoligossacarídeos (MOS). 5. Ácidos orgânicos na nutrição animal. 6. Ácido fólico. 7. Rações - Probiótico. I. Universidade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 20.ed. 636.40855

ANDERSON CORASSA

MANANOLIGOSSACARÍDEOS, ÁCIDOS ORGÂNICOS, PROBIÓTICOS E NÍVEIS
DE ÁCIDO FÓLICO EM DIETAS PARA LEITÕES DE 21 A 49 DIAS DE IDADE

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia para
a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2004.

Dra. Melissa Izabel Hannas

Dr. Paulo Campos Christo Fernandes

Prof. Dr. Juarez Lopes Donzele

Prof. Dr. Aloízio Soares Ferreira

Prof. Dr. Darci Clementino Lopes
(Orientador)

A Deus.

Aos meus pais Nelso Corassa e Maria Dezem Corassa,
pelo exemplo de vida, pelo espírito incansável de trabalho e pela formação de meu caráter.

A minha irmã Sabrina Corassa pelo apoio incondicional.

A minha eterna princesa Janaína De Nadai,
pelo companheirismo, pela dedicação, pelo amor e por simplesmente existir em minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade do aperfeiçoamento técnico-científico-profissional.

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

Ao Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da UFV, pelo apoio.

Ao Centro Nacional de Suínos e Aves (CNPSA-Concórdia-SC) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, pela estrutura e apoio.

Ao professor Darci Clementino Lopes pela orientação na execução dos trabalhos.

Aos pesquisadores Cláudio Bellaver e Paulo Campos Christo Fernandes pelos esforços e pelo espírito integrador.

Às bioquímicas Marluci Miranda Valente e Regina Maria de Oliveira Nascimento e ao Laboratório de análises clínicas Labor Clínica Ltda.

Ao professor Fernando Queiroz de Almeida pelo apoio e pelo incentivo acadêmico desde os trabalhos de graduação.

Aos membros da banca avaliadora pelo apressado e sugestões.

À minha noiva Janaína De Nadai pela compreensão nas horas difíceis, pelo apoio e amor dedicados.

Aos colegas de graduação e eternos companheiros Janaína Martuscello, Daniel Noronha, Luís Fernando Batista Pinto, Edson Mauro Santos, Álvaro Bicudo, Bruna Adese, Marinaldo Divino Ribeiro, Daniel Ferreira e Dirceu Macagnan.

Ao companheiro Claudson Oliveira Brito pelo convívio e cumplicidade nesta etapa.

Ao colega Luiz Ernesto Paez Bernal pela amizade, apoio e sugestões.

Aos colegas de pós-graduação Alexandre Oliveira Teixeira, André Coelho, Gérson Fausto da Silva e Leidimara Fereghetti Costa.

Ao bolsista de iniciação científica Sérgio de Miranda Pena pelo auxílio na condução dos experimentos.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da UFV e da Granja de Produção de Suínos do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves-Embrapa, pela condução dos experimentos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, obrigado.

BIOGRAFIA

ANDERSON CORASSA, filho de Nelso Corassa e Maria Dezem Corassa, nasceu em Concórdia-SC, em 20 de julho de 1978.

Formou-se Técnico em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Concórdia-SC, em abril de 1996.

Em agosto de 1997 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-RJ onde graduou-se em março de 2002.

Em abril de 2002 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa-MG, submetendo-se a defesa de tese no dia 19 de fevereiro de 2004.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1.	
REVISÃO DE LITERATURA	3
O desmame de leitões	3
Microbiota do trato gastro-intestinal dos suínos	5
Antibióticos e suas restrições	6
Prebióticos	7
Frutoligossacarídeos	8
Mananoligossacarídeos	8
Probióticos	10
Acidificantes	11
Referências bibliográficas	14

CAPÍTULO 2.

MANANOLIGOSSACARÍDEOS, ÁCIDOS ORGÂNICOS E PROBIÓTICOS

EM DIETAS PARA LEITÕES DE 21 A 49 DIAS DE IDADE.....	19
Resumo	19
Abstract	20
Introdução	21
Material e Métodos	22
Resultados e Discussão	28
Conclusões	38
Referências bibliográficas	39

CAPÍTULO 3.

NÍVEIS DE ÁCIDO FÓLICO EM DIETAS CONTENDO ÁCIDO FÓRMICO

PARA LEITÕES DE 21 A 48 DIAS DE IDADE.	45
Resumo	45
Abstract	46
Introdução	47
Material e Métodos	48
Resultados e Discussão	51
Conclusões	59
Referências bibliográficas	60
CONCLUSÕES GERAIS	65

RESUMO

CORASSA, Anderson, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2004.
Mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos, probióticos e níveis de ácido fólico em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. Orientador: Darci Clementino Lopes.
Conselheiros: Horácio Santiago Rostagno e Aloízio Soares Ferreira.

Foram conduzidos dois experimentos com objetivos de investigar os efeitos do uso de mananoligossacarídeos e ácidos orgânicos puros e associados sobre o desempenho, pH do trato gastro-intestinal, escore de diarreia e morfologia intestinal de leitões de 21 a 49 dias de idade sob condições de desafio sanitário; e determinar a exigência de ácido fólico em dietas suplementadas com acidificantes a base de ácido fórmico para leitões recém desmamados na fase de 21 a 48 dias de idade. No experimento I foram utilizados 200 leitões em delineamento experimental de blocos ao acaso. Os cinco tratamentos foram dietas suplementadas com: T1- sem aditivos (controle); T2- mananoligossacarídeos (MOS); T3- acidificante + probiótico (A+P); T4- combinação de MOS e A+P (COMB); e T5- antibióticos. No período de 21 a 35 dias os animais do tratamento controle apresentaram maior consumo que os demais, enquanto aqueles alimentados com acidificante + probiótico apresentaram menor ganho de peso em relação aos demais tratamentos. Nos períodos de 36 a 49 e 21 a 49 dias observou-se maior ganho de peso médio diário para o tratamento antibiótico em relação a dieta controle e acidificante + probiótico. Os tratamentos com aditivos apresentaram melhores valores de conversão alimentar em relação à dieta controle de 21 a 49 dias. Os escores de diarreia e os valores de pH do bolo alimentar no estômago e da digesta no duodeno não foram influenciados pelos tratamentos. Observou-se aos 28 dias maiores alturas de vilosidades de duodeno nos animais alimentados com antibióticos, MOS e dieta controle; entretanto não houve efeito dos tratamentos para jejuno e íleo. Não houve efeito dos tratamentos sobre a altura de vilosidades no duodeno, jejuno e íleo aos 35 dias de idade. No experimento II foram utilizados 160 leitões em delineamento experimental de blocos casualizados, com cinco tratamentos constituídos por cinco níveis de ácido fólico: 0;

0,30; 0,60; 0,90 e 1,20 mg/kg de ração. Não houve efeito dos tratamentos para o consumo de ração médio diário em nenhum dos períodos analisados. A adição de ácido fólico melhorou o ganho de peso médio diário de forma quadrática, enquanto a conversão alimentar foi influenciada pelos tratamentos apenas no período de 21 a 35 dias. Os tratamentos aumentaram os valores de hematócrito, hemoglobina e hemácias de maneira linear, mas não influenciaram os demais parâmetros hematológicos. Valores de folato sérico diminuíram inversamente ao aumento de ácido fólico na dieta. Concluiu-se que dietas suplementadas com mananoligossacarídeos, combinação de MOS com acidificante + probiótico e antibióticos propiciaram melhor desempenho para leitões de 21 a 49 dias de idade em condições de desafio; e que dietas para leitões de 21 a 48 dias de idade alimentados com acidificante a base de ácido fórmico apresentam maior ganho de peso suplementando-se ácido fólico a 0,64 mg/kg de ração.

ABSTRACT

CORASSA, Anderson, M.S., Universidade Federal de Viçosa, february 2004.
Mannanligosaccharide, organic acids, probiotics and leves of folic acid in diets for piglets from 21 to 49 days of age. Adviser: Darci Clementino Lopes. Committee Members: Horácio Santiago Rostagno and Aloízio Soares Ferreira.

Two experiments were conducted to evaluate the effects of the mannanoligosaccharide use and pure and associated organic acids on the performance, pH of the gastro-intestinal treatment, diarrhea score and intestinal morphology of pigs from 21 to 49 days of age under conditions of sanitary challenge; and to determine the demand of folic acid in diets supplemented with acidifiers the base of formic acid for pigs recently weaned in the phase from 21 to 48 days of age. In experiment I, 200 piglets were arranged in an experimental design of blocks randomized with five treatments: diets suplementadas with: mananoligosacarídeos (MOS), acidifier + probiotic, combination of MOS and acidifier + probiotic, antibiotic and without additive (controls). In the period from 21 to 35 days the animals of the treatment control presented larger consumption than the others, while those fed with acidifier + probiotic presented smaller average daily gain in relation to the other treatments. In the periods from 36 to 49 and 21 to 49 days larger weight earnings was observed for the antibiotic treatment in relation to diet it controls and acidifier + probiotic. The treatments with additive presented better values of alimentary conversion in relation to the diet it controls from 21 to 49 days. The diarrhea scores and the values of pH of the alimentary cake in the stomach and of the digesta in the duodenum were not influenced by the treatments. It was observed to the 28 days larger values of duodenum vilosidades in the animals fed with antibiotics, MOS and diet controls; however there was not effect of the treatments for jejunum and íleo. There was not effect of the treatments on the vilosidades height in the duodenum, jejunum and íleo to the 35 days of age. In experiment II, 160 piglets were arranged in an experimental design of blocks randomized with five treatments

constituted by five levels of folic acid: 0; 0,30; 0,60; 0,90 and 1,20 ration mg/kg. There was not effect of the treatments for the feed intake medium diary in none of the analyzed periods. The addition of folic acid improved the average daily gain in a quadratic way, while the feed:gain ratio was just influenced by the treatments in the period from 21 to 35 days. The treatments increased the hematocrit values, hemoglobin and red blood cell in a lineal way, but they didn't influence the other parameters of the blood count. Values of folate serum had decreased inversely to the increase of folic acid in the diet. It was concluded that diets suplementadas with mananoligosacarídeos, combination of MOS with acidifier + probiotic and antibiotics propitiated better acting for pigs from 21 to 49 days of age in challenge conditions; and that diets for pigs from 21 to 48 days of age fed with acidifiers based formic acid they present larger weight earnings supplemented folic acid at 0,64 ration mg/kg.

INTRODUÇÃO GERAL

Na fase pós-desmame os leitões podem ser submetidos a vários fatores como: insuficiência de enzimas digestivas, capacidade reduzida de absorção: arquitetura dos vilos, secreção gástrica mal desenvolvida, remoção do leite e seus fatores benéficos, baixo consumo de ração, forma da dieta, mudanças ambientais e pior sanidade que podem reduzir a capacidade metabólica e limitar o crescimento dos animais se em muitos casos facilitando a presença e o desenvolvimento de bactérias patogênicas oportunistas no trato gastro-intestinal. As mudanças proporcionadas aos suínos ao desmame são indicadoras da evidente necessidade de pesquisas que tenham como finalidade apontar alternativas nutricionais que minimizem os efeitos deletérios de bactérias patogênicas, em especial a ocorrência de diarreia. Por isso dietas pós-desmame tem sido formuladas objetivando resultados positivos não só em termos de desempenho, mas também em termos de favorecer a integridade intestinal, o perfil microbiano benéfico e o status fisiológico adequado. Porém, desenvolver planos nutricionais adequados aos leitões nesta fase tornou-se um desafio para técnicos e produtores, em virtude dos elevados níveis de nutrientes exigidos por estes animais, bem como da variedade de produtos utilizados na elaboração de dietas pós-desmame.

Compostas por ingredientes de alta digestibilidade, as dietas complexas podem auxiliar o desenvolvimento dos leitões na fase pós-desmame. Tem-se verificado que respostas podem ser melhoradas através da suplementação de diversos tipos de aditivos. Com as limitações de uso dos antibióticos promotores de crescimento impostos por certos nichos de consumidores, uma gama de aditivos tem sido ofertada no mercado, gerando a necessidade de pesquisas que contribuam para o entendimento de seus modos de ação, suas interações e sua viabilidade.

Têm-se observado mudanças no foco das investigações nutricionais, onde a busca pela eficiência produtiva tem dado lugar a segurança alimentar, com a atenção voltada a uma produção compatível às exigências dos consumidores.

A possibilidade de se alterar o perfil microbiano e o ecossistema intestinal como forma de conferir certa resistência a desafios patogênicos, melhorando o estágio nutricional, a saúde dos indivíduos e o desempenho de leitões. Neste sentido, estratégias

como a suplementação de prebióticos, probióticos, simbióticos e ácidos orgânicos às dietas são apontadas como alternativas em potencial. Estes aditivos alternativos, por serem essencialmente naturais, não apresentam resíduos nos produtos de origem animal nem mesmo resistência às drogas utilizadas em seres humanos, o que lhes atribui um diferencial em termos de aceitação.

Estudos com esta classe de produtos naturais e a descoberta de evidências que contribuam para o conhecimento dos mecanismos de ação, níveis de inclusão, promoção de crescimento, influência no ecossistema intestinal, resistência a patógenos e possíveis interações com minerais e vitaminas, poderão servir como base para a otimização de suas adições em dietas de leitões. De maneira geral, espera-se melhores respostas em termos de desempenho produtivo dos animais quando da utilização de agentes antimicrobianos em condições de ambientes inadequados, ou seja, sob desafio sanitário, porém poucos estudos têm sido realizados para investigá-las.

A partir destes pré-supostos, conduziu-se dois experimentos com objetivo de investigar os efeitos do uso de mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos e probióticos sobre o desempenho, pH do trato gastro-intestinal, escore de diarreia e morfologia intestinal de leitões de 21 a 49 dias de idade sob condições de desafio sanitário; e investigar níveis de ácido fólico em dietas suplementadas com ácido fórmico para leitões recém desmamados na fase de 21 a 48 dias de idade.

Os artigos a seguir foram editorados seguindo-se as normas da Revista Brasileira de Zootecnia, publicada pela Sociedade Brasileira de Zootecnia, pois pretende-se publicá-los nesta revista, com adaptações para atender as normas para elaboração de teses da Universidade Federal de Viçosa.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O desmame de leitões.

Apesar da eminente evolução da suinocultura nacional nos últimos anos, a fase de desmame dos leitões continua sendo um período crítico na logística produtiva. Por se tratar da transição mais agressiva no manejo de criação, suas conseqüências se refletem no desenvolvimento dos animais na fase imediatamente posterior (creche) até a terminação dos animais. Fatores como separação dos leitões da matriz, mudança de ambiente, formação de lotes com outros leitões, mudança qualitativa de alimentação, entre outros, acabam por influenciar diretamente no desempenho dos leitões, o que possibilita a ocorrência de contaminações e instalação de infecções patogênicas. A principal conseqüência é o aparecimento da diarréia pós-desmame. O desmame representa um desafio ao leitão devido ao estresse causado, principalmente, naquilo que se refere ao padrão de qualidade nutricional de seu alimento; quando a gordura do leite e a lactose são substituídas por amido e óleo vegetal; a caseína é substituída por proteínas vegetais menos digestíveis; presença de antígenos na dieta que provocam reações de hipersensibilidade transitória no intestino; perda da proteção imunológica passiva do leite; isto tudo somado ao fato de que o sistema digestivo dos leitões não está plenamente desenvolvido (Pluske et al. 1995).

A diarréia que ocorre normalmente entre três e dez dias após o desmame é um fator de perda econômica, já que, pode debilitar o animal e até mesmo leva-lo à morte. Sabe-se que esta diarréia é de ocorrência complexa e causa multifatorial, como contaminações comumente causadas por patógenos oportunistas como *Escherichia coli* (Owusu-Asiedu, et al. 2003) ou por rotavírus (Pluske et al. 1997). Em animais recém desmamados, o sistema digestivo se apresenta relativamente imaturo e como conseqüência não conseguem digerir, no intestino delgado, os carboidratos e proteínas contidas nos grãos de cereais e sementes oleaginosas tão eficientemente como os

carboidratos (lactose) e as proteínas do leite (caseína, lactoalbuminas). Isto se deve, em parte, às secreções insuficientes de enzimas e de ácido clorídrico pelo estômago (Cromwell, 1989). A colonização do trato gastro-intestinal por bactérias patogênicas pode ainda desencadear um processo de infecção com redução da digestão e absorção de nutrientes, prejudicando o desenvolvimento do leitão. Através da reutilização de cama e de condições sanitárias inadequadas uma colonização patogênica elevada pode ainda aumentar o grau de desafio ao sistema imunológico dos animais. Por outro lado, Bolduan (1999) considera que o curto período de baixo consumo durante o desmame não é perigoso para o metabolismo do leitão, pois todos organismos são providos com mecanismos regulatórios e capacidade de armazenamento de nutrientes para enfrentar tal situação.

Associados ao desmame estão mudanças estruturais e funcionais no intestino delgado, como encurtamento de vilosidades, alongamento de criptas e reduzida atividade específica de certas enzimas dissacaridases, reduzindo a capacidade digestiva e absorptiva no intestino delgado (Pluske, 2001). Segundo Pluske et al. (1997), a atrofia das vilosidades após a desmama pode ser causada pela maior taxa de perda celular ou pela redução na taxa de renovação celular. Se ocorrerem encurtamentos de vilosidades através do aumento da taxa de perda de células, isto está associado com a maior produção de células nas criptas e, conseqüentemente, maior profundidade das mesmas. Todavia, a atrofia das vilosidades poderia também ser devido à menor taxa de renovação dos enterócitos, que é resultado da redução da divisão celular nas criptas. Uma vez que esses dois eventos podem ocorrer após a desmama reduzindo a relação altura de vilosidade/profundidade de cripta, provavelmente o primeiro terá efeito mais acentuado sobre a estrutura do intestino.

Nabuurs (1995) verificou que o grau de proliferação celular nas criptas e perdas de enterócitos das vilosidades é modificado pelo tipo de flora microbiana presente e pelo tipo de dieta oferecida. A maior relação vilosidade/cripta pode ser caracterizada quando os vilos se apresentam altos (em forma de dedos) e criptas pouco profundas, proporcionando melhor absorção de nutrientes.

Para contornar este problema, estratégias nutricionais como o preparo das rações com matérias primas de alta digestibilidade e de boa palatabilidade, que possam estimular o consumo dos animais, devem ser implementadas (Moita et al. 2002). Além destas, o nutricionista pode lançar mão da adição de aditivos às rações como mecanismo de auxílio nesta fase de criação.

A influência da microbiota na estrutura intestinal do animal é responsável pela extensão de proliferação de células nas criptas e perda de enterócitos do vilão, o que reflete diretamente no desenvolvimento do indivíduo.

Microbiota do trato gastro-intestinal dos suínos

A mudança progressiva normal na população bacteriana intestinal de suínos é determinada pela diminuição da predominância de *Escherichia coli*, juntamente com a colonização de anaeróbios facultativos no intestino delgado (*Lactobacillus* e *Streptococcus*) e uma população de anaeróbios no intestino grosso como *Bacteróides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium* e *Clostridium* (Radecki & Uokoyma, 1991), sendo que o principal fator responsável por esta mudança é o início da alimentação láctea.

Bactérias patogênicas associadas a prejuízos à produção animal como *E. coli* e *Salmonella* possuem filamentos de polímeros de proteína, curtos e retos denominados fímbrias ou pili, pelos quais aderem-se aos carboidratos de superfície da mucosa do trato gastro-intestinal. Trabalhos evidenciaram a afinidade de diferentes tipos de fímbrias de bactérias patogênicas a moléculas de manose da borda em escova (Blumenstock & Jann, 1982; e Oyofe et al. 1989). A adesão à mucosa é considerada pré-requisito para sua permanência e colonização no lúmen.

