

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ANNA PAULA HOLZMANN MASS

**USO DE ÓLEOS FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PORCAS LACTANTES E
LEITAGADAS**

**PONTA GROSSA – PR
2019**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRARIAS
PROGRAMA DE POS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

ANNA PAULA HOLZMANN MASS

**USO DE ÓLEOS FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PORCAS LACTANTES E
LEITEGADAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre na Universidade
Estadual de Ponta Grossa, Zootecnia (Produção
animal). Orientadora: Profa. Dra. Cheila Roberta
Lehnen

**PONTA GROSSA - PR
2019**

M414 Mass, Anna Paula Holzmann
 Uso de óleos funcionais na alimentação de porcas lactantes e
 leitegadas/ Anna Paula Holzmann Mass. Ponta Grossa, 2019.
 60 f.; il.

 Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Área de concentração –
 Produção Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

 Orientadora: Profa. Dra. Cheila Roberta Lehen.

 1. Suinocultura. 2. Óleo funcional. 3. Nutrição. I. Lehen,
 Cheila Roberta. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa -
 Mestrado em Zootecnia. V. T.

CDD : 636.084

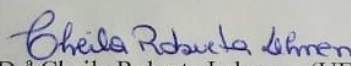


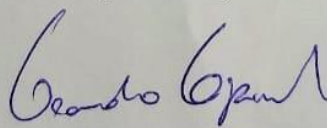
TERMO DE APROVAÇÃO

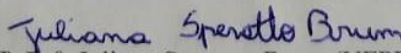
ANNA PAULA HOLZMANN MASS

“USO DE ÓLEOS FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PORCAS LACTANTES E LEITEGADAS”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no dia 28 de fevereiro de 2019, pela seguinte banca examinadora:


Prof.^a. Dr.^a. Cheila Roberta Lehen - (UEPG)
(Orientador)


Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski (UEPG)
(Membro)


Prof.^a. Dr.^a. Juliana Sperotto Brum (UFPR)
(Membro)

Ponta Grossa, 28 de fevereiro de 2019.

À minha mãe, Liza e a minha madrinha Solange Barros (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Dra. Cheila Roberta Lehen, por toda atenção, acolhimento, paciência (muita) e carinho comigo durante esses 2 anos.

À minha mãe Liza, meus avós Arnaldo e Lizone e minha irmã Bárbara, por toda paciência com meus estresses e todo auxílio durante trabalhos e apresentações, mesmo não entendendo muito do assunto.

Às alunas Vitória Weege e Leticia Galvão Matoso, que me ajudaram firmemente em toda a execução do meu projeto, pesando leitão, anotando dados, chorando junto comigo, sem vocês não seria possível.

À Professora Dra. Raquel Abdallah da Rocha Oliveira e a aluna Rafaela Hilgemberg, que me ajudaram muito com as análises de parasitologia.

À Cooperativa Frísia Agroindustrial e à Oligo Basics, que acreditaram no nosso trabalho para execução do projeto.

A todos os funcionários da UPL Frísia, que dedicaram seu tempo e atenção ao meu projeto.

À CAPES pela bolsa concedida.

À Dra. Juliane Diniz Magalhães, que fez de tudo possível para conseguir recursos financeiros para execução do projeto e que nos ajudou nas coletas de amostras.

A todos de que alguma maneira contribuíram para que meu trabalho fosse possível de ser exequível e escrito.

Muito obrigada!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”. (Arthur Schopenhauer)

RESUMO

O trabalho tem como objetivo avaliar o uso de óleos de casca de caju e mamona na alimentação de porcas lactantes e suas leitegadas funcionais sobre o desempenho zootécnico, microbioma e imunidade celular. Foram utilizadas 40 porcas de diferentes ordens de parto. O período experimental foi de 28 dias. NC: controle negativo, dieta comercial sem antibiótico para leitões e porcas; FOPig: dieta com óleos funcionais (FO) para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas FO para porcas e leitões; ANTPig: dieta com antibiótico para leitões. Uma maior perda de peso nas primíparas foi confirmada pela variação da perda de peso na lactação em relação ao peso ao parto, as quais perderam cerca de 10% ($p < 0,01$) do seu peso vivo ao final da primeira lactação). Porcas que consumiram o óleo funcional na dieta (FOSow) tiveram a menor variação ($p < 0,05$) na perda de peso. Um maior ($p < 0,01$) catabolismo proteico ocorreu em fêmeas ANTPig a quais ainda apresentaram maior perda de peso e de espessura de toucinho durante a lactação. Em relação às fêmeas que receberam óleos funcionais na dieta ou suas leitegadas, fêmeas ANTPig apresentaram mobilização proteica 43% superior. A taxa de mortalidade, considerando leitões mortos por fraqueza, inanição e diarreia, foi 83% inferior ($p < 0,05$) em leitões FOAll (porcas e leitões recebendo óleos funcionais na dieta) em relação aos leitões alimentados com dietas contendo antibiótico. A incidência de diarreia foi maior no grupo onde somente a porca fez ingestão de óleo funcional (FOSow) quando comparada ao uso tanto na porca quanto no leitão ($P < 0,05$). Um aumento significativo do filo Proteobacteria foi observado em leitões NC quando comparado aos demais grupos. Foram observados 4075 organismos únicos no grupo de suínos FOSow, sendo o grupo com maior número de organismos únicos, mostrando assim uma diferenciação quando comparado aos outros grupos. Referente à biodiversidade das comunidades bacterianas, foi observada uma diminuição ($P < 0,05$) significativa da riqueza da microbiota no grupo ANTPig em relação aos demais tratamentos. Os linfócitos T duplo-marcados apresentaram concentrações maiores ($P < 0,05$) em leitões NC aos 4 dias de idade em relação aos leitões ANTPig. Leitões FOAll diferem de leitões NC, porém são semelhantes aos leitões ANTPig. Já as concentrações de macrófagos foram maiores ($P < 0,05$) em leitões FOPig em relação aos leitões NC, FOAll e FOSow aos 4 dias após nascimento. Aos 21 dias, a concentração de linfócitos B foi superior em leitões NC comparadas aos demais tratamentos. Com relação a histologia intestinal, a espessura epitelial do duodeno de NC (1,02) foi menor do que os grupos nos quais continha óleo funcional. A presença de células calciformes foi 21% maior no grupo FOSow com relação ao NC, $p < 0,05$. O FOPig apresentou um 57% mais número de infiltrados epiteliais com relação ao ANTPig, $p < 0,05$. FOAll apresentou maior congestão do duodeno quando comparado aos demais grupos com óleo funcional e o NC. Os benefícios dos óleos funcionais são reconhecidos na sanidade das leitegadas. Os mesmos atuam de forma sistêmica com alteração da microbiota intestinal, modificações histológicas no epitélio intestinal e resposta imunomoduladora.

Palavras-chave: Suinocultura. Óleo funcional. Nutrição.

ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate the use of cashew and castor oil oils in the feeding of lactating sows and their functional litters on zootechnical performance, microbioma and cellular immunity. 40 sows of different birth orders were used. The experimental period was 28 days. NC: negative control, non-antibiotic commercial diet for piglets and sows; FOPig: diet with functional oils (FO) for piglets; FOSow: diet with FO for sows; FOAll: FO diets for sows and piglets; ANTPIG: antibiotic diet for piglets. Greater weight loss in primiparas was confirmed by the variation of weight loss in lactation in relation to birth weight, which lost about 10% ($p < 0.01$) of their live weight at the end of the first lactation). Sows that consumed the functional oil in the diet (FOSow) had the lowest variation ($p < 0.05$) in weight loss. A higher ($p < 0.01$) protein catabolism occurred in ANTPIG females, which still presented greater weight loss and backfat thickness during lactation. In relation to the females that received functional oils in the diet or their litters, ANTPIG females presented protein mobilization 43% higher. The mortality rate, considering dead piglets due to weakness, starvation and diarrhea, was 83% lower ($p < 0.05$) in FOAll piglets (sows and piglets receiving functional oils in the diet) than piglets fed diets containing antibiotics. The incidence of diarrhea was higher in the group where only the sow made functional oil intake (FOSow) when compared to both pig and piglet use ($P < 0.05$). A significant increase of Proteobacteria filo was observed in NC piglets when compared to the other groups. A total of 4075 unique organisms were observed in the FOSow pig group, being the group with the highest number of single organisms, thus showing a differentiation when compared to the other groups. Regarding the biodiversity of bacterial communities, a significant ($P < 0.05$) decrease in the richness of the microbiota in the ANTPIG group was observed in relation to the other treatments. Double-labeled T lymphocytes had higher concentrations ($P < 0.05$) in NC piglets at 4 days of age in relation to ANTPIG piglets. FOAll piglets differ from NC piglets, but are similar to ANTPIG piglets. Macrophage concentrations were higher ($P < 0.05$) in FOPig piglets compared to NC, FOAll and FOSow piglets at 4 days after birth. At 21 days, B lymphocyte concentration was higher in NC piglets compared to the other treatments. Regarding intestinal histology, the epithelial thickness of the CN duodenum (1.02) was smaller than the groups in which it contained functional oil. The presence of calciform cells was 21% higher in the FOSow group than in the NC, $p < 0.05$. FOPig presented a 57% more number of epithelial infiltrates than ANTPIG, $p < 0.05$. FOAll presented greater congestion of the duodenum when compared to the other groups with functional oil and NC. The benefits of functional oils are recognized in the sanity of litters. They act in a systemic way with alteration of the intestinal microbiota, histological modifications in the intestinal epithelium and immunomodulatory response.

Keywords: Swine breeding. Functional oil. Nutrition

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Incidência de diarreia entre leitegadas de porcas lactantes e leitões alimentados com dietas contendo óleos funcionais.....	38
Figura 2 -	Comparação pareada entre tratamentos em que os filos bacterianos Proteobacteria e Spirochaetae.....	40
Figura 3 -	Gêneros bacterianos que variam significativamente entre grupos.....	43
Figura 4 -	Diagrama de Venn com “Core microbiota”	44
Figura 5 -	Riqueza das comunidades bacterianas, constituição de microbiota em relação a classificação gram, negative e positive.....	46
Figura 6 -	Porcentagem circulante de células imunes.....	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Desempenho, mobilização lipídica e proteica de porcas lactantes alimentadas com dietas contendo ou não óleos funcionais.....	34
TABELA 2 -	Desempenho de leitegadas de porcas lactantes e leitões alimentadas com dietas contendo óleos funcionais.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANTPig	Leitões com antibiótico na dieta
CD4	Linfócitos T auxiliares
CD8	Linfócitos T citotóxicos
E. coli	Escherichia Coli
ET	Espessura de toucinho
FOAll	Leitões e porcas alimentados com óleo funcional
FOPIg	Leitões alimentados com óleo funcional
FOSow	Porcas alimentadas com óleo funcional
IG	Intestino grosso
NC	Tratamento controle
OTUs	Unidades taxonômicas operacionais

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
1.1 SAÚDE INTESTINAL: ASPECTOS ANÁTOMO MORFOFISIOLÓGICOS E DE MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL DE LEITÕES LACTENTES.....	12
1.1.1 Anatomia e Fisiologia Intestinal.....	12
1.1.2 Microbiota.....	15
1.1.3 Imunidade.....	16
1.2 DIARREIAS NEONATAIS E DA FASE DE ALEITAMENTO.....	19
1.3 ÓLEOS FUNCIONAIS.....	21
REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 2 - USO DE ÓLEOS FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PORCAS LACTANTES E SUAS LEITEGADAS.....	26
2.1 INTRODUÇÃO.....	26
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.2.1 Animais, Alojamento e Delineamento Experimental.....	27
2.2.2 Variáveis Mensuradas e Estimadas.....	28
2.2.3 Eutanasia.....	28
2.2.4 Microbioma Cecal.....	29
2.2.5 Avaliação da Imunidade Celular.....	30
2.2.6 Análises de Histologia.....	30
2.2.7 Análises de Estatística.....	31
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
2.3.1 Desempenho de Porcas Lactantes e Leitegadas.....	31
2.3.2 Microbiota Intestinal.....	38
2.3.3 Imunidade Celular.....	47
2.4 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS.....	53
APÊNDICE A - DESEMPENHO FRENTE AO CONTROLE.....	56

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 SAÚDE INTESTINAL: ASPECTOS ANÁTOMO MORFOFISIOLÓGICOS E DE MICROBIOTA DO TRATO GASTROINTESTINAL DE LEITÕES LACTENTES

Saúde intestinal pode ser descrita como homeostase no trato gastrointestinal, no que diz respeito a sua estrutura e funções (PLUSKE; TURDIN; KIM 2018). As definições de saúde intestinal, geralmente estão associadas a agentes patogênicos que causam, clinicamente ou subcl clinicamente uma doença, mortalidade e morbidade em suínos, causando assim perdas econômicas. A saúde intestinal, pode ser comprometida não somente pela manifestação de doenças (BISCHOFF, 2011), o baixo consumo de ração, após o desmame, que causa ausência de nutrientes no lúmen, o estresse e outros desafios associados ao desmame, também causam alterações nas funções e estruturas do trato gastrointestinal (CELI et al, 2017; DONG; PLUSKE, 2007). O período do desmame, não somente causa mudanças estruturais e funcionais, como também contribui para uma reação inflamatória, que pode comprometer a arquitetura das vilosidade e criptas, e alterações na microbiota intestinal (CAMILLERI et al, 2012).

Bischoff (2011) possui uma definição de 5 critérios para saúde intestinal: digestão e absorção eficaz dos alimentos, ausência de doenças gastrointestinais, microbioma intestinal normal e estável, estado imune efetivo e bem-estar. O trato gastrointestinal desempenha papel importante na regulação das funções imunológicas do indivíduo, sendo vitais para o funcionamento biológico e a homeostase do trato gastrointestinal e de todas as funções do corpo do animal (PLUSKE; TURDIN; KIM 2018).

1.1.1 Anatomia e Fisiologia Intestinal

O intestino delgado dos suínos possui algumas camadas principais: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A mucosa é composta de muscular da mucosa, lâmina própria e epitelial. A muscular da mucosa interna fica disposta ao longo do intestino, enquanto a camada externa o circunda. São encontrados neurônios do

sistema nervoso entérico e endócrino ao longo da lâmina própria, assim como, células do sistema imune (placas de Peyer, vasos sanguíneos e linfáticos). Os enterócitos formam uma camada única epitelial, e são ligados por junções firmes. A partir desta camada única, que se projeta para dentro do lúmen, são formados os vilos, e na base dos mesmos, se formam as criptas de Lieberkuhn. Em suínos, o comprimento dos vilos aumenta do duodeno até a porção média do jejuno e diminui na porção final do íleo (DANIEL et al, 2014).

Duas membranas celulares formam os enterócitos, uma apical, que possui sua superfície para luz intestinal e a outra basolateral, que é para a lâmina própria. A apical, possui microvilosidades e comumente é chamada de bordadura em escova (referência a aparência microscópica), na qual pode aumentar a área de superfície para absorção de nutrientes. Em leitões, a taxa de renovação epitelial é alta podendo ser totalmente renovada entre 3 a 4 dias (DANIEL et al, 2014). Essa alta taxa de renovação celular é responsável pela defesa inata do organismo contra ameaças luminas, como bactérias intestinais. O turnover das células epiteliais e a atividade secretora podem ser afetados pelo números e tipos de bactérias gastrointestinais. As funções de defesa inata são proporcionadas através da eficiência do crescimento do animal (CHOWDHURY et al., 2007).

O intestino grosso (IG), não possui em sua mucosa epitelial vilos, mas sim pequenas projeções de epitélios colunares, com borda estriada que contém microvilos. O intestino grosso não possui a função de secreções digestiva, porém possuem uma grande quantidade de células caliciformes, que secretam muco, auxiliando na lubrificação. A renovação desta porção intestinal ocorre entre 4 a 8 dias (DANIEL et al, 2014). O IG possui como função proporcionar condições para o desenvolvimento microbiano e reabsorção de água e eletrólitos (DANIEL et al., 2014). A mucosa do trato gastrintestinal é diariamente exposta a uma quantidade imensa de antígenos, provenientes dos alimentos ingeridos, bactérias, vírus, entre outros. O epitélio que reveste o lúmen do intestino, tem funções conflitantes, possui o papel importante de digestão e absorção de nutrientes, porém, ao mesmo tempo, desempenha um papel de barreira de organismos entre o meio interno e externo. Em circunstâncias fisiológicas, o epitélio, permite que somente uma pequena quantidade de antígenos atravessem a mucosa, para que possam interagir com o sistema imune da mucosa. Durante uma enfermidade, como a doença inflamatória

intestinal, a penetração excessiva de antígenos através da camada epitelial pode resultar em estimulação imunológica inadequada, levando à inflamação gastrintestinal crônica (SODERHOLM; PERDUE, 2001). Os microrganismos presentes no intestino grosso podem realizar a digestão do conteúdo que não pode ser digerido no intestino delgado, podendo gerar ácidos graxos de cadeia curta, gerando energia ao animal (DANIEL et al., 2014).

