

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

LARISSA APARECIDA RATUCHENE KORDEL

ÓLEOS FUNCIONAIS E ESSENCIAIS EM LEITÕES LACTENTES E EM CRECHE

PONTA GROSSA
2023

LARISSA APARECIDA RATUCHENE KORDEL

ÓLEOS FUNCIONAIS E ESSENCIAIS EM LEITÕES LACTENTES E EM CRECHE

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Zootecnia, do Setor de Engenharias, Ciências Agrárias e Tecnologia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profª Drª Cheila Roberta Lehnen

PONTA GROSSA
2023

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de óleos funcionais e essenciais em leitões lactentes e em creche. Em leitões lactentes foram comparados óleos essenciais/funcionais (OEF) e o uso de anticoccidiano, administrados oralmente. Na maternidade 24 matrizes suínas de linhagem comercial foram distribuídas em um delineamento de blocos casualizados (considerando ordens de parto entre 1 e 7) com três tratamentos, oito repetições por tratamento, sendo a porca e sua leitegada consideradas uma repetição. Os tratamentos consistiram em: 1- OEF - óleos de castanha de caju e mamona; 2- TT5% - anticoccidiano a base de Toltrazuril 5%; 3- TT6,5% - anticoccidiano a base de Toltrazuril 6,5%. Na creche, 180 leitões foram distribuídos em dois tratamentos: Controle e OEF. Os leitões foram pesados a cada troca de dietas. Leitões que receberam anti coccidiostático TT5% apresentaram baixa incidência de fezes pastosas. Leitões TT6,5% e OEF apresentaram maior frequência de diarréias. A população de *Enterobacteriaceae bacterium* e *Fusobacterium varium* foram 49% e 11% superior em leitões que receberam óleos essenciais e funcionais em relação ao grupo controle. Administração oral de produtos à base de óleos essenciais/ funcionais e toltrazuril não influenciam no desempenho de leitões lactentes. Leitões de dietas com óleos essenciais e funcionais apresentam maior população e diversidade microbiana, favorecendo o aproveitamento de nutrientes e contribuindo para a saúde intestinal.

Palavras-chave: aditivos fitogênicos, desempenho, desmame, microbioma.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the use of functional and essential oils in suckling and nursery piglets. In suckling piglets, essential/functional oils (OEF) and the use of orally administered anticoccidials were compared. At the maternity 24 sows of commercial strain were distributed in a randomized block design (considering farrowing orders between 1 and 7) with three treatments, eight replicates per treatment, with the sow and her litter being considered as one replicate. The treatments consisted of: 1- OEF - cashew nut and castor oil; 2- TT5% - anticoccidial based on Toltrazuril 5%; 3- TT6.5% - anticoccidial based on Toltrazuril 6.5%. At the nursery, 180 piglets were distributed into two treatments: Control and OEF. The piglets were weighed at each diet change. Piglets that received TT5% anti coccidiostat had a low incidence of soft feces. TT6.5% and OEF piglets had a higher frequency of diarrhea. The population of *Enterobacteriaceae bacterium* and *Fusobacterium varium* were 49% and 11% higher in piglets that received essential and functional oils compared to the control group. Oral administration of products based on essential/functional oils and toltrazuril do not influence the performance of suckling piglets. Piglets on diets with essential and functional oils have a greater population and microbial diversity, favoring the use of nutrients and contributing to intestinal health.

Keywords: phytogenic additives, performance, weaning, microbiome.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Escores para pontuação a partir da consistência das fezes. 13
- Figura 2: Presença de fezes pastosas em baias de leitões lactentes administrados oralmente com anti coccidiostáticos e óleos essenciais e funcionais. 17
- Figura 3: Presença de fezes líquidas em baias de leitões lactentes administrados oralmente com anti coccidiostáticos e óleos essenciais e funcionais. 18
- Figura 4: Perfis genéticos de leitões alimentados com dietas controle (C) ou Óleos essenciais e funcionais (OEF). (a) Pré inicial I (dia 0); (b) Pré inicial II (7^o dia); (c) Inicial I (dia 14); (d) Inicial II (28^o dia); (e) Desmame (37^o dia). 21
- Figura 5: Distribuição das sequências genéticas de microrganismos em amostras de fezes durante a creche 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número médio de leitões ao início e final do experimento, peso médio inicial e final da leitegada e leitões. Ganho de peso, porcentagem de mortalidade e ganho médio diário entre os tratamentos. 16

Tabela 2. Peso e ganho de peso de leitões em creche alimentados com dietas contendo óleos essenciais e funcionais (OEF). 19

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

OEF	Óleos essenciais e funcionais
GMD	Ganho médio diário
GP	Ganho de peso
TT	Toltrazuril
TT5%	Toltrazuril 5%
TT6,5%	Toltrazuril 6,5%

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Impactos negativos da coccidiose	10
1.2 Óleos essenciais e funcionais	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
3.1. Leitões lactentes	15
3.2. Leitões em creche	18
4. CONCLUSÃO	24
5. REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são usados regularmente dentro das unidades produtivas a fim de minimizar impactos causados por patógenos, minimizar perdas e garantir que os animais se desenvolvam adequadamente sem prejuízos ao suinocultor. Entretanto, este uso levantou preocupações de que a pressão seletiva na população de bactérias poderia promover resistência aos medicamentos (LEKAGUL *et al.*, 2019). Os antimicrobianos são, provavelmente, a classe mais bem sucedida de fármacos desenvolvidos para melhorar a saúde humana. Além disso, são utilizados em larga escala para tratar infecções em animais e, conseqüentemente, garantir bom rendimento.