Nagy & Fekete (1999) propuseram que a colonização do intestino delgado por *E. coli* enterotóxica aderida ao epitélio é responsável pela maioria das desordens do trato digestivo observadas em leitões recém desmamados. Tsiloyiannis et al. (2001) verificaram que a presença de *E.coli* foi associada à mortalidade de leitões, à partir de exames bacteriológicos revelaram a presença de *E.coli* β -haemolytic F4 (K88)-positiva em leitões mortos.

Para as bifidobactérias, estudos indicaram que algumas espécies são capazes de exercer efeitos antimicrobianos sobre vários patógenos intestinais gram-positivos e gram-negativos incluindo salmonelas, campilobactérias e *E. coli* (Gibson & Wang, 1994).

Desta forma, a dieta pode ter uma habilidade funcional para inibir ou estimular certas populações bacterianas.

Antibióticos e suas restrições

Os antibióticos e os quimioterápicos são utilizados como promotores de crescimento (APC) há várias décadas, consagrando-se como aditivos importantes nas dietas de suínos com objetivo de reduzir a incidência de diarreia, atuando no controle de microorganismos patogênicos e assim melhorando o desempenho dos animais, principalmente na fase de creche. Antibióticos são substâncias produzidas por fungos, leveduras ou bactérias que atuam contra bactérias, enquanto os quimioterápicos são substâncias obtidas por síntese química com ação semelhante a dos antibióticos (Menten, 2001). Anadon & Martinez-Larranaga (1999) apontaram quatro possíveis mecanismos de ação dos aditivos antimicrobianos: 1) inibição da síntese protéica; 2) inibição da síntese da parede celular; 3) inibição da síntese de DNA e 4) alterações da membrana citoplasmática.

O uso em dosagens sub-terapêuticas e possivelmente de forma indiscriminada levaram a suspeitas do surgimento de genes resistentes aos princípios ativos e do fenômeno da resistência cruzada em humanos, além da presença de resíduos (propriamente ditos ou seus metabólitos) em carnes, ovos e leite. Por meio de constatações experimentais, pesquisadores vêm reforçando a preocupação com o uso dos APC e a emergência de um pool de genes bacterianos resistentes no ecossistema (Anadon & Martinez-Larranaga, 1999; Wray & Davies, 2000 e Greko, 2001). A ocorrência da resistência é um inevitável resultado da pressão de seleção aplicada. Evidências indicam que genes resistentes podem ser, e são, transferidos da microbiota animal para humana, sendo que os alimentos são considerados o principal veículo para essa transferência (Greko, 2001).

Parece haver uma vontade mundial para a restrição e banimento dos antibióticos na cadeia produtiva animal. Considerações como as apontadas pelo Codex Alimentarius (2003) de que não deveriam ser usados antibióticos como aditivos com propósitos de promotor de crescimento na ausência de avaliação de segurança de saúde pública, vem reforçar esta tendência.

Segundo Greko (2001), evidências indicam que o não uso de APC tem sido efetivo, reduzindo ou prevenindo a resistência em populações animais, assim reduzindo o risco de expansão da resistência através da cadeia alimentar.

Outro ponto de discussão da utilização dos APC diz respeito ao prazo de retirada da dieta dos animais no período pré-bate (Teixeira et al. 2002), devido aos limites de

resíduos nos produtos de origem animal. Da mesma forma o lançamento no ecossistema destes produtos por meio das excretas dos animais levantou o ponto negativo de que se tornaria mais um poluente ambiental, pois alteraria o equilíbrio natural do meio.

A utilização de antibióticos na União Européia está limitada a quatro princípios ativos: Avilamicina, Flavomicina, Monensina sódica e Salinomicina, mas com datas marcadas para seu banimento como promotores de crescimento. O Brasil segue a mesma tendência até mesmo como maneira de potencializar a exportação de produtos de origem animal para este mercado.

Como alternativa aos antibióticos surgem produtos como os prebióticos, probióticos e acidificantes a base de ácidos orgânicos, que podem ser utilizados de forma isolada ou combinada, de acordo com a necessidade.

Prebióticos

Conceitualmente os prebióticos são açúcares que adicionados às rações como aditivos, agem alimentando e estimulando o crescimento de diversas bactérias intestinais benéficas. Segundo Gibson & Roberfroid (1995), um produto é considerado prebiótico quando afeta vantajosamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e ou atividade de um ou um número limitado de espécies bacterianas naturalmente presentes ou introduzidas no intestino, para propiciarem melhoria na saúde do animal. Em geral são carboidratos indigestíveis ao hospedeiro por não apresentar enzimas digestivas capazes de degradá-los, mas que ao chegarem ao trato intestinal servem como substrato a bactérias benéficas.

No desmame a flora bacteriana ainda é altamente dominada por Lactobacilos e Bifidobactérias, e também é adaptada ao uso de oligossacarídeos e glico-conjugados presentes no leite materno. O principal objetivo da inclusão de oligossacarídeos na dieta de desmame é de suavizar as mudanças no intestino do animal jovem e manter a flora dominada por bactérias bíficas pelo máximo tempo possível mas principalmente durante o período estressante do desmame (Mul & Perry, 1999).

Entre as substâncias classificadas como prebióticos, os oligossacarídeos têm sido investigados, com destaque para os frutoligossacarídeos (FOS), glucoligossacarídeos (GOS) e mananoligossacarídeos (MOS). Estes prebióticos têm a capacidade de estimular de maneira seletiva alguns grupos microbianos, por isso podem ser chamados de fatores bifidogênicos (Ferreira, 2003).

Oligossacarídeos são solúveis em água e fluídos fisiológicos e quando fornecidos através da dieta também aumentam o efeito barreira pela estimulação da produção de ácidos, ácido láctico no intestino delgado e particularmente ácidos graxos de cadeia curta no intestino grosso (Mul & Perry, 1999). Uma dieta normal contém cerca de 10% destes polímeros de açúcar de cadeias de vários comprimentos, com pequeno valor energético (Bolduan, 1999) e desde que não digeridos pelo hospedeiro, passam através do intestino e alcançam o cólon tornando-se substrato particularmente disponível a bactérias benéficas para fermentação (Roberfroid, 1998; Fooks et al.; 1999 e Santos et al. 2002b).

Os oligossacarídeos não digestíveis e os polissacarídeos não amiláceos (PNAs) são degradados em nível de íleo distal, e intestino grosso por enzimas produzidas pela flora microbiana (Bach Knudsen et al. 1991). Oligossacarídeos como frutoligossacarídeos e transgalactoligossacarídeos e lactitol(4-O- β -D-galactopiranosil) são fermentados no ceco e promovem o aumento de lactobacilus. Estas bactérias suprimem o crescimento de patógenos e bactérias putrefáticas pela produção de ácido acético e ácido láctico que diminui o pH e pode reduzir a incidência de diarreia (Modler et al. 1990).

Frutoligossacarídeos

Frutoligossacarídeos (FOS) são derivados de plantas ou sintéticos. Apresentam estrutura semelhante a inulina mas com grau de polimerização inferior. Parecem estar associados ao aumento da população de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* e Bacteróides no intestino delgado, mas não são bons substratos para *Clostridium*, *E. coli* e *Salmonella* (Wada, 1990). Suas moléculas de frutose são ligadas através de ligações glicosídicas $\beta(2-1)$.

Mananoligossacarídeos

Mananoligossacarídeos (MOS) são glicomananoproteínas complexas derivadas de parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Sohn et al. 2000), sendo uma fonte de carboidratos completos para todas as dietas, utilizados para ajudar a manutenção da eficiência digestiva, a integridade do epitélio intestinal e a modulação do sistema imunológico.

Sua atuação é caracterizada ainda, pela melhora da integridade intestinal, alterando as populações microbianas, além de não oferecer riscos à saúde humana por uma eventual resistência orgânica (Scapinello et al. 2001).

Estudos atuais tem verificado que muitos oligossacarídeos, quando administrados a animais, alcançam o cólon sem sofrerem degradação, fornecendo um substrato particularmente disponível para bactérias benéficas como ácido lácticas (Roberfroid, 1998; Bolduan, 1999 e Fooks et al. 1999).

Atribui-se ao MOS funções como de atuar imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas na mucosa intestinal (Santos et al. 2002b). Os mananoligossacarídeos apresentam estruturas específicas (lectinas) de ligação a superfícies de várias cepas de bactérias como Salmonella, *Escherichia coli* e vibrião da Cólera (Bolduan, 1999). De acordo com Menten (2001) e Scapinello et al. (2001) , muitos patógenos utilizam fímbrias para adesão à mucosa intestinal, a adesão ocorre em receptores constituídos de mananos e é necessária para que ocorra a colonização, assim sendo, os MOS adicionados à dieta podem aderir às fímbrias bacterianas, bloqueando a adesão das bactérias patogênicas à superfície intestinal, evitando infecções.

Estes fatores podem resultar numa resposta positiva no desempenho dos animais domésticos (Newman, 1994; Savage et al. 1996). Um modelo da exclusão competitiva para excluir patógenos está relacionado com a habilidade para aumentar a competição por locais de fixação (Schneitz et al. 1993). Uma vez que a fixação é freqüentemente por meio da lectina bacteriana aos receptores contendo D-manose (Eshdat et al.1978).

MOS têm sido indicado para modular respostas imune específicas e não específicas e para aumentar o desempenho de leitões (Sohn et al. 2000). Segundo Lyons (1997), aumenta-se a resposta imune pelo estímulo de células-mediadoras de imunidade. Os glucanos estimulam o retículo endotelial aumentando a quantidade de macrófagos que possuem papel chave no sistema imunológico; os macrófagos absorvem e destroem partículas invasoras através da fagocitose; MOS possuem propriedades prebióticas que reduzem o estresse proporcionado por doenças, e uma pequena quantidade é capaz de adsorver micotoxinas sem no entanto seqüestrar nutrientes como aminoácidos, vitaminas e outros (Menten, 2001).

Algumas constatações experimentais (Dvorak & Jacques, 1998; Le Mieux et al. 2001 e Rozeboom et al. 2001) apontam para melhora de desempenho utilizando-se MOS em associação a outros aditivos como Cu e Zn, não evidenciando o efeito

verdadeiro do produto e por sua vez, ilustram valores distintos aos apresentados neste trabalho.

Probióticos

A utilização de culturas de microorganismos vivos na alimentação animal vem sendo apontada como estratégia de manipulação da microbiota intestinal. Entre as espécies que compõe o grupo de bactérias lácticas com papel probiótico destacam-se os *Lactobacillus acidophilus* por ter um papel importante na produção e preservação de alimentos e na manutenção de uma microbiota intestinal equilibrada (Ferreira, 2003). Como componentes de fermentos ou de interesse na produção de alimentos, classicamente são importantes os gêneros: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leucoostoc*, *Pediococcus* e *Streptococcus*, sendo os primeiros considerados como microorganismos probióticos clássicos, além de *Saccharomices* (Menten, 2001; Ferreira, 2003).

Os mecanismos de ação dos probióticos que permitem melhoria do desempenho animal são: a) exclusão competitiva, em que os microorganismos adicionados competem com outras bactérias por sítios de ligação no epitélio intestinal ou fonte nutricional, visando o desenvolvimento de uma barreira protetora no trato digestivo para evitar a colonização de microorganismos desfavoráveis; b) antagonismo direto, em que bactérias produzem substâncias que inibem ou eliminam patógenos; c) estímulo ao sistema imune, aumentando a sua resistência a infecção; (d) efeito nutricional, através do aumento da digestão ou absorção de nutrientes; (e) supressão na produção de amônia, a qual pode ser tóxica a células epiteliais; (f) neutralização de enterotoxinas produzidas por bactérias patogênicas (Menten, 2001, Nicoli et al. 2003).

Nas diferentes regiões do trato intestinal estão presentes grupos específicos de microorganismos como bactérias bífidas (predominância no cólon) e lactobacilos (predominância no intestino delgado), que modulam a microbiota num microambiente, por meio de seus produtos de metabolismo (Ferreira, 2001).

Segundo Carlos et al. (2003) a ingestão de bactérias lácticas pode aumentar a resistência a infecções por microorganismos patogênicos devido ao aumento aparente na ativação de macrófagos e linfócitos, produção de anticorpos e resposta proliferativa no baço e em placas de Peyer.

A ação dos probióticos dependerá da espécie a ser utilizada e da ingestão contínua de um número mínimo de microorganismos desejáveis para que possam chegar ao seu sítio de ação específico e promoverem os efeitos benéficos ao hospedeiro. Para atingirem os sítios intestinais específicos, as bactérias probióticas deverão possuir uma ou mais das seguintes características: resistência ao suco gástrico, resistência à bile, capacidade de adesão ao epitélio, resistência a lisozima, resistência às condições de processamento, concentração adequada do microorganismo probióticos no momento de consumo (Ferreira, 2003).

Acidificantes

Por apresentarem baixa secreção de HCl como forma de permitir a não degradação de lactose e anticorpos provindos do leite, os leitões possuem pH gástrico mais elevado do que nos animais adultos. Presume-se que a insuficiência digestiva e as desordens intestinais de leitões desmamados podem estar, parcialmente, relacionadas com a condição de não manterem o pH gástrico baixo, pelos efeitos sobre a ativação da pepsina, pela proliferação de coliformes e pela taxa de esvaziamento estomacal (Rostagno & Pupa, 1998). Desta forma a utilização de ácidos orgânicos puros ou seus sais, como aditivos nas dietas de leitões pós-desmama vem sendo apontada como estratégia nutricional eficiente (Tsiloyiannis et al. 2001; Silva et al. 2002; Owusu-Asiedu et al. 2003).

Os ácidos orgânicos são resultados de fermentação de carboidratos do intestino grosso (acético, butírico e propiônico) e alguns são metabólicos intermediários do ciclo do ácido cítrico (málico, fumárico e cítrico). Alguns modos de ação são conhecidos para os ácidos orgânicos. Sua primeira ação antimicrobiana (inibição ou retardo de crescimento de cepas-seletivas) é através da depressão do pH da dieta. O segundo é a sua capacidade de estimular a conversão de pepsinogênio em pepsina através do estímulo pela redução do pH do meio gástrico, melhorando a capacidade digestiva protéica (proteólise) do animal. O terceiro diz respeito ao combate a colonização por patógenos, devido à capacidade de sua forma não dissociada difundir-se livremente através da membrana celular dos microorganismos até o citoplasma, onde se dissocia e altera o pH suprimindo sistemas enzimáticos e de transporte de nutrientes (Luck, 1986), além de inibir a síntese de DNA e RNA, debilitando a célula e tornando-a incapaz de

recompor o equilíbrio de energia e dar continuidade aos processos de multiplicação (Kuana, 2001).

No entanto, a eficácia de um ácido em inibir micróbios é dependente do seu valor de pKa que é o pH ao qual 50% do ácido é dissociado. Ácidos orgânicos com alto valor de pKa são mais efetivos preservativos e sua eficácia antimicrobiana é geralmente melhorada com aumento do comprimento da cadeia e grau de insaturação (Foegeding & Busta, 1991), mas a limitada solubilidade em água desses ácidos restringe o seu uso (Partanen e Mroz, 1999).

Para Partanen & Mroz (1999) a utilização de sais de ácidos na alimentação animal ao invés de sua suplementação sob forma livre (pura) tem sido preferida devido a vantagens como sua facilidade de manuseio nos processos de produção, apresentando forma sólida, sendo menos voláteis e possuindo menos odores.

Segundo Gauthier (2003) a inclusão de ácidos e sais orgânicos entre 1 e 2% na ração pode reduzir o pH estomacal e a proliferação de microorganismos patogênicos no trato digestivo, melhorar o ganho de peso diário e a conversão alimentar dos leitões.

É importante salientar a respeito da capacidade tamponante (*B-value*) de alimentos ou de rações que podem reduzir a eficiência de utilização dos acidificantes. Segundo Ostermann, (2002), alimentos com baixo *B-value* ajudam na ativação do pepsinogênio e portanto, na digestibilidade da proteína, no controle da população bacteriana no estômago, na redução da proliferação de bactérias patogênicas, no esvaziamento estomacal e a evitar a formação de amins biogênicas; que em síntese resulta em alta mobilidade dos intestinos e aumento da pressão sangüínea.

Há de se considerar também o valor de energia destes produtos e o fato de que, na maioria dos casos é toda metabolizada pelo animal (Roth, 2000). Cada ácido orgânico possui propriedades diferentes em relação às propriedades físicas e químicas (Quadro 1), a cada bactéria envolvida, dependendo do pH, da concentração, da dissociação (pKa), capacidade tampão da ração, do tempo de retenção/exposição e do nível de inclusão.

A ação bactericida dos ácidos orgânicos foi estudada por diversos pesquisadores (Westerfield et al. 1970; Duncan e Adams, 1972; Vanderwal, 1979; Mansfield e Emmans, 1984 e Hinton et al. 1985). Entretanto as respostas à utilização dos acidificantes podem variar de acordo com o tipo de ácido empregado, a dosagem, o efeito depressivo sobre o consumo e o estado sanitário dos animais e o ambiente.

Bolduan (1999) baseado em quatorze investigações usando diferentes ácidos observou um acréscimo médio de 11 % no peso corporal de suínos.

Quadro 1. Propriedades físicas e químicas dos ácidos orgânicos mais utilizados como acidificantes nas dietas.

Substância	Acidez pK _a	Solubilidade em H ₂ O	P. molecular g/mol	Energia bruta KJ/g	Apresentação
Ac. Fórmico	3.75	++	46.0	5.8	Líquida
Ac. Acético	4.75	++	6010	14.8	Líquida
Ac. Propiônico	4.88	++	74.1	20.8	Líquida
Ac. Láctico	3.88	+	90.1	15.1	Líquida
Ac. Fumárico	3.03/4.38	-	116.1	11.5	Sólida
Ac. Cítrico	3.14/4.76/6.39	+	210.1	10.3	Sólida
Ac. Sórbito	4.76	-	112.1	26.5	Sólida
Formiato Ca	-	-	130.1	3.9	Sólida
Formiato Na	-	++	68.0	3.9	Sólida
Propionato Ca	-	+	186.2	16.6	Sólida

$pK_a = -\log ([H^+][A]/[HA])$

Solubilidade: ++/+/- : alta, média e baixa.

Fonte: Roth (2000).

Pode se citar ainda o efeito de conservação de matérias primas e rações já que os acidificantes agem inibindo o desenvolvimento de fungos, leveduras e bactérias (Runho et al. 1997). A ação promotora do ácido fumárico que é um ácido orgânico, pode ser atribuída à alteração do pH intestinal, modificações na microflora intestinal e também na melhora da utilização da proteína e energia no metabolismo intermediário. Compilando informações de 144 experimentos, Freitag (1998) mostrou que o ácido fórmico causou um aumento de 15% no peso corporal e melhoria de 7% na conversão alimentar de suínos.

Roth (2000) compilando trabalhos, observou resultados contraditórios comparando-se dietas contendo ácido cítrico à dietas controle, com variações de -4,7 a +18,7 % para valores de ganho de peso diário e +5,2 a -8,7% para conversão alimentar. Por sua vez, Partanen (2001) realizando uma meta-análise a partir de dezenove observações constatou que dietas suplementadas com ácido cítrico apresentaram melhores valores de ganho de peso e conversão alimentar em comparação às dietas controle em leitões de até 25 kg.

