

30. Saúde Animal

Efeitos da inclusão de blend de prebióticos na microbiologia cecal e peso de órgãos de leitões recém-desmamados

Viana, Yasmim Silva; Alvarenga, Patrícia Versuti Arantes; Tse, Marcos Lívio Panhoza;

Paula, Vinícius Ricardo Cambito de; Ferreira, Silvia Letícia; Berto, Dirlei Antonio.

yassviana@gmail.com; patyversuti@gmail.com; marcostse@fmvz.unesp.br;

viniciusrp@gmail.com; leticiacalif@gmail.com; dirleiberto@fmvz.unesp.br

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Resumo

O objetivo do experimento foi avaliar os efeitos da inclusão de mananoligossacarídeo (MOS), β -glucano, frutoligossacarídeo (FOS) e galactoligossacarídeo (GOS) em dietas de leitões em fase de creche, com idade média de 21 dias, sobre o peso relativo dos órgãos (estômago, fígado, intestinos e baço) e microbiologia do conteúdo do ceco dos animais. O experimento teve duração de 14 dias e foram utilizados 40 leitões recém-desmamados, distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso com 5 tratamentos (T): **T₁** = dieta basal com inclusão de antibiótico promotor de crescimento (120 ppm de halquinol); **T₂** = dieta basal com adição de MOS e β -glucano (3,0 kg/t); **T₃** = dieta basal com adição de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (1:9); **T₄** = dieta basal com adição de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (3:7); **T₅** = dieta basal com adição de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (5:5), com oito repetições, sendo cada animal uma unidade experimental.

Palavras-chave: Antibiótico, Imunidade, Leitões, Nutrição, Saúde intestinal.

Introdução

O período pós-desmame é uma fase crítica na suinocultura, apresentando diversos desafios que podem comprometer o desenvolvimento dos animais. Tais desafios, como o estresse ocasionado pela separação da mãe, mudança da alimentação e disputa

hierárquica na instalação, associado com a imaturidade fisiológica dos animais (deficiente secreção de ácido clorídrico no estômago e de enzimas digestivas no intestino delgado), podem ocasionar desbalanço nas taxas de apoptose e mitose celular dos enterócitos, com redução na área absorptiva do intestino

delgado (Pluske *et al.*, 2003). Assim, o uso de substâncias químicas

ambiente intestinal se torna propício à maior proliferação de bactérias patogênicas, ocorrendo aumento nas desordens entéricas e menor digestão e absorção de nutrientes dietéticos, resultando em menor desempenho (Gomez, Herrera, & Suescun, 2015).

Para contornar esses efeitos deletérios, os antimicrobianos são utilizados em doses promotoras na dieta dos leitões, mas há uma crescente preocupação por parte de profissionais e do mercado consumidor pela possível seleção de cepas bacterianas resistentes a antibióticos utilizados na medicina humana, o que resultou na proibição do uso destes compostos como melhoradores de desempenho em vários países (Van Der Fels-Kleix, Puister-Jansen, Van Asselt, & Burgers, 2011; Thacker, 2013).

Frente a esta realidade, a nutrição balanceada torna-se uma importante ferramenta nesta fase crítica de produção, de forma que atenda as necessidades de manutenção e melhoria na saúde e desempenho dos animais. Uma correta nutrição pode melhorar a resposta imunológica, devido a atuação do sistema digestivo nos mecanismos de defesa contra as agressões do meio externo (Oliveira *et al.*, 2012), contribuindo para as respostas da imunidade humoral e imunidade celular.

Para Qureshi (2002) a melhora na capacidade de resposta imunológica via nutrição poderia reduzir a necessidade do

melhoradores de desempenho, tais como os antibióticos. Desta forma, destacam-se os promotores da simbiose entre hospedeiro e a flora intestinal, como os prebióticos, que têm a capacidade de modular várias propriedades do sistema imunológico e de atuar sobre o sistema linfóide (Waltz, Girrbach, & Roller, 2005).

Os prebióticos são compostos não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por serem seletivamente fermentados por espécies de bactérias benéficas do trato gastrintestinal (TGI), estimulando seu maior crescimento e indiretamente melhorando a saúde intestinal (Gibson & Roberfroid, 1995), portanto, representam uma fonte nutricional para bactérias que produzem ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) como metabólitos fermentativos que, por sua vez, são capazes de nutrir indiretamente o hospedeiro, além de reduzir o pH do TGI, criando ambiente desfavorável às bactérias patogênicas, tais como *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* e *Campylobacter sp.*, reduzindo, assim, desordens entéricas (Buddington, Kelly-Quagliana, & Kimura 2002; Sanches, 2004).