A resistência antimicrobiana (AMR), por sua vez, é produzida por três mecanismos: resistência intrínseca devido à estrutura normal da bactéria, a exemplo da parede celular das Gram-negativas, que confere resistência inerente às penicilinas; resistência circunstancial, quando o antimicrobiano não consegue atingir o alvo *in vivo*; e resistência adquirida, representa a evolução da bactéria contra a ação dos antimicrobianos. A resistência adquirida resulta da mutação que ocorre naturalmente nas bactérias, alterando sua estrutura e lhe conferindo a característica de resistir à ação antimicrobiana de uma molécula ou classe à qual era anteriormente sensível (HOLMES, A.H. *et al.*, 2016).

A revisão de LEKAGUL *et al.*, 2019, indica que as moléculas consideradas criticamente importantes para humanos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) são comumente utilizadas na suinocultura mundial. São considerados antibióticos de importância crítica: quinolonas, cefalosporinas, macrolídeos, cetolídeos, glicopeptídeos, polimixinas, tetraciclinas, benzilpenicilinas, aminopenicilinas e lincosamidas. Entretanto, a notoriedade vinculada à resistência bacteriana tem aumentado a pressão do mercado consumidor sobre a segurança alimentar. A pecuária é um dos setores que possui potencial como reservatório de bactérias resistentes (ALONSO *et al.*, 2017a). Infelizmente há várias alternativas para que sejam encontrados resíduos de antibióticos nas carnes, as transferências horizontais de genes de resistência podem suceder no solo, na água, no trato gastrointestinal de humanos e animais, em alimentos, e outros ambientes (VERRAES *et al.*, 2013). Portanto, a relação entre o uso de antimicrobianos e a emergência de bactérias resistentes já está bem estabelecida (BELL *et al.*, 2014).

1.1 Impactos negativos da coccidiose

Os principais impactos aos leitões na fase de maternidade se caracterizam por menor ganho de peso diário, sendo mais suscetíveis a outros patógenos; desenvolvimento retardado do seu trato gastrintestinal, o qual há um comprometimento da absorção influenciando negativamente na taxa de crescimento do animal.

De acordo com Morés (2017), o programa de limpeza e desinfecção e o vazio sanitário das instalações entre cada lote, mesmo feito de forma adequada, é apenas um passo, entre muitos outros, principalmente aqueles relacionados à biossegurança interna do rebanho. Mesmo com um sistema eficiente de limpeza pode haver patógenos afetando os leitões. Dessa forma é de extrema importância a aplicação de substâncias de forma profilática ou terapêutica para prevenir e controlar agentes patogênicos que comprometem a produtividade dos leitões. Quanto antes for controlado o processo inflamatório/infeccioso melhores são as chances do animal atingir seu potencial produtivo.

1.2 Óleos essenciais e funcionais

Os óleos essenciais caracterizam-se por apresentarem atividades antibacterianas, antifúngicas e antivirais, pois atuam no aumento da permeabilidade das células bacterianas e conseqüentemente ocorre a ruptura das membranas e a morte de bactérias patogênicas (OMONIJO et al., 2018). Óleos funcionais são aqueles que além da sua atividade energética, podem também promover atividades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (CHENG et al., 2017).

A composição dos óleos essenciais e funcionais são em grande parte de hidrocarbonetos, dos quais alguns podem ser oxigenados e pertencem aos grupos dos aldeídos, álcoois, fenóis, cetonas, ésteres, óxidos e epóxidos, ésteres metílicos, e hidrocarbonetos terpenos (BICAS, 2017). Possuem duas classes principais de compostos, os fenilpropenos (ex.: cinamaldeído e eugenol) e terpenos (ex.: carvacrol e timol) (OMONIJO et al., 2018).

Óleos essenciais e funcionais melhoram o desempenho de leitões devido ao estímulo positivo na atividade enzimática, produção de saliva e suco gástrico, o que pode melhorar a digestibilidade dos nutrientes (DURGA, 2018). Dependendo do nível de inclusão nas dietas, podem apresentar ação bactericida ou bacteriostática (SUIRYANRAYNA e RAMANA, 2015). Entre os benefícios destacam-se estímulo à

microbiota intestinal e competição com microrganismos patogênicos e melhor aproveitamento dos nutrientes, incluindo a atividade enzimática (XU et al., 2018).

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). A microbiota do TGI dos suínos constitui-se de múltiplas populações de microrganismos, podendo destacar as bactérias e os fungos (DANIEL, 2018). Segundo HUMPHREY et al 2019, o desenvolvimento do TGI requer algumas semanas após o nascimento, para se tornar um TGI maduro. Dentre as várias funcionalidades que o TGI possui em processar, selecionar e absorver nutrientes, como também, proteger o organismo de agentes infecciosos (KAMIMURA, 2013). ZHAXI *et al.* 2020, relataram que o processo de desmame na produção de suínos é a fase mais crítica para a microbiota intestinal dos leitões, uma vez que o estresse compromete a estrutura intestinal e função de barreira da mucosa. Mudanças bruscas podem diminuir a imunidade dos leitões, fazendo com que fiquem mais susceptíveis.

O óleo essencial de orégano tem muitos efeitos benéficos sobre a saúde intestinal e as populações microbianas em suínos; por exemplo, a inclusão de óleo essencial de orégano foi associada à diminuição das populações de *E. coli* intestinal, muito provavelmente como resultado de seu efeito na promoção da integridade da barreira intestinal e do estado imunológico (ZOU et al., 2016).

Os principais componentes dos óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare L.*) e do tomilho (*Thymus vulgaris L.*) são os isômeros de fenol monoterpênicos: carvacrol e o timol. O carvacrol possui propriedade antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária, anticarcinogênica, antidiabética, antinociceptiva, cardioprotetora e neuroprotetora. Enquanto o timol possui propriedade antioxidante, antiespasmódica, antimicrobiana e anti-inflamatória (MEMAR *et al*, 2017). Outros com crescente potencial são os óleos essenciais de anis (*Apiaceae*), orégano e tomilho (*Lamiaceae*), canela (*Lauraceae*), alho (*Alliaceae*), e pimenta preta (*Piperaceae*) (ZHAI et al., 2018).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de óleos funcionais e essenciais em leitões lactentes e em creche. Em leitões lactentes comparar diferentes concentrações de anticoccidiano e óleos funcionais de castanha de caju e mamona.