Referências Bibliográficas

- ANADÓN, A. & MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M.R. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. **Livestock Production Science** 59:183-198. 1999.
- BACH KNUDSEN, K.E.; BORG JENSEN, B.; ANDERSON, J.O.; HANSEN, I. Gastrointestinal implications in pigs of heat and oat fractions 2. Microbial activity in the gastrointestinal tract. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.65, n.2, p.233-248. 1991.
- BLUMENSTOCK, E. & JANN, K. Adhesion of piliated *Escherichia coli* strains to phagocytes: differences between bacteria with mannose-sensitive pili and those with mannose-resistant pili. **Infection and Immunity**. V.35. Nº 1. p.264-269. 1982.
- BOLDUAN, G. Feeding weaner pigs without in-feed antibiotics. In: Alltech's 15th Annual Symposium.1999. Proceedings...Nicholasville, Kentucky
- CARLOS, I.Z., VENDRAMINI, A.P., VENDRAMINI, R.C., DÁMASO, A.R., ROSSI, E.A. Influência de nutrientes no sistema immune: papel das citocinas, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico. In: **PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS: ATUALIZAÇÃO E PROSPECÇÃO**, 2003, Viçosa. **Anais...UFV**. p.135-154. 2003.
- CODEX ALIMENTARIUS. Presence of antimicrobial-resistant pathogens in retail products: a report on tests by C.I. members in Australia and the United States. In: **Ad-Hoc Intergovernmental Codex Task Force On Animal Feeding**. Fourth session. Copenhagen, Denmark, 25-28 march 2003.
- CROMWELL, G.L. Nuevos aditivos alimenticios. **Ind. Porcina**. 9(6):25-36, 1989.
- DUNCAN, M. S. & ADAMS, A. W. Effects of chemical additive and of formaldehyde-gas fumigation on salmonella in poultry feeds. **Poultry Science**. 51:797-802. 1972.
- ESHDAT, Y.; OFEK,I.; YEHUIDIT-GAN, Y.; YASHOUV-GAN, Y.; SHARON, N.; MIRELMANN, D. Isolation of a manose-specific lectin from *E. coli* and its role in the adherence of the bacteria to epithelial cells. **Biochem. Biophys. Res. Com.** 85: 1551-1559, 1978.
- FERREIRA, C.L.L.F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: Probióticos. In: **O AGRONEGOCIO DO LEITE E OS ALIMENTOS FUNCIONAIS**. Epamig, Juiz de Fora. **Anais...** 181-203p. 2001.
- FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de bactérias lácticas – caracterização e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: **PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS: ATUALIZAÇÃO E PROSPECÇÃO**, 2003, Viçosa. **Anais...UFV**. p. 07-34. 2003.

- FREITAG, N. The effects of feed addi-tives as substitutes for performance enhancers in pig production. *Forschungsber. FH Soest*. 1998.
- FOOKS, L. J., FULLER, R., GIBSON, G. R. Prebiotics and human gut microbiology. **Intern. Dair. J.** v. 9, n. 3, p. 53-61, 1999.
- FOEGEDING, P.M. & BUSTA, F.F. Chemical food preservatives. In **Disinfection, Sterilization and Preservation**.p. 802-832. Philadelphia, PA: Lea & Febiger. 1991.
- GAUTHIER, R. Avanços atuais em suinocultura. **Pork Word**. Ano 3, nº 15, p.98-102. 2003.
- GIBSON, G.R. & ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**. 125: 1401-1412. 1995.
- GIBSON, G. R. & WANG, X. Inhibitory effects of bifidobacteria on other colonic bacteria. **Journal Applied Bacteriology**. 77:412-420, 1994.
- GREKO, C. Safety aspects on non-use of antimicrobials as growth promoters. In: **Gut Environment of Pigs**. Nottingham University Press. 2001.p.219-230.
- HINTON, M. A; LINTON, A .H. Control of salmonella by acid disinfection of chick's. **Food. Vet. Rec.** 123:416-421. 1985.
- LYONS, P. A new era in animal production: the arrival of the scientifically proven natural alternatives. In: ALLTECH'S 13th ANNUAL SYMPOSIUM. 1997. **Proceedings...** Nicholasville, Kentucky.
- LÜCK, E. (1986) *Chemische Lebensmittelkonservierung. Stoffe, Wirkungen, Methoden.* Springer-Verlag, Heidelberg.
- LUECK, E. **Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects.** Berlin, Germany: Springer-Verlag. 1980.
- KUANA, S. Pontos críticos de controle de salmonella em fábricas de rações. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba. 2001, 7p. CD-ROM. Nutrição de não-ruminantes.
- MANSFIELD, J. M.; EMMANS, H. Surveillance of salmonella in a commercial poultry production and processing operation. **J. Sci. Food Agric.** 35:637-638. 1984.
- MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba. 2001, 7p. CD-ROM. Nutrição de não-ruminantes.

- MOITA, A.M., HANNAS, M.I., DONZELE, J.L. Atualização sobre a nutrição de leitões. In: I CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA. 2002 – Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu-PR, Brasil. 2002. CD-ROM. Minicursos sobre Nutrição.
- MODLER, H.W.; MCKELLAR, R.C.; YAGUCHI, M. Bifidobacteria and bifidogenic factors. **Can. Inst. Food Science Technology Journal**, 23:29-41, 1990.
- MUL, A.J. & PERRY, E.F.G. O papel dos fruto-oligossacarídeos na nutrição animal. 1999.
- NABUURS, M.J.A. Microbiological, structural and functional changes of the small intestine of pigs at weaning. **Pigs News Information**, v.16, n.3, p.93-97, 1995.
- NAGY, B., FEKETE, P. Z. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in Animals. **Vet. Res.** 30:259–284. 1999.
- NEWMAN, K. Mannan-oligosaccharides: Natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system. In: ANNUAL SYMPOSIUM BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 10. **Proceedings Alltech...** Press, Nottingham: University of Nottingham, 1994.
- NICOLI, J.R., VIEIRA, E.C., PENNA, F.J. et al. Probióticos: experiências com animais gnotobióticos. . In: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS: ATUALIZAÇÃO E PROSPECÇÃO, 2003, Viçosa. **Anais...UFV.** p.123-134. 2003.
- OSTERMANN, J.D. Ciclo internacional de conferências. Metachen Ind. e Com. Ltda. 2002.
- OYOFO, B.A., DeLOACH, J.R., CORRIER, D.E. et al. Prevention of Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science.** 68: 1357-1360. 1989.
- OWUSU-ASIEDU, A., NYACHOTI, C.M., MARQUARDT, R.R. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid, or antibiotic. **Journal of Animal Science.** 81:1790–1798. 2003.
- PARTANEN, K.H. e MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews.** 12: p.117-145. 1999.
- PLUSKE, J.R., WILLIAMS, I.H., AHERNE, F.X. Nutrition of the neonatal pig. In: VARLEY, M.A. (Ed.) **The neonatal pig: development and survival.** Wallingford, UK. CAB International, 1995, 187-235p.
- 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** 51, p.215-236, 1997.

- PLUSKE, J.R. Morphological and functional changes in the small intestine of the newly-weaned pig. In: **Gut Environment of Pigs**. Nottingham University Press. p.01-28. 2001.
- RADECKI, S.V. e YOKOYAMA, M.T. Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In: MILLER, E.R.; ULLREY, D.E.; LEWIS, A.(Ed.). **Swine Nutrition**. Stoneham: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 439-447.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics and symbiotics: concepts and nutritional properties. **British Journal of Nutrition**. v. 80, n. 2, p. 197-202, 1998.
- ROSTAGNO, H.S., PUPA, J.M.R. Fisiologia da digestão e alimentação de leitões. In Simpósio sobre Nutrição e Manejo de Leitões. Campinas, SP. **Anais...** Campinas, p.60-87. 1998.
- ROTH, F.X. Ácidos orgânicos en nutrición porcina: eficacia y modo de acción. XVI Curso de Especialización FEDNA. 11p. 2000. www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/00CAP9.pdf acessado em 22/07/2003.
- RUNHO, R.C., SAKOMURA, N.K., KUANA, S., BANZATTO, D., JUNQUEIRA, O.M., STRINGHINI, J.H. Uso do ácido orgânico (ácido fumárico) nas rações de frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.26, p.1183-1191, 1997.
- SANTOS, M.S., BAUERMANN, I., DECKER, S. et al. Desempenho de leitões suplementados com mananoligossacarídeos. In: XXXIX Reunião Anual da SBZ, **Anais...** Recife, PE:SBZ, 2002. CD-ROM. 2002.b
- SAVAGE, T.F., COTTER, P.F., ZAKRZEWSKA, E.I. The effect of feeding a mannan oligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG e bile IgA, de wrolstad MW male turkeys. **Poultry Science** 75 (Sup. 1) p.143, 1996.
- SCAPINELLO, C., FARIA, H.G., FURLAN, A.C., MICHELAN, A.C. Efeito da utilização de oligossacarídeo manose e acidificantes sobre o desempenho de coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 30(4):1272-1277, 2001.
- SCHNEITZ, C.; NUOTIO, L.; LOUNATMA, K. Adhesion of *Lactobacillus acidophilus* to avian intestinal epithelial cells mediated by the crystalline bacterial cell surface layer (S-layer). **Journal Applied of Bacteriology**, 74: 290-294, 1993.
- SILVA, M.C., LIMA, J.A.F., FIALHO, E.T., BERTECHINI, A.G., FREITAS, R.T.F., SILVA, H.O., SANTOS, W.G. Efeito da adição de acidificantes e suas combinações na alimentação de leitões desmamados sobre o desempenho. In: XXXIX Reunião Anual da SBZ, **Anais...** Recife, PE:SBZ, 2002. CD-ROM. 05.sbz.993.pdf. 2002.b
- SOHN, K.S., KIM, M.K., KIM, J.D., HAN, I.K. The role of immunostimulants in monogastric animal and fish – Review. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Suweon, v.13, n.8, p.1178-1187. 2000.

- TEIXEIRA, A.S., SANTOS, E.C., FREITAS, R.T.F., BERTECHINI, A.G., RODRIGUES, P.B. DIAS, E.S., TORRES, D.M., SANTOS, E.C., SANTOS, A.V., GIACOMETTI, R.A. Efeito do período de fornecimento de antibióticos sobre o desempenho de frangos de corte. In: XXXIX Reunião Anual da SBZ, **Anais...** Recife, PE:SBZ, 2002. CD-ROM. 2002.
- TSILOYIANNIS, V.K., KYRIAKIS, S.C., VLEMMAS, J., SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea. **Research in Veterinary Science**. 70, 287–293. 2001.
- VANDERWAL, P. Salmonella control of feedstuffs by pelleting or acid treatment. **World's Poultry Science**. J. 35:70-78. 1979.
- WADA, K. **In vitro fermentability of oligo-fructose and inulin by some species of human intestinal flora**. Japan: Calpis Intestinal Flora Laboratory, 1990. (Internal Report).
- WRAY, C. e DAVIES, R.H. Competitive exclusion – an alternative to antibiotics. **Veterinary Journal**. 59:107-108. 2000.
- WESTERFIELD, B. L.; ADAMS, A W.; ERWIN, L. E.; DEYOE, C. W. Effect of a chemical additive on salmonella in poultry feed and host birds. **Poultry Science**. 49:1319-1323. 1970.

CAPÍTULO 2

Mananoligossacarídeos, Ácidos Orgânicos e Probióticos em Dietas para Leitões de 21 A 49 Dias de Idade.

RESUMO: Foi conduzido experimento utilizando 200 leitões recém desmamados mantidos de 21 a 49 dias de idade sob desafio sanitário, objetivando-se investigar os efeitos do uso de mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos e probióticos sobre o desempenho, pH do trato gastro-intestinal, escore de diarreia e morfologia intestinal. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso com cinco tratamentos, dez repetições e quatro animais por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por dietas: T1 - sem aditivos (controle); T2 - com mananoligossacarídeos (MOS); T3 - com acidificante + probiótico (A+P); T4 - com combinação de MOS e acidificante + probiótico (COMB) e T5 - com antibióticos (ANT). No período de 21 a 35 dias os animais do tratamento controle apresentaram maior consumo de ração que os demais, enquanto aqueles alimentados com A+P apresentaram menor ganho de peso médio diário (GPMD) que aqueles dos demais tratamentos. Nos períodos de 36 a 49 e 21 a 49 dias observou-se maior GPMD para o tratamento ANT em relação à dieta controle e A+P. Os tratamentos com aditivos apresentaram melhores valores de conversão alimentar em relação à dieta controle de 21 a 49 dias. Os escores de diarreia e os valores de pH não foram influenciados pelos tratamentos. Observou-se aos 28 dias maiores alturas de vilosidades no duodeno em animais alimentados com ANT, MOS e dieta controle; entretanto não houve efeito dos tratamentos para jejuno e íleo. Dietas suplementadas com MOS e COMB propiciaram desempenho semelhante àquelas com ANT para leitões de 21 a 49 dias de idade.

Palavras-chave: aditivos, desafio sanitário, pH intestinal, vilosidades, criptas

Mannanligosaccharide, organic acids and probiotics in diets for piglets from 21 to 49 days of age.

ABSTRACT: An experiment was conducted using 200 pigs recently weaned, maintained from 21 to 49 days of age under sanitary challenge, to know effects of use of mannanligosaccharide, organic acids and probiotics about performance, pH of tract gastric-intestinal, score of diarrhea and intestinal morfologic. Using an experimental design of blocks randomized with five treatments, ten replicates and four animals by experimental unity. The treatments were constituted by diets: T1 - without additive (controls), T2 - with mananoligossacarídeos (MOS), T3 - with acidifier + probiotic (A+P), T4 - with combination of MOS and acidifier + probiotic (COMB) and T5 - with antibiotic (ANT). In the period from 21 to 35 days the animals of the treatment control presented larger consumption than others, while those fed with A+P presented smaller daily average weight gain in relation to the other treatments. In the periods from 36 to 49 and 21 to 49 days larger daily average weight gain was observed for the ANT in relation to diet it controls and A+P. The treatments with additive presented better values of feed conversion in relation to the diet control from 21 to 49 days. The diarrhea scores and the values of pH were not influenced by the treatments. It was observed to the 28 days larger values of duodenum villous in the animals fed with antibiotics, MOS and diet controls; however there was not effect of the treatments for jejunum and ileum. Diets supplemented with MOS and COMB propitiated as similar performance as ANT for pigs from 21 to 49 days of age.

Key Words: mannanligosaccharide, acidifier, probiotic, piglets

INTRODUÇÃO

A suinocultura nacional apresenta-se como atividade de exploração econômica de destaque devido aos altos índices de produtividade alcançados. A evolução desta cultura foi impulsionada por avanços na nutrição, na sanidade e no melhoramento genético dos animais. Com maior capacidade produtiva e em ambientes mais próximos do ideal, os suínos puderam maximizar seu potencial através da utilização de dietas adequadamente balanceadas para as diversas categorias. O conhecimento das exigências dos animais e dos valores nutricionais dos alimentos alavancaram as pesquisas e o progresso da nutrição animal. Neste contexto, o uso de aditivos ou microingredientes passou a fazer parte das formulações de rações com a intenção de se obter uma melhora adicional no desempenho.

Dentre os aditivos, os antibióticos foram utilizados durante muitos anos como promotores de crescimento (APC) por meio de dosagens subterapêuticas, o que permitiu a diminuição de agentes patogênicos no trato gastro-intestinal. Os APC provocaram grande evolução nos níveis de desempenho, com marcantes melhorias dos índices de produção e produtividade, através do seu uso mais intenso e suas dosagens mais elevadas. Por outro lado, a ocorrência do fenômeno da resistência cruzada tem sido atribuída ao uso dos APC, baseada entre outros fatores, na pressão imposta aos microorganismos, ao uso inadequado dos APC e ao aumento do consumo de produtos alimentícios de origem animal pela população mundial. O impacto deste fenômeno e de suas conseqüências na saúde pública têm elevado a atenção de organizações como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Organização Mundial para a Saúde Animal (OIE) e o Codex Alimentarius. Em países em que a segurança alimentar tem sido amplamente discutida, tem-se estabelecido planos de controle de produção, comercialização e utilização de antibióticos na produção animal, com proibições e/ou limitações de uso de muitos princípios ativos.

Por isso o desafio de gerar e introduzir novas tecnologias e novos produtos que possam substituir os APC, atendendo a padrões de segurança alimentar, mantendo ou aumentando os níveis de produtividade e eliminando-se os efeitos como de resistência cruzada em humanos, é enorme e oportuno neste momento. E neste contexto, especial atenção tem sido destinada à produtos a serem utilizados para leitões pós-desmame onde o animal é mais vulnerável e pode apresentar redução no crescimento em virtude do estresse da desmama. Para esta categoria busca-se identificar meios de controlar as

diarréias lançando mão, entre várias estratégias, de aditivos que permitam alcançar níveis de produção sustentáveis.

Neste cenário surgem como alternativa os prebióticos, probióticos e ácidos orgânicos que buscam alterar de maneira natural o status sanitário e nutricional conseguido a partir do perfil microbiano do trato intestinal do animal, o qual reflete de maneira direta a capacidade de expressar seu potencial. Apesar de não se conhecer por completo os mecanismos de ação destes produtos, tem sido apresentadas respostas como a redução do pH do trato gastro-intestinal, redução da concentração de bactérias patogênicas como *Escherischia coli*, aumento de população bacteriana benéfica como *Lactobacillus sp.*, estímulo ao sistema imune, melhoria da integridade intestinal, do ganho de peso e da conversão alimentar. Pode-se caracterizar estes aditivos como alternativos em potencial, uma vez que atendem às exigências tanto da produção animal quanto dos consumidores. Entretanto resultados em termos zootécnicos ainda são muito variáveis para justificar uma suplementação de rotina.

Muitos experimentos têm sido conduzidos em unidades de pesquisa cujos ambientes são diferentes daqueles encontrados nas unidades produtoras, com lotações e condições sanitárias que levam a uma diminuição dos riscos de diarréia, devido ao baixo desafio imposto aos animais, o que pode estar contribuindo para as variações na resposta animal a estes produtos.

Fundamentado nestas pressuposições, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do uso de mananoligossacarídeos, ácidos orgânicos e probióticos sobre o desempenho, escore de diarréia, pH do trato gastro-intestinal, população bacteriana e morfologia intestinal de leitões de 21 a 49 dias de idade sob condições de desafio sanitário.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Granja de Produção de Suínos do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPSA) da Embrapa Concórdia - SC, no período de abril a maio de 2003.

Foram utilizados 200 leitões de cruzamentos de fêmeas F1 (Landrace x Large White) e machos Embrapa MS-58, recém-desmamados, com peso médio de $7,04 \pm 1,0$ kg e mantidos em creche até 49 dias, em delineamento experimental de blocos ao acaso com cinco tratamentos, dez repetições e quatro animais por unidade experimental.

Para formação dos blocos foram adotados como critérios o peso, o sexo e o parentesco dos leitões.

Os tratamentos usados foram: T1: dieta complexa sem suplementação de aditivos (controle); T2: dieta complexa suplementada com mananoligossacarídeos (MOS); T3: dieta complexa suplementada com acidificante + probiótico (A+P); T4: dieta complexa suplementada com uma combinação de mananoligossacarídeos e acidificante + probiótico (COMB) e T 5: dieta complexa suplementada com avilamicina e colistina (antibióticos). O produto utilizado no tratamento 03 apresenta em sua composição: ácido cítrico, ácido sórbico, *Lactobacillus acidophilus* (1×10^5 UFC/g), *Streptococcus faecium* (1×10^5 UFC/g), *Bacillus subtilis* e eletrólitos.

Os leitões foram desmamados aos 21 dias de idade, transportados e alojados em quatro salas de creche de alvenaria de características semelhantes, com piso de concreto, forro de madeira rebaixado, janelas de vidro tipo basculante, com baias ao chão, de concreto pré-moldado, medindo 3,00 x 1,25m, com piso de cimento e cama de maravalha, dotadas de comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta com concha.

As dietas experimentais foram formuladas para atender às exigências nutricionais mínimas recomendadas por Rostagno et al. (2000), sendo compostas dietas experimentais para duas fases: a pré-inicial I para o período de 21 a 35 dias e a pré-inicial II para o período de 36 a 49 dias de idade dos leitões; e as composições centesimais destas dietas podem ser visualizadas nas tabelas 01 e 02. As composições nutricionais das dietas experimentais encontram-se na tabela 03. As rações foram produzidas em forma física farelada na Fábrica de Rações do CNPSA.