A principal função do sistema gastrointestinal é digerir e assimilar os nutrientes contidos nos alimentos. Estes são utilizados para manutenção basal corporal e reparo de tecidos, além do crescimento tecidual (muscular e adiposo). Para que os processos de digestão e absorção ocorram devidamente no intestino delgado, algumas condições devem ser atendidas (manutenção do pH, equilíbrio de microflora, entre outros). Cabem às secreções do intestino auxiliar neste aspecto, de forma a neutralizar o pH ácido do quimo proveniente do estômago, lubrificar o quimo e deixar o meio aquoso (DANIEL et al., 2014).

Para garantir a saúde dos suínos, a função do epitélio intestinal, que é a de atuar como uma barreira entre o ambiente externo e o interno do intestino, deve estar em equilíbrio (CAMILLERI et al, 2012). A microbiota intestinal e o estado de imunidade dos animais, são fatores que de maneira importantíssima influenciam na função da barreira intestinal (IVANOV; LITTMAN, 2011). Quando há alterações na microbiota do intestino, isto pode resultar em aumento do estímulo imunológico, desregulação epitelial causando aumento da permeabilidade da mucosa (LITTMAN; PAMER, 2011). O aumento da permeabilidade intestinal é uma das causas em potencial de patologias gastrointestinais, disfunções de alguns órgãos, translocação bacteriana, entre outros problemas (CAMILLERI et al, 2012).

O intestino possui diversas barreiras físicas, fisiológicas, enzimáticas e imunológicas, sendo controladas neuro-hormonalmente, sendo assim, susceptível a qualquer agente estressor. A camada de células epiteliais contínuas, interligadas por junções estreitas, restringe a permeação celular de moléculas, constituindo assim o principal componente da barreira intestinal. Além disso, o epitélio exerce uma importante defesa fisiológica pela secreção de líquido e muco, juntamente com IgA secretora, no lúmen para diluir, lavar e ligar substâncias nocivas. (SODERHOLM; PERDUE, 2001).

1.1.2 Microbiota

Inúmeros fatores influenciam a diversidade e a atividade da microbiota do trato gastrointestinal. Entre eles, a colonização associada a população microbiana, idade do suíno, meio ambiente, agentes antimicrobianos, composição da dieta, uso de aditivos alimentares, o método de processamento da ração, carga de doenças, desmame, estação do ano, estresse e genética.

A microbiota desempenha papel fundamental na saúde e crescimento dos animais, diminuindo doenças inflamatórias, imunes e infecciosas (MULDER et al 2009). A microbiota está intimamente envolvida na relação entre as bactérias entéricas e o hospedeiro, com a química e a distribuição de sítios de ligação bacteriana nas superfícies mucosas do intestino desempenhando papéis importantes na determinação da suscetibilidade do hospedeiro e tecido e no desencadeamento de respostas do hospedeiro, especialmente em animais jovens (CELI et al, 2017). Parte da discussão em relação à microbiota e à saúde intestinal concentra-se em bactérias "boas" versus "ruins" e seu impacto na estrutura e função do trato gastrointestinal, porém a presença ou ausência de um organismo patogênico pode não necessariamente predizer que a doença ocorrerá, a menos que a população prolifere a ponto de sobrecarregar a população microbiana geral (PLUSKE; TURDIN; KIM 2018). O microbioma, que é representado pela informação genômica da microbiota, representa um compromisso entre a funcionalidade da barreira, síntese de nutrientes e melhor aproveitamento energético dos alimentos (CELI et al, 2017; PLUSKE; TURDIN; KIM 2018).

A colonização microbiana do intestino do leitão começa imediatamente após o nascimento. Colonização inicial por *E. coli* e *Streptococcus* spp. cria um ambiente anaeróbico para colonizadores subsequentes como *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus*. Os microrganismos que realmente colonizam dependem das exposições, incluindo a porca e todos os aspectos do ambiente do leitão. A colonização depende não apenas dos microrganismos que são introduzidos, mas também do seu tempo, pois exposições repetidas durante o desenvolvimento resultam em uma microbiota diferente de uma única exposição ao mesmo inóculo. Um microrganismo benéfico conhecido, o *Lactobacillus*, predomina no intestino delgado de leitões até o desmame e é um dos principais agentes na prevenção de

doenças. A introdução de dietas à base de cereais ao desmame causa mudanças drásticas na microbiota. O processo de desmame altera a composição e a capacidade funcional do microbioma, assim como estresses causados por mudanças radicais de dieta (GUEVARRA et al, 2018). Dentro das bactérias que podem colonizar o intestino encontram-se as *Fusobacterium spp* (WITTE et al., 2017), assim como bactérias que são bastante utilizadas como próbióticos para melhorar a saúde e a resistência à infecções *Lactobacillus spp* (WANG; DONG; ZHU, 2012), e também as que são comensais do intestino grosso dos recém-nascidos (MATAMOROS et al., 2013).

1.1.3 Imunidade

O sistema imune dos mamíferos é composto por dois ramos: imunidade inata e imunidade adquirida. O sistema imune inato é a primeira linha de defesa do hospedeiro contra patógenos e é mediado por fagócitos, incluindo macrófagos e células dendríticas. A imunidade adquirida está envolvida na eliminação de patógenos na fase tardia da infecção, bem como na geração de memória imunológica. A imunidade adquirida é caracterizada pela especificidade e se desenvolve por seleção a partir de um vasto repertório de linfócitos contendo receptores específicos de antígeno que são gerados através de um mecanismo geralmente conhecido como rearranjo gênico. A resposta imune inata não é completamente inespecífica, mas é capaz de discriminar entre o que é do organismo e uma variedade de patógenos. O sistema imune inato reconhece microrganismos através de um número limitado de receptores de reconhecimento de padrões codificados por linha germinativa (AKIRA; UEMATSU; TAKEUCHI, 2006).

A placenta suína é epiteliocorial, composta por seis camadas de células, desta forma, não possui capacidade de transferência imunológica placentária, havendo uma necessidade de ingestão de colostro pelo leitão nos primeiros minutos de vida. Durante a ingestão do colostro nas primeiras 24 horas de vida, são absorvidos pelo intestino macromoléculas (imunoglobulinas IgA, IgG, IgM) que são capazes de proteger o leitão imediatamente após a ingestão (REIS; REIS, 2012; CARON et al., 2014). A ingestão de colostro possui um papel importante no

desenvolvimento imunológico pós-natal de leitões (OGAWA et al., 2016). A absorção deve ocorrer nas primeiras 24 horas de vida, pois após este período não há mais absorção de imunoglobulinas pelo intestino devido a permeabilidade proteica seletiva. Os anticorpos adquiridos através do colostro, podem durar de 6 a 8 semanas nos leitões (REIS; REIS, 2012). O colostro da fêmea suína é composto de 100% da IgG, 40% da IgA e 85% da IgM derivadas do soro da fêmea. Até os 12-21 dias o leitão não produz imunoglobulinas, dependendo totalmente da absorção através da mamada (CARON et al., 2014).

A saúde intestinal relacionada a barreira epitelial e sistema imune da mucosa está interligada com a microbiota e o hospedeiro (PLUSKE; TURDIN; KIM 2018). O sistema imune da mucosa é continuamente desafiado por fatores externos (por exemplo, dieta, temperatura, desafio sanitário) e internos (por exemplo, microbiota). O sistema imune do trato gastrointestinal é regulado por meio de vários mecanismos moleculares, para evitar a ativação excessiva de fatores que acarretem em excesso de líquido e a inflamação em resposta a esses fatores externos e internos. Assim, numerosos tipos de células, como células dendríticas, linfócitos (sistema imune adaptativo), macrófagos e citocinas (sistema imune inato), evoluíram para desempenhar importantes funções na regulação da comunicação entre o microbioma do trato gastrointestinal e seu sistema imune mucoso.

As células epiteliais intestinais atuam como células sentinelas imunes, reconhecendo moléculas sinalizadoras patogênicas e secretando interleucinas e fatores de crescimento (por exemplo, IL-17A, IL-33, IL-23 e fator de crescimento transformador- β), que tem propriedades imunomoduladoras importantes. O tecido linfóide associado ao intestino (GALT) constitui o maior órgão imunológico do corpo, onde cerca de 70% das células imunes são formadas no intestino. Dessa forma, o sistema imune do trato gastrointestinal responde de forma rápida e fortemente a qualquer violação na função de barreira ou no caso de um desafio patogênico / antigênico, para mobilizar respostas imunes inatas e adaptativas, o que é crítico na prevenção da disseminação sistêmica de infecção e inflamação (PLUSKE; TURDIN; KIM 2018).

Existem três tipos de leucócitos sensíveis a antígeno. As células T auxiliares, que possuem funções de regulação de resposta imune; as células T citotóxicas, que destroem os antígenos endógenos; e as células B, que produzem anticorpos para

destruição de antígenos exógenos (TIZART, 2002). As células T auxiliares são induzidas por citosinas efetoras para se diferenciar em dois tipos Th1 e Th2, e posteriormente transmitirem sinais para macrófagos e células B, para eliminação do patógeno. As células B circulam em poucas quantidades no sangue, e cada célula possui a capacidade de ligação somente com um único antígeno (TIZART, 2002). Animais não sensíveis apresentam um número reduzido de célula T, havendo uma resposta imune somente local, nos sítios de captura, por exemplo linfonodos. Porém, quando os animais já são sensíveis, há uma abundância de células T maduras, e as mesmas podem migrar por todos os tecidos corporais (TIZART, 2002).

As células duplo-marcadas (CD4+CD8+) são uma particularidade dos suínos vista muito raramente em outros mamíferos. Há forte evidência que essas são células que já passaram pelo processo de ativação, sendo talvez células ainda ativadas ou de memória, capazes de responder a infecções. Segundo a literatura, estão presentes em níveis próximos de 2% na primeira semana de vida aumentando para 30-55% até os 3 anos de idade. Com a maturidade, essas células passam a ser cada vez mais importantes para a imunidade local, estando presente em grandes quantidades nos órgãos linfoides periféricos (ZUCKERMANN,1999). As células auxiliares (CD4+CD8-) são responsáveis por direcionar a resposta imune, com especial relevância para a resposta humoral, enquanto que as células citotóxicas (CD4-CD8+) possuem atividade tóxica contra células do hospedeiro infectadas por patógenos intracelulares, entre outras atividades (JANEWAY et al, 2001). A razão entre as células CD4 e CD8 indica um balanço na atividade imune. Em humanos, esse valor é frequentemente associado com imunocompetência, e valores baixos podem estar conectados com maior mortalidade por causas inespecíficas (HUPPERT et al, 2003; PAWELEC,1999; PAWELEC et al, 2002). Os monócitos/macrófagos executam a quebra e apresentação de antígenos estranhos ao hospedeiro, interagindo diretamente com os linfócitos auxiliares. Nesta interação ocorre a ativação e proliferação dos linfócitos auxiliares, que irão realizar suas atividades, dentre as quais, estimular os linfócitos B a produzirem anticorpos (JANEWAY et al, 2001).

O equilíbrio entre a saúde intestinal do leitão e seu ambiente externo está intimamente ligado a presença ou não de agentes estressores, como alterações no ambiente de alojamento, presença de novos patógenos no hospedeiro, queda da

imunidade associada a condições estressoras como mudanças bruscas de temperatura e de dieta. Assim, com a maior susceptibilidade dos leitões, bactérias como a *Escherichia coli* se multiplicam e causam a diarreia neonatal e infecciosa em leitões lactentes.

1.2 DIARREIAS NEONATAIS E DA FASE DE ALEITAMENTO

Bactérias agressoras que produzem enterotoxinas consistem em determinadas cepas de *Escherichia coli*. A *E. coli* é uma bactéria que está presente em grande parte dos sistemas de produção de suínos. Nas fases de maternidade e creche, as diarreias causadas por essa bactéria possuem um alto impacto econômico. Além disso, muitos outros agentes etiológicos causam disfunções no trato gastrointestinal de leitões, induzindo a perda de peso, morbidade e mortalidade durante a fase de aleitamento.

Algumas bactérias produzem toxinas que podem assumir o controle do processo de secreção normal das células das criptas e causar ativação descontrolada e disseminada da secreção dessas células. Como resultado final, as criptas se encontram em um estado de enorme hipersecreção, e as células presentes nas vilosidades apresentam capacidade reduzida de absorção, causando perda maciça de líquidos e eletrólitos nas fezes (GOFF, 2017).

Existem várias doenças que podem acometer os suínos, muitas delas podem acometer o sistema gastrointestinal, dentre elas, a colibacilose neonatal, a colibacilose de terceira semana, a enterotoxemia, a salmonelose e a síndrome da diarreia pós-desmame (SOBESTIANSKY; BARCELLOS, 2012).

A colibacilose neonatal é uma doença de grande importância dentro dos sistemas modernos de produção, provoca um quadro severo de diarreia com um curso quase fatal. O agente etiológico é a *Escherichia coli*, sendo descrito 30 sorotipos diferentes que podem causar a infecção. A *E. coli* é uma bactéria comensal do intestino delgado de suínos, porém quando possui amostras enterotoxigênicas, elas encontram condições de se multiplicar no intestino delgado e se aderem a mucosa, não sendo possível sua eliminação pelo trânsito intestinal normal, podendo ocasionar a morte do animal em 24 horas. A via de infecção é feco-

oral, podendo ser transmitida de um animal ao outro, já as fêmeas suínas geralmente são portadoras assintomáticas. Vários fatores podem agravar a situação, má higiene da granja, dificuldade do leitão a uma fonte de água potável, leitões com dificuldade de mamar o colostro, má higiene da porca ao parto, toque na porca sem a higienização correta das mãos e luvas, temperaturas muito baixas e, correntes de ar frio. Na necropsia pode-se encontrar leite coagulado no estômago, intestino delgado flácido e com conteúdo líquido em excesso de coloração amarelada (MORÉS; BARCELLOS, 2012).

A colibacilose de terceira semana, é causada pela *E.coli*, do patotipo ETEC, porém podem também se associar outras bactérias patogênicas. Rações de baixa digestibilidade podem gerar substrato não digerido que pode funcionar como cultivo para multiplicação de *E. Coli*. Os animais apresentam diarreia líquida a pastosa, com presença de desidratação. Não há lesões significativas quando feito necropsia, somente presença de conteúdo líquido no intestino delgado e pastoso no intestino grosso (MORÉS; MORENO, 2012). Devido aos diversos fatores que acarretam em uma diminuição na imunidade dos leitões, desta forma utiliza-se de promotores de crescimento como uma alternativa a minimizar o impacto desses fatores na produção e crescimento dos leitões.

Os antibióticos estão sendo utilizados como promotores de crescimento, prevenindo doenças entéricas induzidas pelo estresse no desmame (FANG et al., 2009). Por muitos anos, usados em níveis subterapêuticos para prevenir *Salmonella* e *E. coli*, assim como proteger os suínos dos processos causados pelo estresse do desmame, crescimento deficiente, imunidade reduzida e ecossistema intestinal desequilibrado. Os fatores relacionados ao desmame causam severas alterações na histomorfologia do intestino do animal (AHMED et al., 2013).

O antibiótico é amplamente utilizado dentro da suinocultura, porém o seu uso indiscriminado tem causado resistência bacteriana (ZHAI et al., 2018). Nos últimos anos há uma preocupação crescente com relação ao uso de antibióticos na produção animal e seu efeito sobre a saúde humana. Acredita-se que pode haver uma contaminação nos produtos derivados animais (carne, ovos e leite). Desta forma, desde 2006 a União Europeia proibiu o uso de antibióticos na produção de suínos como promotor de crescimento (XU et al., 2018). Desde então, a população

vem buscando produtos menos processados e com menor quantidade de aditivos, porém exigindo a segurança alimentar (NEGI, 2012).

Pelos fatores citados acima, há uma necessidade de novas alternativas para manter o desempenho dos leitões sem o uso de antibióticos. Assim, alternativas como os óleos funcionais podem substituir parcialmente os antimicrobianos de síntese.