Já na creche, avaliar o desempenho e a microbiota intestinal de leitões alimentados com dietas contendo um blend de óleos essenciais e funcionais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta experimentação foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa sob o protocolo 23.000016054-1/2023.

Leitões lactentes: O experimento foi conduzido no sítio 1 de uma Unidade de Produção de Leitões em Carambeí/PR. Foram selecionadas 24 fêmeas, distribuídas em três tratamentos contendo 8 repetições cada. A distribuição das fêmeas considerou a ordem de parto (1 a 7). Os tratamentos consistiram em: OEF - 1- Produto a base de óleos de castanha de caju e mamona; 2- TT5% - Anticoccidiano a base de Toltrazuril 5%; 3- TT6,5% - Anticoccidiano a base de Toltrazuril 6,5%. Ao 3º dia de vida os leitões de cada tratamento receberam oralmente 1 ml do produto condizente ao tratamento.

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 foram mantidos sobre piso de aquecimento com temperatura ajustável de acordo com o conforto térmico recomendado pela fase. As porcas lactantes receberam dietas isonutritivas e formuladas segundo as exigências nutricionais de Rostagno (2011) alimentadas *ad libitum*. A partir dos sete dias de vida, os leitões receberam ração comercial micropelletizada. As variáveis medidas e observadas nos leitões serão (a) pesos das leitegadas (inicial e final), (b) consistência de fezes conforme apresentado na tabela 1.

Os leitões foram pesados após completar 24h de vida para obtenção do peso inicial da leitegada e peso médio individual dos leitões. Quando completaram 17 dias de vida foram pesados novamente para obtenção do peso final da leitegada e peso médio final de cada leitão. Os leitões lactentes foram pesados em pequenos grupos a fim de diminuir o estresse dos animais e otimizar a pesagem.

Através da observação das fezes dos animais foi avaliado a presença de diarreias. Os focos visíveis nas baias foram classificados conforme a figura 1. Considerado Escore 0 – fezes de consistência normal; escore 1- consistência pastosa/cremosa e escore 2 – consistência líquida/aquosa.

Figura 1: Escores para pontuação a partir da consistência das fezes.



Fonte: Protocolo Interno da UPL.

Leitões em creche: O experimento foi conduzido no sítio 2 em uma Unidade de Produção de Leitões em Carambeí/PR. O delineamento experimental foi de blocos casualizados para peso e sexo dos leitões. Foram utilizados 180 leitões distribuídos em dois tratamentos: Controle - que não receberam nenhum tipo de óleo funcional na dieta; OEF - leitões que receberam dietas contendo 0,06% por ton./ração de blends de OEF. As rações foram livres de antibióticos, com exceção da ração Inicial 2 contendo amoxicilina + colistina para animais do tratamento controle. O experimento teve duração de 37 dias. Os animais foram individualmente identificados com brincos. As pesagens individuais ocorreram no 1º, 14º, 28º e 37º dia de experimento, onde também foram realizados *swabs* de fezes com pool de 5 animais aleatórios de cada sala onde os tratamentos foram aplicados.

Os animais foram distribuídos em duas salas, os primeiros animais que iriam compor o grupo controle (T2) foram alojados na segunda-feira na sala 1, os demais animais que compuseram o experimento em T1 foram alojados na quinta-feira na sala 2. Os tratamentos foram divididos em T1: Dieta peletizada contendo óleos essenciais e funcionais e T2: Dieta peletizada comercial padrão da granja. O ganho médio diário de peso foi estimado com base nas pesagens. Para avaliação de microbiota a cada troca de ração foram realizadas *swabs* de fezes com *pool* de 5 animais aleatórios das salas em que se encontravam os animais T1 e T2.

Para a análise de microbiota fecal foram utilizados *swabs* retais estéreis preparados em tubos com 10 ml de água peptonada 0,1 (H2Op). O *swab* retal foi introduzido no leitão de modo que toda a superfície do algodão entre em contato com a amostra. Após o *swab* foi transferido para um tubo de ensaio e enviado ao laboratório. Foi empregado o kit comercial —ZR Fecal DNA MiniPrep®II 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 corrigidas 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 KitII da Illumina®. Os amplificados foram reunidos em pools e posteriormente sequenciados no sequenciador —MiSeqII da Illumina®. As leituras obtidas 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 gerar a classificação das comunidades bacterianas por identificação de OTUs, com a finalidade de normalizar os dados e não comparar amostras com diferente número de leituras, evitando assim viés na taxonomia.

As médias foram submetidas a análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$). Foi utilizado MINITAB 19 (2020) para realização das análises estatísticas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Leitões lactentes

Observando a tabela 1, o grupo OEF que recebeu uma dieta contendo óleos de castanha de caju e mamona, apresentou a maior média de leitões desmamados por leitegada, com 14,5 leitões. O menor número de leitões desmamados foi no grupo de TT6,5% com 12,25 leitões desmamados. É importante considerar diversos fatores

relacionados ao manejo pós-parto no início do experimento. Mesmo com a homogeneização das leitegadas para o início do experimento situações como número de nascidos da porca e viabilidade de leitões, transferências cruzadas (relação doados: recebidos) em cada grupo podem interferir nos resultados. Ao considerarmos o ganho de peso diário das leitegadas verificamos similaridade ($P < 0,05$) entre os tratamentos. A nível de experimentação é importante considerar a pesagem individual dos leitões a fim de verificar a variação intra leitegada e o desenvolvimento individualizado. O desmame aos 17 dias, compromete o ganho de peso da leitegada, uma vez que o pico de lactação em porcas modernas é aos 20 dias, sendo visível o crescimento das leitegadas na última semana.