Durante o experimento, a ventilação e a temperatura do ambiente foram controladas por abertura e fechamento das básculas e através de campânulas e aquecedores a gás. O registro diário da temperatura foi realizado utilizando-se termômetros de máxima e mínima, colocados na parte mediana do galpão.

Os animais foram alojados em cama de maravalha reutilizada para caracterizar o desafio sanitário. No dia antecedente à distribuição dos animais, a cama pertencente ao lote de leitões anterior foi retirada das creches, homogeneizada, acrescida de maravalha nova e redistribuída uniformemente nas baias para padronização do desafio.

Tabela 01: Composição centesimal das rações experimentais da fase pré-inicial I (21 a 35 dias de idade).

Table 01: Centesimal composition of experimental rations of pré-initial I (21 at 35 days of age).

Ingredientes (Ingredients)	Tratamentos (Treatments)				
	Controle	MOS	A+P	COMB	Antibióticos
Milho pré-gelatinizado (Pré-gelatinized corn)	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Farelo de soja (Soybean meal)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Proteína Texturizada de Soja (Protein texturized soybean)	17,60	17,60	17,60	17,60	17,60
Milho Grão (Corn grain)	11,80	11,80	11,80	11,80	11,80
Lactose (Lactose)	8,50	8,50	8,50	8,50	8,50
Óleo de soja (Soybean oil)	5,30	5,30	5,30	5,30	5,30
Soro de leite (Milk whey powered)	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de trigo (Wheat flour)	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Açúcar (Sugar)	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato Mono-Bicálcico (Mono-Dicalcium phosphate)	1,896	1,896	1,896	1,896	1,896
Calcário (Limestone)	0,932	0,932	0,932	0,932	0,932
Caulim (Kaolin)	0,948	0,548	0,448	0,048	0,888
Sal (Salt)	0,424	0,424	0,424	0,424	0,424
Adsorvente (Adsorbent)	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-Metionina (DL-Methionine)	0,252	0,252	0,252	0,252	0,252
L-Lisina (L-Lysine)	0,244	0,244	0,244	0,244	0,244
L-Treonina (L-Threonine)	0,224	0,224	0,224	0,224	0,224
Suplemento vitamínico ¹ (Vitamin mix ¹)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Suplemento mineral ² (Mineral mix ²)	0,148	0,148	0,148	0,148	0,148
Cloreto de Colina (60%) (Choline chloride)	0,131	0,131	0,131	0,131	0,131
Aromatizante (Flavouring)	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
L- Triptofano (L- tryptophan)	0,036	0,036	0,036	0,036	0,036
Antioxidante BHT (BHT antioxidant)	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
Mananogossacarídeos (Mannanoglycosaccharides)	-	0,400	-	0,400	-
Acidificante + probiótico (Acidifier + probiotic)	-	-	0,500	0,500	-
Sulfato de Colistina (Colistin sulfate)	-	-	-	-	0,040
Avilamicina (Avilamycine)	-	-	-	-	0,020
Total (Total)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

¹ Conteúdo/Kg de ração (Content/kg of diet): vit. A, 6.000 UI; vit. D₃, 1.500 UI; vit. E, 15 UI; vit. K₃, 1,5 mg; vi. B₁, 1,35 mg; vit. B₂, 4 mg; vit. B₆, 2 mg; vit. B₁₂, 20 mcg; ácido fólico (folic acid), 0,6 mg; ácido nicotínico (nicotinic acid), 20 mg; ácido pantotênico (pantothenic acid), 9,35 mg; biotina (biotin), 0,8 mg; Se, 0,300 mg. ² Conteúdo/Kg de ração (Content/kg of diet): Fe, 100 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 40 mg; Zn, 100 mg; I, 1,5 mg

Tabela 02: Composição centesimal das rações experimentais da fase pré-inicial II (36 a 49 dias de idade).

Table 02: Centesimal composition of experimental rations of pré-initial II (36 at 49 days of age)

Ingredientes (<i>Ingredients</i>)	Tratamentos (<i>Treatments</i>)				
	Controle	MOS	A+P	COMB	Antibióticos
Milho Grão (<i>Corn grain</i>)	38,50	38,50	38,50	38,50	38,50
Soja Farelo (<i>Soybean meal</i>)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Proteína Texturizada de Soja (<i>Protein texturized soybean</i>)	14,50	14,50	14,50	14,50	14,50
Milho pré-gelatinizado (<i>Pré-gelatinized corn</i>)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Soro de leite (<i>Milk whey powered</i>)	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo Soja (<i>Soybean oil</i>)	3,30	3,30	3,30	3,30	3,30
Açúcar (<i>Sugar</i>)	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Lactose (<i>Lactose</i>)	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Fosfato Mono-Bicálcico (<i>Mono-Dicalcium phosphate</i>)	1,525	1,525	1,525	1,525	1,525
Calcário (<i>Limestone</i>)	1,114	1,114	1,114	1,114	1,114
Caulim (<i>Kaolin</i>)	0,778	0,578	0,278	0,078	0,718
Sal (<i>Salt</i>)	0,367	0,367	0,367	0,367	0,367
Adsorvente (<i>Adsorbent</i>)	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
Suplemento vitamínico ¹ (<i>Mineral mix²</i>)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
L-Lisina (<i>L-Lysine</i>)	0,197	0,197	0,197	0,197	0,197
DL-Metionina (<i>DL-Methionine</i>)	0,186	0,186	0,186	0,186	0,186
L-Treonina (<i>L-Threonine</i>)	0,167	0,167	0,167	0,167	0,167
Suplemento mineral ² (<i>Mineral mix²</i>)	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
Cloreto de Colina (60%) (<i>Choline chlorine</i>)	0,126	0,126	0,126	0,126	0,126
Aromatizante (<i>Flavouring</i>)	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
L- Triptofano (<i>L- thryptophan</i>)	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Antioxidante BHT (<i>BHT antioxidant</i>)	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
Manan oligossacarídeos fosforilados (<i>Mannan oligosaccharides</i>)	-	0,200	-	0,200	-
Acidificante + probiótico (<i>Acidifier + probiotic</i>)	-	-	0,500	0,500	-
Sulfato de Colistina (<i>Colistin sulfate</i>)	-	-	-	-	0,040
Avilamicina (<i>Avilamycine</i>)	-	-	-	-	0,020
Total (Total)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

¹ Conteúdo/Kg de ração (*Content/kg of diet*): vit. A, 6.000 UI; vit. D₃, 1.500 UI; vit. E, 15 UI; vit. K₃, 1,5 mg; vi. B₁, 1,35 mg; vit. B₂, 4 mg; vit. B₆, 2 mg; vit. B₁₂, 20 mcg; ácido fólico (*folic acid*), 0,6 mg; ácido nicotínico (*nicotinic acid*), 20 mg; ácido pantatênico (*pantothenic acid*), 9,35 mg; biotina (*biotin*), 0,8 mg; Se, 0.300 mg. ² Conteúdo/Kg de ração (*Content/kg of diet*): Fe, 100 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 40 mg; Zn, 100 mg; I, 1,5 mg

Tabela 03: Composição química calculada das dietas experimentais pré-inicial I (21 a 35 dias de idade) e pré-inicial II (36 a 49 dias de idade).

Table 03: Calculated chemical composition of experimental diets of pré-initial I (21 at 35 days of age) and pré-initial II (36 at 49 days of age)

Nutrientes <i>Nutrients</i>	Dietas (<i>Diets</i>)	
	Pré-Inicial I <i>pré-initial I</i>	Pré-Inicial II <i>pré-initial II</i>
Proteína Bruta (<i>Crude protein</i>) %	21,00	20,00
Energia Met. (<i>Metabolizable energy</i>) Kcal/kg	3,500	3,500
Cálcio (<i>Calcium</i>) %	0,85	0,83
Fósf. Total (<i>Total phosphorus</i>) %	0,72	0,67
Fósf. Disponível (<i>Available phosphorus</i>) %	0,50	0,43
Sódio (<i>Sodium</i>) %	0,22	0,20
Lisina Digestível (<i>Digestible lysine</i>) %	1,23	1,12
Met + Cist Dig. (<i>Digestible methionine + cystine</i>) %	0,74	0,68
Treonina Dig. (<i>Digestible threonine</i>) %	0,80	0,74
Triptofano Dig. (<i>Digestible thryptophan</i>) %	0,23	0,21
Lactose (<i>Lactose</i>) %	12,00	6,00

Diariamente avaliou-se a consistência das fezes, utilizando-se o seguinte escore: 1 – fezes duras e firmes; 2 – fezes de consistência normal; 3 – fezes pastosas, não diarréicas; 4 – fezes aquosas, características de sintoma diarréico. A avaliação foi realizada por um único observador sendo atribuído um escore para cada unidade experimental.

Para avaliação do desempenho foram utilizadas as variáveis: consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA). Para mensuração destes dados foram realizadas pesagens quinzenais dos animais e dos comedouros. Os dados de CRMD foram obtidos pelo consumo médio dos leitões de cada unidade dividido pelo número de dias do intervalo; enquanto o GPMD foi obtido individualmente pela diferença de peso entre os períodos e dividindo-se pelo número de dias do intervalo; e a conversão alimentar, foi obtida dividindo-se os valores de CRMD pelos de GPMD. Os dados foram analisados nos períodos quinzenais e total do experimento.

No 28º e 35º dias de idade dos leitões, quatro animais por tratamento foram abatidos para leitura de pH no estômago e no duodeno, coleta de segmentos de intestino delgado e de conteúdo ileal. Foram escolhidos animais com peso mais próximo da

média da unidade experimental. Os animais foram levados à Sala de Necrópsias do Setor de Sanidade Animal da Embrapa Suínos e Aves, onde foram dessensibilizados por descarga elétrica de 220 volts e sangrados imediatamente. Em seguida as vísceras foram removidas a uma bancada onde se procederam as leituras e coletas. As leituras de pH foram realizadas utilizando-se um medidor de pH portátil. O estômago foi pinçado na região pilórica e uma incisão de 4 cm foi realizada para introdução do sensor para a primeira leitura de pH. No duodeno, a leitura foi tomada junto à flexura duodeno-jejunal, à aproximadamente 15 cm da primeira leitura.

O intestino delgado dos leitões foi dissecado e sessões transversais de cerca de dois centímetros do duodeno, jejuno e íleo foram coletadas segundo descrição anatômica de Nickel et al.,(1973). As amostras foram imersas em solução fixadora (solução de Bouin) por 24 horas, em seguida, lavadas e transferidas para a solução de álcool etílico a 70% até a confecção das lâminas histológicas. Após serem desidratados, os segmentos intestinais foram recortados em fragmentos de cerca de 1 cm, diafanizados em benzol e incluídos em parafina. Utilizando-se micrótomo, foram produzidas seções com 7 μ m de espessura, as quais foram coletadas de modo que, entre uma seção e a subsequente fossem eliminadas no mínimo 30 seções. O método de coloração adotado foi hematoxilina e eosina (Teixeira, 1999). As lâminas histológicas foram preparadas no laboratório de Histologia do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. As medidas de altura de vilosidade e profundidade de criptas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, através do analisador de imagem “Image-pro Plus 1.3.2” (1994) e microscópio óptico. Para cada lâmina foram selecionadas e medidas 30 vilosidades e 30 criptas.

O conteúdo ileal foi coletado de leitões recém sacrificados retirando-se uma porção de aproximadamente 30 cm da alça ileal contados a partir da válvula íleo-cecal. Cada segmento foi amarrado nas duas extremidades, cortado e acondicionado em sacos plásticos previamente identificados. Logo após as amostras foram enviadas para o Centro de Diagnóstico em Sanidade Animal (CEDISA) da Embrapa Suínos e Aves onde se procedeu a contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de Coliformes fecais e de *Escherichia coli*. No laboratório cada amostra foi homogeneizada por inversão de pontas e o conteúdo drenado para um bécher e feito um lavado das mucosas com 5 ml de água destilada. As amostras foram pesadas e retiradas alíquotas de 1 ml para obter a diluição na ordem de 1:10 com água destilada, e a partir desta, realizadas

diluições em até 1:10.000.000 de forma que fosse possível realizar as contagens. O plaqueamento foi realizado inoculando 1 mL da última diluição em placas de meio de cultura específico e incubadas a 35° C por 24 horas e então realizadas as contagens de *E. coli* e coliformes de acordo com o manual 3M™ PETRIFILM EC (2001) sendo os resultados expressos em log₁₀ de UFC por mL da amostra. O restante da amostra foi removido para um cadinho identificado e tarado para pesagem e determinação da matéria seca da amostra seguindo metodologia descrita por Bellaver et al. (2002), sendo que os resultados foram expressos em log₁₀ de UFC por grama (g) de matéria seca.

Os dados de desempenho, de escore de fezes, pH e vilosidades e criptas intestinais foram submetidos à análise de variância com as médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls ao nível de 5% de probabilidade, enquanto dados de contagem de coliformes e *E. coli* (log₁₀ UFC/mL e log₁₀ UFC/g) foram submetidos à análise não-paramétrica e comparados pelo teste de Kruskal-Wallis utilizando-se o programa SAEG (UFV, 1999).

Resultados e Discussão

A temperatura mínima no interior das salas de creche durante o período experimental manteve-se em 18,91 ± 2,33°C, e a máxima em 24,11 ± 2,65°C. Estes valores podem caracterizar uma faixa de temperatura abaixo daquela ideal para leitões pós-desmame, que segundo Oliveira et al. (1993) está em torno de 24 °C, o que pode ser entendido como mais um componente do desafio oferecido aos animais. Entretanto, apenas a temperatura não caracteriza um ambiente estressante, pois este é modificado por diversos componentes do ambiente (Orlando, 2001).

Os resultados de desempenho dos leitões que receberam dietas com diferentes aditivos no período de 21 a 49 dias de idade estão apresentados na tabela 04.

O consumo de ração médio diário (CRMD) foi influenciado (P<0,05) pelos tratamentos no período de 21 a 35 dias, onde se observou maior consumo de ração dos animais que receberam dieta sem aditivos. Já, nos períodos de 36 a 49 e 21 a 49 dias, o CRMD não variou (P>0,05) entre os tratamentos. Estes dados são semelhantes aos resultados dos trabalhos de Pettigrew (2000) e Santos (2002) que observaram diminuição não significativa do consumo de dietas contendo MOS em comparação a dietas controle. No entanto, contradizem os resultados apresentados por Dvorak &

Jacques (1998) e Stockland (1999) que observaram maior consumo em dietas suplementadas com MOS quando comparados com a dieta controle.

Os leitões alimentados com dietas contendo acidificante + probiótico apresentaram menor ($P < 0,05$) ganho de peso médio diário em relação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si no primeiro período avaliado.

Estes resultados são conflitantes com aqueles apresentados por Tsiloyannis et al. (2001) que, observaram maior GPMD para leitões de 21 a 35 dias de idade alimentados com dieta contendo antibióticos em relação aos que receberam dieta sem aditivos.

Tabela 04: Valores de peso corporal, consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA) de leitões dos 21 aos 49 dias de idade submetidos às dietas experimentais.

Table 04: Values of weight body, average daily feed intake (ADFI), average daily weight gain (ADWG) and feed:gain ration (FGR) of piglets since 21 at 49 days old submitted experimental diets.

Variáveis (Variables)	Tratamentos (Treatments)					Teste F	C.V. (%)
	Controle	MOS	A+P	COMB	Antib.		
Peso corporal (kg) <i>Weight body</i>							
Inicial <i>Initial</i>	7,05	7,04	7,05	7,04	7,03	0,999	3,9
Final <i>Final</i>	14,03	14,16	13,71	14,15	15,07	0,399	9,4
CRMD (g/dia) <i>ADFI (g/day)</i>							
21 - 35 dias/ <i>days</i>	223 ^a	172 ^b	163 ^b	178 ^b	172 ^b	0,000	15,3
36 - 49 dias/ <i>days</i>	644	623	619	605	670	0,374	12,1
21 - 49 dias/ <i>days</i>	434	398	391	392	421	0,122	10,7
GPMD (g/dia) <i>ADWG (g/day)</i>							
21 - 35 dias/ <i>days</i>	78 ^a	79 ^a	59 ^b	76 ^a	87 ^a	0,002	18,5
36 - 49 dias/ <i>days</i>	421 ^b	430 ^{ab}	417 ^b	432 ^{ab}	488 ^a	0,037	12,1
21 - 49 dias/ <i>days</i>	249 ^b	255 ^{ab}	238 ^b	254 ^{ab}	287 ^a	0,017	12,0
CA (g/g) <i>FGR (g/g)</i>							
21 - 35 dias/ <i>days</i>	2,85 ^b	2,23 ^a	2,97 ^b	2,42 ^a	2,03 ^a	0,000	17,0
36 - 49 dias/ <i>days</i>	1,55 ^b	1,45 ^{ab}	1,49 ^{ab}	1,41 ^{ab}	1,38 ^a	0,025	7,6
21 - 49 dias/ <i>days</i>	1,75 ^c	1,56 ^{ab}	1,65 ^b	1,55 ^{ab}	1,47 ^a	0,000	6,6

* Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Student Newman Keuls ao nível de 5% de probabilidade. (*Means followed by different letter in the same column are different by Student Newman Keuls test with 5% of probability.*)

O ganho de peso médio diário foi influenciado ($P > 0,05$) pelos tratamentos da mesma forma nos períodos de 36 a 49 e 21 a 49 dias, quando os animais recebendo dietas com antibióticos apresentaram maior GPMD que aqueles alimentados com a dieta controle e A+P. Os valores de ganho de peso dos animais que receberam os tratamentos

MOS e COMB foram semelhantes ($P>0,05$) entre si e não variaram em relação aos animais que receberam os demais tratamentos. Estes resultados corroboram com outros apresentados na literatura como os de Pettigrew (2000) que, compilando dezessete trabalhos investigativos constatou respostas positivas em GPMD e CA, embora estatisticamente não significativas para adição de MOS. Efeitos positivos sobre o desempenho de leitões também foram observados por Tsioloyiannis et al. (2001), que avaliando a adição de antimicrobianos em dietas de leitões de 21 a 49 dias de idade, observaram melhores valores de GPMD e CA em animais alimentados com antibióticos (263g e 1,69), comparados ao ácido cítrico (236g, 1,80) e que por sua vez foram melhores que a dieta controle (213g e 1,89).

Para o período de 21 a 35 dias observou-se melhores valores ($P<0,05$) de conversão alimentar dos leitões que receberam os tratamentos com antibióticos, MOS e COMB em relação aos demais tratamentos. No período de 36 a 49 dias, apenas os animais submetidos à dieta com antibióticos apresentaram melhor CA ($P<0,05$) em relação à dieta controle, com os demais tratamentos não diferindo entre si. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Santos et al. (2002) que não observaram diferença entre dietas com promotor de crescimento (237,86 g/dia e 1,79) e MOS (196,66 g/dia e 2,02) em ganho médio diário e conversão alimentar, respectivamente, para leitões dos 35 aos 42 dias. Bem como, Omogbenigun et al. (2003) observaram que a eficiência alimentar de leitões alimentados com dietas com ácidos orgânicos não diferiram estatisticamente daqueles alimentados com dieta controle.

Avaliando-se o período total do experimento, observou-se que os animais submetidos a dieta controle apresentaram pior ($P<0,05$) conversão alimentar em relação aos que receberam os demais tratamentos. O tratamento com antibióticos não apresentou diferença ($P>0,05$) com os tratamentos MOS e COMB, mas foi superior ao tratamento acidificante + probiótico. Estas diferenças estão de acordo com Davis et al. (2002) que observaram melhora significativa da conversão alimentar e ganho médio diário quando compararam dietas suplementadas com MOS contra uma dieta controle para leitões até 28 dias após o desmame. Diferentemente de Teixeira et al. (2003) que, avaliaram o efeito de diferentes acidificantes e suas combinações em dietas leitões de 21 a 60 dias de idade, e não observaram melhora em termos de conversão alimentar e consumo, embora tenham constatado diferenças de ganho de peso médio diário quando comparados ao controle.