Entre os prebióticos mais estudados como aditivos em alimentação animal estão os oligossacarídeos não digestíveis (ONDs), como os Mananoligossacarídeos (MOS), β -glucanos, Frutoligossacarídeos (FOS) e Galactoligossacarídeos (GOS), os quais são capazes de alterar a composição e a

atividade da microbiota gastrointestinal conferindo benefícios de forma direta e indireta à saúde do hospedeiro.

De forma direta, os ONDs possuem a capacidade de reduzir a colonização de microrganismos patogênicos no trato digestório, modulam as respostas imunológicas e reduzem a estimulação antigênica do TGI através da adsorção de toxinas (Spring & Pirvulescu, 1998). De forma indireta, essas substâncias são fermentadas seletivamente no intestino, principalmente por bactérias do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, as quais produzem ácidos acético, butírico, propiônico e outros ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que reduzem o pH do intestino grosso (Modler, Mckellar, & Yaguch, 1990; Sanches, 2004).

Os MOS são carboidratos complexos derivados da parede celular de cepas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Fernandes, Malaguido, Silva, & Jensen, 2003). Quando adicionados à dieta, possuem a capacidade de aderir-se às fímbrias tipo-1 de bactérias gram-negativas, bloqueando a adesão desses microrganismos na superfície do intestino, mantendo a integridade da mucosa (Menten, 2002). Segundo Savage (1987), MOS são capazes de induzir a ativação de macrófagos quando se ligam a três ou mais sítios receptores de manose nos mesmos, tornando-os mais eficientes na apresentação de antígenos para as células produtoras de anticorpos, resultando na fagocitose e na destruição

dos organismos invasores, além de induzir a síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas, especialmente a IgA.

Os β -glucanos são polissacarídeos estruturais que também constituem a parede celular de leveduras, fungos e alguns cereais, e quando incorporados na dieta animal estimulam a ativação de células de defesa, tais como macrófagos e linfócitos, aumentando a secreção de substâncias antimicrobianas e citocinas, potencializando a destruição de microrganismos patogênicos (Seljelid, Rasmussen, Larm, Hoffman, 1987; Brown & Gordon, 2003).

Outro fator que pode contribuir para a atividade biológica dos β -glucanos é sua longa permanência nos sistemas de mamíferos, devido à ausência das enzimas β -glucanases, permitindo o acúmulo no fígado, baço e outros órgãos do sistema reticuloendotelial sem sofrer mudanças estruturais significativas (Brown & Gordon, 2003).

Desse modo, os β -glucanos têm efeito benéfico sobre o crescimento de leitões desmamados pela capacidade de modular reações imunes específicas, aumentando a imunidade inespecífica (Mowat, 1987).

Os FOS são formados por polímeros de frutose ligados a uma unidade de glicose e são de ocorrência natural em produtos de origem vegetal, ou podem ser obtidos sinteticamente pela polimerização da frutose (Spiegel, Rose, Karabell, & Frankos, 1994; Yun, 1996). Segundo Hidaka, Eida, Takizawa, Tokunaga &

Tashiro (1986), a inclusão deste aditivo na dieta de monogástricos resulta em alterações fisiológicas e metabólicas, levando a melhorias na eficiência alimentar, e, assim, redução dos quadros de diarreia.

Os GOS são produzidos a partir de soluções com altas concentrações de lactose por atividade de transgalactosilação, pela ação da enzima β -galactosidase, previamente extraída de diversas fontes, sendo a microbiana a mais usual (Martins & Burkert, 2009).

Os benefícios da sua ingestão envolvem o aumento da população de bifidobactérias no cólon e a supressão da atividade de bactérias putrefativas, reduzindo a formação de metabólitos tóxicos, além disso, as alterações na microflora intestinal contribuem para a diminuição do conteúdo de colesterol no sangue e inibem a adesão de microrganismos patogênicos às células epiteliais gastrintestinais (Neri *et al.*, 2009; Chong, 2014; Bruno-Barcelona & Azcarate-Peril, 2015; Rastall & Gibson 2015).

Apesar de haver muitas pesquisas demonstrando resultados benéficos avaliando isoladamente os efeitos da adição de β -glucanos, MOS, FOS e GOS nas dietas de suínos, mais estudos são necessários a fim de avaliar a inclusão simultânea desses aditivos nas dietas de leitões desmamados, bem como para definir as doses mais adequadas.