A alta taxa de mortalidade (14,15%) verificada entre leitões do grupo TT6,5% está associada a fatores como refugagem, inanição e esmagamento. Neste estudo nenhuma morte foi contabilizada como causa de diarreias e coccidiose. O peso inicial de leitões TT6,5% ao início do experimento foram inferiores aos demais grupos, entretanto, ao desmame estes leitões apresentaram pesos similares de 4,7kg.

Tabela 1. Número médio de leitões ao início e final do experimento, peso médio inicial e final da leitegada e leitões. Ganho de peso, porcentagem de mortalidade e ganho médio diário entre os tratamentos.

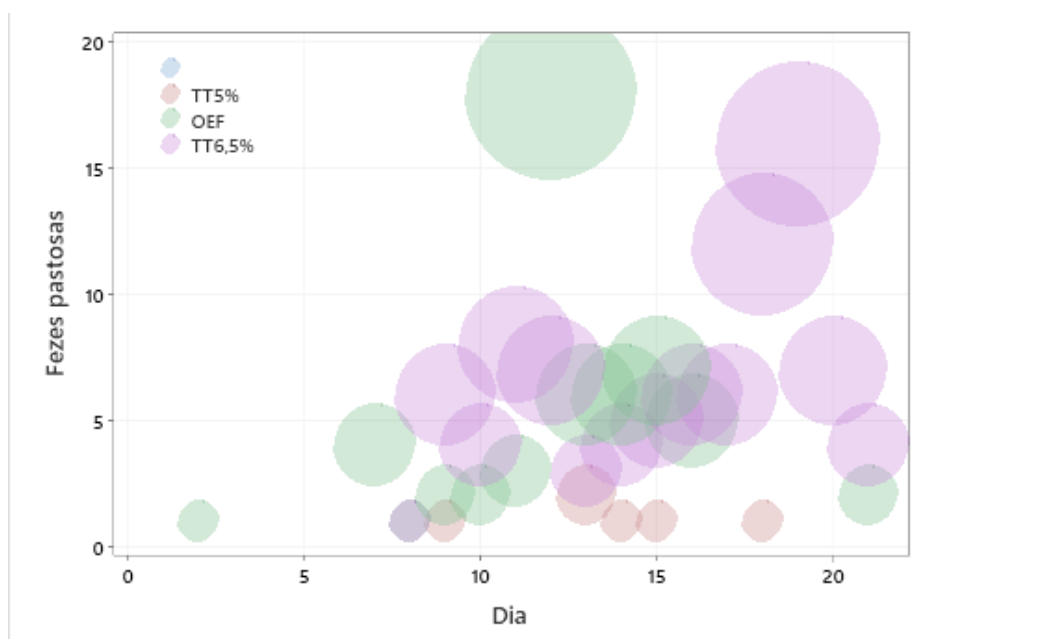
	Tratamentos				
	OEF	TT5%	TT6,5%	dpr	P
	Leitegada				
Nº leitões 1ºd	14,62	14,00	14,12	1,82	0,779
Nº leitões	14,50	13,71	12,25	1,82	0,067

17 ^o d					
P. ini 1 ^o d	22,99	22,90	20,52	6,19	0,673
P. fin 17 ^o d	68,60	65,95	58,08	14,1	0,322
GPD individual	3,14	2,76	3,26	0,36	0,776
GP	45,61	43,05	37,56	8,98	0,212
Mortalidade %	0,854 ^b	2,04 ^b	14,15 ^a	1,30	0,018
Leitões					
P. ini kg	1,56	1,63	1,43	0,349	0,555
P. fin kg	4,70	4,79	4,70	0,610	0,947
GMD, kg/d	0,185	0,185	0,180	-	-

Mortalidade %: esmagados, diarreia, inanição; Nível de significância $P < 0,05$, letras diferentes em linhas diferem pelo teste de Tukey. dpr: desvio padrão residual; 1- OEF- Produto a base de óleos de castanha de caju e mamona; 2- TT5% - Anticoccidiano a base de Toltrazuril 5%; 3- TT6,5% - Anticoccidiano a base de Toltrazuril 6,5%.

Leitões que receberam anti coccidiostático TT5% apresentaram baixa incidência de fezes pastosas (Figura 2). Nos primeiros 10 dias de experimento, leitões que receberam TT6,5% apresentaram maior frequência de diarreias, estes mesmos leitões entre o 9 e o 21^o dia apresentaram maior incidência de fezes pastosas. Já entre os dias 10 e 20 houve maior frequência de diarreia em leitões que receberam OEF.

Figura 2: Presença de fezes pastosas em baias de leitões lactentes administrados oralmente com anti coccidiostáticos e óleos essenciais e funcionais.



TT5%- Toltrazuril 5%; OEF- Óleos essenciais e funcionais, TT6,5%-Toltrazuril 6,5%

A dimensão dos círculos representa o volume de observações de cada tratamento, portanto quando está maior significa que há mais observações de determinado escore naquele dia (Figura 2). O grupo OEF e TT6,5% foram os que mais apresentaram fezes pastosas, com ênfase após o 10º dia de experimento. O controle TT5% se mostrou o mais eficiente para inibir fezes pastosas, ficando sempre em baixa contagem de pontos de fezes pastosas dentro das baias. As causas de diarreias são multifatoriais, podem ser ambiência, manejos que causam estresse, instalações e também o leite da matriz. Assim como o leite da matriz influencia, a capacidade do leitão em mamar e absorver os nutrientes também possui influência, pois dependem da imunidade passiva para se defenderem contra possíveis patógenos nas primeiras semanas de vida.