Baseando-se na equivalência de consumo entre os tratamentos, constata-se a melhor eficiência de utilização de nutrientes dos animais alimentados com dietas contendo antibióticos, MOS e combinação. Porém, ficou caracterizado neste trabalho que as condições de desafio sanitário impostas restringiram o crescimento dos animais e que os aditivos avaliados auxiliaram no combate a agentes patogênicos, todavia a resposta dos produtos não foi potencializada como sugerida por Ravindran e Kornegay (1993) ou mais pronunciada sob condições com alta pressão de infecção conforme proposto por Coffey & Cromwell (1995) e Bergstrom et al. (1997).

As frequências dos escores de diarreia de leitões de 21 a 49 dias de idade que consumiram diferentes rações experimentais estão apresentadas na tabela 05. Os valores referentes aos dois primeiros dias de experimento foram excluídos da análise devido a ausência de fezes na maioria das unidades experimentais.

Os tratamentos não influenciaram ($P>0,05$) o escore de diarreia em nenhum dos períodos analisados, entretanto o número de observações nos escores que caracterizam diarreia se mostraram elevados. Estes resultados diferem dos obtidos por Kyriakis (1989), Nielsen (1998), Tsioloyiannis et al. (2001) e Owusu-Asiedu et al. (2003) que observaram menores escores de diarreia em leitões alimentados com antibióticos ou com acidificantes em relação à dieta controle.

A incidência de diarreia que ocorre nos dias subsequentes ao desmame pode ser de causa multifatorial, e normalmente diminui progressivamente com o aumento da ação dos aditivos disponíveis nas dietas e com o desenvolvimento enzimático e imunológico dos animais além de sua adaptação às novas condições do meio como forma de superação do desafio. Desta forma, observou-se neste trabalho a diminuição do número de observações do escore 4 entre os períodos de 21 a 35 e 36 a 49 dias de idade.

Valores médios de pH do estômago e duodeno de leitões recebendo dietas com diferentes aditivos sacrificados aos 28 e 35 dias de idade encontram-se na tabela 06.

Os valores de pH do bolo alimentar no estômago e da digesta no duodeno não foram influenciados ($P>0,05$) pelos tratamentos, mas a amplitude dos dados está de acordo com a observada por Jonsson e Conway (1992). Valores de pH numericamente maiores no duodeno em relação ao estômago, também foram observados por Adams (2000) e Santos (2002), que constataram a tendência do aumento do pH ao longo do comprimento do trato gastro-intestinal, da mesma forma este último autor não observou efeito da inclusão de manose sobre valores de pH de estômago e ceco em leitões aos 60

dias de idade. Entretanto os dados deste trabalho diferem dos apresentados por Risley et al. (1992) que observaram diminuição do pH intestinal de leitões que receberam dietas com a adição de ácido cítrico (4,90) em comparação a dieta controle (6,2), e dos de Owusu-Asiedu et al. (2003) que observaram redução de pH do estômago de leitões alimentados com antibióticos e outros aditivos em comparação a dieta controle, contudo não apresentaram efeitos ao nível de intestino delgado. Este autor ainda enfatiza que maiores valores de pH gástrico em leitões podem ser associados ao aumento da proliferação de *E. coli* enterotóxica e este fato resulta na incidência de diarreia e aumento da mortalidade.

Os valores de pH do duodeno apresentaram amplitude (5,24 a 6,05) próxima àquela (5,68 a 6,01) observada por Teixeira (1999), quando avaliou o efeito de dietas simples e complexas em leitões de diferentes idades.

Têm se observado resultados contraditórios da ação de acidificantes sobre o pH do trato gastro-intestinal de leitões, como os apresentados por Radcliffe et al. (1998) que evidenciaram a diminuição do pH da digesta do estômago com a adição de ácido cítrico em dietas de leitões, enquanto Omogbenigun, et al. (2003) não encontraram efeito de ácidos orgânicos sobre o pH da digesta do estômago e íleo. Segundo Gauthier (2003) a inclusão de ácidos e sais orgânicos entre 1 e 2% na ração pode reduzir o pH estomacal, diminuir a proliferação de microorganismos patogênicos no trato digestivo, melhorar o ganho de peso diário e a conversão alimentar dos leitões, embora muitos estudos mostram que é praticamente impossível modificar, significativamente o pH do estômago e intestino de um suíno, mesmo quando se utilizam grandes quantidades de ácidos orgânicos nas rações.

A partir dos valores obtidos ficou caracterizado que os tratamentos propostos não foram efetivos na redução do pH do duodeno para valores que limitassem o desenvolvimento de bactérias patogênicas, os quais segundo Blanchard (2000) devem estar fora da faixa de 4,3 a 9,5 para *E. coli*, e 4,0 a 9,0 para *Salmonella sp.*

Tabela 05. Número de observações de escores de fezes de leitões dos 21 aos 49 dias de idade que consumiram dietas com diferentes aditivos.

Table 05. Number of observations of scores of feces of weaners of the 21 to the 49 days of age that consumed diets with different additive

Fezes <i>Feces</i>	Tratamentos <i>Trataments</i>					Total <i>Total</i>	(<i>%</i>)
	Controle	MOS	A+P	COMB	Antibióticos		
21 - 35 dias <i>days</i>							
Escore <i>Score</i> 1	0	2	0	0	3	5	0,83
Escore <i>Score</i> 2	4	10	9	14	10	47	7,83
Escore <i>Score</i> 3	34	25	32	41	39	171	28,51
Escore <i>Score</i> 4	82	83	79	65	68	377	62,83
Total <i>Total</i>	120	120	120	120	120	600	
36 - 49 dias <i>days</i>							
Escore <i>Score</i> 1	0	0	0	0	0	0	0
Escore <i>Score</i> 2	31	40	38	46	52	207	29,57
Escore <i>Score</i> 3	82	66	65	69	55	337	48,14
Escore <i>Score</i> 4	27	34	37	25	33	156	22,29
Total <i>Total</i>	140	140	140	140	140	700	
21 - 49 dias <i>days</i>							
Escore <i>Score</i> 1	0	2	0	0	3	5	0,38
Escore <i>Score</i> 2	35	50	47	60	62	254	19,54
Escore <i>Score</i> 3	116	91	97	110	94	508	39,08
Escore <i>Score</i> 4	109	117	116	90	101	533	41,00
Total <i>Total</i>	260	260	260	260	260	1300	

Tabela 06. Valores de pH do estômago e duodeno de leitões abatidos aos 28 e 35 dias de idade submetidos às dietas experimentais.

Table 06: Values stomach and duodenum's pH of piglets slaughters at 28 and 35 days old submited experimental diets.

Variáveis <i>Variables</i>	Tratamentos <i>Trataments</i>					Média <i>Mean</i>	Sign.	C.V. <i>(%)</i>
	Controle	MOS	A+P	COMB	Antibiot.			
Estômago <i>Stomach</i>								
28 dias <i>days</i>	3,39	3,23	2,64	2,83	3,18	3,05	0,26	16,1
35 dias <i>days</i>	3,18	3,60	3,33	3,75	2,75	3,32	0,18	16,5
Duodeno <i>Duodenum</i>								
28 dias <i>days</i>	5,34	5,59	5,79	5,94	6,05	5,74	0,08	5,9
35 dias <i>days</i>	5,62	5,73	5,74	5,81	5,24	5,63	0,42	7,8

Os valores de contagem total, coliformes fecais e de *Escherichia coli* do conteúdo ileal dos animais abatidos aos 28 e 35 dias de idade encontram-se na tabela 07.

Os tratamentos não influenciaram ($P>0,05$) as contagens bacterianas dos leitões abatidos aos 28 e 35 dias de idade. Estes resultados estão de acordo com os de Risley et al. (1992) que não observaram efeito na população bacteriana no estômago, jejuno e ceco entre tratamentos com ácido cítrico (1,5%) e dieta controle em contagens de *E.coli* aos 7 e 14 dias após a desmama, e com os de Kornegay e Risley (1996) que observaram que contagens de coliformes não foram consistentemente influenciadas por probióticos a base de *Bacillus sp.* A contagem bacteriana do conteúdo ileal dos leitões apontou para a maior concentração de coliformes e de *E. coli* para os animais abatidos aos 35 dias em comparação aos animais abatidos aos 28 dias.

Os dados deste trabalho corroboram ainda com outros estudos, como o de Tsiolyiannis et al. (2001) que não observaram diferença de *E.coli* em análises realizadas a partir de amostras de fezes de leitões aos 28 e 35 dias, quando se compararam dietas controle, antibióticos e ácido cítrico. Por outro lado, contrastam com o relato de Santos (2002), que a adição de manose às dietas promove uma redução da população bacteriana total ao nível de duodeno e jejuno de leitões em comparação a dieta controle e com colistina, apontando melhores resultados quando administrado 0,2% de manose às dietas.

As medidas de altura de vilosidade e profundidade de criptas obtidas dos cortes de duodeno, jejuno e íleo estão dispostas na tabela 08.

Os animais que receberam a dieta controle e as contendo antibiótico ou MOS apresentaram maior ($P<0,05$) altura de vilosidades no duodeno aos 28 dias de idade em relação aos dos demais tratamentos.

Não houve variação ($P>0,05$) na altura de vilosidades do duodeno aos 35 dias de idade, e na altura de vilosidades do jejuno e íleo avaliada aos 28 e 35 dias de idade.

A profundidade das criptas foi influenciada ($P<0,05$) pelos tratamentos nos animais abatidos aos 28 e 35 dias apenas no duodeno. Aos 28 dias de idade os animais submetidos à dieta contendo MOS apresentaram maior profundidade de cripta em relação aos que receberam o tratamento COMB, mas não diferiram dos animais que receberam as dietas controle, A+P ou antibióticos.

Tabela 07. População bacteriana de coliformes fecais, de *Escherichia coli* e total no íleo de leitões abatidos aos 28 e 35 dias de idade alimentados com dietas experimentais expressos em função de diferentes protocolos de contagem. (Log₁₀ UFC)

Table 07. Bacterial population of coliformes fecais, *Escherichia coli* and total in ileum of piglets slaughters at 28 and 35 days old fed with experimental diets expressed in function of different protocols of counts (Log₁₀ CFU).

Variáveis Variables	Tratamentos <i>Trataments</i>					Média Mean
	Controle	MOS	A+P	COMB	Antibiót.	
Log ₁₀ UFC/mL de amostra <i>Log₁₀ CFU/mL of sample</i>						
Coliformes						
28 dias <i>days</i>	7,54	7,73	7,13	6,89	6,21	7,10
35 dias <i>days</i>	6,81	7,56	8,73	8,23	7,90	7,85
<i>Escherichia coli</i>						
28 dias <i>days</i>	3,57	7,51	4,23	3,88	5,60	4,96
35 dias <i>days</i>	7,12	8,37	9,32	8,14	7,68	8,13
Contagem total <i>Total counts</i>						
28 dias <i>days</i>	11,11	15,24	11,36	10,77	11,81	12,06
35 dias <i>days</i>	13,93	15,93	18,05	16,37	15,59	15,97
Log ₁₀ UFC /g de matéria seca de amostra <i>Log₁₀ CFU/g of dry matter sample</i>						
Coliformes						
28 dias <i>days</i>	5,89	6,00	5,43	5,27	4,39	5,40
35 dias <i>days</i>	5,10	6,38	7,45	6,87	6,38	6,44
<i>Escherichia coli</i>						
28 dias <i>days</i>	2,85	5,78	3,48	3,11	4,17	3,88
35 dias <i>days</i>	5,41	7,19	8,04	6,78	6,16	6,72
Contagem total <i>Total counts</i>						
28 dias <i>days</i>	8,75	11,78	8,91	8,38	8,56	9,28
35 dias <i>days</i>	10,51	13,57	15,50	13,65	12,53	13,15

Baseando-se nos valores apresentados por este estudo observou-se também a tendência de diminuição do comprimento de vilosidades e profundidade das criptas ao longo do intestino delgado nos animais de 28 e 35 dias de idade.

Já os animais com 35 dias a maior profundidade de cripta foi observada nos leitões do tratamento COMB quando comparada ao A+P, antibióticos e MOS, mas sendo estatisticamente semelhante à dieta controle.

Os resultados obtidos com o tratamento MOS neste estudo estão de acordo com os de Thomaz et al. (2002) que avaliando a inclusão de parede celular de levedura na dieta de leitões não evidenciou efeito sobre valores de altura de vilos do duodeno (310, 331), jejuno (252, 283) e íleo (200, 190 μm) aos 28 e 35 dias de idade, respectivamente. Da mesma forma não observou-se efeito sobre profundidade de criptas do duodeno (103, 100 μm), jejuno (79, 70 μm) e íleo (58, 53 μm) aos 28 e 35 dias de idade respectivamente comparados a dieta controle. Entretanto observaram-se valores de

Tabela 08. Altura de vilosidades e profundidade de criptas de duodeno, jejuno e íleo de leitões abatidos aos 28 e 35 dias de idade submetidos às dietas experimentais.

	Controle	MOS	A+ P	COMB	Antibióticos	Média	C.V. (%)	Teste F
VILOSIDADES								
Duodeno ¹								
28 dias	121,63 ^a	127,59 ^a	116,14 ^b	113,07 ^b	132,83 ^a	122,25	7,70	0,04
35 dias	127,21	141,90	146,72	143,44	135,93	139,04	14,32	-
Jejuno								
28 dias	109,33	106,29	102,25	100,11	112,12	106,02	10,90	-
35 dias	112,45	116,96	117,59	113,98	119,57	116,11	11,83	-
Íleo								
28 dias	88,90	92,77	89,25	82,88	92,92	89,35	11,62	-
35 dias	95,36	107,00	106,75	112,64	115,62	107,47	20,84	-
CRIPTAS								
Duodeno ²								
28 dias	148,90 ^{ab}	164,42 ^a	142,42 ^{ab}	131,90 ^b	153,11 ^{ab}	148,15	9,05	0,05
35 dias	164,81 ^{ab}	145,43 ^b	147,24 ^b	173,15 ^a	149,45 ^b	156,01	7,33	0,02
Jejuno								
28 dias	155,31	130,24	131,08	127,93	134,58	135,83	10,46	0,42
35 dias	145,97	149,82	133,48	140,95	144,55	142,96	9,13	-
Íleo								
28 dias	127,99	124,89	120,78	120,64	116,25	122,11	5,52	0,37
35 dias	153,28	142,16	138,90	154,88	146,23	147,09	9,41	0,31

^{1,2} Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste DMS (¹) e Student- Newman-Keuls (²) a 5% de probabilidade.

vilosidades menores que os encontrados por Abreu (1994), com 30 e 40 μm para leitões com 28 e 35 dias de idade, respectivamente.

Porém foi observada uma variação na altura dos vilos e profundidade de criptas em todos segmentos intestinais em função da idade dos animais, o que foi evidenciado por outros estudos (Abreu, 1994; Thomaz, 1996; Cera 1998; Tucci, 1999; Xu et al. 2000; Thomaz et al. 2002), mostrando assim que os aditivos avaliados não foram capazes de manter a integridade das mucosas absorptivas ao longo do intestino delgado, e evitar as perdas que ocorrem a partir das primeiras horas após a desmama, que compreendem alterações funcionais e estruturais, comprometendo a capacidade digestiva e absorptiva dos leitões (Moita et al. 2002).

Os resultados obtidos neste estudo divergem daqueles de Santos (2002), em que não foram observadas diferenças significativas em vilosidades de duodeno em leitões de 60 dias de idade recebendo 0,2% de manose contra uma dieta com colistina, todavia aumentou altura de vilosidades em relação à dieta controle. Ao nível de jejuno, a manose propiciou maiores valores de vilosidades em relação à dieta controle e com colistina. Por sua vez, valores de profundidade de criptas de duodeno e jejuno não foram influenciados pelos tratamentos.

Os baixos valores de altura de vilosidades associados a altos valores de profundidade de criptas em todos os tratamentos são atribuídos a um baixo consumo de ração que tornam deficitário o fornecimento contínuo de energia e proteína e conseqüentemente decréscimo na taxa de produção de células nas criptas mediado pelo aumento no tempo do ciclo celular, o que segundo alguns estudos (Makkink et al. 1994b; Pluske et al. 1995; 1996ab; Teixeira, 1999) é responsável pela integridade da morfologia do intestino, indicando efeito estimulante do alimento ingerido sobre a maturação do epitélio intestinal. Segundo Santos (2002), vilosidades mais curtas e criptas mais profundas sugerem alta demanda de células nas criptas e uma maior perda de enterócitos das vilosidades.

Conclusões

Dietas suplementadas com mananligossacarídeos ou combinação de mananligossacarídeos com acidificante + probiótico propiciam ganho de peso, conversão alimentar e altura de vilosidades ao nível de duodeno semelhantes a dietas suplementadas com colistina e avilamicina para leitões de 21 a 49 dias de idade em condições de desafio sanitário, possibilitando com isto a substituição aos antibióticos.

Referências Bibliográficas

- 3M™ PETRIFILM EC. **Placa para contagem de E. coli e coliformes** – manual de uso.
- ABREU, M.L.T. **Efeito da proteína do farelo de soja sobre o desempenho e ocorrência de alterações digestivas em leitões desmamados aos 21 dias de idade.** Viçosa: UFV, 1994. 79p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- ADAMS, A.C. Acidifiers: important components of pig feeds. **Technical Information.** Singapore, p. 1-6, 2000.
- BELLAVER, C., COSTA, C.A.F., MACHADO, H.G.P., LIMA, G.J.M.M. Modelo experimental para pesquisa e desenvolvimento de aditivos alternativos para frangos de corte. **Comunicado técnico nº 315. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves. 2002.**
- BERGSTROM, È M, J. R.; NELSSSEN, J. L.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; DRITZ, S. S.; OWEN, K. Q.; NESSMITH, W. B. JR. Evaluation of spray-dried animal plasma and select menhaden fish meal in transition diets of pigs weaned at 12 to 14 days of age and reared in different production systems. **Journal of Animal Science.** 75, 3004 - 3009. 1997.
- BLUMENSTOCK, E. e JANN, K. Adhesion of piliated Escherichia coli strains to phagocytes: differences between bacteria with mannose-sensitive pilli and those with mannose-resistant pilli. **Infection and Immunity.** V.35. Nº 1. p.264-269. 1982.
- BLANCHARD, P. Less buffering...more enzymes and organic acids. **Pig Progress,** Chaiwan, Hong Kong, v.16, n.3, p.23-25, 2000.
- BOLDUAN, G. Feeding weaner pigs without in-feed antibiotics. In: Alltech's 15th Annual Symposium.1999. **Proceedings...** Nicholasville, Kentucky
- BOMBA, A.; NEMCOVÁ, R.; GANCARÍKOVÁ, S.; HERICH, R.; GUBA, P.; MUDROOVÁ, D. Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. **British Journal of Nutrition** V. 88 N. 3 Supplement: 1 P. 95s -- 99s. 1999.
- CERA, K.R., MAHAN, D.C., CROOS, R.F., REINHAT, G. A., WITMOYER, R.E. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine, **Journal of Animal Science,** Champaign, v.66, n.5, p. 574-584, 1988.
- COFFEY, R. D.; CROMWELL, G. L. The impact of environment and antimicrobial agents on the growth response of early-weaned pigs to spray-dried porcine plasma. **Journal of Animal Science.** 73, 2532-2539, 1995.