1.3 ÓLEOS FUNCIONAIS

Óleos funcionais são aqueles que além da sua atividade energética, podem também promover atividades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (CHENG et al., 2017). Há muitas publicações com o termo óleo essenciais, porém o termo correto são óleos funcionais, pois suas funções podem ser anti-inflamatórias, anti-bacteriostáticas, imunomoduladoras, etc. (BESS et al., 2012). Entre os benefícios destacam-se estímulo a microbiota intestinal e competição com microrganismos patogênicos e melhor aproveitamento dos nutrientes, incluindo a atividade enzimática (XU et al., 2018). Os óleos podem ser efetivos também contra patógenos transmitidos pelos alimentos, principalmente bactérias gram positivas (CALO et al., 2015). Em frangos, os óleos essenciais podem não interferir no consumo de ração sendo estes animais menos sensíveis ao sabor e odor que suínos. Além disso, frangos podem ser mais tolerantes a níveis moderados de óleos essenciais que suínos na dieta (ZHAI et al., 2018). Algumas ervas aromáticas e seus óleos, como o óleo de funcho e algaravia, melhoram o sabor e a palatabilidade do alimento, aumentando a ingestão voluntária e o ganho de peso em suínos em crescimento (SCHÖNE et al., 2006). Efeitos positivos na digestibilidade dos nutrientes foram verificados com o uso de aditivos fitogênicos em frangos (AHMAD et al., 2010) e estímulo de secreção enzimática pelo pâncreas e mucosa intestinal com o uso de óleo de orégano (BASMACIOGLOU et al., 2011). Já em leitões, cinemaldeído e timol melhoram a digestibilidade aparente da proteína bruta e energia (LI et al., 2012). Entretanto, resultados inconsistentes no aproveitamento dos nutrientes podem estar associados a perdas endógenas resultantes da produção de muco induzido pelos extratos vegetais (JAMROZ et al., 2006).

Os óleos funcionais podem potencializar a resposta imune do animal. A suplementação com óleo de feno grego, cravo e canela aumentou as concentrações de IgG em leitões desmamados (CHO et al., 2006). Assim como verificado por Li et al. (2012) que indicou aumento na proliferação de linfócitos e fagócitos e aumento nos níveis de IgG, IgM, IgA, C3 e C4 em leitões desmamados alimentados com dietas contendo óleo com timol e cinemaldeídos. A resposta imunitária em suínos pode estar associada a componentes absorvidos e sua posterior regulação nos mediadores pro-inflamatórios e enzimas envolvidas nas rotas de sinalização como NFkB (nuclear fator kappa B) e MAPS (mitogen-activated protein kinases) (HUANG; LEE, 2018). Sob condições estressantes, o sistema imunológico suprimido é incapaz de lidar, levando à inflamação crônica. Em frangos de corte, há evidências de a inflamação crônica estar associada a doenças bacterianas e estresse por calor (QUINTEIRO-FILHO et al., 2012).

O óleo funcional de mamona e casca de caju é uma alternativa ao uso de antimicrobianos. A molécula farmacológica da mamona é o ácido ricinoleico (MURAKAMI; EYNG; TORRENT, ano), possuindo funções de atividade antimicrobiana (NOVAK et al, 1961), pró-inflamatórias e anti-inflamatória (VIEIRA et al, 2001). A casca de caju contém alquifenólico, composto principalmente por ácido anacardico, cardol e metilcardol, possuindo atividade antimicrobiana (KUBO; NIHEI; TSUJIMOTO, 2003).

Em suínos, uma gama de estudos explora os óleos funcionais com base no desempenho e morfometria intestinal, entretanto, utilizar de forma isolada ou combinada, avaliar as diferentes fases de criação e o efeito ambiente podem interferir amplamente nas respostas. Nesse contexto, existe a necessidade de se estudar a utilização dos óleos funcionais, porém em nível anatomofisiológico, resposta imunológica e características de microbiota intestinal, para que haja explicações mais aprofundadas do mecanismo de ação dos óleos funcionais sobre o organismo animal. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de óleos funcionais na dieta de porcas lactantes e leitegadas e seu impacto sobre a fisiologia digestiva, resposta imune e microbioma do ceco de leitões lactentes.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S. T. et al. Effects of Resveratrol and Essential Oils on Growth Performance, Immunity, Digestibility and Fecal Microbial Shedding in Challenged Piglets. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.683-690, 1 maio 2013.
- AKIRA, S.; UEMATSU, S.; TAKEUCHI, O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. **Cell**, [s.l.], v. 124, n. 4, p.783-801, fev. 2006.
- AMAD, A. A. et al. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 12, p. 2811-2816, 2011.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food And Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 46, n. 2, p.446-475, fev. 2008.
- BASMACIOĞLU MALAYOĞLU, H. et al. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. **British Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 67-80, 2010.
- BESS, F. et al. The effects of functional oils on broiler diets of varying energy levels. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 3, p. 567-578, 2012.
- BISCHOFF, S. C. 'Gut health': a new objective in medicine?. **Bmc Medicine**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-14, 14 mar. 2011.
- CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015.
- CAMILLERI, M. et al. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. **Neurogastroenterology & Motility**, [s.l.], v. 24, n. 6, p.503-512, 14 maio 2012.
- CARON, L. F. et al. **Fundamentos de imunologia aplicados a produção de suínos**. In: ABCS (Brasília). Produção de Suínos: Teoria e Prática. Brasília: Qualidade, 2014. Cap. 6. p. 201-245.
- CELI, P. et al. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 234, p.88-100, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012>.
- CHENG, C. et al. Effect of oregano essential oil supplementation to a reduced-protein, amino acid-supplemented diet on meat quality, fatty acid composition, and oxidative stability of Longissimus thoracis muscle in growing-finishing pigs. **Meat Science**, v. 133, n. January, p. 103–109, 2017.
- CHO, J. H. et al. Effects of essential oils supplementation on growth performance, IgG concentration and fecal noxious gas concentration of weaned pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 1, p. 80–85, 2006.
- CHOWDHURY, S. R. et al. Transcriptome profiling of the small intestinal epithelium in germfree versus conventional piglets. **Bmc Genomics**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-16, 2007.
- DANIEL, E. et al. **Anatomia e Fisiologia do Sistema Digestório de Suínos**. In: SAKOMURA, Nilva Kazue et al. Nutrição de Não Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2014. Cap. 2. p. 19-32.
- DONG, G. Z.; PLUSKE, J. R.. The Low Feed Intake in Newly-weaned Pigs: Problems and Possible Solutions. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 3, p.440-452, 24 jan. 2007.

- FANG, J. et al. Dietary supplementation with *Acanthopanax senticosus* extract enhances gut health in weanling piglets. **Livestock Science**, [s.l.], v. 123, n. 2-3, p.268-275, ago. 2009.
- GOFF, J. P.. **Digestão, absorção e metabolismo**. In: REECE, William O. et al. *Fisiologia dos Animais Domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara, 2017. Cap. 13. p. 451-545.
- GUEVARRA, R. B. et al. The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition. **Journal Of Animal Science And Biotechnology**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-9, 30 jul. 2018.
- HUANG, C. M.; LEE, T. T. Immunomodulatory effects of phytochemicals in chickens and pigs— A review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 31, n. 5, p. 617, 2018.
- HUPPERT, F. A., E. M. et al. Survival in a population sample is predicted by proportions of lymphocyte subsets. **Mech. Ageing Dev.** 124: 449–451. 2003.
- IVANOV, I. I; LITTMAN, D. R. Modulation of immune homeostasis by commensal bacteria. **Current Opinion In Microbiology**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.106-114, fev. 2011.
- JAMROZ, D. et al. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n. 5-6, p. 255-268, 2006.
- JANEWAY, C., P. Travers Jr, M. Walport, and M. **Shlomchik**. *Immunobiology*. 2001.
- KICH, J. D.; CARDOSO, M. Salmonelose. In: SOBRESTIANSKY, Jurij; BARCELLOS, David. **Doenças dos Suínos**. 2. ed. Goiânia: Canone, 2012. Cap. 18. p. 935-953.
- KUBO, I.; NIHEI, K.; TSUJIMOTO, K.. Antibacterial Action of Anacardic Acids against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 51, n. 26, p.7624-7628, dez. 2003.
- LI, P. et al. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 11, p. 1617–1626, 2012.
- LITTMAN, D. R.; PAMER, E. G.. Role of the Commensal Microbiota in Normal and Pathogenic Host Immune Responses. **Cell Host & Microbe**, [s.l.], v. 10, n. 4, p.311-323, out. 2011.
- MATAMOROS, S. et al. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.167-173, abr. 2013.
- MORÉS, N.; BARCELLOS, D.. Bacterioses: Colibacilose neonatal. In: SOBRESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.. **Doenças dos Suínos**. 2. ed. Goiânia: Canone, 2012. Cap. 2. p. 116-122.
- MORÉS, N.; MORENO, A.. Bacterioses: Colibacilose de terceira semana. In: SOBRESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.. **Doenças dos Suínos**. 2. ed. Goiânia: Canone, 2012. Cap. 2. p. 115-116.
- MULDER, I. et al. Environmentally-acquired bacteria influence microbial diversity and natural innate immune responses at gut surfaces. **Bmc Biology**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-20, 2009.
- MURAKAMI, A. E.; EYNG, C.; TORRENT, J.. Effects of Functional Oils on Coccidiosis and Apparent Metabolizable Energy in Broiler Chickens. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 27, n. 7, p.981-989, 22 jun. 2014.

- NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, n. 1, p. 7–17, 2012.
- NOVAK, A. F. et al. Antimicrobial Activity of Some Ricinoleic and Oleic Acid Derivatives. **Naturally Occurring**, Us, v. 1, n. 1, p.1-5, fev. 1961.
- PAWELEC, G. Immunosenescence: impact in the young as well as the old? **Mech. Ageing Dev.** 108: 1–7. 1999.
- PAWELEC, G., et a. Is human immunosenescence clinically relevant? Looking for “immunological risk phenotypes.” **Trends Immunol.** 23: 330–332. 2002.
- PLUSKE, J. R.; TURPIN, D. L.; KIM, J.. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. **Animal Nutrition**, [s.l.], v. 4, n. 2, p.187-196, jun. 2018.
- QUINTEIRO-FILHO, W. M. et al. Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with Salmonella Enteritidis. **Avian Pathology**, v. 41, n. 5, p. 421-427, 2012.
- REIS, A.; REIS, R.. Imunidade e vacinação de suínos. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos**. 2. ed. Goiania: Canone, 2012. Cap. 18. p. 935-953.
- SCHÖNE, F. et al. Effects of essential oils from fennel (Foeniculi aetheroleum) and caraway (Carvi aetheroleum) in pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n. 11-12, p. 500-510, 2006.
- SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.. **Doenças de Suínos**. 2. ed. Goiânia: Canone, 2012.
- SODERHOLM, J. D.;PERDUE, M.H.. Stress and the Gastrointestinal Tract II. Stress and intestinal barrier function. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, Canada, v. 1, n. 1, p.1-7, out. 2001.
- TIZART, I. R. **Imunologia Veterinaria**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002.
- VIEIRA, C. et al. Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: similarities and differences with capsaicin. **Naunyn-schmiedeberg's Archives Of Pharmacology**, [s.l.], v. 364, n. 2, p.87-95, 1 ago. 2001.
- VIEIRA, C.et al. Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: similarities and differences with capsaicin. **Naunyn-schmiedeberg's Arch Pharmacol**, São Paulo, v. 1, n. 364, p.87-95, maio 2001.
- WANG, Q.; DONG, J.; ZHU, Y.. Probiotic supplement reduces risk of necrotizing enterocolitis and mortality in preterm very low-birth-weight infants: an updated meta-analysis of 20 randomized, controlled trials. **Journal Of Pediatric Surgery**, [s.l.], v. 47, n. 1, p.241-248, jan. 2012.
- WITTE, C. de et al. Detection, isolation and characterization of Fusobacterium gastrois sp. nov. colonizing the stomach of pigs. **Systematic And Applied Microbiology**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.42-50, jan. 2017.
- XU, Y. T. et al. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, n. October 2017, p. 110–119, 2018.
- ZHAI, H. et al. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition**, 2018.
- ZUCKERMANN, F. A. Extrathymic CD4/CD8 double positive T cells. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 72: 55–66. 1999.

CAPÍTULO 2 - USO DE ÓLEOS FUNCIONAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PORCAS LACTANTES E SUAS LEITEGADAS

2.1 INTRODUÇÃO

A busca por produtos menos processados, com menor quantidade de aditivos e seguros para alimentação humana têm aumentado continuamente. A preocupação crescente com o uso de antibióticos na produção animal e seu efeito sobre a saúde humana, através de uma possível contaminação nos produtos derivados animais, incentivou a proibições de seu uso em vários países (XU et al., 2018). Nesse contexto, os óleos funcionais têm sido explorados como alternativa para manter o desempenho dos leitões sem o uso de antibióticos.

As respostas do uso de óleos funcionais sobre o desempenho zootécnico de leitões têm sido amplamente exploradas. Além disso, os óleos apresentam efeitos benéficos sobre a morfometria intestinal e o metabolismo intermediário, como no estresse oxidativo que ocorre através da diminuição dos radicais livres produzidos frente ao estresse ambiental e da desmama (ZHAI et al., 2018). No microbioma intestinal os óleos essenciais são responsáveis por alterar rotas metabólicas de aminoácidos, carboidratos e lipídios (LI et al., 2018). O intestino possui uma vasta população microbiana que atua diretamente sobre a saúde humana e animal com reflexos diretos sobre a resposta imune (PLUSKE et al., 2018). Os óleos essenciais, através de compostos fenólicos, atuam na atividade antibacteriana modulando a microbiota intestinal (LI et al., 2018), como no uso do carvacrol e de cinemaldeído que diminui a população de Enterobactérias e aumenta a de *Lactobacillus* no ceco de leitões recém desmamados (CASTILLO et al., 2006).

Vários aditivos nutricionais têm sido testados com o objetivo de melhorar a resposta imune, reduzir a carga patogênica no trato gastrointestinal, promover a colonização de microrganismos benéficos e estimular a digestão e absorção (LANGE et al., 2010). Porém, apesar de vários estudos mostrarem o efeito positivo dos óleos essenciais nas dietas de suínos ainda existem lacunas a serem exploradas em nível nutricional sobre a resposta imune de suínos (OMONIJIO et al., 2017; ZHAI et al., 2018). Neste sentido, o trabalho tem como objetivo avaliar o uso

de óleos de casca de caju e mamona na alimentação de porcas lactantes e suas leitegadas funcionais sobre o desempenho zootécnico, microbioma e imunidade celular.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Animais, Alojamento e Delineamento Experimental

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (Processo CEUA 023/2018). O experimento foi realizado na Unidade Produtora de Leitões em Carambeí, Paraná. Foram utilizadas 40 porcas pré-selecionadas de genética comercial, inseminadas artificialmente, de diferentes ordens de parto (variação de 1 a 7). O período experimental foi de 28 dias (6 dias pré-parto e 21 dias de lactação). As porcas foram alojadas em celas de parição, equipadas com comedouros tipo calha e bebedouros automáticos em ambiente termo neutro. Após o nascimento, os leitões permaneceram sobre piso de aquecimento com temperatura ajustável de acordo com o conforto térmico recomendado pela fase. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com cinco tratamentos. NC: controle negativo, dieta comercial sem antibiótico para leitões e porcas; FOPig: dieta com óleos funcionais (FO) para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibiótico para leitões, Sulfametoxadol mais Trimetropim. Foi considerado como fator de bloqueamento a ordem de parto (OP), distribuída em bloco 1 - OP 1; bloco 2 - OP 2 a 7 partos. Cada tratamento teve dois blocos e um total de oito repetições, sendo considerada uma repetição a porca e sua leitegada. As porcas lactantes receberam dietas isonutritivas e formuladas segundo as exigências nutricionais do NRC (2012) alimentadas *ad libitum*. E, a partir dos dez dias de vida os leitões receberam as dietas experimentais. As dietas contendo óleo funcional tinham a inclusão de 1,5 kg do produto comercial.