Nos primeiros 10 dias de experimento, leitões que receberam TT6,5% apresentaram maior frequência de diarreias (Figura 3). Já entre os dias 10 e 20 houve maior frequência da diarreia em leitões que receberam o OEF.

divididos em duas salas e datas de alojamento distintas. Na sala onde o grupo OEF estava também ocorreu problemas técnicos com o exaustor, possível causador de estresse térmico e acúmulo de gases, o que pode ter ocasionado o menor ganho de peso.

Tabela 2. Peso e ganho de peso de leitões em creche alimentados com dietas contendo óleos essenciais e funcionais (OEF).

Tratamentos							
	Sexo				Efeitos		
	Controle	OEF	Macho	Fêmea	dpr	trat	sexo
Peso, kg							
Inicial	5,64	5,15	5,81	4,97	0,84	0,000	0,000
14 dias	8,36	8,49	8,43	8,42	0,726	0,283	0,931
28 dias	13,98	9,50	11,85	11,63	1,54	0,000	0,415
Final	18,81	17,65	18,54	17,93	3,38	0,031	0,290
Ganho de peso diário, kg/d							
14 dias	0,211	0,220	0,216	0,215	0,051	0,286	0,935
28 dias	0,400	0,071	0,243	0,228	0,090	0,000	0,340
37 dias	0,538	0,907	0,745	0,700	0,346	0,000	0,447
Geral	0,524	0,460	0,529	0,456			

Nível de significância $P < 0,05$, letras diferentes em linhas diferem pelo teste de Tukey.

dpr: desvio padrão residual

Ao término do experimento, o grupo controle mostrou um ganho de peso 6,16% maior em relação ao grupo do tratamento OEF, onde podemos concluir que apesar dos desafios enfrentados pelos leitões do grupo OEF ainda assim conseguiram recuperar parte do ganho peso atrasado e ficar perto do peso almejado para o descreche. O uso de óleos funcionais em leitões de creche tem apresentado resultados promissores quanto a digestibilidade de nutrientes, morfometria e

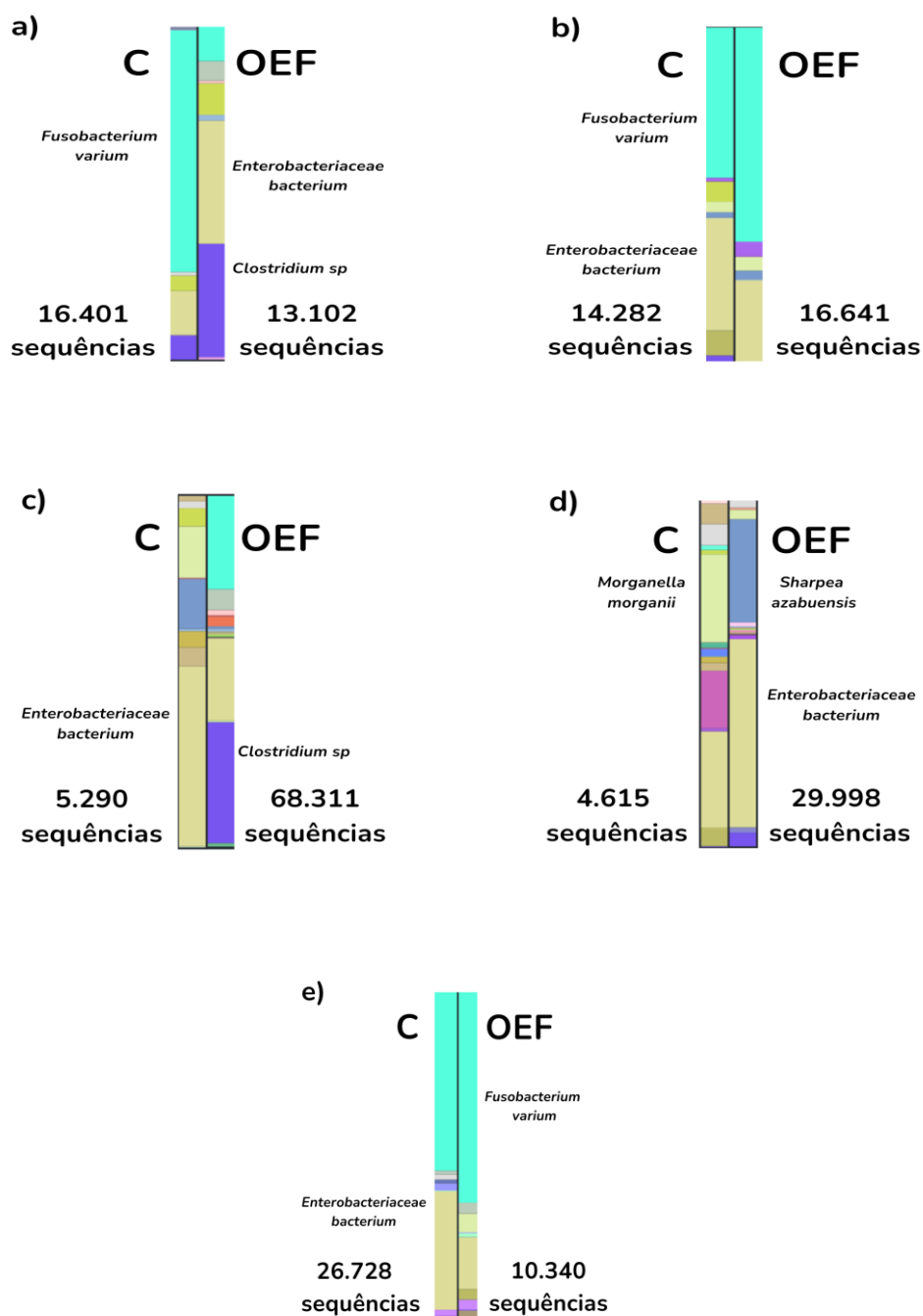
microbiota intestinal contendo timol e carvacrol (XU et al., 2018), portanto se torna uma alternativa viável dentro da suinocultura.