Objetivos

O objetivo do experimento foi avaliar os efeitos da inclusão de mananoligossacarídeo (MOS), β -glucano, frutoligossacarídeo (FOS) e galactoligossacarídeo (GOS) em dietas de leitões em fase de creche sobre o peso relativo dos órgãos (estômago, fígado, intestinos e baço) e microbiologia do conteúdo do ceco dos animais.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu/SP), envolvendo 40 leitões recém-desmamados com idade média de 21 dias, machos castrados e fêmeas de alto potencial genético oriundos de granja comercial.

Os leitões foram alojados em baias suspensas, com piso anterior concretado e posterior ripado plástico, com área de 1,70 m², equipadas com bebedouro tipo chupeta, comedouro tipo calha e campânulas com resistência elétrica. Durante o período experimental (14 dias) os leitões receberam dietas pré-inicial 1 à vontade. As dietas eram isoenergéticas, isoprotéicas e foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, de acordo com Rostagno *et al.* (2011).

O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso com cinco tratamentos e oito repetições. Os tratamentos (T) avaliados foram:

T₁ = dieta basal con inclusión de coliformes totales, *E. coli*, bacterias ácido-lácticas e Clostridium Sulfito-Redutores e antibiótico promotor de crecimiento (120 ppm de halquinol);

T₂ = dieta basal con adición de MOS e β -glucano (3,0 kg/t);

T₃ = dieta basal con adición de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (1:9);

T₄ = dieta basal con adición de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (3:7);

T₅ = dieta basal con adición de MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (5:5).

No 14^o día do experimento, todos os animais foram insensibilizados con choque eléctrico (eletronarcole) e sacrificados por meio de sangría, para coleta das amostras que foram destinadas às seguintes análises:

Peso relativo dos órgãos: a cavidade abdominal foi aberta após abate dos animais por incisão longitudinal, sendo retirados e pesados os órgãos digestórios (estômago, intestino delgado e intestino grosso vazios e fígado) e o baço. Os pesos relativos dos órgãos foram calculados considerando o peso vivo dos animais no momento do abate.

Contagem de microrganismos no ceco: imediatamente após o abate de cada leitão, o ceco foi isolado, retirado e armazenado em isopor com gelo e, em seguida, encaminhado para as posteriores análises microbiológicas. Foram utilizados 25 gramas do conteúdo do ceco de cada animal para a contagem do grupo

coliformes totales, *E. coli*, bacterias ácido-lácticas e Clostridium Sulfito-Redutores e os resultados das contagens dos diferentes microrganismos foram transformados em log.UFC.g-1. Os resultados qualitativos de *Salmonella* spp. foram expressos em presença ou ausência em 25 gramas de amostra.

Análise estatística: os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o procedimento GLM do SAS 9.2 e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os tratamentos não influenciaram ($P>0,05$) o peso do estômago, intestino grosso, fígado e baço (Tabela 1). Os animais alimentados com dietas contendo antimicrobiano promotor de crescimento (T1) e a maior dose de inclusão de MOS e β -glucano (3,0kg/t) (T2) apresentaram maior ($P<0,05$) peso relativo do intestino delgado comparado aos animais alimentados com dieta com MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (5:5) (T5).

De forma semelhante ao encontrado neste estudo, Correa-Matos *et al.* (2003) não observaram diferenças sobre o peso relativo do intestino grosso, baço e fígado de leitões em maternidade alimentados com dietas líquidas suplementadas com FOS, assim como Saleh (2014) não encontrou diferenças para o peso relativo dos órgãos do trato digestório e baço de

leitões alimentados com dietas com adição de β -glucanos. Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina | 17, 18 y 19 de octubre de 2018

Os prebióticos utilizados neste estudo são oligossacarídeos não digestíveis, que podem ser fermentados por populações bacterianas benéficas no trato gastrointestinal (TGI) dos animais, caracterizando estes compostos como prebióticos. As populações de bactérias benéficas produzem metabólitos que reduzem a proliferação da população patogênica bacteriana de forma direta e indireta, como bacteriocinas e ácidos orgânicos. Estes ácidos (principalmente ácido láctico, acético, propiônico e butírico), além de reduzirem o pH do meio, são fonte energética direta (ácido butírico) para o desenvolvimento dos enterócitos (Silva & Norberg, 2003). Dessa forma, uma maior produção destes ácidos pode levar à maior replicação celular, promovendo maior peso relativo do intestino (Pluske *et al.*, 2003).