- DAVIS, M.E., MAXWELL, C.V., BROWN, D.C., ERFAND, G.F., WISTUBA, T.J. The effect of mannan oligosaccharide on growth and immune responses of weaning piglets. **Annual Meeting of the American Society of Animal Sciences**. 2002.
- DVORAK, R. & JACQUES, K.A. Mannan oligosaccharide, fructooligosaccharide and Carbadox for pigs days 0-21 post-weaning. **Journal of Animal Science**. V.76, Suppl. 2. p.64, 1998.
- GAUTHIER, R. Avanços atuais em suinocultura. **Pork Word**. Ano 3, nº 15, p.98-102. 2003.
- GIBSON, G. R. & WANG, X. Inhibitory effects of bifidobacteria on other colonic bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**. 77:412-420, 1994.
- HENRY, R.W., PICKARD, D.W., HUGHES, P.E. Citric acid and fumaric acid as food additives for early-weaned piglets. **Animal Production**, 40, 505-509. 1985.
- JADAMUS, A., VAHJEN, W., SCHAEFER, K., SIMON, O. Influence of the probiotic strain *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the development of enterobacterial growth and on selected parameters of bacterial metabolism in digesta samples of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 86, 42-54. 2002.
- JONSSON, E., CONWAY, P. Probiotics for pigs. In: Fuller, R. **Probiotics – The Scientific Basis**. Chapman and Hall, London, 1992, p.259-316.
- LEMIEUX, F.M., SOUTHERN, L.L., BIDNER, T.D. Effect of a mannan oligosaccharide on growth of nursery pigs. **Journal of Animal Science**. V 79 (sup.2). p.72. 2001.
- KYRIAKIS, S.C. The effects of avilamycin in the control of stress-induced post-weaning diarrhoea in piglets. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 12, 296–301. 1989.
- KIM, J.D.; HYUN, Y.; SOHN, K.S., WOO, H.J.; KIM, T.J.; HAN, I.K. Immunostimulators on growth performance and immune response in pigs weaned at 21 days of age. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.9, n.2, p. 333-346, 2000.
- KORNEGAY, E. T. AND. RISLEY, C. R. Nutrient Digestibilities of a Corn-Soybean Meal Diet as Influenced by Bacillus Products Fed to Finishing Swine. **Journal of Animal Science**. 74:799–805. 1996.
- MATHEW, A. G., SUTTON, A. L., SCHEIDT, A. B., FROSYTH, D. M., PATTERSON, J. A., KELLY, D. T. Effect of propionic acid containing feed additives on performance and intestinal microbial fermentation of the weanling pig. 6th Int. Symp. Digestive Physiology in Pigs. 1991. **Proceedings...** PUDOC, Wageningen, The Netherlands. Pages 464–469.

- MAKKINK, C.A., BERNTSEN, P.J.M., KAMP, B.M.L., KEMP, B., VERSTEGEN, M.W.A. Gastric protein breakdown and pancreatic enzyme activities in response to different dietary protein sources in newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.72, p. 2843-2850, 1994.a
- MAKKINK, C.A., NEGULESCU, G.P., GUIXIN, Q., VERSTEGEN, M.W.A. Effect of dietary protein source on feed intake, growth, pancreatic enzyme activities and jejunal morphology in newly-weaned piglets. **British Journal of Nutrition**, v.72, p.353-368, 1994b.
- MAXWELL, C. Nutrition and management of the early-weaned pig. In: ALLTECH'S 15th ANNUAL SYMPOSIUM. 1999. **Proceedings...** Nicholasville, Kentucky.
- MEDEL, P., LATORRE, M.A.A., MATEOS, G.G. Nutrición y alimentación de lechones destetados precozmente. **XIV Curso de especialización avances en nutrición y alimentación animal**. 46p. 1999.
- MOITA, A.M., HANNAS, M.I., DONZELE, J.L. Atualização sobre a nutrição de leitões. In: I CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA. 2002 – Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu-PR, Brasil. 2002. CD-ROM. Minicursos sobre Nutrição.
- NAGY, B., FEKETE, P. Z. Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) in Animals. **Veterinary Research**. 30:259–284. 1999.
- NICKEL, R., SCHUMMER, A. e SEIFERLE, E. **The Viscera of the Domestic Mammals**. 1973. Verlag Paul Parey, Berlin.
- NICOLI, J.R., VIEIRA, E.C., PENNA, F.J. et al. Probióticos: experiências com animais gnotobióticos. . In: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS: ATUALIZAÇÃO E PROSPECÇÃO, 2003, Viçosa. **Anais...UFV**. p.123-134. 2003.
- NIELSEN, P.E. Denmark's approach to problem free feeding. **Feed Mix** 6, 15–17. 1998.
- OLIVEIRA, P.A.V., LIMA, G.J.M.M., FÁVERO, J.A., BRITO, J.R.F. **Suinocultura: noções básicas**. Concórdia, SC: EMBRAPA-CNPSA. 1993. 37p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 31).
- OMOGBENIGUN, F. O., NYACHOTI, C. M., SLOMINSKI, B. A. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**. 81:1806–1813. 2003.
- ORLANDO, U.A.D. **Nível de proteína bruta da ração e efeito da temperatura ambiente sobre o desempenho e parâmetros fisiológicos de leitões em crescimento**. Viçosa, MG; UFV, 2001. 77p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2001.

- OYOFO, B.A., DeLOACH, J.R., CORRIER, D.E. et al. Prevention of Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science**. 68: 1357-1360. 1989.
- OWUSU-ASIEDU, A., NYACHOTI, C.M., MARQUARDT, R.R. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid, or antibiotic. **Journal of Animal Science**. 81:1790–1798. 2003.
- PARTANEN, K. Organic Acids-Their Efficacy and Modes of Action in Pigs. In: PIVA, A., BACH KNUDSEN, K.E., LINDBERG, J.E. **Gut Environment of pigs**. 2001. p. 201 a 217.
- PASSOS JÚNIOR, H.S. Nutrição e meio ambiente para leitões em sistema de produção com desmame precoce segregado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINARIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 8, 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: ABRAVES, 1997. P.41-54.
- PETTIGREW, J. E. Bio-Mos effects on pig performance: a review. In: ALLTECH' S 16th ANNUAL SYMPOSIUM. 2000. (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds.). **Proceedings...** Nottingham University Press, Nottingham, UK, p.31-44,
- PLUSKE, J.R., WILLIAMS, I.H., AHERNE, F.X. Nutrition of the neonatal pig. In: VARLEY, M.A. (Ed.) **The neonatal pig: development and survival**. Wallingford, UK. CAB International, 1995, 187-235p.
- PLUSKE, J.R., WILLIAMS, I.H., AHERNE, F.X. Maintenance of villous height and crypt depth by providing continuous nutrition after weaning. **Animal Science**, v.62, p.131-144, 1996a.
- PLUSKE, J.R., WILLIAMS, I.H., AHERNE, F.X. Villous height and crypt depth in piglets in response to increases in intake of cow's milk after weaning. **Animal Science**, v.62, p.145-158, 1996b.
- PLUSKE, J.R. Morphological and functional changes in the small intestine of the newly-weaned pig. In: **Gut Enronment of Pigs**. Nottingham University Press. p.01-28. 2001.
- RADCLIFFE, J. S., ZHANG, Z., KORNEGAY, E. T. J. The effects of microbial phytase, citric acid, and their interaction in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. **Animal Science**. 76:1880–1886. 1998.
- RADECKI, S.V. e YOKOYAMA, M.T. Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In: MILLER, E.R.; ULLREY, D.E.; LEWIS, A.(Ed.). **Swine Nutrition**. Stoneham: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 439-447.
- RAVINDRAN, V. e KORNEGAY, E.T. Acidification of weaner pig diets: A review. **Journal of the Science of Food and Agricultura**, 62, 313-322. 1993.

- RISLEY, C. R., KORNEGAY, Z, E. T., LINDEMANN, M. D., WOOD, C. M., EIGELT, D.W.N. Effect of Feeding Organic Acids on Selected Intestinal Content Measurements at Varying Times Postweaning in Pigs. **Journal of Animal Science**. 70:198-206. 1992.
- ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L. et al. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos; tabelas brasileiras**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.
- ROTH, F.X. Ácidos orgánicos en nutrición porcina: eficacia y modo de acción. XVI Curso de Especialización FEDNA. 11p. 2000. www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/00CAP9.pdf acessado em 22/07/2003.
- ROZEBOOM, D.W., SHAW, D.T., PETTIGREW, J.E., CONNOLLY, A. Comparative effects of mannanoligosaccharide and a antibiotic in nursery diets on performance of pigs reared on three different farms. **Journal of Animal Science**. V.79, Suppl. 2. p.79, 2001.
- SANTOS, W.G. **Manose na alimentação de leitões na fase de creche (desempenho, parâmetros fisiológicos e microbiológicos)**. Lavras, MG; UFLA, 2002. 66p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2002.
- SANTOS, M.S., BAUERMANN, I., DECKER, S. et al. Desempenho de leitões suplementados com mananoligosacarídeos. In: XXXIX Reunião Anual da SBZ, **Anais...** Recife, PE:SBZ, 2002. CD-ROM. 2002.b
- SCHOENHERR, W. D., POLLMANN, D. S. 1994. New concept for feeding young pigs improves productivity. **Feedstuffs**. 66:13.
- SCHOENHERR, W. D., POLLMANN, D. S., COALSON, J. A. Titration of MG on growth performance of nursery pigs. **Journal of Animal Science** 72(Suppl. 1):57. 1994.
- SILVA, M.C., LIMA, J.A.F., FIALHO, E.T., BERTECHINI, A.G., FREITAS, R.T.F., SILVA, H.O., SANTOS, W.G. Efeito da adição de acidificantes e suas combinações na alimentação de leitões desmamados sobre o desempenho. In: XXXIX Reunião Anual da SBZ, **Anais...** Recife, PE:SBZ, 2002. CD-ROM. 05.sbz.993.pdf. 2002.b
- STOCKLAND, W.L. practical solutions to maximize production: The commercial application of oligosaccharides in starter pig diets. In: **Concepts in Pig Science**. The 1st Annual Turtle Lake Pig Science Conference. 1999. (T.P. Lyons and D.J.A. Cole, eds.) Nottingham University Press, U.K.
- SWANSON, K.S., GRIESHOP, C.M., FLICKINGER, E.A., BAUER, L.L., HEALY, H.P., DAWSON, K.A., MERCHEN, N.R., FAHEY JR., G.C. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. **Journal of Nutrition**. 132: 980–989, 2002.

- TEIXEIRA, A.O. **Efeito de dietas simples e complexas sobre a morfologia intestinal de leitões até 35 dias de idade.** Viçosa: UFV, 1999. 60P. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. 1999.
- THOMAZ, M. C. **Digestibilidade da soja semi-integral extrusada e seus efeitos sobre o desempenho e morfologia intestinal de leitões na fase inicial.** Botucatu, 1996. 66p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista.
- THOMAZ, M.C., TUCCI, F.M., KRONKA, R.N., HANNAS, M.I., LODDI, M.M., SCANDOLERA, A.J., BUDIÑO, F.E.L. Efeitos da adição de glutamina, ácidos graxos poliinsaturados ou parede celular de levedura na dieta de leitões desmamados sobre a estrutura do intestino delgado. In: XXXIX Reunião Anual da SBZ, **Anais...** Recife, PE:SBZ, 2002. CD-ROM. 2002.
- TSILOYIANNIS, V.K., KYRIAKIS, S.C., VLEMMAS, J., SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea. **Research in Veterinary Science.** 70, 287–293. 2001.
- TUCCI, F.M. **Estudo da adição de virginiamicina e beta-glucanase exógena às rações de leitões e seus efeitos sobre o desempenho e morfologia intestinal.** Pirassununga, 1999. 76p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema para Análises Estatísticas e Genética** - SAEG, Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. (Versão 8.0) 1999.
- XU, R.J.; WANG, F.; ZHANG, S.H. Postnatal adaptation of the gastrointestinal tract in neonatal pigs: a possible role of milk-borne growth factors. **Livestock Production Science.** v.66, p.95-107, 2000.

CAPÍTULO 3

Níveis de ácido fólico em dietas contendo ácido fórmico para leitões de 21 a 48 dias de idade.

RESUMO: Foi conduzido um experimento com objetivo de avaliar níveis de ácido fólico em dietas suplementadas com ácido fórmico para leitões de 21 a 48 dias de idade. Foram utilizados 160 leitões com peso médio de $5,67 \pm 0,90$ kg em um delineamento experimental de blocos casualizados, com cinco tratamentos, quatro repetições e quatro animais por repetição. Formularam-se duas dietas basais, pré-inicial I (21 a 35 dias) e pré-inicial II (36 a 48 dias) de maneira a atender às exigências nutricionais, adicionadas de acidificante à base de ácido fórmico em 1,2 e 1,0%, respectivamente. Os tratamentos foram constituídos por cinco níveis de ácido fólico: 0; 0,30; 0,60; 0,90 e 1,20 mg/kg de ração. O desempenho foi avaliado nos períodos de 21 a 35 dias, 36 a 48 dias e 21 a 48 dias de idade dos leitões. No 49º dia os animais foram dispostos a jejum e oito leitões por tratamento foram submetidos à coleta de sangue para confecção de hemograma e quantificação de folato. Não houve efeito dos níveis de ácido fólico para o consumo de ração médio diário em nenhum dos períodos analisados. A adição de ácido fólico melhorou o ganho de peso médio diário de forma quadrática, enquanto a conversão alimentar foi influenciada pelos níveis de ácido fólico apenas no período de 21 a 35 dias. Os valores de hematócrito, hemoglobina e hemácias aumentaram de forma linear em função dos níveis de ácido fólico. Os valores de folato sérico diminuíram inversamente ao aumento de ácido fólico na dieta. Dietas com ácido fórmico para leitões de 21 a 48 dias de idade devem ser suplementadas com 0,64 mg de ácido fólico por kg de ração.

Palavras-chave: acidificante, folato sérico, hematócrito, hemograma, hemácias, desempenho

Levels of folic acid in diets containing acidifier based formic acid for pigs from 21 to 48 days of age.

ABSTRACT: An experiment was conducted with objective of to evaluate levels of folic acid in diets supplemented with acidifiers based of formic acid to pigs from 21 to 48 days of age. Were used 160 piglets with average initial weight of $5,67 \pm 0,90$ kg in an experimental design of blocks randomized with five treatments, four replicates and four animals by experimental unity. Two basal diets were formulated, pré-initial I (21 to 35 days) and pré-initial II (36 to 48 days) in way to assist to the nutritional requeriments, added of acidifier based formic acid in 1,2 and 1,0%, respectively. The treatments were constituted by five levels of folic acid: 0; 0,30; 0,60; 0,90 and 1,20 mg/kg of ration. The acting was evaluated in the periods from 21 to 35 days, 36 to 48 days and 21 to 48 days of age of the pigs. In the 49th day the animals were willing to fast and eight pigs for treatment they were submitted to the collection of blood for hemogram making and folate quantification. There was not effect of the treatments for the feed intake medium diary in none of the analyzed periods. The addition of folic acid improved the average daily weight gain in a quadratic way, while the feed:gain ratio was just influenced by the treatments in the period from 21 to 35 days. The treatments increased the hematocrit, hemoglobin and red blood cell values in a lineal way, but they didn' t influence the other parameters of the blood count. Values of serumfolate had decreased inversely to the increase of folic acid in the diet. With base in the acting results is ended that diets for pigs from 21 to 48 days of age fed with acidifiers based formic acid they present larger weight earnings supplemented folic acid at 0,64 ration mg/kg.

Key Words: acidifier, serum folate, hematocrit, hemogram, hemoglobin, performance

Introdução

O desmame e os dias subsequentes têm constituído, do ponto de vista nutricional, um período crítico no desenvolvimento dos leitões, e para minimizar seus efeitos negativos, os nutricionistas tem lançado mão de aditivos como os acidificantes. Dentre estes, tem-se destacado o ácido fórmico que é um ácido orgânico utilizado com o objetivo de reduzir o pH do trato digestivo, aumentar ação da pepsina, reduzir a taxa de esvaziamento do estômago, aumentar a digestão de peptídeos e reduzir a proliferação de patógenos (Lima, 1999).

Estudos têm evidenciado a melhora no ganho de peso e conversão alimentar de leitões que recebem dietas suplementadas com ácido fórmico (Eckel et al. 1992; Partanen, 2001; Tsioloyiannis et al. 2001), seus sais de cálcio (Kirchgebner & Roth, 1987a e 1990), sódio (Kirchgebner & Roth, 1987b), potássio (Paulicks et al. 1996 e 2000; Partanen, 2001) e blends (Mroaz, 2002; Silva et al. 2002; Teixeira et al. 2003).

Entretanto, a adição de quantidades excessivas de formiatos na dieta pode causar distúrbios no status ácido-base de suínos levando à acidose metabólica, resultando em diminuição do consumo e redução do crescimento (Giesting et al. 1991; Eckel et al. 1992; Eidelsburger et al. 1992; Grassmann et al. 1992). A acumulação do formiato no sangue pode ocasionar ainda, toxemia ocular e até a morte (Makar et al. 1990; Teply, 1991).

O ácido fórmico é absorvido e transportado ao fígado onde é metabolizado a dióxido de carbono em um processo que requer tetrahidrofolato. Os suínos por sua vez, têm níveis extremamente baixos de tetrahidrofolato hepático e níveis muito baixos da enzima chave 10-formil tetrahidrofolato desidrogenase na via do folato (Partanen, 2001), assim, sua habilidade para metabolizar formiato pode ser limitada (Johlin et al. 1987; Makar et al. 1990).

Apesar dos sintomas tóxicos de seu excesso, o formiato é um metabólico natural, um membro do pool de um carbono-dependente do folato, dentro de uma relação linear entre a taxa de oxidação do formiato em CO₂ e o tetrahidrofolato hepático (Polonen et al. 1997). A deficiência de ácido fólico pode levar a baixos níveis de tetrahidrofolato, que é a forma coenzimática ativa, que atua na degradação do formiato (McDowell, 2000), além de levar a problemas como anemia megaloblástica e leucopenia, que é caracterizada pela redução no número de células brancas (Polonen et al. 1997; McDowell, 2000).

Estudos têm demonstrado que a suplementação dietética de ácido fólico em suínos e outras espécies, pode aumentar as reservas hepáticas de folato (Letendre et al.1991 e Lindemann et al. 1993), e a taxa de oxidação de formiato (Polonen et al. 1997 e 2002).

O ácido fólico é uma vitamina hidrossolúvel que é absorvida pela célula intestinal e reduzida a tetraidrofolato, sendo liberado na corrente sanguínea; e está envolvida nas reações de transferência do grupo metil como na síntese de metionina e serina (Ewan, 1996). O papel metabólico do ácido fólico nos tecidos mamários é na transferência de unidades simples de carbono, como metil, formil, formiato ou hidroximetil e as formas coenzimáticas ativas da vitamina são os derivados do tetraidrofolato (Dove & Cook, 2001). Um aumento nas necessidades de ácido fólico pode ocorrer em função de dietas deficientes ou por um aumento na sua demanda, que pode ser aumentada em função do uso de ácido fórmico.

Assim verifica-se a necessidade de se avaliar níveis de ácido fólico em dietas suplementadas com acidificantes a base de ácido fórmico para leitões recém desmamados na fase de 21 a 48 dias de idade.

Material e Métodos

Conduziu-se um experimento no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando-se 160 leitões, sendo 80 machos e 80 fêmeas, desmamados aos 21 dias de idade, com peso médio de $5,67 \pm 0,90$ kg em um delineamento experimental de blocos casualizados, com cinco tratamentos, dois blocos, oito repetições e quatro animais por repetição, totalizando 32 animais por tratamento. Os critérios para formação de blocos foram sexo e peso dos animais. Os tratamentos foram constituídos por cinco níveis de ácido fólico: 0; 0,30; 0,60; 0,90 e 1,20 mg/kg de ração.

As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2000), a partir de duas dietas basais, sendo uma para o período de 21 a 35 dias de idade dos leitões (pré-inicial I), e outra para o período de 36 a 48 dias de idade dos leitões (pré-inicial II). A composição centesimal e nutricional destas dietas podem ser visualizadas nas tabelas 01 e 02, respectivamente.