No estudo de microbioma identificamos um maior número de sequências de DNA de bactérias em leitões alimentados com OEF em relação ao controle (C) observados na Figura 4. Em nosso estudo identificamos alterações importantes quanto à diversidade microbiana e alteração no perfil genético em função das mudanças de dietas. Quanto maior a diversidade da microbiota mais saudável ela se torna, dando mais chances a uma resposta imunológica em situações desafiadoras para o leitão. Microbioma é definido como uma comunidade microbiana característica que ocupa um habitat com propriedades físico-químicas distintas, não se referindo apenas aos microrganismos envolvidos, mas também sua atividade e interação com o hospedeiro, resultando na formação de nichos específicos (BERG *et al.*, 2020). A riqueza de espécies da microbiota caracteriza o microbioma gastrointestinal de indivíduos saudáveis (CHATELIER, *et al.*, 2013).

Além dos óleos essenciais e funcionais, a microbiota é alterada pela composição de dieta e pelo ambiente. Neste estudo identificamos na primeira semana (figuras a; b) a predominância de *Fusobacterium varium* (Controle: 72% e OEF: 10%) *Enterobacteriaceae bacterium* (Controle: 13,4% e OEF: 37%) e *Clostridium sp* com (Controle: 7% e OEF: 34%). Nos 14 dias seguintes outras bactérias da família *Enterobacteriaceae*, além de *Fusobacterium varium* com 44%, *Enterobacteriaceae bacterium* com 64% foram identificadas em leitões do grupo Controle *Proteus hauseri* e *Proteus mirabilis* (C: 14%) e *Morganella morganii* (figura 4c). Em leitões que receberam óleos essenciais e funcionais, além da predominância de *Fusobacterium varium* (OEF: 10%), *Enterobacteriaceae bacterium* (OEF: 34%), *Clostridium sp* (OEF: 34% com foram identificadas *Morganella morganii*, *Sharpea azabuensis* e *Butyricoccus intestinisimiae*. *Olsenella umbonata* (4%). *Sharpea azabuensis*, *Butyricoccus intestinisimiae* e *Olsenella umbonata* são bactérias gram-positivas, ácido lácticas.

Aos 28 dias, leitões Controle: *Enterobacteriaceae bacterium* em 51% da amostra, *Morganella morganii* com 14%, *Sharpea azabuensis* com 14%, *Enterobacteriales bacterium* com 5%, também foram encontradas sequências de: *Proteus mirabilis*, *Oscillospiraceae bacterium*, *Gemmiger formicilis* e *Faecalibacterium prausnitzii* (figura 4d).

Figura 4: Perfis genéticos de leitões alimentados com dietas controle (C) ou Óleos essenciais e funcionais (OEF). (a) Pré inicial I (dia 0); (b) Pré inicial II (7^o dia); (c) Inicial I (dia 14); (d) Inicial II (28^o dia); (e) Desmame (37^o dia).



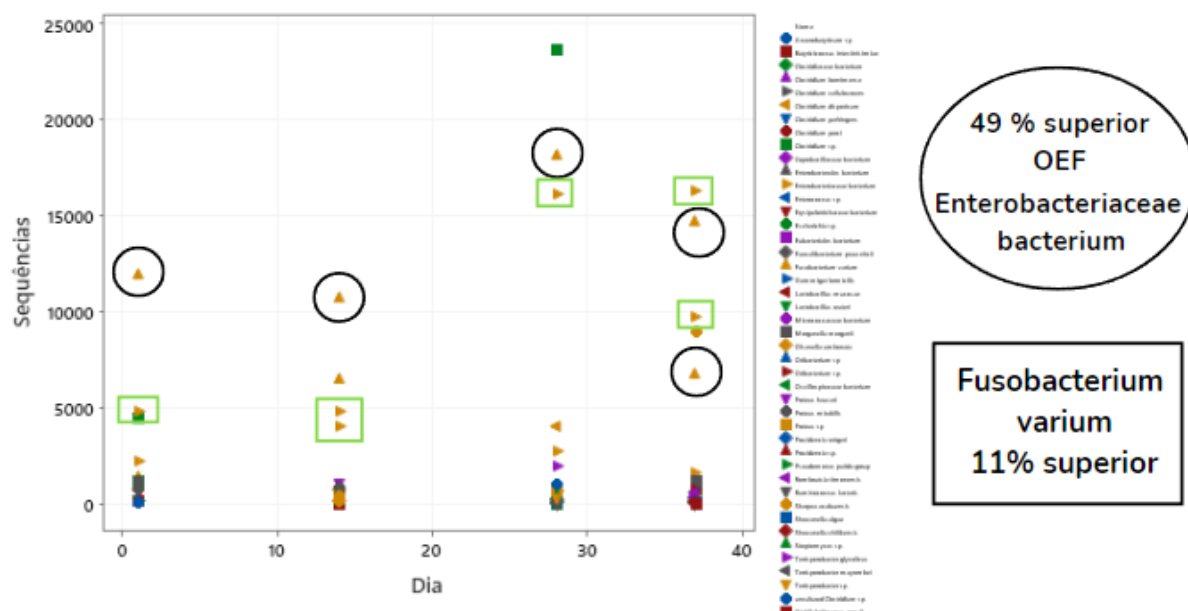
Na amostra do grupo OEF foram encontradas 34% de *Clostridium sp*, 26% de *Fusobacterium varium*, 23% *Enterobacteriaceae bacterium*, 5% de *Clostridium disporicum*, também foram encontradas sequências de *Terrisporobacter glycolicus*,

Clostridium cellulovorans, *Butyricoccus intestinalisimiae*, *Sharpea azabuensis*, *Streptomyces sp* e *Micrococcaceae bacterium*.