2.2.2 Variáveis Mensuradas e Estimadas

As variáveis medidas e estimadas nas porcas foram (a) peso inicial e final, mensurados no início e final do experimento, (b) consumo de ração, com pesagem das sobras diariamente; (c) conversão alimentar das porcas, considerando o consumo médio diário de ração das porcas e o ganho de peso da leitegada diariamente; (d) espessura de toucinho (ET), mensurada semanalmente, com aparelho de ultrassom OXSON a 6,5 cm da linha média lombar a partir da última costela, em ambos os lados, e (e) mobilização proteica e lipídica, estimada a partir das equações propostas por DOURMAD et al (1997) $[\text{Lipídeo (kg)} = -26,4 + 0,221\text{PVv} + 1,331\text{ET}]$ e $[\text{Proteína (kg)} = 2,28 + 0,178\text{PVv} - 0,333\text{ET}]$. Nos cálculos foram utilizados os pesos de entrada na maternidade e de desmame ajustados para o peso vivo vazio (PVv) pela relação: $\text{PVv} = a \text{ PV } 1,01$ onde $a = 0,905$ no desmame e $a = 0,912$ ao parto e na cobertura; (f) energia ingerida (EI), $\text{EI (kcal/leitão)} = \text{ganho peso individual} \times 4.063 \text{ kcal (1ª semana) ou } 4.541 \text{ kcal (2ª e 3ª semanas)}$ e (g) ingestão de leite, $\text{Ing. leite (g/leitão)} = \text{EI}/1.13 \text{ kcal}$, propostas por ARIZA-NIETO et al. (2011).

Nos leitões foram medidos ou estimados (a) pesos das leitegadas, (b) ganho de peso diário dos leitões, (c) contagem de gramas por fezes de *Isospora suis*, (d) incidência de diarreia (CASTILLO et al., 2008), (e) taxa de mortalidade, leitões mortos por inanição e diarreia em relação a população inicial no tratamento, dividida pelo total de leitões em cada tratamento. Ao final do experimento foram avaliados (f) microbioma cecal, (g) histopatologia intestinal e proliferação celular e (h) imunidade celular.

2.2.3 Eutanásia

Ao fim do experimento, 20 leitões (selecionados aleatoriamente dos tratamentos) foram eutanaziados com uma associação 40mg/kg de ketamina e 20mg/kg de xilazina, via intramuscular. Após a eutanásia, foi aplicado 10mL de cloreto de potássio 20% via intramuscular e coletado de cada animal o conteúdo cecal, sendo armazenado em tubos esteris e congelados para envio ao laboratório,

assim como fragmentos do duodeno, jejuno e íleo para histologia, sendo fixado em formol e enviados ao laboratório.

2.2.4 Microbioma Cecal

Foi empregado o kit comercial “ZR Fecal DNA MiniPrep®” da Zymo Research para extrair o DNA das amostras seguindo-se o protocolo recomendado pelo fabricante. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria a 260nm. Para avaliar a integridade do DNA extraído, todas as amostras foram corridas por eletroforese em gel de agarose 1%. Foi amplificado um segmento de 250 bases da região hipervariável V4 do gene ribossomal 16S rRNA utilizando-se os primers universais 515F e 806R e as seguintes condições de PCR: 94°C por 3 min; 18 ciclos de 94°C por 45 seg, 50°C por 30 seg e 68°C por 60 seg; seguido de 72°C por 10 min. A partir destes amplificados foi construída a biblioteca metagenômica utilizando-se o kit comercial “Nextera DNA Library Preparation Kit” da Illumina®. Os amplificados foram reunidos em pools e posteriormente sequenciados no sequenciador “MiSeq” da Illumina®. As leituras ou “reads” obtidos no sequenciador foram analisadas na plataforma QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology), seguindo-se um fluxo de trabalho desde a remoção de sequências de baixa qualidade, filtração, remoção de quimeras e classificação taxonômica. As sequências foram classificadas em gêneros bacterianos através do reconhecimento de unidades taxonômicas operacionais (OTUs), neste caso, a homologia entre as sequências quando comparadas contra uma base de dados. Para comparar as sequências foi utilizada a atualização (SILVA 128) do ano 2017 do banco de dados de sequências ribossomais SILVA database. Para gerar a classificação das comunidades bacterianas por identificação de OTUs, foram utilizadas 69.608 leituras por amostra, com a finalidade de normalizar os dados e não comparar amostras com diferente número de leituras, evitando assim viés na taxonomia.

2.2.5 Avaliação da Imunidade Celular

Para coleta de sangue, os animais foram contidos em decúbito dorsal com o pescoço estendido e as patas anteriores puxadas para trás de maneira que o pescoço fique no mesmo eixo que o corpo. A punção foi feita na artéria carótida na depressão da goteira jugular na altura do esterno, com uma agulha de 38mm uma seringa de 10 mL (SOBESTIANSKY; BARCELOS, 2012). A imunidade celular foi determinada por citometria de fluxo avaliando os parâmetros: CD4 (linfócitos T auxiliares), CD8 (linfócitos T citotóxicos), monócitos (macrófagos, linfócitos B) e atividade de fagocitose. As amostras de sangue total foram tratadas segundo Fernandes Filho et al (2013). Basicamente, do sangue total foram extraídos os leucócitos por meio de Histopaque e centrifugação, seguido de lavagem com solução tamponada. Os anticorpos específicos foram adicionados às células obtidas, incubados por 30 minutos e fixados com paraformaldeído para posterior análise no citômetro de fluxo FACSCalibur (Becton, Dickinson and Co, Rutherford, NJ).

2.2.6 Análises de Histologia

A análise histológica foi realizada para avaliação do intestino delgado. Para isso foram coletadas amostras de duodeno jejuno e íleo. As amostras foram conservadas utilizando formaldeído a 10% e fixadas em coloração hematoxilina e eosina (H.E). A análise do intestino delgado foi realizada alternando entre a objetiva de 10 x e 40 x. Foram observados 80 campos por tratamento, totalizando 400 campos por cada porção do intestino avaliada. Para a avaliação do tecido, foi feita a qualificação usando como base o nível de proliferação celular, variando em uma graduação de 0-8 (aumentando gradativamente de acordo com o número de células).

Os parâmetros avaliados foram: espessura epitelial, espessura de lâmina própria, infiltração plasmática epitelial, infiltração plasmática em lâmina própria (LP), células caliciformes e congestão. Todas as avaliações histopatológicas foram realizadas no microscópio Olen Basic Binocular Acromático.

2.2.7 Análises Estatísticas

Desempenho: Para os dados de desempenho das porcas e leitegadas foram considerados no modelo estatístico os efeitos de tratamento e de blocos (OP), submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM em nível de 5% de significância. As eventuais diferenças entre as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico Minitab 15 (Minitab Inc., State College, USA). *Microbioma:* Na análise de componentes principais foi utilizado o método de distância Bray-Curtis. e microbioma O percentual de células imunes, indicado em gráficos de barra foi submetido ao teste de ANOVA de uma via seguido por Teste de Bonferroni comparando-se todos os grupos entre si ($P < 0,05$). Para este teste estatístico e formulação das figuras foi utilizado o software GraphPad Prism 6.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Desempenho de Porcas Lactantes e Leitegadas

O desempenho, a mobilização lipídica e proteica de porcas lactantes alimentadas com dietas contendo ou não óleos funcionais são apresentados na tabela 1. O número de leitões nascidos vivos e natimortos não diferiram ($p > 0,05$) entre tratamentos e ordens de parto. Já, o consumo médio de ração durante a lactação foi 26,5% superior ($p < 0,05$) em multíparas em relação as primíparas. Dentre muitos fatores, o consumo voluntário na lactação é dependente da capacidade ingestiva e do apetite da fêmea. Nesse contexto, porcas multíparas apresentam uma maior capacidade ingestiva e maior apetite em relação as primíparas. Entretanto, fatores estressantes associados ao primeiro parto comprometem a ingestão voluntária em primíparas (WHITTEMORE & KYRIAZAKIS, 2006). Não houve diferença ($p > 0,05$) na conversão alimentar de porcas alimentadas com dietas contendo ou não óleos funcionais na dieta. Houve efeito do bloco, sendo que primíparas apresentam uma melhor ($p < 0,01$) conversão alimentar em relação a multíparas ($PO > 2$). Isso está associado ao menor consumo de ração nessa

categoria e sua produção de leite equivalente a uma fêmea adulta. Além disso, a eficiência energética para produção de leite é 15% superior quando proveniente da mobilização das reservas corporais em relação a origem dietética (DOURMAD et al., 2008). Fêmeas lactantes alimentadas de forma restrita possuem maior eficiência energética, produzindo mais leite por quilograma de alimento, no entanto, o catabolismo tecidual é intenso, com impacto negativo na produção de leite, ganho de peso da leitegada e no tamanho da leitegada subsequente (DE BETTIO et al., 2016).

O peso inicial e final das porcas não diferiu ($p>0,05$) entre tratamentos. Naturalmente, houve diferença entre os grupos de ordens de parto, onde primíparas são relativamente menores que múltíparas ao início do experimento (211 vs. 253kg). Entretanto, uma diferença ($p<0,001$) acentuada na perda de peso (superior à 20 kg) foi verificada em primíparas ao final do experimento. Essa perda de peso nas primíparas foi confirmada pela variação da perda de peso na lactação em relação ao peso ao parto (ΔL , %PV), as quais perderam cerca de 10% ($p<0,01$) do seu peso vivo ao final da primeira lactação. Não houve diferença ($p>0,05$) de espessura de toucinho (ET) entre porcas alimentadas ou não com dietas contendo óleos funcionais e em grupos de primíparas e múltíparas (tabela 1). Porcas que consumiram o óleo funcional na dieta (FOSow) tiveram a menor variação ($p<0,05$) na perda de peso. Essa diferença pode estar associada ao maior consumo de ração verificado nesse grupo, minimizando a demanda energética e posterior mobilização das reservas corporais. Alguns óleos essenciais podem apresentar propriedades palatabilizantes, entretanto, grande parte dos compostos fenólicos possuem atividade antioxidante, as quais podem melhorar a preservação da ração durante sua estocagem (OMONIJO et al., 2018).

Diversos estudos indicam que não ocorrem alterações na condição corporal de porcas lactantes quando suplementadas com dietas contendo o uso de óleos essenciais/funcionais (BALASUBRAMANIAN et al., 2016; HOUSSAIN et al., 2015; ROSSI & SOARES, 2013). Os benefícios do uso dos diferentes compostos estão associados a modulação da flora intestinal, resposta imunológica e melhora na digestibilidade dos nutrientes que podem ter efeitos indiretos sobre o crescimento da leitegada (ARIZA-NIETO et al., 2011; HOUSSAIN et al., 2015, ZHAI et al., 2018).

Um maior ($p<0,01$) catabolismo proteico ocorreu em fêmeas ANTPig a quais ainda apresentaram maior perda de peso e de espessura de toucinho durante a

lactação. Em relação às fêmeas que receberam óleos funcionais na dieta ou suas leitegadas, fêmeas ANTPig apresentaram mobilização proteica 43% superior. Primíparas possuem um catabolismo proteico cinco vezes superior ($p<0,01$) às porcas >OP2. A mobilização lipídica foi 60% inferior em porcas FOSow em relação a porcas que não receberam óleos funcionais na dieta. A mobilização de lipídios foi superior 33% ($p<0,05$) em primíparas em relação à múltiparas. O consumo limitado de ração durante a lactação faz com que a porca mobilize nutrientes de diferentes tecidos corporais, com consequente perda de peso. Em sistemas de produção atuais, porcas lactantes chegam a produzir de 10 a 12 kg de leite ao dia e, nestas condições, a ingestão de nutrientes é inferior à demanda, o que aumenta a mobilização proteica e lipídica (BERGSMA et al., 2009).

Em primíparas o desafio é maior, uma vez que ocorre maior ganho proteico e menor acúmulo de reservas lipídicas durante a gestação e uma ingestão limitada de nutrientes (cerca de 20% menor) que porcas adultas na lactação (YOUNG et al., 2005). Além disso, em fêmeas adultas, a alimentação restrita normalmente usada durante a gestação nem sempre permite recuperar as reservas corporais para o ciclo subsequente. Estes fatores podem comprometer diretamente o peso da leitegada e a longevidade produtiva das fêmeas no plantel.

Tabela 1 - Desempenho, mobilização lipídica e proteica de porcas lactantes alimentadas com dietas contendo ou não óleos funcionais.

Variáveis	Tratamentos					Ordem de Parto		Efeito	
	NC	FOPig	FOSow	FOAll	ANTPig	OP1	OP>2	T	OP
Nascidos vivos, n	12,4 ± 2,7	12,9 ± 3,6	15,0 ± 3,4	13,5 ± 2,9	15,2 ± 2,1	13,8 ± 3,2	13,6 ± 3,0	ns	ns
Nascidos mortos, n	1,33 ± 0,51	2,20 ± 1,6	1,33 ± 0,57	1,75 ± 1,5	1,75 ± 0,95	1,44 ± 0,7	1,84 ± 1,3	ns	ns
Consumo de ração, kg	7,00 ± 1,03	7,14 ± 1,39	7,57 ± 0,94	7,36 ± 2,08	7,27 ± 1,64	6,45 ± 1,17 ^b	8,16 ± 1,10 ^a	ns	*
Conversão alimentar	4,48 ± 2,61	3,75 ± 1,00	3,53 ± 0,87	3,14 ± 0,85	3,41 ± 1,63	2,95 ± 0,80 ^b	4,47 ± 1,79 ^a	ns	**
PV inicial, kg	244 ± 38,0	225 ± 28,0	224 ± 26,6	228 ± 37,5	237 ± 22,7	211 ± 15,5 ^b	253 ± 27,8 ^a	ns	***
PV final, kg	227 ± 45,3	208 ± 33,8	219 ± 37,5	213 ± 42,3	212 ± 23,6	191 ± 18,9 ^b	243 ± 30,2 ^a	ns	***
ΔL, %PV	-7,20 ± 6,4 ^{ab}	-7,95 ± 6,2 ^b	-0,13 ± 6,2 ^a	-8,16 ± 5,7 ^b	-10,6 ± 4,5 ^b	-10,27 ± 5,7 ^a	-3,65 ± 5,4 ^b	*	**
Dif ET, mm	4,27 ± 1,9	4,25 ± 1,6	3,91 ± 2,1	3,30 ± 1,6	4,44 ± 1,2	4,22 ± 1,7	3,78 ± 1,7	ns	ns
Mobilização, kg ¹									
Proteínas	-1,52 ± 2,5 ^{ab}	-1,85 ± 2,1 ^a	1,20 ^b ± 2,2 ^b	-1,76 ± 1,8 ^a	-3,00 ± 1,9 ^a	-2,51 ± 2,0 ^a	-0,44 ± 2,4 ^b	**	**
Lipídeos	-9,35 ± 3,7 ^{ab}	-8,80 ± 4,8 ^{ab}	-4,08 ± 3,8 ^b	-7,97 ± 3,7 ^{ab}	-11,5 ± 7,0 ^a	-10,2 ± 4,0 ^a	-6,78 ± 4,2 ^b	*	*

PV: peso vivo; ΔL: variação na perda de peso na lactação; Dif ET: diferença entre espessura de toucinho inicial e final; Ns P>0,05; *P≤0,05; **P≤0,005; ***P≤0,001. T: Tratamentos; OP: Ordem de parto; NC: controle negativo, dieta comercial sem antibiótico para leitões e porcas; FOPig: dieta com óleos funcionais (FO) para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibiótico para leitões.

Fonte: A autora.

O desempenho de leitegadas de porcas lactantes e de leitões alimentados com dietas contendo óleos funcionais são apresentados na tabela 2. Não houve diferença ($p>0,05$) entre tratamentos para o número de leitões durante o aleitamento e desmamados, assim como para o peso ao nascimento e ao desmame ($p>0,05$). O número de leitões desmamados foi, em média, 14% superior ($p<0,05$) em primíparas em relação a multíparas. O tamanho da leitegada influencia diretamente no ganho de peso individual dos leitões. Esse resultado foi verificado em nosso estudo, onde leitões de multíparas apresentaram maior ganho de peso em relação a leitões de primíparas (0,227 vs. 0,205g/d). O ganho de peso individual e da leitegada não diferiram ($p>0,05$) entre porcas alimentadas com dietas contendo ou não óleos funcionais.

Embora os resultados não tenham sido significativos, numericamente, os grupos que receberam óleos funcionais são superiores ao grupo controle. O tempo de fornecimento da ração pré-inicial (inferior a 11 dias) e o desmame precoce das leitegadas (<21 dias) pode ter influenciado no resultado, uma vez que a quantidade consumida de óleo funcional tenha sido limitada. Outro ponto a considerar é que o pico de lactação das porcas modernas é aos 21 dias, sendo visível o crescimento dos leitões a partir da última semana. ARIZA-NIETO et. al. (2011) e TAN et al. (2015) identificaram aumento no ganho de peso dos leitões somente na última semana de aleitamento de leitões de fêmeas alimentadas com dietas contendo orégano (carvacrol e timol). FUOSS et al. (2018) identificou um pior desempenho das leitegadas e menor consumo de alimento das porcas lactantes alimentadas com dietas contendo um complexo mineral e oleoresina de aroeira (mástique). TAN et al. (2015) indica que os efeitos benéficos sobre o desempenho das leitegadas estão associados ao menor estresse oxidativo em porcas alimentadas com dietas contendo orégano. Já ARIZA-NIETO et. al. (2011) e MATYSIAK et al. (2012) identificaram que óleos a base de orégano, alecrim e pimenta aumentam as concentrações de lactose no leite, aumentando o ganho de peso e o peso ao desmame de leitões lactentes. ROSSI & SOARES (2013) apontam que os efeitos indiretos da modulação da resposta imune e da saúde intestinal das fêmeas podem melhorar o desempenho das leitegadas e aumentar a sobrevivência neonatal.