Tabela 01: Composição centesimal das rações experimentais para os períodos pré-inicial I (21 a 35 dias de idade) e pré-inicial II (36 a 48 dias de idade)

Table 01: Centesimal composition of experimental rations of pré-initial I (21 at 35 days of age) and pré-initial II (36 at 48 days of age)

Ingredientes (Ingredients) (%)	Dietas basais (Base diet)	
	Pré-inicial I (Pré-initial I)	Pré-inicial II (Pré-initial II)
Milho (Corn)	31,10	49,22
Soja Farelo (Soybean meal)	22,80	23,40
Milho Pré-cozido (Pré-gelatinized corn)	15,00	5,00
Soro de Leite em Pó (Milk whey powered)	13,9	5,50
Soja Micronizada (Micronized soybean)	5,00	5,00
Farinha de Peixe (55%) (Fish meal)	4,00	4,00
Açúcar (Sugar)	3,00	3,00
Amido (Starch)	0,06	0,100
Óleo Soja (Soybean oil)	1,16	0,982
Fosfato Mono-Bicálcico (Mono-Dicalcium phosphate)	0,570	0,836
Acidificante ¹ (Acidifier)	1,200	1,000
Óxido de Zinco (Zinc oxide)	0,300	-
Sal (Salt)	0,366	0,436
L-Lisina HCl (L-Lysine HCl)	0,638	0,670
L-Treonina (L-Threonine)	0,328	0,318
DL-Metionina (DL-Methionine)	0,309	0,274
L- Triptofano (L- tryptophan)	0,059	0,058
Mistura vitamínico ² (Vitamin mix ²)	0,100	0,100
Mistura mineral ³ (Mineral mix ³)	0,100	0,100
BHT	0,010	0,010
Total	100,00	100,00

¹ Acidificante a base de ácido fórmico

² Conteúdo/kg de suplemento vitamínico: vitamina A – 6.000.000 UI; vitamina D3 – 1.500.000 UI; vitamina E – 1.500UI; vitamina K3 – 1.500 mg; vitamina B1 – 1.350 mg; vitamina B2 – 4.000 mg; vitamina B6 – 2.000 mg; vitamina B12 – 20.000 mg; ácido nicotínico – 20.000 mg; ácido pantotênico – 9.350 mg; biotina – 80 mg; selênio - 300 mg; veículo – 1.000g

³ Conteúdo/kg de ração: ferro - 100 mg; cobre - 10 mg; cobalto - 1 mg; manganês - 40 mg; zinco - 100 mg; iodo – 1,5 mg

As rações foram formuladas considerando o valor tamponante (*B-value*) (Vergdut, 2002) dos ingredientes de forma a ajustar o pH final para não interferir na atuação do acidificante. À exceção do ácido fólico, todos os tratamentos apresentaram a mesma formulação como apresentado na Tabela 01. O acidificante a base de ácido fórmico foi utilizado com 1,2% para fase pré-inicial I, e 1,0 % para fase pré-inicial II, conforme recomendação do fabricante. A suplementação de ácido fólico foi acrescida gradativamente a pré-mistura vitamínica e consecutivamente às rações experimentais, sem considerar o seu valor nos ingredientes.

Tabela 02: Composição nutricional das rações experimentais para os períodos pré-inicial I (21 a 35 dias de idade) e pré-inicial II (36 a 49 dias de idade)

Table 02: Nutritional composition of experimental rations of pré-initial I (21 at 35 days of age) and pré-initial II (36 at 48 days of age)

Nutrientes (<i>Nutritions</i>)	Dietas basais (<i>Base diet</i>)	
	Pré-inicial I (<i>Pré-initial I</i>)	Pré-inicial II (<i>Pré-initial II</i>)
Energia Digestível (Kcal/kg) (<i>Digestible energy</i>)	3,500	3,500
Gordura (%) (<i>Fat</i>)	4,101	4,450
Proteína Bruta (%) (<i>Crude protein</i>)	21,00	21,00
Lisina Digestível (%) (<i>Digestible lysine</i>)	1,240	1,240
Met + Cist Digestível (%) (<i>Digestible methionine + cystine</i>)	0,720	0,720
Metionina Digestível. (%) (<i>Digestible methionine</i>)	0,486	0,470
Treonina Digestível (%) (<i>Digestible threonine</i>)	0,800	0,800
Triptofano Digestível (%) (<i>Digestible thryptophan</i>)	0,220	0,220
Cálcio (%) (<i>Calcium</i>)	0,769	0,770
Cálcio Digestível (%) (<i>Digestible calcium</i>)	0,634	0,574
Fósforo Disponível (%) (<i>Available phosphorus</i>)	0,450	0,450
Sódio (%) (<i>Sodium</i>)	0,320	0,280
Lactose (%) (<i>Lactose</i>)	10,00	4,00
pH	5,36	5,35
<i>B-value</i>	13,21	11,08

Os animais foram alojados em galpão de creche com piso suspenso e ripado, em baias de dimensões de 2,00 x 1,20m, equipados com comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta, com água e ração fornecidos *ad libitum*. Durante o experimento, a ventilação e a temperatura do ambiente foram controladas por abertura e fechamento das básculas existentes e através de lâmpadas de aquecimento.

As variáveis avaliadas foram ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD), e conversão alimentar (CA), para tal os animais foram pesados aos 21, 35 e 48 dias. As rações e o desperdício foram pesados para determinação do consumo.

No 49º dia os animais foram dispostos a jejum de seis horas e aqueles com peso mais próximo da média de cada unidade experimental, totalizando oito leitões por tratamento foram submetidos à coleta de sangue. Foram colhidas duas amostras de 5 mL de sangue de cada animal por punção venosa do *sinus orbital* usando-se seringa e

agulha esterilizadas e secas, para confecção do hemograma e dosagem de folato sérico. As amostras destinadas ao hemograma foram depositadas em frasco esterilizado e seco com anticoagulante (EDTA, 1 mg/ml) segundo protocolo descrito por Pardini (2003a). Para dosagem de folato sérico, aguardou-se a coagulação do sangue e em seguida as amostras foram centrifugadas e retiradas alíquotas de 1,0 mL de soro. Para determinação quantitativa de folato no soro utilizou-se o kit Folato ADVIA Centaur (Cat. nº 124974) adaptado à técnica de quimioluminescência direta. As amostras foram identificadas, acondicionadas em caixa de isopor com gelo e enviadas ao laboratório. Para confecção do hemograma as amostras foram submetidas a processo automatizado com leitura realizada pelo aparelho SYSMIEX K1000, sendo que para contagem de hematócrito utilizou-se microcentrifugagem específica. Na análise hematológica foram quantificados: hematócrito, hemoglobina, hemácias, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e leucócitos.

Os dados de desempenho, hemograma e folato sérico foram submetidos à análise de regressão utilizando-se o programa SAEG (UFV,1999).

Resultados e Discussão

Os valores de peso corporal, consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD), e conversão alimentar (CA) e suas equações de regressão ajustadas em função do nível do ácido fólico nas dietas estão dispostos na Tabela 03.

Não houve efeito ($P < 0,05$) dos tratamentos sobre o consumo de ração médio diário em nenhum dos períodos analisados. Diferentemente das informações compiladas por Dove & Cook (2001) que notaram aumento no consumo em função da adição de ácido fólico.

Para os três períodos avaliados observou-se efeito quadrático ($P > 0,05$) dos tratamentos sobre o ganho de peso médio diário. No período de 21 a 35 dias o efeito do nível de ácido fólico na dieta sobre o GPMD apresentou-se de acordo com a equação $Y = 0,198201 + 0,113198 X - 0,086670 X^2$ ($R^2 = 0,74$), ocorrendo um aumento máximo estimado quando a suplementação do ácido fólico na dieta foi de 0,65 mg/kg de ração. Para o período de 36 a 48 dias observou-se aumento do GPMD de acordo com a equação $Y = 0,425822 + 0,102136 X - 0,080586 X^2$ ($R^2 = 0,66$), alcançando-se o maior

ganho suplementando ácido fólico na dieta com 0,63 mg/kg de ração. Já, para o período total do experimento a suplementação estimada de 0,64 mg/kg de ração proporcionou o melhor resultado para o GPMD, em função da equação $Y = 0,307796 + 0,107872 X - 0,083741 X^2$ ($R^2 = 0,73$) (Figura 01).

Melhora no ganho de peso médio diário de suínos em função da adição de ácido fólico também foi observada por Lindemann & Kornegay (1986), quando utilizaram 0,5 mg/kg de ração para leitões desmamados aos 28 dias. Polonen et al. (1997) constataram melhora no GPMD e efeito quadrático nas taxas de oxidação do ácido fórmico em CO^2 , quando administraram níveis crescentes de ácido fólico na dieta de visões (*Mustela vision*).

Houve efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar apenas no primeiro período avaliado, que melhorou ($P < 0,05$) de forma quadrática até o nível estimado de 0,57 mg/kg de ração, de acordo com a equação de regressão $Y = 1,35804 - 0,381617 X + 0,335784 X^2$ ($R^2 = 0,92$). Paulicks et al. (2000) avaliando a adição de K-diformiato em dietas de leitões de 21 a 63 dias de idade, obtiveram melhora significativa no GPMD e CA contra uma dieta controle utilizando 0,3 mg/kg de ração de ácido fólico. Polonen et al. (2002) investigaram a interação ácido fólico e ácido fórmico em raposas azuis (*Alopex lagopus*), e não observaram efeito no crescimento dos animais suplementados com ácido fólico, entretanto níveis crescentes diminuíram a meia-vida do ácido fórmico no organismo de maneira linear.

A partir do desenho experimental deste estudo e da natureza do ácido fólico, poderia se esperar a existência de um desempenho mínimo seguido por um acréscimo e um platô de acordo com os níveis crescentes suplementados. No entanto, isto não ocorreu, o que não pode ser atribuído a um efeito tóxico, pois segundo McDowell (1989), o nível tóxico do ácido fólico em suínos tem sido estimado em 400 mg ou mais. Uma hipótese a ser considerada para explicar tal comportamento pode ser baseado no menor status de folato sérico encontrado nos animais alimentados com os maiores níveis de ácido fólico suplementados (0,90 e 1,20 mg/kg). O menor aporte de folato pode ter causado um acúmulo de formiato devido a uma limitada oxidação, já que a taxa de oxidação do formiato depende do nível de folato no organismo (Partanen & Mroz, 1999), gerando acidose (redução do pH do sangue) (Makar et al. 1990) e limitando o consumo de ração e conseqüentemente o ganho de peso (Giesting et al. 1991; Eckel et al. 1992a; Eidelsburger et al. 1992e; Grassmann et al. 1992).

Os melhores níveis de ácido fólico encontrados neste trabalho diferem dos valores 0,30 e 0,40 mg/kg de ração recomendados pelo NRC (1998) e Rostagno et al. (2000), respectivamente. Tal fato evidenciou que rações suplementadas com acidificantes a base de ácido fórmico, podem demandar níveis mais elevados de ácido fólico em virtude de um possível aumento em sua demanda pelo organismo. A absorção e o transporte do ácido fólico podem ser influenciados por alterações do pH intraluminal (McDowell, 2000), e que segundo Selhub & Rosenburg (1996) é absorvido por difusão quando o pH intestinal está ao redor de 6,0. A partir disto pode-se inferir sobre a influência do acidificante presente nas dietas experimentais, baixando o pH, e sugerindo o aumento da necessidade de ácido fólico quando da utilização deste tipo de aditivo nas dietas de leitões recém desmamados.

Tabela 03– Peso corporal, consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA) de leitões dos 21 aos 48 dias de idade de acordo com níveis de ácido fólico nas dietas

Table 03: Weight body, average daily feed intake (CRMD), average daily weight gain (GPMD), feed:gain ration (CA) of piglets since 21 at 48 days old as leves of folic acid in diets

Variáveis (Variables)	Níveis de ácido fólico (mg/kg de ração)					C.V. (%)
	Leves of folic acid (mg/kg of ration)					
	0,0	0,30	0,60	0,90	1,20	
Peso corporal (kg)						
<i>Weight live</i>						
Inicial <i>Initial</i>	5,65	5,66	5,67	5,68	5,67	16,8
Final <i>Final</i>	14,11	14,27	15,14	14,85	14,15	10,7
CRMD (g/dia) (g/day)						
21 a 35	273,2	272,8	301,9	293,9	288,9	12,8
36 a 48	608,0	627,1	655,4	649,4	628,0	7,52
21 a 48	434,4	443,4	472,1	465,1	452,2	7,38
GPMD (g/dia) (g/day)						
21 a 35 * ¹	202,5	211,8	246,6	226,9	208,8	13,6
36 a 48 * ²	432,6	434,0	463,2	460,8	427,3	8,59
21 a 48 * ³	313,3	318,8	350,9	339,5	314,0	7,32
CA (g/g) (g/g)						
21 a 35 * ⁴	1,35	1,29	1,22	1,30	1,38	6,34
36 a 48	1,41	1,45	1,43	1,41	1,47	8,62
21 a 48	1,39	1,39	1,35	1,37	1,44	6,15

* Efeito quadrático (P<0,05). *Quadratic effect.*

¹ Y = 0.198201 + 0.113198 X - 0.086670 X²; R² = 0,74

² Y = 0.425822 + 0.102136 X - 0.080586 X²; R² = 0,66

³ Y = 0.307796 + 0.107872 X - 0.083741 X²; R² = 0,73

⁴ Y = 1.35804 - 0.381617 X + 0.335784 X²; R² = 0,92

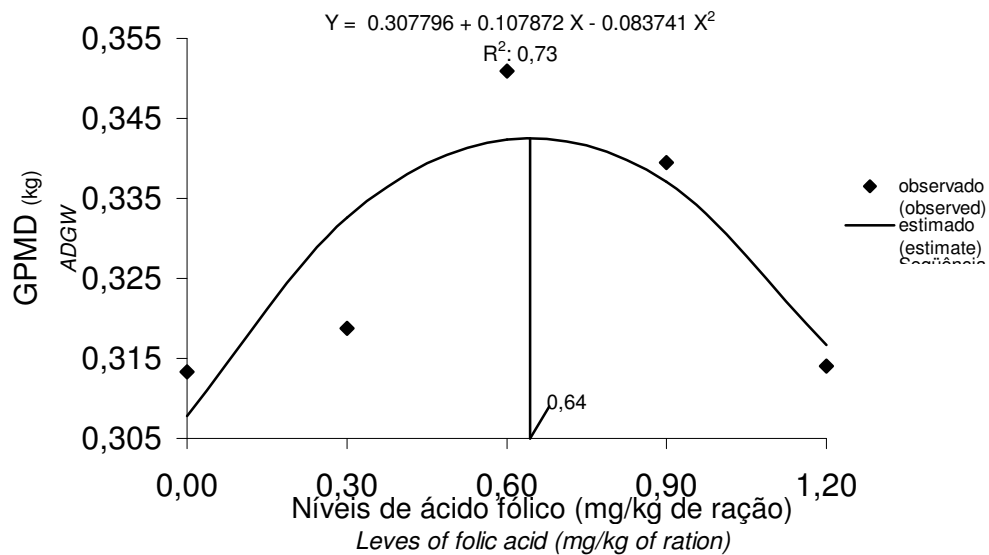


Figura 01: Ganho de peso médio diário (GPMD) em função dos níveis de ácido fólico das dietas com ácido fórmico para leitões de 21 a 48 dias de idade.

Figure 01: Average daily weight gain (ADGW) in function of levels of folic acid in diets with formic acid for piglets since 21 at 48 days old.

A partir dos dados deste trabalho, constatou-se que o nível máximo de ácido fólico não foi influenciado pelos diferentes níveis de inclusão do ácido fórmico nas rações pré-inicial I e II (1,2 e 1,0%), uma vez que os pontos de máximo ganho sugeridos pelas equações de regressão apontaram para exigências similares (0,65 e 0,63 mg/kg de ração).

Os resultados do hemograma estão dispostos no tabela 04. Os valores de hematócrito, hemoglobina, hemácias, VCM, HCM, CHCM, leucócitos apresentaram-se dentro da variação normal para a espécie e idade (34 a 43%; 9 a 13 g%; 5 a 7 milhões/mm; 44 a 66 μ 3; 15,2 a 24 μ g; 29 a 34,7% e 11 a 22 mm/3, respectivamente) de acordo com amplitudes sugeridas por Duncan & Prasse (1986), Tumbleson et al. (1986), Jain (1993), Garcia-Navarro & Pachaly (1998), e Pardini (2003b), não caracterizando desta forma a presença de anomalias como anemia.

Os tratamentos aumentaram os valores de hematócrito, hemoglobina e hemácias de maneira linear ($P < 0,05$). Esta resposta atribuída à suplementação de ácido fólico torna-se importante uma vez que um número inadequado (anemia) ou funcionamento deficiente de eritrócitos faz com que os tecidos não sejam supridos suficientemente com oxigênio (Swenson, 1996), o que poderia trazer uma limitação na capacidade de degradação do formiato e uma possível toxemia.

Um baixo aporte de ácido fólico pode levar à ocorrência de anemia megaloblástica (McDowell, 2000), que é caracterizada pelo aumento de todas as células de proliferação rápida do corpo, sendo que a maior anormalidade é a capacidade diminuída de síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA) com células apresentando uma fase intermitótica de repouso prolongada como um bloqueio precoce na mitose. A síntese de ácido ribonucléico (RNA) é menos prejudicada do que a síntese de DNA, em consequência a maturação e o crescimento citoplasmático continuam, o que responde pelo aumento das células (Henry, 2000). Por sua vez, o ácido fólico assim como a vitamina B₁₂, são necessários para a síntese de DNA em todas células do corpo, incluindo eritrócitos e funcionam em diferentes vias metabólicas. O ácido fólico é necessário também para a síntese de RNA nos eritrócitos. Ambas as vitaminas agem como coenzimas na síntese de ácidos nucléicos ou seus constituintes, como bases purínicas e pirimidínicas (Swenson, 1996).

Segundo Garcia-Navarro & Pachaly (1998), a carência de ácido fólico bem como vitamina B12 determina uma anemia megaloblástica. Nesta doença o número de divisões dos precursores nucleados dos eritrócitos esta diminuído, e por isso essas células aparecem em número menor e tamanho maior, daí o nome de megaloblastos. A anemia de forma geral é diagnosticada em laboratório por níveis baixos de hematócrito e hemoglobina, eritrócitos baixos, e VCM e CHCM estando normais nas anemias não regenerativas (como por carência).

Os resultados deste trabalho contradizem os apresentados por Gannon & Leibholz (1991), que avaliaram diferentes níveis de ácido fólico (0 a 2,0 mg/kg) suplementados em dietas de suínos em crescimento e não observaram diferenças nos valores de hematócrito e hemoglobina. Também Polonen et al. (1997) administrando ácido fólico para visões (*Mustela vision*) não observaram diferença nos valores hematológicos ou ocorrência de anemia megaloblástica, trombopenia e leucopenia que são típicos da deficiência de folato. A administração de ácido fólico também aumentou os níveis de hemoglobina em bezerras (Lévesque et al. 1993)

Em recente estudo em humanos, Chiplonkar et al. (2003) evidenciaram a relação entre o baixo consumo de ácido fólico e a incidência de anemia. Uma baixa correlação positiva foi obtida entre consumo de ácido fólico com hemoglobina, no entanto dados de mesma pesquisa apontaram valores de hematócrito, MCV, MCH significativamente menores em grupos de moderada anemia em comparação ao grupo controle.

Não houve efeito ($P < 0.05$) dos tratamentos para as variáveis VCM, HCM, CHCM. Os leucócitos apresentaram valores numéricos tendendo a um efeito linear, mas não significativo. A diminuição dos valores de leucócitos (leucopenia) ocorre em função de uma deficiência de ácido fólico, endotoxinas bacterianas ou toxemia (Swenson, 1996; McDowell, 2000); por outro lado, valores altos podem ser indicativos de infecções (Imlah & McTaggart, 1977).