Ao término do experimento (37° dia) no tratamento controle houve maior proporção *Enterobacteriaceae bacterium* com 27%, *Morganella morganii* com 25%, *Oribacterium sp.* com 16%, *Gemmiger formicilis* com 6%, também foram encontradas sequências de *Faecalibacterium prausnitzii*, *Proteus hauseri*, *Enterobacterales bacterium*, *Shewanella algae* e *Oscillospiraceae bacterium*. Na amostra do grupo OEF foram encontradas: *Enterobacteriaceae bacterium* em 54,4%, *Sharpea azabuensis* com 29,8%, *Clostridium sp* com 3,9%. Também foram encontradas sequências de *Anaerobutyricum sp.*, *Butyricoccus intestinalisimiae*, *Coprobaçillaceae bacterium*, *Eubacteriales bacterium* e *Gemmiger formicilis*.

A figura 5 indica a distribuição dos principais microrganismos durante o estudo. De maneira geral, as principais bactérias que colonizam a porção retal o trato gastrointestinal de leitões são enterobactérias que consomem substratos remanescentes e produzem ácidos graxos voláteis, não sendo caracterizadas como patogênicas. Comparando os tratamentos, a população de *Enterobacteriaceae bacterium* e *Fusobacterium varium* foram 49% e 11% superior em leitões que receberam óleos essenciais e funcionais em relação ao grupo controle.

Figura 5: Distribuição das sequências genéticas de microrganismos em amostras de fezes durante a creche



Durante a análise dos dados de microbioma foi observado a presença de algumas bactérias no tratamento OEF que não aparecem no grupo controle mostrando maior diversidade do microbioma fecal de leitões que foram alimentados com OEF. As bactérias encontradas foram: *Clostridium bornimense*, *Anaerobutyricum sp.*, *Streptomyces sp.*, *Clostridiaceae bacterium* e *Clostridium cellulovorans*.

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 (CELLI *et al.*, 2017; PLUSKE; TURDIN; KIM 2018). Quanto mais bactérias estiverem povoando o trato intestinal mais irá favorecer o aumento do consumo de substratos provenientes do processo de digestão dos alimentos, além disso a diversidade favorece maior produção de ácido graxos de cadeia curta contribuindo para pH favorável e diminuindo a competição por sítios de ligação no epitélio intestinal por bactérias patogênicas. Sabe-se que uma microbiota mais estável é benéfica para o hospedeiro, participando de processos metabólicos e protegendo contra potenciais patógenos (GUEVARRA *et al.*, 2018). Além disso, a diversidade está relacionada com a saúde intestinal e com o aumento do ganho de peso diário (LU *et al.*, 2018), pois quanto maior for a diversidade maior será o aproveitamento dos substratos oriundos da dieta.

As mucosas do trato gastrointestinal dos leitões neonatos deixam de ser estéreis no momento do nascimento. O intestino do leitão é colonizado primeiramente por bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas como *Streptococcus spp.*, *E.coli* e *Shigella Flexnerii*, assim que o leitão entra em contato com o muco vaginal materno (ALUTHGE *et al.*, 2019). Portanto, nos primeiros dias de vida é esperado que o leitão obtenha a microbiota similar a microbiota na matriz, pois o contato com tudo que estiver dentro da baia irá definir sua microbiota inicial. Muito embora exista uma diversidade de fatores que podem influenciar a composição da microbiota (dieta, ambiente, idade, sexo, sanidade, manejo, antibióticos), existem diversos filos e gêneros que são preservados em mais de 85% das populações de suínos em condições comerciais (HOLMAN *et al.*, 2017).

No pós-desmame, a microbiota dos leitões modifica rapidamente e se estabiliza no décimo dia pós-creche. A população inicial é substituída principalmente por bactérias do gênero *Clostridium*, *Roseburia*, *Paraprevotella* e *Blautia* (CHEN *et al.*, 2017). Quanto maior for a diversidade de bactérias povoando o trato intestinal dos

leitões maior será sua chance de resposta imunológica a qualquer patógeno que o acometer durante sua vida produtiva. É de extrema importância que o leitão consiga superar desafios sanitários sem a adição de medicamentos principalmente na fase de creche onde os leitões enfrentam desafios como, disputa mais severa por alimento, hierarquia em um novo grupo de animais, desafios sanitários e nutricionais que impactam no desempenho do animal (MALHEIROS, 2018).

É fundamental que o uso indiscriminado de antibióticos seja cessado, pois além de possíveis riscos gerados à saúde humana, os antibióticos eram e ainda são utilizados em quantidades excessivas nas dietas animais com a finalidade de promover o crescimento. Isso por sua vez acarreta resistência das bactérias patogênicas que antes tinham seu crescimento cessado pelos mesmos (KHEIRI, *et al.*, 2018). Os óleos essenciais podem melhorar o desempenho dos animais, além da prevenção de doenças entéricas, melhorar a eficiência alimentar (BEZERRA, *et al.*, 2017). Diante disso, fez com que a procura de métodos alternativos que substituíssem o uso de antibiótico aumentasse, visando a saúde e melhor desempenho dos animais (WANG *et al.*, 2018).

4. CONCLUSÃO

Administração oral de produtos à base de óleos essenciais/ funcionais e toltrazuril não influenciam no desempenho de leitões lactentes. Leitões TT6,5% e OEF apresentaram maior frequência de diarreias. Leitões de dietas com óleos essenciais e funcionais apresentam maior população e diversidade microbiana, favorecendo o aproveitamento de nutrientes e contribuindo para a saúde intestinal.

5. REFERÊNCIAS

ALONSO, C. A, *et al.* Analysis of blaSHV-12-carrying Escherichia coli clones and 132 plasmids from human, animal and food sources. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2017.