Tabela 2 - Desempenho de leitegadas de porcas lactantes e leitões alimentados com dietas contendo óleos funcionais.

Variáveis	Tratamentos					Ordem de Parto		Efeito	
	NC	FOpig	FOSow	FOAll	ANTPig	OP1	OP>2	T	OP
Início experimento, n	13,4 ± 2,2	13,50 ± 1,6	13,3 ± 2,0	13,4 ± 2,2	14,0 ± 2,6	13,9 ± 1,6	13,4 ± 0,5	ns	ns
Desmamados, n	11,1 ± 2,8	10,9 ± 1,7	11,4 ± 1,9	12,2 ± 1,9	12,0 ± 2,3	12,2 ± 1,8 ^a	10,7 ± 2,2 ^b	ns	*
Peso inicial, kg ¹	1,39 ± 0,21	1,31 ± 0,15	1,27 ± 0,21	1,43 ± 0,24	1,28 ± 0,14	1,32 ± 0,2	1,36 ± 0,2	ns	ns
Peso desmame, kg ¹	5,24 ± 0,61	5,45 ± 0,68	5,57 ± 0,56	5,65 ± 0,89	5,74 ± 0,53	5,40 ± 0,6	5,66 ± 0,7	ns	ns
GP individual, kg/d ¹	0,200 ± 0,03	0,212 ± 0,03	0,217 ± 0,02	0,218 ± 0,04	0,233 ± 0,03	0,205 ± 0,03 ^b	0,227 ± 0,03 ^a	ns	*
GP leitegada, kg/d ¹	1,88 ± 0,64	1,95 ± 0,35	2,22 ± 0,43	2,34 ± 0,31	2,34 ± 0,22	2,25 ± 0,41	2,01 ± 0,13	ns	ns
Ingestão de Energia (E) ²									
E ing. kcal/kg PV ^{0,75}	364±32	378±31	385±31	374±37	404±33	367±33 ^b	395±29 ^a	ns	*
E ing. kcal/leitão	896±127	945±129	967±112	971±174	1039±130	915±128 ^b	1014±131 ^a	ns	*
Ing. leite, g/leitão	793±112	836±114	856±99	859±154	920±115	810±113 ^b	897±116 ^a	ns	*
Mortalidade, % ³	8,4 ^b	8,3 ^b	8,6 ^b	1,9 ^c	11,4 ^a	6,1	9,5	**	ns
<i>Isospora suis</i> , OPG ⁴	0	0	0	0	0	0	0	-	-
Incidência diarreia, %	9,15 ^a	13,5 ^a	16,9 ^a	6,6 ^b	9,5 ^a	-	-	*	-

¹Médias ajustadas LSMEAS, número de leitões usados como covariável; ² E ing PV0,75= Energia ingerida ajustada ao peso metabólico do leitão; EI (kcal/leitão) = ganho peso individual × 4.063 kcal (1ª semana) ou 4.541 kcal (2ª e 3ª semanas). Ing. leite (g/leitão) = EI/1.13 kcal; ³Mortalidade ocasionada por diarreias e inanição. ⁴Oocistos de *Isospora suis* por grama de fezes; Ns P>0,05; *P≤0,05; **P≤0,005; ***P≤0,001. NC: controle negativo, dieta comercial sem antibiótico para leitões e porcas; FOPig: dieta com óleos funcionais (FO) para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibiótico para leitões.

Fonte: A autora.

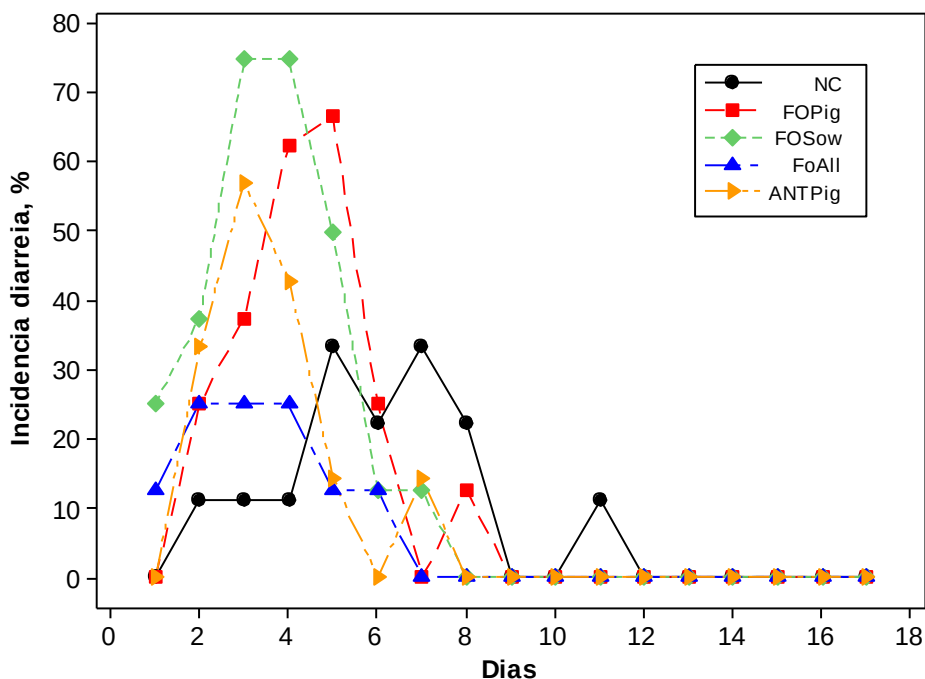
A ingestão de energia e de leite pelos leitões não diferiu ($p>0,05$) entre os tratamentos. Múltiparas apresentam leitões com maior ($p<0,05$) ingestão de energia e leite em relação a primíparas. Estes resultados estão diretamente associados ao ganho de peso individual dos leitões, discutidos anteriormente.

A taxa de mortalidade, considerando leitões mortos por fraqueza, inanição e diarreia, foi 83% inferior ($p<0,05$) em leitões FOAll (porcas e leitões recebendo óleos funcionais na dieta) em relação aos leitões alimentados com dietas contendo antibiótico Sulfametoxazol e Trimetopim. Já leitões que receberam o óleo funcional via leite (FOSow) ou somente na ração (FOFig) apresentaram taxas de mortalidade semelhantes ($p<0,05$) ao grupo controle negativo (NC). A menor mortalidade observada em leitões FOAll está associada aos efeitos dos princípios ativos cardanol, cardol e ácido anacárdico que possuem ação antimicrobiana e imunestimulante. Vários estudos também indicam redução na mortalidade de leitões durante o período de aleitamento e, acreditam que os compostos bioativos extraídos de plantas como o carvacrol (ARIZA-NIETO et al., 2011, TAN et al., 2015), capsicum, cinemaldeído, timol (MATYSIAK et al., 2012) e feno grego (HOUSSAIN et al., 2015) tenham efeitos positivos sobre a saúde intestinal (microbiota e integridade) e imunidade dos leitões lactentes.

A incidência de diarreia foi maior no grupo onde somente a porca fez ingestão de óleo funcional (FOSow) quando comparada ao uso tanto na porca quanto no leitão ($P<0,05$). Como representado na Figura 1, cerca de 70% dos leitões de porcas FOSow apresentaram diarreias entre os dias 3 e 5 após o nascimento. Além disso, é possível verificar que leitões FOFig apresentaram maiores incidências de diarreias nos primeiros dias de vida. Cabe salientar, que o fornecimento da dieta contendo o óleo funcional ocorreu nesse grupo após os 11 dias de vida. A ausência de diarreias foi evidenciada nos grupos contendo óleo funcional (FOFig, FOSow, FOAll) e antibiótico (ANTFig) a partir dos sete dias de experimento. As principais causas de doenças intestinais em suínos são causadas pela *E. coli*. A presença de patógenos entéricos pode causar perda de energia desnecessária no animal para ativar o sistema imunológico (LEE et al, 2016). O uso de óleo funcional de pimenta vermelha brasileira reduz o índice de diarreia em animais recém desmamados (CAIRO et al, 2017). A redução de incidência de diarreia está diretamente relacionada com a melhora no ganho de peso dos leitões, assim como a diminuição da permeabilidade intestinal, melhora nos índices nutricionais e alterações na comunidade bacteriana

do intestino (HUANG et al, 2015). Leitões desafiados como *E. coli* e alimentados com dietas contendo baixas dosagens (10mg/kg) de oleoresinas de alho, pimenta ou açafrão reduziram a frequência de diarreias e melhoraram a saúde intestinal, através da maior integridade da membrana intestinal (LI et al, 2012).

Figura 1 - Incidência de diarreia entre leitegadas de porcas lactantes e leitões alimentados com dietas contendo óleos funcionais



Fonte: A autora.

2.3.2 Microbiota Intestinal

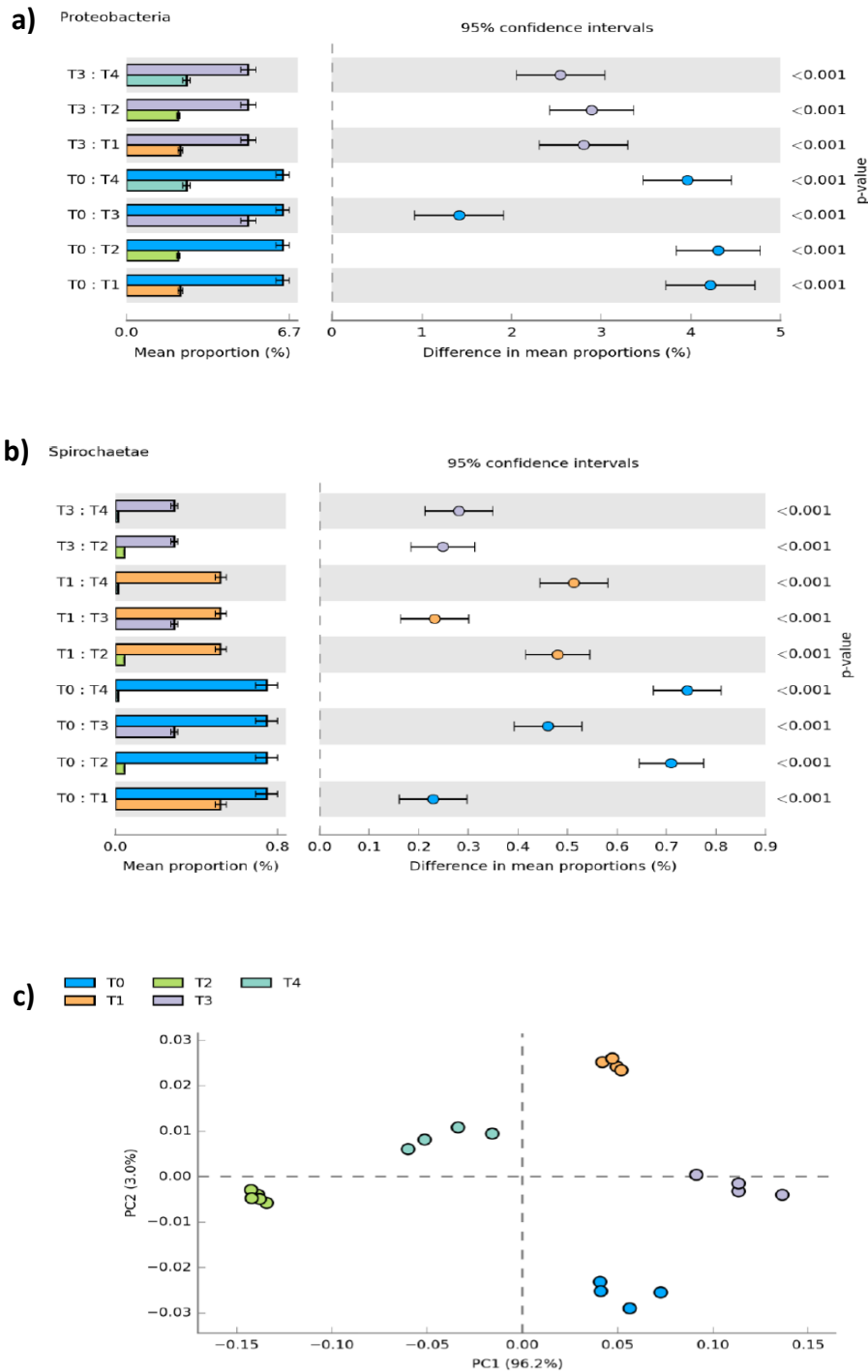
No total, foram identificados 29 filos bacterianos, sendo os mais abundantes, Firmicutes (74% de todas as sequências), Bacteroidetes (17%) e Proteobacteria (3,6%). De maneira interessante, o quarto grupo mais abundante foi um grupo de Arqueas do filo Euryarchaeota (1,2% da comunidade). Um aumento significativo do filo Proteobacteria foi observado em leitões NC quando comparado aos demais grupos. Leitões FOAll apresentaram maior população de proteobactérias em relação aos leitões FOPig, FOSow e ANTPig (Figura 2a). As proteobactérias são um filo composto por bactérias gram negativas, as quais incluem a *Escherichia*, *Salmonella* e *Helicobacter* que causam prejuízos na suinocultura. Observa-se uma maior

abundancia de *Proteobacteria* e *Firmicutes* em leitões com diarreia com *Escheria Coli* enterotoxigênica (BIN et al, 2018). É provável que os compostos fenólicos dos óleos funcionais utilizados atuam de forma seletiva, diminuindo a população de bactérias gram positiva, permitindo o crescimento e desenvolvimento de gram positivas. Leitões dos grupos NC e FOPig apresentaram uma população do filo Spirochaetae semelhante e superior aos demais tratamentos (Figura 2b).

Óleos essenciais modulam a microbiota de leitões com abundância de *Firmicutes*, que podem aumentar a absorção de energia pelos leitões, de Lactobacilos, as quais são reconhecidas como benéficas por manter o equilíbrio da microbiota intestinal e promover a saúde do animal. Além disso, bactérias como *Veillonellaceae*, *Megasphaera*, *Butyrivibrio* e *Ruminococcus* são responsáveis pela produção de ácidos graxos de cadeia que mantém a saúde intestinal (LI et al., 2018).

Na análise de componentes principais (PCA) em relação aos filos bacterianos (Figura 2c) foi observado um claro agrupamento das amostras por tratamento. Esta análise compara as microbiotas analisando-se todos os filos bacterianos de uma amostra como um conjunto. A distância entre os pontos indica o grau de variação das respectivas microbiotas quanto aos filos bacterianos. Assim, o eixo PC1 corresponderia à principal variável do experimento (tratamento) e explicaria 96,2% das mudanças os filos bacterianos. As maiores mudanças foram entre grupos FOSow e FOAll, resultado sugerido pela maior distância entre estes dois grupos no PCA plot.

Figura 2 - Comparação pareada entre tratamentos em que os filos bacterianos Proteobacteria (A), Spirochaetae (B) variaram significativamente pelo teste ANOVA com teste post-hoc de Tukey-Kramer ($P < 0,05$). (C) Análise de componentes principais (PCA) dos filos das comunidades bacterianas. Cada ponto na figura representa uma amostra. Tratamentos T0: NC; T1: FOPig; T2:FOSow; T3: FOAll; T4: ANTPIg.



Fonte: A autora.

Quanto aos gêneros bacterianos, foram identificados 594 gêneros. Os mais abundantes foram *Lactobacillus*, que representou 14,37% de todas as sequências; seguido por *Subdoligranulum* (8,17%) e *Eubacterium coprostanoligenes* (6,26%). A comparação mostrou diferenças significativas entre os grupos para 121 gêneros bacterianos. Assim, devido ao grande número de gêneros em que houve diferenças significativas, foram selecionados alguns destes gêneros os quais foram plotados na Figura 3. Foi observado aumento significativo ($P < 0,05$) dos gêneros *Escherichia-Shigella*; *Enterococcus* e *Bacteroides* no grupo FOAll quando comparado aos outros grupos. Por outro lado, foi observado aumento significativo de *Lactobacillus* no grupo ANTPig e de leitões FOPIg em relação aos outros grupos. Adicionalmente, em relação aos gêneros bacterianos foi observado um agrupamento definido das amostras por análise de componentes principais (PCA). Assim, o eixo PC1(tratamentos) explicaria 89,1% das mudanças nos gêneros bacterianos. (Figura 3d).