Ambrosi et al. (1999) também não observaram efeito do ácido fólico para contagem de células brancas e vermelhas, VCM e plaquetas, após suplementação por um período de quatro meses em suínos em crescimento e terminação. Segundo Swenson (1996), valores elevados de VCM indicam anemia macrocítica e leucopenia.

A dosagem de folato sérico de leitões alimentados com acidificante à base de ácido fórmico apresentou efeito linear decrescente ($P < 0.01$) em função do aumento de ácido fólico na dieta (Figura 02). Diferentemente dos resultados apresentados neste trabalho, pesquisas têm apontado para um aumento no conteúdo de folato no sangue a partir da suplementação de ácido fólico em dietas de porcas em gestação e/ou lactação (Matte & Girard, 1989; Matte et al. 1993; Harper et al. 1994; Guay et al. 2002). Polonen et al. (1997) observaram aumento nas concentrações de folato no plasma e fígado em função do ácido fólico na dieta de visões (*Mustela vison*). Matte et al. (1993) concluíram que adição de níveis altos (15 mg/kg de ração) de ácido fólico não foi suficiente para manter constante o status de folato quando houve aumento da demanda na primeira metade da gestação de porcas.

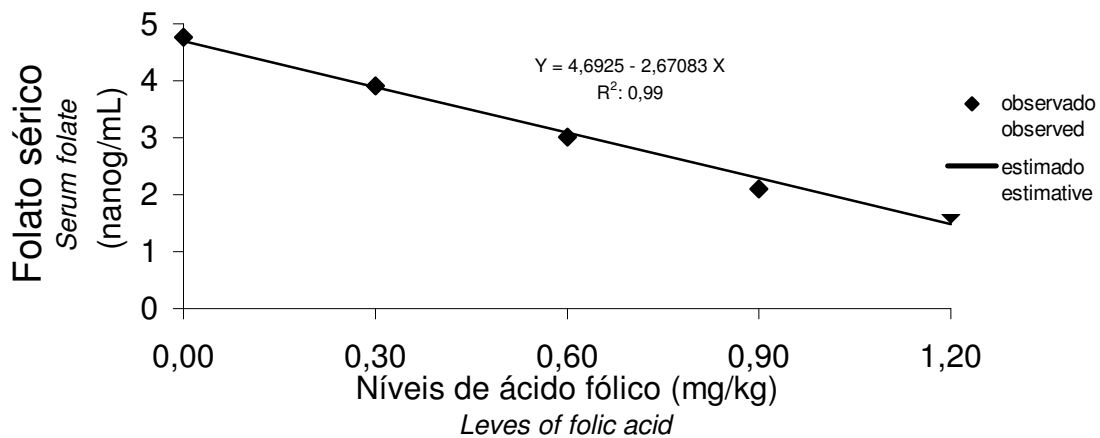
O contraste entre os resultados deste trabalho e os apresentados pela literatura pode ser devido a não especificação da forma de folato determinada pela avaliação laboratorial, dificultando a comparação com formas definidas em estudos anteriores. Para uma maior acurácia do conhecimento do status de folato e suas unidades metabólicas de interconversão fazem-se necessárias maiores investigações para os métodos de análise de detecção de folato sanguíneo para suínos, como sugerido por Mizuno et al. (2000). Harper et al. (2003) observaram um aumento na concentração de formas distintas de folato no sangue comparando formas reduzidas e oxidadas de suplementação de ácido fólico para porcas, no entanto sem apresentar efeito sobre parâmetros reprodutivos, sugerindo não haver correlação entre o status fólico e índices de produção. Neste caso, a suplementação de fontes reduzidas de ácido fólico aumentou a concentração plasmática de folatos mais efetivamente que as fontes oxidadas.

Tabela 04: Parâmetros hematológicos de leitões aos 49 dias de idade em função dos níveis de ácido fólico em dietas com ácido fórmico

Table 04: Hematological parameters of piglets at 49 days old in function of levels of folic acid in diets with formic acid

Hemograma HEMOGRAM	Níveis de ácido fólico (mg/kg de ração) <i>Levels of folic acid (mg/kg of ration)</i>					C.V. (%)
	0,0	0,30	0,60	0,90	1,20	
Hematócrito* (%) HEMATOCRIT	34,6000	34,9500	35,0425	36,1000	41,0750	8,17
Hemoglobina* (g %) HEMOGLOBIN	10,8650	10,7850	10,7850	11,3125	12,7500	8,90
Hemácias*(milhões/mm ³) <i>Red cell</i>	5,8700	5,9575	6,0750	6,3275	6,9375	8,08
VCM (μ ³) <i>MCV</i>	59,0027	58,6636	57,6512	58,2292	59,4406	5,73
HCM (μμg) <i>MCH</i>	18,2263	17,8018	17,9233	18,2908	18,4364	4,57
CHCM (%) <i>MCHC</i>	31,4064	30,7935	30,7967	31,3332	31,0257	2,25
Leucócitos (mm/3) <i>Leukocytes</i>	17,4250	17,5625	18,3750	18,9150	20,8000	36,4

*Efeito linear (P<0,05). *Linear effect.*



C.V. (%) : 49,06

Figura 02 – Concentração de folato sérico de leitões aos 49 dias de idade em função dos níveis de ácido fólico de dieta com ácido fórmico.

Figure 02 – Concentration of serum folate of piglets at 49 days old in function of levels of folic acid in diet with formic acid.

Uma diminuição da concentração de folatos após suplementação única e em função do aumento da suplementação de ácido fólico na dieta também foi observada por Matte & Girard (1999). Segundo estes autores, tal fato pode ser possível a partir de uma alteração na absorção das diferentes formas de ácido fólico a nível intestinal, quando níveis altos de ácido fólico são suplementados na dieta, uma vez que o ácido fólico disponível para absorção no intestino é uma combinação de fonte dietética (ácido fólico principalmente sintético) e folatos biliares (formas biológicas reduzidas, Kokue et al. 1998) do ciclo enterohepático, e que esta última fonte é de principal importância para a manutenção do status de folato (Steinberg et al. 1982). Porém, a partir de certo nível de ácido fólico sintético, este se torna um competidor com os folatos biliares por absorção no intestino (Selhub et al. 1984; Kudo et al. 1995). Então, é possível que, com a suplementação dietética de ácido fólico aumentada, uma parte importante de folatos biliares é excretado nas fezes em vez de ser reabsorvido pelo intestino. Parte do ácido fólico sintético absorvido é reduzida dentro da parede intestinal (Arranhe, 1979), mas a maior parte é dirigida para o fígado. Em suínos, a habilidade do fígado para transformar o ácido fólico sintético para seu estado reduzido metabolicamente ativo, é limitada comparada com outros animais como ratos (Kokue et al. 1998).

Segundo Mizuno et al. (1997) a suplementação de ácido fólico sintético (na forma não reduzida e sim oxidada) não aumenta os níveis de folato do plasma após administração oral única e em longo prazo. Para estes pesquisadores três são as hipóteses para tal evento: 1) inibição competitiva na absorção intestinal do ácido fólico com folatos endógenos derivados da circulação enterohepática, já que grandes quantidades de folatos endógenos são recicladas através desta circulação (Steinberg 1984; Shin et al. 1995) e absorvido ativamente na mucosa intestinal; 2) competição de ligação do ácido fólico sobre o tetrahydrofolato para a proteína de ligação de folato no plasma (o ácido fólico entrando no sistema circulatório pode libertar tetrahydrofolato do sítio de ligação de proteína de ligação de folatos, e expondo o tetrahydrofolato a possível degradação na circulação e/ou melhorando a eficiência renal de liberação de tetrahydrofolato); e 3) pobre conversão de ácido fólico para folato reduzido, ou seja, baixa atividade de folato reductase em fígado de suínos, uma vez que administração de dihidrofolato aumenta os níveis de folatos no plasma, enquanto o ácido fólico não (Mizuno et al. 1997).

Conclusões

Dietas para leitões de 21 a 48 dias de idade alimentados com acidificante à base de ácido fórmico devem ser suplementadas com ácido fólico na ordem de 0,64 mg/kg de ração.

A suplementação de ácido fólico aumenta as concentrações de hematócrito, hemoglobina e hemácias de forma linear.

Referências Bibliográficas

- AMBROSI, P., ROLLAND, P.H., BODARD, H. et al. Effects of Folate supplementation in hyperhomocysteinemic pigs. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 34, n. 1, 1999.
- BUCKLEY, W.T. Trace element dynamics. In: MELLO, I.D., FELIX, J.P. **Farm animal metabolism and nutrition**. CAB International 2000.
- CANIBE,N., STEIEN, S. H., ØVERLAND, M., JENSEN, B. B. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. **Journal of Animal Science**. V.79. p.2123–2133, 2001.
- CHIPLONKAR, S.A., AGTE, V.V., MENGALE, S.S. Relative importance of micronutrient deficiencies in iron deficiency anemia. **Nutrition Research**. v.23. p.1355–1367, 2003.
- DOVE, C.R. & COOK, D.A. Water-Soluble Vitamins in Swine Nutrition. In: LEWIS, A.J. & SOUTHERN, L.L. **Swine Nutrition**. 2ª Ed. 2001. p.315-356.
- DUNCAN, J.R. & PRASSE, K.W. **Veterinary Laboratory Medicine**. 2ª Ed. Iowa State University Press. 1986.
- EASTER, R.A., ANDERSON, P.A., MICHEL, E.J., CORLEY, J.R. 1983. Response of gestating gilts and starter, grower and finisher swine to biotin, pyridoxine, folacin and thiamine additions to corn-soybean meal diets. **Nutrition Reports International**. 28:945.
- ECKEL, B., KIRCHGEßNER, M. & ROTH, F.X. Influence of formic-acid on daily weight-gain, feed-intake, feed conversion rate and digestibility .1. Communication investigations about the nutritive efficacy of organic-acids in the rearing of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 67: 93-100. 1992.
- EIDELSBURGER, U., KIRCHGEßNER, M., ROTH, F.X. Influence of fumaric-acid, hydrochloric-acid, sodium formate, tylosin and toyocerin on daily weight-gain, feed-intake, feed conversion rate and digestibility. 11. Investigations about the nutritive efficacy of organic-acids in the rearing of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 68: 82-92. 1992.
- EWAN, R.C. Vitaminas. In: SWENSON, M.J. & REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11ª Edição. 1996. p.456-469.

- GARCIA-NAVARRO, C.E.K. & PACHALY, J.R. **Manual de hematologia veterinária**. 1ª Ed. 1ª Reimpressão. 1998. p.169.
- GANNON, N.J. & LEIBHOLZ, J. The effect of folic acid supplementation on the haematological status of growing pigs. **Pig News and Information**. v.12. n.3. p.484. 1991.
- GIESTING, D.W. & EASTER, R.A. Effect of protein source and fumaric acid supplementation on apparent ileal digestibility of nutrients by young pigs. **Journal of Animal Science**. v.69. p.2497-2503, 1991.
- GUAY, F., MATTE, J. J., GIRARD, C. L. et al. Effect of folic acid and glycine supplementation on embryo development and folate metabolism during early pregnancy in pigs. **Journal of Animal Science**. v.80. p.2134–2143, 2002.
- GRASSMANN, E., ROTH, F.X., KIRCHGESSNER, M. Metabolic effects by dietary use of formic acid. 6. Investigations about nutritive efficacy of organic acids in the rearing of piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.67.(5). p.250, 1992.
- HARPER, A. F., KNIGHT, J. W., KOKUE, E., USRY, J.L. Plasma reduced folates, reproductive performance, and conceptus development in sows in response to supplementation with oxidized and reduced sources of folic acid. **Journal of Animal Science**. v.81. p.735–744, 2003.
- HARPER, A.F., LINDEMANN, M.D., CHIBA, L.I. et al. An assessment of dietary folic acid levels during gestation and lactation on reproductive and lactational performance of sows: a cooperative study. **Journal of Animal Science**. v.72. p.2338-2344, 1994.
- HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais** 19ª Edição. 2000.
- IMLAH, P.; MCTAGGERT, H. S. Hematology of the pig. In: ARCHER, R.K. & JEFFCOTT, L.B. **Comparative Clinical Haematology**. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, 1977. p.271-303.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia. 1993. 417p.
- JOHLIN, F.C., FORTMAN, C.S., NGHIEM, D.D., & TEPHLY, T.R. Studies on the role of folic acid and folate-dependant enzymes in human methanol poisoning. **Molecular Pharmacology**. 31, 557-561. 1987.

- KIRCHGEßNER, M. & ROTH, F.X. Use of formats in the feeding of piglets. 1. Calcium formate. **Landwirtschaft Forsch.** 40: 141-152. 1987a
- KIRCHGEßNER, M. & ROTH, F.X. Use of formats in piglet nutrition. 2. Sodium formate. **Landwirtschaft Forsch.** 40: 287-294. 1987b
- KIRCHGEßNER, M. & ROTH, F.X. Nutritive effect of calcium formate in combination with free acids in the feeding of piglets. **Agrobiological Research.** 43: 53-64. 1990.
- LÉVESQUE, J., GIRARD, C.L., MATTE, J.J., BRISSON, G.J. Dietary supplements of folic acid: blood and growth responses of white veal calves. **Livestock Production Science**, 34 (1993) 71-82 71.
- LETENDRE, M., GIRARD, C.L. MATTE, J.J. & BERNIER, J.F. Effect of intramuscular injections of folic acid on folates status and growth performance of weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science.** 71. 1223-1231. 1991.
- LIMA, G.J.M.M. Uso de Aditivos na Alimentação de Suínos. In: Simpósio sobre as Implicações do Uso de Aditivos na Produção Animal. **Anais...** Piracicaba, novembro de 1999. p.51 a 68.
- LINDEMANN, M.D., BLODGETT, D.J., KORNEGAY, E.T., SCHURING, G.G. Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. **Journal of Animal Science.** 71, 171. 1993.
- LINDEMANN, M.D. & KORNEGAY, E.T. Folic acid additions to weanling pig diets. **Journal of Animal Science.** 63 (Supl. 1): 35 (Abstract).1986.
- MAKAR, A.B., TEPHLY, T.R., SAHIN,G., OSWEILLER, G Formate metabolism in young swine. **Toxicology and Applied Pharmacology.** 105:315. 1990.
- MATTE, J. J., & GIRARD, C. L. Effects of intramuscular injections of folic acid during lactation on folates in serum and milk and performance of sows and piglets. **Journal of Animal Science.** 67:426–431. 1989.
- MATTE, J. J. and GIRARD, C. L. An estimation of the requirement for folic acid in gestating sows: the metabolic utilization of folates as a criterion of measurement. **Journal of Animal Science.** 77:159–165. 1999.

- MATTE, J.J., GIRARD, C.L., TREMBLAY, G.F. Effect of long-term addition of folic acid on folate status, growth performance, puberty attainment, and reproductive capacity of gilts. **Journal of Animal Science**. 71:151-157. 1993.
- McDOWELL, L.R. **Vitamins in Animal Nutrition**. Academic. Press, San Diego, CA. 1989. 486p.
- McDOWELL, L.R. **Vitamins in Animal and Human Nutrition**. Yowa State University Press, Yowa. 2000. 793p.
- MIZUNO, Y., E. KOKUE, N. OHNISHI, AND Y. TORIDE. 1997. Effect of oral administration of folate sources on plasma folate levels in pigs: Comparison between reduced and oxidized forms of folate. **Can. J. Anim. Sci.** 77:497-502.
- MROZ, Z. Acidifiers, phytases and their interactions in feeding of pigs and poultry. **Technical meeting on additives and new feed technologies, effects of their interactions and specifications of use**. Madrid, Espana. 2002. 51p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) **Nutrient requirement of swine**. 10^a Edição. Washington, National Academy of Sciences, 1998. 189p.
- PARDINI, H. **Manual de coleta e exames veterinários**. H.Pardini, Instituto de Patologia Clínica. Divisão Veterinária. Belo Horizonte. 2003a. 56p.
- PARDINI, H. **Guias de referências para exames veterinários**. H.Pardini, Instituto de Patologia Clínica. Divisão Veterinária. Belo Horizonte. 2003b. 1825p.
- PARTANEN, K. Organic Acids-Their Efficacy and Modes of Action in Pigs. In: PIVA, A., BACH KNUDSEN, K.E., LINDBERG, J.E. **Gut Environment of pigs**. 2001. p. 201 a 217.
- PAULICKS, B.R., ROTH, F.X., KIRCHGEßNER, M. Dose effects of potassium diformate (Formi(TM) LHS) on the performance of growing piglets. **Agribiological Research**. 49 (4): 318-326. 1996.
- PAULICKS, B. R. ROTH, F. X., KIRCHGESSNERJ, M. Effects of potassium diformate (Formi 1 LHS) in combination with different grains and energy densities in the feed on growth performance of weaned piglets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 84, 102-111. 2000.

- POLÖNEN, I.; VAHTERISTO, L.T.; TANHUANPÄÄ, E.J. Effect of Folic Acid Supplementation on Folate Status and Formate Oxidation Rate in Mink (*Mustela vison*). **Journal of Animal Science**. 75:1569-1574. 1997.
- POLÖNEN, I; VALAJA, J.; JALAVA, T. et al. Effect of hepatic folic acid status on formic acid metabolism in blue foxes (*Alopex lagopus*). **Animal Feed Science and Technology**. 99: 189-194. 2002.
- ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L. et al **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos; tabelas brasileiras**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa,2000. 141p.
- SELHUB, J. & ROSENBERG, I.H. Folic Acid. In: **Present Knowledge of Nutrition**. 7^a Ed. 1996. Ziegler, E. E. & Filer, L.J. Eds. International Life Sciences Institute, Washington, D.C., 206-219.
- STEINBERG, S. E., C. L. CAMPBELL, and R. S. HILLMANN. 1982. The role of the enterohepatic cycle in folate supply to tumour in rats. **Br. J. Haematol**. 50:309-316
- SWENSON, M.J. Propriedades fisiológicas e componentes químicos e celulares do sangue. In: **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11^a Edição.1996. 856p.
- TEIXEIRA, M.P., SILVA, G.F., LOPES, D.C., CORASSA, A., TEIXEIRA, A.O., BÜNZEN, S., PENA, S.M., GATTAS, G., COSTA, L.F. Avaliação de ácidos orgânicos e inorgânicos em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. In: XXXX Reunião Anual da SBZ, **Anais...**Santa Maria, RS:SBZ, 2003.
- TEPLY, T.R. The toxicity of methanol. **Life Sciences**. 48. 1031-1041. 1991.
- TSILOYIANNIS, V.K., KYRIAKIS, S.C., VLEMMAS, J., SARRIS, K. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea. **Research in Veterinary Science** 70, 287–293. 2001.
- TUMBLESON, M.E., SCHMIDT, D.A., SCHOLL, E. Hematology and clinical chemistry. In: LEMAN, A. D. **Diseases of Swine**. 6^a Ed. 1986. Iowa State University Press.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. SAEG - **Sistema para Análises Estatísticas e Genética**. Versão 8.0. Viçosa-MG: 1999. (Manual do usuário).
- VERGDUT BV. The Netherlands. E-mail: sales@verdugt.nl. **Acid binding capacity in feedstuffs**. 2002

Conclusões gerais.

Dietas suplementadas com mananligossacarídeos ou combinação de mananligossacarídeos com acidificante + probiótico propiciam ganho de peso, conversão alimentar e altura de vilosidades ao nível de duodeno semelhantes a dietas suplementadas com colistina e avilamicina para leitões de 21 a 49 dias de idade em condições de desafio sanitário, possibilitando com isto a substituição aos antibióticos.

Dietas para leitões de 21 a 48 dias de idade alimentados com acidificante à base de ácido fórmico devem ser suplementadas com ácido fólico na ordem de 0,64 mg/kg de ração. A suplementação de ácido fólico aumenta as concentrações de hematócrito, hemoglobina e hemácias de forma linear.