Há evidências que demonstram que dietas com maiores inclusões de fibra são associadas com hipertrofia intestinal e aumento nas populações de bactérias celulolíticas no intestino grosso de suínos (Dickson *et al.*, 1989; Pluske *et al.*, 2003). Alguns fatores fisiológicos podem ser associados com a hipertrofia causada pelo aumento na inclusão de fibras nas dietas, como: maiores secreções dos hormônios tiroxina (T4) e hormônio do crescimento (GH); e fatores relacionados à ingestão e digestão destas dietas, incluindo maiores descamação epitelial, peristaltismo,

secreções endócrinas e parácrinas, e estímulos neurais (Johnson, 1981).

Com relação a microbiota do ceco, os tratamentos estudados não influenciaram ($P>0,05$) a quantificação de coliformes totais, *E.coli*, bactérias ácido lácticas, Clostridium sulfito redutor e de *Salmonella* spp. do conteúdo cecal (Tabela 2).

Comportamento similar ocorreu no estudo de Utyiama, Oetting, Giani, Ruiz & Miyada (2006) avaliando os efeitos de inclusão de antibiótico, probiótico, extratos vegetais e prebiótico nas dietas de leitões recém-desmamados aos 21 dias, onde não observaram efeitos dos tratamentos sobre a microbiologia do conteúdo do jejuno e íleo dos animais. Silva *et al.* (2012) demonstraram que a inclusão de MOS (0,1 e 0,2%) nas dietas reduziu a incidência de diarreia de leitões, porém sem resultados significativos sobre a microbiota intestinal.

Contudo, Castillo, Martín-Orué, Taylor-Pickard, Pérez & Gasa (2008) verificaram diminuição na contagem de *Enterobacteriaceae* em animais que receberam dietas com inclusão de parede celular de levedura (MOS + β -glucano) (0,2%), enquanto Zhao, Jung & Kim (2012) observaram diminuição na população de *E.coli* no trato gastrointestinal dos leitões alimentados com MOS (0,1%). No presente estudo, a ausência de efeitos dos aditivos provavelmente ocorreu pela condição experimental de baixo desafio sanitário imposto aos animais, o que pode ter sido insuficiente para que houvesse

efeito sobre o perfil da microbiota intestinal, uma vez que os melhores resultados com promotores de crescimento, como prébióticos e probióticos, são obtidos quando os animais estão sujeitos à condições estressoras (maior pressão sanitária, taxa de lotação, entre outros) (Pozza, 1998). Ademais, as dietas utilizadas nos experimentos eram formuladas com ingredientes altamente digestíveis, o que pode ter favorecido o equilíbrio da microflora intestinal, além de ter limitado o desenvolvimento de bactérias patogênicas no trato intestinal pela redução de substrato disponível ao crescimento bacteriano, mascarando assim o potencial antimicrobiano dos prebióticos (Costa, Tse, Miyada, 2007).

Tabela 1. Peso relativo dos órgãos dos animais aos 35 dias de idade.

Variáveis	Dietas experimentais ¹					CV ²	P valor
	T1	T2	T3	T4	T5		
Estômago	0,69	0,71	0,69	0,66	0,69	9,5475	0,8026
Fígado	2,85	2,90	2,80	2,82	2,73	8,4750	0,6985
Baço	0,24	0,22	0,23	0,20	0,19	17,6209	0,1596
Int. delgado ³	5,54 ^a	5,56 ^a	5,32 ^{ab}	5,16 ^{ab}	4,94 ^b	7,3326	0,0160
Int. grosso ⁴	1,49	1,64	1,48	1,60	1,59	13,5026	0,5007

Na mesma linha, médias seguidas de letras iguais não diferem por Teste de Tukey (P>0,05).

¹Tratamento 1 = Dieta basal com adição de promotor de crescimento (halquinol);
Tratamento 2 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS;
Tratamento 3 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS + GOS:FOS (1:9);
Tratamento 4 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS + GOS:FOS (3:7);
Tratamento 5 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS + GOS:FOS (5:5).

²CV = Coeficiente de variação; ³Int. delgado = intestino delgado; ⁴Int. grosso = intestino grosso.

Tabela 2. Quantificação microbiológica (CFU/g) do conteúdo do ceco dos animais aos 35 dias de idade.