- ALUTHGE, N.D. et al. Boar Invited Review: The pig microbiota and the potential for harnessing the power of the microbiome to improve growth and health. **American Society of Animal Science**, 2019.
- BATISTA, B. E. et al. Óleos essenciais no desempenho de suínos em crescimento terminação. (Dissertação de mestrado) **Curso de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Catarina**. Lages,2018.
- BELL B. G, et al. **A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance**, 2014.
- BERG, G. et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 8, p. 1-22, 2020.
- BEZERRA, W. G. et al. Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. **Archivos de Zootecnia**, 66(254), 301-307.
- CABRAL, A. Q. A et al. Carga parasitária e desempenho de leitões em baias na maternidade submetidas a diferentes protocolos de limpeza diária. **Universidade Federal de Uberlândia**. Uberlândia- MG, 2019.
- CAMPOS, M. T. et al. Coccidiose suína. **NutriTime** Artigo 157 Volume 09 Número 02. p.1726-1739, Março/Abril 2012
- CELI, P. et al. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. **Animal Feed Science And Technology**, v. 234, p.88-100, dez. 2017.
- CHATELIER, E. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature** 2013.
- CHEN L, et al. The Maturing Development of GutMicrobiota in Commercial Piglets during the Weaning Transition. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1688-1698, 2017.
- DANIEL, Amanda Gabrielle de Souza. Diversidade microbiana intestinal de suínos saudáveis e afetados por disenteria suína e enteropatia proliferativa. 2018. 119f. Tese (Pós-graduação em Ciência Animal) - Patologia Animal - **Universidade Federal De Minas Gerais Escola**, Belo Horizonte, 2018.
- DURGA, S et al. Role of Phytogetic Feed Additives in Swine Production- A Review. **International Journal of Environment, Agriculture na Biotechnology**. v.3, n.3, p.1071-1078, 2018.
- FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**. v. 39, n. 2, p. 120-130, Maio, 2017.

GUEVARRA, R. B. et al., 2018. The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 9(54), pp. 1-9.

HOLMAN, D.B. et al. Meta-analysis to define a core microbiota in the swine gut, 2017.

HOLMES, A. H. et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **Lancet**, v. 387, p. 176-187, 2016.

HUMPHREY, B. et al. Review: Link between intestinal immunity and practical approaches to swine nutrition. **Animal**, v. 13, n. 11, p. 2736–2744, 2019.

KAMIMURA, Regis. Aditivos nas rações de leitões e seus efeitos no intestino delgado. 2013. 94f. Tese (Pós-graduação em Ciência Animal) - Produção Animal - **Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, 2013.

KHEIRI, F. et al. Evaluation of thyme and ajwain as antibiotic growth promoter substitutions on growth performance, carcass characteristics and serum biochemistry in Japanese quails. **Animal Nutrition**, 4(1), 79-83.

KICH, J. D. et al. Suinocultura: o uso prudente e eficaz de antibióticos na suinocultura: uma abordagem integrada. **Associação Brasileira dos Criadores de Suínos**, p.361 Brasília, DF, 2022.

LEKAGUL A et al. Patterns of antibiotic use in global pig production: a systematic review. **Vet Anim Sci.** 2019;7:100058.

MALHEIROS, F. M. Quantificação bioeconômica do impacto do bem-estar no desmame e final de creche de suínos. Dissertação (Mestrado em agronegócios), **Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS)**. p. 71.

MASS et al. Óleos essenciais e funcionais para leitões lactentes e em creche: saúde intestinal e desempenho. **Zootecnia: nutrição e produção animal**. Cap 15 e 26, 2020.

MCORIST, S. Defining the full costs of endemic porcine proliferative enteropathy. **The Veterinary Journal** , v. 170, n. 1, p. 8-9. 2005.

MEMAR MY, et al., Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents Against resistant isolates. **Reviews in Medical Microbiology**. 28(1): 63–68. 2017.

MORÉS et al. Vazio sanitário e desinfecção na suinocultura: o que se faz no Brasil e quais os ganhos reais com o cumprimento de boas práticas nessas áreas. **Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos II**, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, p. 199-204, 3 maio 2017.

OMONIJO, F. A. et al. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p.126-136, 2018.

PAJARILLO, E. A. B. et al., 2014. Assessment of fecal bacterial diversity among healthy piglets during the weaning transition. **Journal of General and Applied Microbiology**, 60(4), pp. 140-146.

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.

REZENDE, A. L et al. Avaliação de estratégias nutricionais na fase de creche, com foco no uso de promotores de crescimento e na complexidade das dietas. (Dissertação de mestrado) **Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais**. Belo Horizonte-MG, 2019.

STELLA AE, Oliveira AF, Moreira CN, Viali KG. Uso de antimicrobianos na suinocultura: Indicações e Restrições. **Vet. e Zootec.** 2020 ; 27: 001-014

SUIRYANRAYNA, M. V. A. N.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2015.

WANG, Y. et al. Effect of diet complexity, multi-enzyme complexes, essential oils, and benzoic acid on weanling pigs. **Livestock Science**, v. 209, p. 32–38, 2018.

VERRAES C, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: a review. **Int J Environ Res Public Health**, 2013.

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, p. 110–119, jan. 2018.

ZHAI, H. et al. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 179-186, 2018.

ZHAXI, Yingpai. et al. Duan-Nai-An, A Yeast Probiotic, Improves Intestinal Mucosa Integrity and Immune Function in Weaned Piglets. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.

ZLOTOWSKI, P; DRIEMEIER, D; BARCELLOS, D.E.S.N et al., 2008. Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplos. **Acta Scien.Vet.** , v. 36, n. Supl 1, p. s81-s86, 2008.

ZOU, Y., Quanhang, X., Wang, J., Peng, J. and Hongkui, W. Oregano essential oil improves intestinal morphology and expression of tight junction proteins associated with modulation of selected intestinal bacteria and immune status in a pig model. **Biomedical Research International**. (2016).