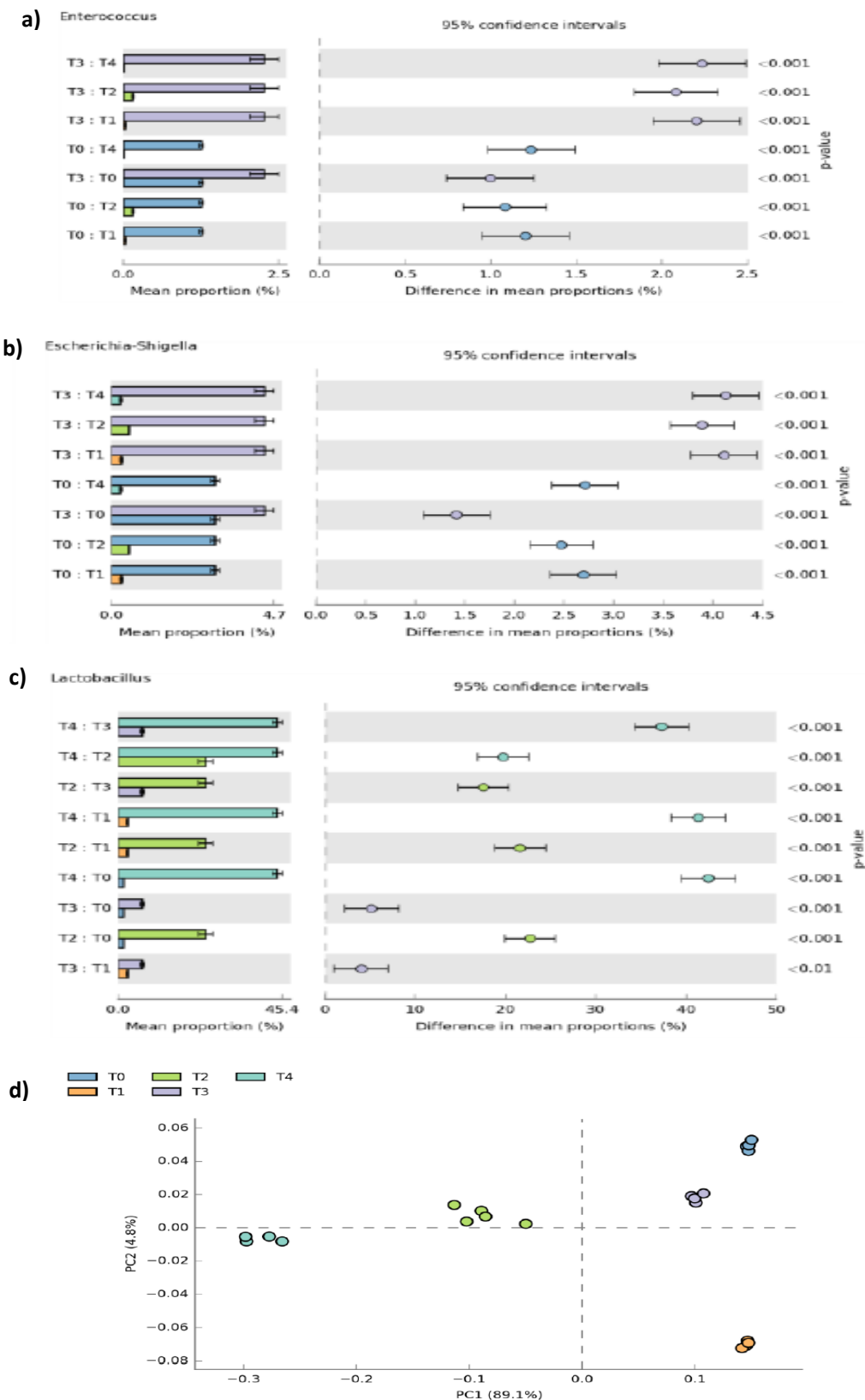
Condições estressoras, como o desmame alteram a microbiota, com diminuição das populações de *Lactobacillus* spp e perda da biodiversidade microbiana, enquanto, bactérias anaeróbias facultativas como *Clostridium* spp., *Prevotella* spp., e gram-negativas como *Proteobacteriaceae*, incluindo *E. coli* aumentam significativamente (GRESSE et al., 2017). O fornecimento da dieta pré-inicial pode influenciar diretamente na alteração da microbiota intestinal, uma vez que altera a morfologia intestinal e modifica o padrão enzimático, o que nos primeiros dias após o fornecimento está associado à maior quantidade de substrato remanescente para o desenvolvimento bacteriano (CELI et al., 2017).

Lactobacillus são benéficas para recuperação de diarreias em leitões, pois estão entre as dez bactérias mais presentes no jejuno de leitões recuperados (BIN et al, 2018). Assim como os *Lactobacillus*, as *Bacterioides* e *Bifidobacterium* são bactérias benéficas para o hospedeiro (BROWN et al, 2012). Em nosso estudo, podemos avaliar que os *Lactobacillus* foram o gênero mais abundante entre os tratamentos, e o grupo no qual os leitões utilizavam antibióticos foi maior essa presença do que quando comparado aos demais. Já as bactérias do gênero *Escheria-Shigella*, *Enterococcus* e *Bacteriodes* foram as mais presentes no FOAll, quando comparada aos demais grupos. Em leitões com diarreia, o gênero bacteriano mais encontrado é o *Escheria-Shigella* (BIN et al, 2018).

Como verificado nas figuras 2c e 3d, as mudanças de filos bacterianos foram maiores entre os grupos FOSow e FOAll. Em porcas, a ingestão de óleos funcionais pode modular a microbiota intestinal, favorecendo a digestão e absorção dos nutrientes, além de influenciar positivamente no metabolismo intermediário dos carboidratos, na aminoácidos e lipídios (LI et al., 2018). A microbiota de leitões FOSow possui o impacto dos lipídios fenólicos e de um perfil de ácidos graxos diferenciado transferido pelo leite (ARIZA-NIETO et al., 2011). Além disso, a microbiota intestinal interage com inúmeras funções fisiológicas e a patogênese de várias doenças no hospedeiro através de seus produtos metabólicos (PLUSKE et al, 2018). Assim, através da modulação do uso óleos funcionais sobre a microbiota ocorre um incremento no metabolismo de carboidratos, aminoácidos e em especial do propionato e butirato (LI et al., 2018). Estes ácidos graxos voláteis (AGVs) são conhecidos por melhorar a barreira intestinal e atuar como anti-inflamatórios (LI et al., 2018b). Mudanças no pH que ocorrem através da produção de AGVs podem selecionar colônias de bactérias, assim como os produtos da fermentação de carboidratos e aminoácidos, (NH₃, aminas, indol e fenol) dificultam a colonização de bactérias como *Bifidobacterium* spp.

De maneira geral, a administração dos óleos funcionais pela ração ou pelo leite materno atuou na seletividade do microbioma de leitões. *Proteobacteria*, *Enterococcus*, *Escheria-Shigella* quantidade relativas (ainda superiores tratamentos FOPig e ANTPig) de *Spirochaetae*. ambas gram-negativas foram encontradas em leitões FOALL. Já a população de *Lactobacillus* foi expressiva em leitões FOSow (receberam via leite materno) e leitões que receberam antibióticos (ANTPig). Leitões FOPig apresentaram comportamento similar aos leitões ANTPig na análise de microbioma.

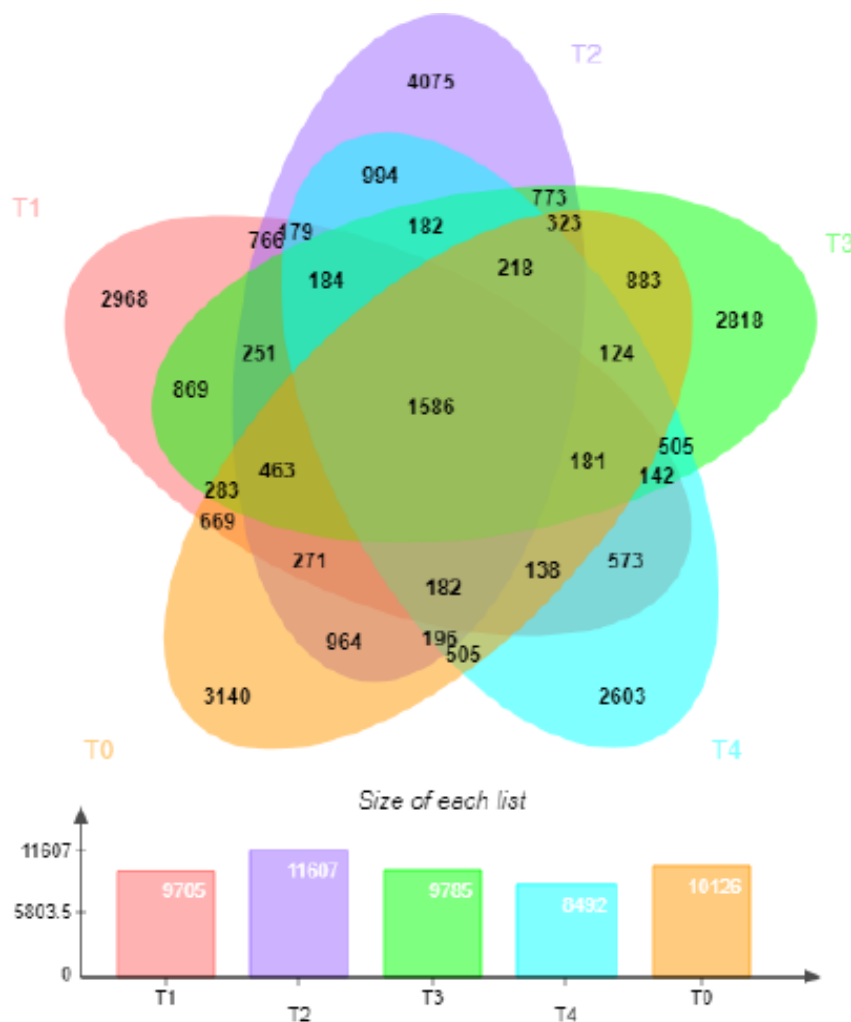
Figura 3 - Gêneros bacterianos que variaram significativamente entre grupos. São apresentadas média e desvio padrão e comparação pelo teste de ANOVA com teste post-hoc de Tukey-Kramer ($P < 0,05$). Tratamentos T0: NC; T1: FOPig; T2: FOSow; T3: FOAll; T4: ANTPig



Fonte: A autora.

Da mesma maneira, estes resultados foram respaldados pelo diagrama de Venn (Figura 4). O diagrama representa os organismos que são únicos para cada grupo e aqueles em comum entre os grupos. Assim, foram observados 4075 organismos únicos no grupo de suínos FOSow, sendo o grupo com maior número de organismos únicos, mostrando assim uma diferenciação quando comparado aos outros grupos.

Figura 4 - Diagrama de Venn com o “Core microbiota”. O diagrama representa os organismos que são únicos para cada grupo e aqueles em comum entre os grupos. Tratamentos T0: NC; T1: FOPig; T2: FOSow; T3: FOAll; T4: ANTPig



Fonte: A autora.

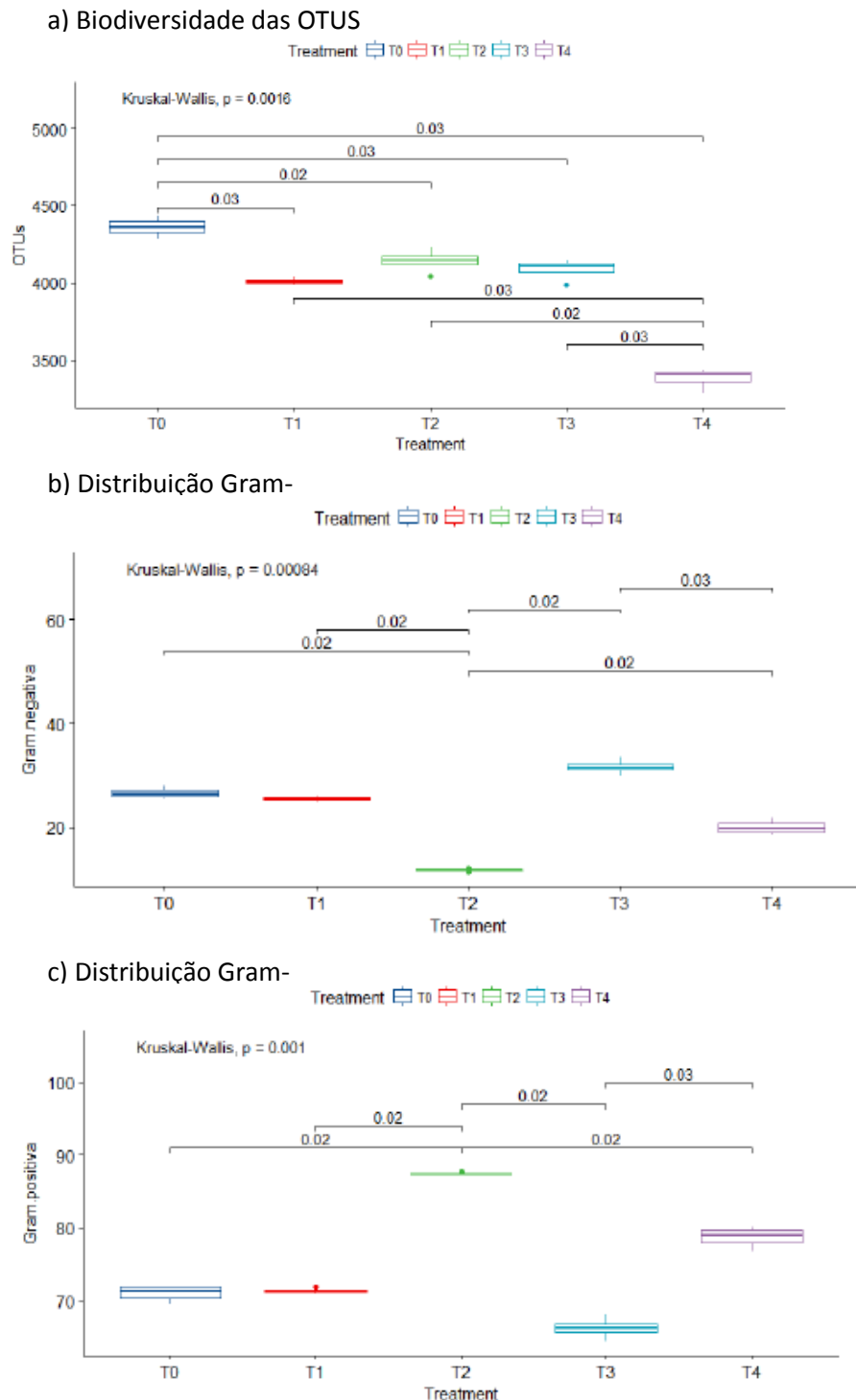
Por outro lado, referente à biodiversidade das comunidades bacterianas, foi observada uma diminuição ($P < 0,05$) significativa da riqueza da microbiota no grupo ANTPig em relação aos demais tratamentos (Figura 5a). A análise da microbiota indicou uma forte seleção das populações bacterianas quando os animais foram

tratados com óleos ou antibióticos. A adição do antibiótico reduziu fortemente a variabilidade da população microbiana intestinal, enquanto que o uso de óleos funcionais– nas porcas e/ou nos leitões – reduziu a diversidade microbiana de maneira menos acentuada. Os tratamentos criaram microbiotas com constituições bastante homogêneas (dentro daquele grupo) e separadas entre os grupos, evidenciadas nas figuras 2c e 4d. Apesar de que todos os tratamentos tiveram microbiotas diferentes entre si, leitões do grupo NC foram similares aos leitões FOPIg e FOAll.

Alguns óleos funcionais assim como os essenciais são rapidamente absorvidos no estômago e pelo duodeno, cerca de duas horas após a administração (ZHAI et al., 2018). O ácido anacardico e ricinoleico, assim como o cardol e cardanol, são lipídios fenólicos, os quais apresentam cadeias alifáticas (cadeias abertas de carbonos) com várias insaturações que podem ser rapidamente absorvidos pela membrana intestinal. Dessa forma, assim como os antibióticos, se administrados em concentrações maiores podem alterar prontamente a microbiota intestinal.