Variáveis	Dietas experimentais ¹					CV ²	P valor
	T1	T2	T3	T4	T5		
Coliformes totais	4,28	3,81	4,15	3,70	3,67	21,0926	0,4877
<i>E. coli</i>	3,50	2,94	2,72	2,70	2,72	54,1339	0,8251

Bactérias lácticas	8,02	7,32	17,09	18,73	7,41	18,553	20,759
Clostr. sulf. red. ³	2,04	1,97	1,70	1,93	2,16	40,9074	0,8409
<i>Salmonella</i> sp.	aus. ⁴	aus.	aus.	aus.	aus.	-	-

¹Tratamento 1 = Dieta basal com adição de promotor de crescimento (halquinol);
Tratamento 2 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS;
Tratamento 3 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS + GOS:FOS (1:9);
Tratamento 4 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS + GOS:FOS (3:7);
Tratamento 5 = Dieta basal com adição de GLUCAN MOS + GOS:FOS (5:5).

²CV = Coeficiente de variação; ³ Clostr. sulf. red. = Clostridium sulfito reductor;

⁴aus = Ausente.

Conclusão

A partir deste estudo é possível concluir que a combinação de prebióticos MOS, β -glucano, GOS e FOS em dietas para leitões recém-desmamados, em condições de baixo desafio sanitário, não alteram o perfil bacteriano cecal. Ainda, o uso do blend com a maior dose de inclusão de MOS e β -glucano foi capaz de aumentar o peso relativo do intestino delgado, demonstrando que estes compostos em maior concentração podem alterar a regulação endócrino-neural local do intestino delgado de leitões.

Referências Bibliográficas

- Brown, G. D., & Gordon, S. (2003). Fungal β -glucans and mammalian immunity. *Immunity*, 19(3), 311-315.
- Bruno-Barcelona, J. M., & Azcarate-Peril, M. A. (2015). Galactooligosaccharides and colorectal cancer: feeding our intestinal probiome. *Journal of Functional Foods*, 12, 92-108.
- Buddington, R. K., Kelly-Quagliana, K., Buddington, K. K., & Kimura, Y. (2002). Non-digestible oligosaccharides and defense functions: lessons learned from animal models. *British Journal of Nutrition*, 87(2), 231-239.

- Castillo, M., Martín-Orué, S. M., Taylor-zarza, A., Argente-Argente, J., Fernández, P. C. C., Malaguido, A., Silva, T. D., & Jensen, B. B. (2003, Março). Manejo nutricional visando substituir a utilização de antimicrobianos em alimentos para aves. *Anais do Simpósio Sobre Manejo E Nutrição De Aves E Suínos*, Campinas, SP, Brasil, 1.
- Pickard, J. A., Pérez, J. F., & Gasa, J. (2008). Use of mannan-oligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: Effects of microbiota and gut function. *Journal of Animal Science*, 86, 94–101.
- Chong, E. S. L. (2014). A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 351–374.
- Correa-Matos, N. J., Donovan, S. M., Isaacson, R. E., Rex Gaskins, H., White, B. A., & Tappenden, K. A. (2003). Fermentable fiber reduces recovery time and improves intestinal function in piglets following salmonella typhimurium infection. *Journal of Nutrition*, 133, 1845-1852.
- Costa, L. B., Tse, M. L. P., & Miyada, V. S. (2007). Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(3), 589-595.
- Dickson, J. S., Anauqwa, F. O., Verel, V. H., Pond, W. G., Krook, L. P. (1989). Effects of dietary fiber and protein concentration on growth, feed efficiency, visceral organ weights and large intestine microbial populations of swine. *Journal of Nutrition*, 119(6), 879-886.
- Gibson, G. T., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401–1412.
- Gomez, L. A. C, Herrera, A. L., & Suescun, J. E. P. (2015). La inclusión de cepas probióticas mejora los parámetros inmunológicos en pollos de engorde. *Ces Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 10(2), 160-169.
- Hidaka, H., Eida, T., Takizawa, T., Tokunaga, T., & Tashiro, Y. (1986). Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bioscience and Microflora*, 5, 37-50.
- Martins, A. R., & Burkert, C. A. V. (2009). Galacto-oligosacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos. *Brazilian Journal of Food Technology*, 12(3), 230-240.
- Menten, J. F. M. (2002, Agosto). Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. *Anais do II Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal*, Uberlândia, MG, Brasil, 2.
- Modler, H. W., Mckellar, R. C., & Yaguchi, M. (1990). Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Canadian Institute*