A constituição da microbiota em relação à classificação de Gram está apresentada na figura 5b e 5c. Os grupos FOPIg e ANTPig apresentaram redução na quantidade de bactérias Gram-negativas no intestino, com aumento concomitante de bactérias Gram-positivas. A seletividade no microbioma bacteriano nestes tratamentos indica que tanto o antibiótico como a ingestão de óleos funcionais pelo leitão atuam sobre bactérias como *Escherichia-Schigella* e *Proteobacterias*. Óleos comumente estudados como de orégano, canela e pimenta apresentam ação antimicrobiana comprovada sobre as bactérias gram negativas *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* e Gram positivas como *Staphylococcus* e *Lactobacillus* (LIU et al., 2018; ZHAI et al. 2018). Os mecanismos de ação dos compostos fenólicos extraídos das plantas ainda não são totalmente conhecidos, mas podem estar associados a hidrofobicidade e facilidade em penetrar na célula bacteriana, alterando seu sistema enzimático e, assim alterando propriedades físicas e químicas da membrana celular até sua ruptura (LI et a., 2018).

Figura 5 - Riqueza das comunidades bacterianas (a), constituição da microbiota em relação à classificação Gram, negativas (b) e positivas (c). Mediana e quartis são apresentados. O valor entre grupos indica diferença significativa entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).



Fonte: A autora.

O trato gastrointestinal em mamíferos abriga cerca de 10^{14} organismos comensais que existem em uma relação simbiótica com o hospedeiro (KAYAMA; TAKEDA, 2012). Há interação entre a microbiota e a função imunológica principalmente durante os primeiros dias de vida (DIMMITT et al, 2010; EBERL,

2010). Se ocorresse a ausência de qualquer microbiota o sistema imunológico não se desenvolveria por completo. A população de linfócitos no intestino é baixa e não se desenvolvem, assim como o tecido linfoide, partículas da microbiota são excelentes ativadores da resposta imune (EBERL, 2010). Sendo assim, a microbiota intestinal contribui com a proteção do hospedeiro contra bactérias patogênicas, essa proteção vem através da competição por nutrientes e pelo estímulo da resposta imune, além de desempenhar um papel importante no desenvolvimento das células epiteliais (RODA et al, 2010).

2.3.3 Imunidade Celular

O trato gastrintestinal é a primeira linha de defesa do animal, possuindo uma grande área de superfície, estando sujeito a acesso de patógenos que causam alterações em suas estruturas e células (TARABOVA et al, 2016). Algumas células desempenham um papel fundamental entre a regulação da comunicação entre o trato gastrointestinal e o microbioma, dentre elas estão as dendríticas, linfócitos, macrófagos e mastócitos, isso para manter uma microbiota saudável (CELI et al, 2017).

Na figura 6 são apresentados o percentual circulante de células imunes. O fornecimento do óleo funcional não alterou ($P>0,05$) as concentrações de linfócitos T auxiliares e citotóxicos no início (D4) e ao desmame (D21). Os linfócitos T duplo-marcados apresentaram concentrações maiores ($P<0,05$) em leitões NC aos 4 dias de idade em relação aos leitões ANTPig e leitões que receberam óleos funcionais. Devido ao maior número de células T duplo marcadas nos leitões NC aos 4 dias, quando comparada ao uso de antibióticos na ração dos leitões (ANTPig), pode-se observar que os animais NC possuem uma maior sensibilidade a antígenos, por possuírem um maior número de células T e os leitões que fizeram a ingestão de antibióticos promotores de crescimento (ANTPig) não possuem essa sensibilidade tão significativa quanto ao controle. Em leitões que receberam óleos essenciais foi verificado um aumento na proliferação de linfócitos circulantes quando há utilização de óleos de timol e cinemaldeidos, porém nas demais respostas inflamatórias não há aumento (LI et al, 2012).

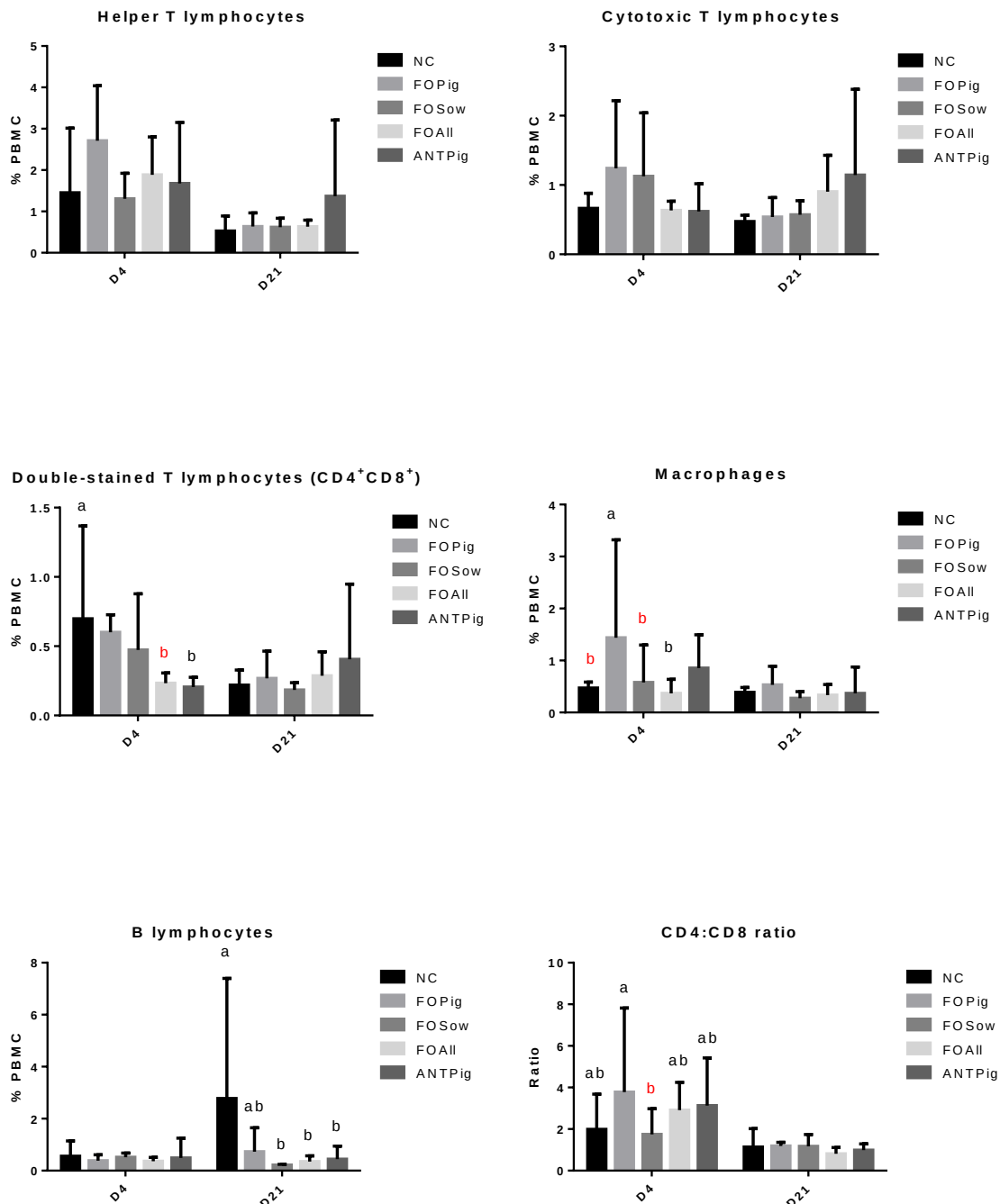
A razão CD4:CD8 aos 4 dias diferiu ($P<0,05$) entre leitões FOPIg e FOSow porém semelhante aos demais tratamentos.

Já as concentrações de macrófagos foram maiores ($P<0,05$) em leitões FOPIg em relação aos leitões NC, FOAll e FOSow aos 4 dias após nascimento. Aos 21 dias, a concentração de linfócitos B foi superior em leitões NC comparadas aos demais tratamentos ($P<0,05$).

A microbiota intestinal possui funções essenciais no metabolismo do hospedeiro e no direcionamento do desenvolvimento do sistema imune (BROWN et al, 2012). A dieta pode modificar a composição da microbiota do trato gastrointestinal, modulando a produção de peptídeos que podem interferir no crescimento e na adesão de patógenos (CELI et al, 2017). Assim como, pode interferir na produção de citosinas e na regulação da barreira intestinal, tendo efeito sobre a imunidade e ativação local de celular imunes (CELI et al, 2017).

Complexas respostas biológicas e estímulos nocivos relacionados a infecções, lesões e traumas são as causam de inflamações. Mediadores pró-inflamatórios, como TNF- α , COX-2, iNOS, NF-kB, IL-1 β e IL-6 são os que regulam as inflamações. Um dos papeis cruciais no desencadeamento da resposta imune local são as citocinas pró-inflamatórias induzidas por macrófagos. O uso do óleo da casca do caju, compostos por lipídeos fenólicos está associado a inibição destes mediadores, apresentando propriedades imuno protetoras e anti-inflamatórias (SOUZA, 2018).

Figura 6 - Porcentagem circulante de células imunes. O eixo vertical apresenta a porcentagem de cada subtipo celular em relação às células mononucleares do sangue periférico (PBMC, da sigla em inglês). A razão CD4:CD8 apresenta a divisão entre essas duas populações imunes. Diferenças significativas em uma determinada data são representadas por letras diferentes sobre cada barra. Letras pretas indicam $P < 0,05$. Letras vermelhas indicam $P < 0,10$.



Fonte: A autora.

Assim como o tratamento que somente os leitões ingeriram óleo funcional apresentou maior número de macrófagos quando comparado ao tratamento em que

tanto porca quanto leitão receberam aos 4 dias. Sendo assim o tratamento que somente os leitões receberam possuiu uma maior capacidade de fagocitose de patógenos quando compara ao que ambos recebiam. Além de possuir possuindo tendência de ser maior também comparada aos grupos controle e o grupo que somente as porcas recebiam óleo funcional. Os macrófagos são células do sistema imune capazes de fagocitar os patógenos. Macrófagos são atraídos pelos produtos bacterianos e também pelas moléculas liberadas pelas células e tecidos danificados.

Inflamações prolongadas contra infecções possuem um gasto energético desnecessário para o animal. Assim, a prevenção de inflamações e o retorno de condições imunológicas é um malefício quando se trata de produção animal (HUANG et al, 2018). Pois quando há ativação da resposta imune frente a presença de patógenos, há uma diminuição no crescimento do animal, aumentando o custo de produção e tendo uma menor eficiência alimentar (CELI et al, 2017).

O número de células leucocitárias circulantes não é influenciado quando há utilização de extratos vegetais na dieta de leitões, porém são eficazes contra diarreia e melhoram o desempenho do animal (CHO et al., 2012). A resposta imunológica dos leitões pode ser aumentada quando há ingestão de um mix de óleos essenciais e resveratrol (AHMED et al, 2012). Apesar de haver uma grande diversidade de compostos fitogênicos e possuírem complexas ações imunomoduladoras, os fitogênicos são considerados os aditivos mais promissores para a regulação e efeitos positivos sobre a resposta imune de aves e suínos (HUANG et al, 2018).

Apesar de aumentar o consumo de energia dos leitões e apresentar aumento em linfócitos no leite, porcas com dietas contendo óleo de orégano não possuem a capacidade de aumentar Linfócitos T e imunoglobulinas IgG e IgA, não influenciando no crescimento e na resposta imune dos leitões (ARIZA-NIETO et al, 2011). Devido à placenta de fêmeas suínas ser epiteliocorial, não há capacidade de transferência imunológica através dela durante o período gestacional. A ingestão do colostro é fundamental para transferência imunológica, pois é através dele que a absorção das imunoglobulinas (REIS; REIS, 2012; CARON et al., 2014). Até os 12-21 dias o leitão não produz imunoglobulinas, dependendo totalmente da absorção através da mamada (CARON et al., 2014). As respostas imunes não diferiram ($P>0,05$) entre tratamentos em que a porca recebia ou não o óleo funcional, sendo assim, acredita-

se que não haja um aumento na produção de anticorpos no leite da fêmea para que haja a transferência para o leitão.

Conforme mencionado no presente estudo, há uma necessidade de novas estratégias para substituição dos antibióticos na dieta animal. Esta busca vem devido a uma pressão da população em geral por alimentos com menos aditivos e seguros para alimentação humana. Nosso estudo visou explorar o uso de óleos funcionais na maternidade e seu impacto sobre o leitão. Avaliamos através de análises de microbioma, pouco estudadas, principalmente com o uso de óleos funcionais. Assim como, buscamos entender a resposta do uso de óleos frente ao microbioma intestinal e sua resposta sobre a modulação imune e o impacto sobre a histopatologia intestinal. Sendo assim, demonstrou que o uso de óleo funcional de casca de caju e mamona possui efeitos benéficos para os leitões quando diz respeito a microbiota intestinal, reposta imune e histologia intestinal, sendo uma alternativa a substituição dos antibióticos.

2.4 CONCLUSÃO

O uso de óleos funcionais em dietas de porcas lactantes e seu fornecimento aos leitões não interfere no desempenho produtivo, mas diminui a variação no peso corporal das porcas lactantes. O desempenho das leitegadas e a condição corporal diferem entre primíparas e múltíparas.

A ingestão de óleos funcionais pela ração associada ao leite de porcas que receberam óleos funcionais diminui a mortalidade das leitegadas.

Leitões que recebem antibiótico nas dietas apresentam uma menor riqueza na sua microbiota. O uso de óleos funcionais modifica a microbiota cecal com redução de bactérias gram-negativas. Após a ingestão de ração contendo óleos funcionais, os leitões apresentam comportamento microbiano semelhante aos leitões que recebem antibióticos na ração.

Os resultados associados às células imunes ao 4º dia de vida do leitão correspondem a ativação da imunidade inata. Já leitões do controle negativo

apresentam maior exposição aos antígenos patogênicos e maior produção de anticorpos através dos linfócitos B.

O uso de antibióticos causa efeitos nocivos ao epitélio intestinal dos leitões, assim como a superdose de óleos funcionais (entendida como fornecimento na ração + leite) que aumentam a infiltração da lâmina própria e congestão.

Os benefícios dos óleos funcionais são reconhecidos na sanidade das leitegadas. Os mesmos atuam de forma sistêmica com alteração da microbiota intestinal e resposta imunomoduladora.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S. T. et al. Effects of Resveratrol and Essential Oils on Growth Performance, Immunity, Digestibility and Fecal Microbial Shedding in Challenged Piglets. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.683-690, 1 maio 2013.
- ARIZA-NIETO, C. et al. Effect of dietary supplementation of oregano essential oils to sows on colostrum and milk composition, growth pattern and immune status of suckling pigs1. **Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 89, n. 4, p.1079-1089, 1 abr. 2011.
- BALASUBRAMANIAN, B.; PARK, J. W.; KIM, In Ho. Evaluation of the effectiveness of supplementing micro-encapsulated organic acids and essential oils in diets for sows and suckling piglets. **Italian Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 15, n. 4, p.626-633, 30 ago. 2016.
- BERGSMA, R. et al. Lactation efficiency as a result of body composition dynamics and feed intake in sows. **Livestock Science**, [s.l.], v. 125, n. 2-3, p.208-222, nov. 2009.
- BETTIO, S. de et al. Impact of feed restriction on the performance of highly prolific lactating sows and its effect on the subsequent lactation. **Animal**, [s.l.], v. 10, n. 03, p.396-402, 21 set. 2015.
- BIN, P. et al. Intestinal microbiota mediates Enterotoxigenic Escherichia coli-induced diarrhea in piglets. **Bmc Veterinary Research**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.1-13, dez. 2018.
- BROWN, K. et al. Diet-Induced Dysbiosis of the Intestinal Microbiota and the Effects on Immunity and Disease. **Nutrients**, [s.l.], v. 4, n. 8, p.1095-1119, 21 ago. 2012.
- CAIRO, P. L. G. et al. Effects of dietary supplementation of red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil on performance, small intestinal morphology and microbial counts of weanling pigs. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 98, n. 2, p.541-548, 2 ago. 2017.
- CAPORASO, J. G., C. L. et al, a. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 108: 4516– 4522. 2011.
- CAPORASO, J. G., J et al, b. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nat. Methods** 7: 335– 336. 2010
- CARON, L. F. et al. **Fundamentos de imunologia aplicados a produção de suínos**. In: ABCS (Brasília). Produção de Suínos: Teoria e Prática. Brasília: Qualidade, 2014. Cap. 6. p. 201-245.
- CASTILLO, M; MARTÍN-ORÚE, S.M.; TAYLOR-PICKARD, J.A. Use of mannan-oligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: Effects on microbiota and gut function. **Journal of Animal Science**, v.86, n. 2, p.94-101, 2008.
- CELI, P. et al. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 234, p.88-100, dez. 2017.
- CHENG, C. et al. Effect of oregano essential oil supplementation to a reduced-protein, amino acid-supplemented diet on meat quality, fatty acid composition, and oxidative stability of Longissimus thoracis muscle in growing-finishing pigs. **Meat Science**, v. 133, n. January, p. 103–109, 2017.

- CHO, J. H. et al. Effects of essential oils supplementation on growth performance, IgG concentration and fecal noxious gas concentration of weaned pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 1, p. 80–85, 2006.
- DIMMITT A. R. et al. Role of Postnatal Acquisition of the Intestinal Microbiome in the Early Development of Immune Function. **Journal Of Pediatric Gastroenterology And Nutrition**, [s.l.], p.1-23, jul. 2010.
- DOURMAD, J.-Y. et al. Inraporc: A model and decision support tool for the nutrition of sows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 143, n. 1-4, p.372-386, 2008.
- EBERL, G. A new vision of immunity: homeostasis of the superorganism. **Mucosal Immunology**, [s.l.], v. 3, n. 5, p.450-460, 5 maio 2010.
- FUOSS, K; LINDEMANN, M D; LEVESQUE, C L. Effect of Essential Oil Supplementation to Lactation Diets on Reproductive Performance and Fecal Characteristics of Sows. **Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.254-254, abr. 2018.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council Scientific and. Industrial Research.**, v.12, p.50-52, 1939.
- GRESSE, R. et al. Gut Microbiota Dysbiosis in Postweaning Piglets: Understanding the Keys to Health. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 25, n. 10, p.851-873, out. 2017.
- HOSSAIN, M. M. et al. Dietary fenugreek seed extract improves performance and reduces fecal E. coli counts and fecal gas emission in lactating sows and suckling piglets. **Canadian Journal Of Animal Science**, [s.l.], v. 95, n. 4, p.561-568, dez. 2015.
- HUANG, C. M.; LEE, T. T.. Immunomodulatory effects of phytogenics in chickens and pigs — A review. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.617-627, 1 maio 2018.
- HUANG, C. et al. Dietary Sodium Butyrate Decreases Postweaning Diarrhea by Modulating Intestinal Permeability and Changing the Bacterial Communities in Weaned Piglets. **The Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 145, n. 12, p.2774-2780, 21 out. 2015.
- KAYAMA, H.; TAKEDA, K.. Regulation of intestinal homeostasis by innate and adaptive immunity. **International Immunology**, [s.l.], v. 24, n. 11, p.673-680, 7 set. 2012.
- LANGE, C.F.M. de et al. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, [s.l.], v. 134, n. 1-3, p.124-134, set. 2010
- LEE, I. K. et al. Stress, Nutrition, and Intestinal Immune Responses in Pigs — A Review. **Asian-australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 29, n. 8, p.1075-1082, 12 maio 2016.
- LI, Y. et al. Intestinal Microbiome-Metabolome Responses to Essential Oils in Piglets. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 9, p.1-13, 28 ago. 2018.
- MATYSIAK, B et al. The effect of plant extracts fed before farrowing and during lactation on sow and piglet performance. **S. Afr. j. anim. sci.**, Pretoria , v. 42, n. 1, p. 15-21, Jan. 2012.
- Michiels, J. Effect of essential oils on gut bacteria and functionality in the pig. 2009.
- Miquel, S., R. M., et al. Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. *Curr. Opin. Microbiol.* 16: 255–261. 2013.
- MURAKAMI, A. E.; EYNG, C.; TORRENT, J.. Effects of Functional Oils on Coccidiosis and Apparent Metabolizable Energy in Broiler Chickens. **Asian-**

- australasian Journal Of Animal Sciences**, [s.l.], v. 27, n. 7, p.981-989, 22 jun. 2014.
- NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, n. 1, p. 7–17, 2012.
- NOVAK, A. F. et al. Antimicrobial Activity of Some Ricinoleic and Oleic Acid Derivatives. **Naturally Occurring**, Us, v. 1, n. 1, p.1-5, fev. 1961.
- OMONJO, F. A. et al. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, n. December, p. 1–11, 2017.
- Pan, D., and Z. Yu. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes** 5: 108–119. 2014.
- PLUSKE, J. R.; TURPIN, D. L.; KIM, J. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. **Animal Nutrition**, [s.l.], v. 4, n. 2, p.187-196, jun. 2018.
- REIS, A.; REIS, R.. Imunidade e vacinação de suínos. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos**. 2. ed. Goiania: Canone, 2012. Cap. 18. p. 935-953.
- RODA, G.. Intestinal epithelial cells in inflammatory bowel diseases. **World Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 16, n. 34, p.4264-4271, 2010.
- SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.. Doenças de Suínos. 2. ed. Goiânia: Canone, 2012.
- SOUZA, M. Q.de et al. Molecular evaluation of anti-inflammatory activity of phenolic lipid extracted from cashew nut shell liquid (CNSL). **Bmc Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.1-11, 11 jun. 2018.
- SPOLSKI, R.; LEONARD, W. J.. IL-21 and T follicular helper cells. **International Immunology**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.7-12, 23 nov. 2009.
- TAN, C. et al. Effects of Dietary Supplementation of Oregano Essential Oil to Sows on Oxidative Stress Status, Lactation Feed Intake of Sows, and Piglet Performance. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2015, p.1-9, 2015.
- TARABOVA, L. et al. Intestinal Mucus Layer and Mucins (A Review). **Folia Veterinaria**, [s.l.], v. 60, n. 1, p.21-25, 1 mar. 2016.
- TIZART, I. R. **Imunologia Veterinaria**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002.
- VIEIRA, C. et al. Pro- and anti-inflammatory actions of ricinoleic acid: similarities and differences with capsaicin. **Naunyn-schmiedeberg's Archives Of Pharmacology**, [s.l.], v. 364, n. 2, p.87-95, 1 ago. 2001.
- WHITTEMORE, C. T.; KYRIAZAKIS, I. **Whittemore's science and practice of pig production**. 3^a. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006. 704 p.
- XU, C. et al. Modulatory Effects of Vasoactive Intestinal Peptide on Intestinal Mucosal Immunity and Microbial Community of Weaned Piglets Challenged by an Enterotoxigenic Escherichia coli (K88). **Plos One**, [s.l.], v. 9, n. 8, p.1-15, 7 ago. 2014.
- XU, Y. T. et al. Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, n. October 2017, p. 110–119, 2018.
- YOUNG, M. G. et al. Effect of sow parity and weight at service on target maternal weight and energy for gain in gestation. **Journal of Animal Scienci**, v. 83, n. 1, p.255-261, 2005.
- ZHAI, H. et al. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition**, 2018.

APÊNDICE A- DESEMPENHO RELATIVO AO CONTROLE

Desempenho relativo ao controle negativo.

Gênero	NC (%)	FO _{Pig} (%)	FO _{Sow} (%)	FO _{All} (%)	ANT _{Pig} (%)
<i>Acetitomaculum</i>	0,035	▼	▼	▼	▼
<i>Acidaminococcus</i>	0,038	▼	▲	▼	▼
<i>Actinobacillus</i>	0,269	▼	▼	▼	▼
<i>Actinomyces</i>	0,009	▲	▲	▲	▲
<i>Akkermansia</i>	0,060	▼	▼	▲	▲
<i>Alistipes</i>	0,277	▲	▼	▼	▲
<i>Alloprevotella</i>	2,984	▼	▼	▲	▲
<i>Anaerococcus</i>	0,001	▲	▲	▲	●
<i>Anaerofilum</i>	0,015	▲	▲	▼	▼
<i>Anaerorhabdus furcosa</i>	0,017	▲	▼	▼	▼
<i>Anaerotruncus</i>	0,800	▼	▼	▼	▼
<i>Anaerovibrio</i>	0,368	▼	▼	▲	▼
<i>Anaerovorax</i>	0,000	▲	▲	▲	●
<i>Bacteroides</i>	3,709	▼	▼	▲	▼
<i>Bacteroides pectinophilus</i>	0,059	▼	▼	▼	▼
<i>Bifidobacterium</i>	0,015	▼	▼	▼	▼
<i>Bilophila</i>	0,018	▲	▲	▲	▼
<i>Blautia</i>	0,984	▼	▲	▼	▼
<i>Butyricoccus</i>	0,058	▼	▲	▲	▼
<i>Butyricimonas</i>	0,127	▲	▼	▼	▲
<i>Campylobacter</i>	0,382	▼	▼	▼	▼
<i>Candidatus Methanomethylophilus</i>	0,056	▲	▼	▼	▼
<i>Catenibacterium</i>	1,125	▼	▼	▼	▼
<i>Catenisphaera</i>	0,369	▼	▼	▼	▼
<i>Christensenella</i>	3,102	▲	▼	▲	▼

<i>Citrobacter</i>	0,028	▼	▼	▼	▼
<i>Cloacibacillus</i>	0,157	▲	▼	▲	▲
<i>Clostridium sensu stricto 1</i>	5,140	▼	▼	▼	▼
<i>Collinsella</i>	0,159	▲	▲	▼	▲
<i>Coprococcus 1</i>	0,088	▼	▼	▼	▼
<i>Coprococcus 3</i>	0,016	▼	▼	▼	▼
<i>Corynebacterium</i>	0,012	▼	▲	▼	▼
<i>Corynebacterium 1</i>	0,616	▼	▼	▼	▼
<i>Desulfovibrio</i>	0,868	▲	▼	▲	▲
<i>Eisenbergiella</i>	0,020	▼	▼	▼	▼
<i>Elusimicrobium</i>	0,000	▲	▲	▲	●
<i>Enterobacter</i>	0,087	▼	▼	▼	▼
<i>Enterococcus</i>	1,242	▼	▼	▲	▼
<i>Escherichia-Shigella</i>	2,989	▼	▼	▲	▼
<i>Eubacterium</i>	0,050	▲	▼	▲	▼
<i>Eubacterium brachy</i>	0,177	▲	▲	▼	▼
<i>Eubacterium coprostanoligenes</i>	6,815	▲	▲	▲	▼
<i>Eubacterium eligens</i>	0,021	▼	▼	▼	▼
<i>Eubacterium hallii</i>	0,454	▼	▼	▼	▼
<i>Eubacterium nodatum</i>	0,360	▼	▲	▼	▼
<i>Eubacterium rectale</i>	0,173	▼	▼	▼	▼
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0,078	▼	▼	▼	▼
<i>Eubacterium xylanophilum</i>	0,041	▼	▼	▼	▼
<i>Faecalibacterium</i>	1,287	▼	▼	▼	▼
<i>Flavonifractor</i>	0,001	●	▲	▼	▲
<i>Fusobacterium</i>	0,014	●	▲	▲	▲
<i>Gemella</i>	0,001	▲	▲	▲	▲
<i>Globicatella</i>	0,000	▲	▲	▲	▲
<i>Haemophilus</i>	0,034	▼	▼	▼	▼
<i>Helicobacter</i>	0,001	▲	●	▲	▼

<i>Holdemanella</i>	2,139	▼	▲	▼	▼
<i>Howardella</i>	0,018	▼	▲	▼	▼
<i>Intestinibacter</i>	0,071	▲	▼	▼	▼
<i>Intestinimonas</i>	0,033	▲	▼	▲	▼
<i>Klebsiella</i>	0,663	▼	▼	▼	▼
<i>Kurthia</i>	0,041	▼	▲	▼	▼
<i>Lachnoclostridium</i>	1,298	▼	▼	▲	▼
<i>Lactobacillus</i>	1,575	▲	▲	▲	▲
<i>Lactococcus</i>	0,270	▼	▲	▼	▼
<i>Lactonifactor</i>	0,013	▲	▼	●	▼
<i>Leuconostoc</i>	0,147	▼	▼	▼	▼
<i>Marvinbryantia</i>	0,027	▼	▼	▼	▼
<i>Megasphaera</i>	1,807	▼	▼	▼	▼
<i>Methanobrevibacter</i>	1,417	▲	▼	▲	▼
<i>Mitsuokella</i>	0,407	▼	▼	▼	▼
<i>Mogibacterium</i>	0,403	▼	▲	▼	▼
<i>Odoribacter</i>	0,018	▲	▲	▲	▲
<i>Olsenella</i>	0,204	▼	▼	▼	▼
<i>Oribacterium</i>	0,084	▼	▲	▼	▼
<i>Oscillibacter</i>	0,975	▼	▼	▼	▼
<i>Oscillospira</i>	0,892	▼	▼	▼	▼
<i>Oxalobacter</i>	0,003	▲	▲	▲	▼
<i>Parabacteroides</i>	1,761	▲	▼	▲	▲
<i>Parvimonas</i>	0,000	▲	▲	●	▲
<i>Peptoclostridium</i>	1,910	▲	▼	▼	▼
<i>Peptococcus</i>	0,692	▼	▲	▼	▼
<i>Peptoniphilus</i>	0,002	●	▲	▼	▲
<i>Peptostreptococcus</i>	0,002	●	▲	▲	▲

<i>Phascolarctobacterium</i>	0,653	▲	▼	▲	▲
<i>Prevotella 1</i>	0,707	▼	▼	▲	▼
<i>Prevotella 2</i>	2,080	▲	▼	▲	▲
<i>Prevotella 7</i>	0,095	▼	▼	▼	▼
<i>Prevotella 9</i>	1,519	▼	▼	▼	▼
<i>Providencia</i>	0,020	▼	▼	▼	▼
<i>Pseudobutyrvibrio</i>	0,078	▼	▼	▼	▼
<i>Pseudomonas</i>	0,002	▼	▼	▲	▼
<i>Pyramidobacter</i>	0,131	▲	▲	▼	▼
<i>Roseburia</i>	0,167	▲	▲	▲	▼
<i>Rothia</i>	0,022	▲	▲	▲	▲
<i>Ruminiclostridium 5</i>	0,038	▲	▲	▲	▲
<i>Ruminiclostridium 6</i>	0,133	▼	▼	▼	▼
<i>Ruminiclostridium 9</i>	1,061	▼	▲	▼	▼
<i>Ruminococcus 1</i>	0,897	▼	▼	▼	▼
<i>Ruminococcus 2</i>	3,797	▲	▼	▲	▲
<i>Ruminococcus gauvreauii</i>	5,442	▼	▼	▼	▼
<i>Ruminococcus torques</i>	0,093	▲	▲	▲	▲
<i>Sellimonas</i>	0,224	▲	▲	▼	▼
<i>Sharpea</i>	0,075	▼	▲	▲	▼
<i>Shuttleworthia</i>	0,005	▼	▲	▼	▼
<i>Solobacterium</i>	0,208	▼	▼	▼	▼
<i>Sphaerochaeta</i>	0,034	▼	▼	▼	▼
<i>Staphylococcus</i>	0,247	▼	▼	▼	▼
<i>Streptococcus</i>	0,625	▼	▲	▼	▲
<i>Subdoligranulum</i>	8,302	▲	▲	▲	▼
<i>Succinivibrio</i>	2,060	▼	▼	▼	▼
<i>Sutterella</i>	0,105	▼	▼	▼	▼

<i>Synergistes</i>	0,016	▲	▲	▼	▼
<i>Terrisporobacter</i>	1,971	▼	▼	▼	▼
<i>Treponema 2</i>	0,913	▼	▼	▼	▼
<i>Trueperella</i>	0,000	▲	▲	▲	▲
<i>Turicibacter</i>	0,852	▼	▼	▼	▼
<i>Unclassified</i>	12,281	▼	▼	▼	▼
<i>Vagococcus</i>	0,038	▼	▼	▼	▼
<i>Veillonella</i>	0,086	▼	▼	▼	▼
<i>Victivallis</i>	0,007	▲	▲	▲	▲
<i>Weissella</i>	2,881	▼	▼	▼	▼

▼: menor porcentagem; ▲: maior porcentagem; ● não diferiu. NC: controle negativo, dieta comercial sem antibiótico para leitões e porcas; FOPig: dieta com óleos funcionais (FO) para leitões; FOSow: dieta com FO para porcas; FOAll: dietas FO para porcas e leitões; ANTPIG: dieta com antibiótico para leitões.