- of Food Science Technology Journal*, Argentina, v.54, n.5, p.515-23(1), 29-41.
- Mowat, A. M. (1987). The regulation of immune responses to dietary protein antigens. *Immunology Today*, 8, 93-98.
- Murarolli, V. D. A. (2008). *Efeito do prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte* (Tese de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- Neri, D. F. M., Balcão, V. M., Costa, R. S., Rocha, I. C. A. P., Ferreira, E. M. F. C., Torres, D. P. M., Rodrigues, L. R. M., Carvalho Júnior, L. B., & Teixeira, J. A. (2009). Galacto-oligosaccharides production during lactose hydrolysis by free *Aspergillus oryzae* β -galactosidase and immobilized on magnetic polysiloxane-polyvinyl alcohol. *Food Chemistry*, 115, 92-99.
- Oliveira, M. D., Zavarize, K. C., Gomes, N. A., Rocha, F. R. T., Martins, J. M. S., Litz, F. H., & Castilhano, H. (2012). Aditivos alternativos na alimentação de aves. *PUBVET*, 6(27), 1425.
- Pluske, J. R.; Kerton, D. J.; Cranwell, P. D.; Campbell, R. G., Mullan, B. P.; King, R. H., Power, G. N., Pierzynowski, S.G, Westrom, B., Rippe, C., Peulen, O., & Dunshea, F.R. (2003). Age, sex, and weight at weaning influence organ weight and gastrointestinal development of weanling pigs. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.54, n.5, p.515-527, 2003.
- Pozza, P. C. (1998). Uso de probióticos para suínos. *Anais do CONEX*, Viçosa, MG, Brasil, 1.
- Qureshi, M. A. (2002). Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. *Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas*, Campinas, SP, Brasil, 15.
- Rastall, R. A., & Gibson, G. R. (2015). Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 42-46.
- Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T., Donzele, J. L., Gomes, P. C., Oliveira, R. F., Lopes, D. C., Ferreira, A. S., Barreto, S. L. T., & Euclides, R. F. (2011). *Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais*. Viçosa: Imprensa Universitária/UFV.
- Saleh, M. A. D. (2014). *Efeito de Beta-Glucanos e da densidade nutricional da dieta sobre o desempenho e peso de órgãos de leitões desmamados desafiados imunologicamente* (Tese de Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.
- Sanches, A.L. (2004). *Probiótico, Prebiótico e Simbiótico em rações de leitões ao desmame* (Tese de Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

- Savage, D. C. (1987). Factors of Argentinian influencing biocontrol of bacterial pathogens in the intestine. *Food Technology*, 41(8), 82-87.
- Silva, S. Z., Thomaz, M. C., Watanabe, P. H., Robles Huaynate, R. Z., Ruiz, U. B., Pascoal, L. A. F., Santos, V. M., & Masson, G. C. I. H. (2012). Mananoligosacarídeos em dietas para leitões desmamados. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 49(2), 102-110.
- Spiegel, J. E., Rose, r., Karabell, P., & Frankos, V. H. (1994). Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technology*, 48, 85-89.
- Spring, P.; & Pirvulescu, M. (1998). Mannanoligosaccharides: Its logical role as natural feed additive for piglets. *Annual Symposium Biotechnology In The Feed Industry*, Nottingham, Nottinghamshire, England.
- Thacker, P. A. (2013). Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4(35), 1-12.
- Utiyama, C. E., Oetting, L. L., Giani, P. A., Ruiz, U. S., & Miyada, V. S. (2006). Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(6), 2359-2367.
- Van Der Fels-Klerx, H. J., Puister-Jansen, L. F., Van Asselt, E. D., & Burgers, S.L. (2011). Farm factors associated with the use of antibiotics in pig production. *Journal of Animal Science*, 89, 1922–1929.
- Waltz, B., Girrbach, S., & Roller, M. (2005). Inulin, oligofructose and immunomodulation. *British Journal of Nutrition*, 93, 49-55.
- Yun, J. W. (1996). Fructooligosaccharides - Occurrence, preparation and applications. *Enzymes and Microbial Technology*, 19, 107-117,
- Zhao, P. Y., Jung, J. H., & Kim, I. H. (2012). Effect of mannan oligosaccharides and fructan on growth performance, nutrient digestibility, blood profile and diarrhea score in weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 90, 833-839.

Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (2017/12241-3).