



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

JORDÂNIA LIMA FERREIRA

**ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO COMO PROMOTORES DE
CRESCIMENTO ALTERNATIVOS PARA LEITÕES DESMAMADOS**

FORTALEZA

2018

JORDÂNIA LIMA FERREIRA

ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO COMO PROMOTORES DE
CRESCIMENTO ALTERNATIVOS PARA LEITÕES DESMAMADOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe

Coorientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F441a Ferreira, Jordânia Lima.

Anacardato de cálcio e ácido cítrico como promotores de crescimento alternativos para leitões demamados / Jordânia Lima Ferreira. – 2018.

54 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe.

Coorientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

1. Pós-desmame. 2. Morfometria Intestinal. 3. Imunohistoquímica. I. Título.

CDD 636.08

JORDÂNIA LIMA FERREIRA

ANACARDATO DE CÁLCIO E ÁCIDO CÍTRICO COMO PROMOTORES DE
CRESCIMENTO ALTERNATIVOS PARA LEITÕES DESMAMADOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Aprovada em: 16/03/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento (Examinador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Luiz Euquerio de Carvalho (Examinador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Faviano Ricelli da Costa e Moreira (Examinador)
Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela presença forte em minha vida, por me guiar nessa caminhada, me proteger e me dar forças nessa caminhada e por me conceder tudo aquilo que sou e tenho. A Nossa Senhora, minha fiel intercessora que tanto roga por mim a Deus.

A minha mãe, Maria, mulher de força e coragem que me ensina todos os dias a ser uma pessoa melhor.

Ao meu pai Edmilson (*In memoriam*), por todo amor e carinho e por sempre me incentivar nos estudos e na vida.

À Graça Lima, Miguel, Letícia, Larissa, Raimundo, Joel e Helenice, pessoas que me acompanham em todos os momentos, fazendo minha vida mais feliz.

Ao meu namorado e amigo Rodrigo Ximenes pelo amor, companheirismo, carinho, dedicação e paciência nesses anos de mestrado e na vida.

Ao meu orientador, professor Pedro Henrique Watanabe pela confiança, credibilidade, parceria, paciência e acima de tudo por todo aprendizado.

Às companheiras da área de nutrição de não ruminante, Bruna, Carol, Eloisa e Ingrid que se tornaram minhas amigas, no decorrer do mestrado, obrigada pelo apoio estrutural e emocional, pelas alegrias, tristezas e conquistas compartilhadas. Pessoas que quero levar comigo, por toda a vida.

Aos funcionários do setor de suinocultura, Márcio e Olavo por todo auxílio e participação fundamental no experimento.

Aos alunos de graduação que fizeram parte da equipe do experimento, por toda ajuda.

Ao professor responsável pelo laboratório de Histologia da UFPB Ricardo Guerra, por sua paciência, ensinamentos e contribuições dedicadas a parte desse trabalho.

Aos professores Ednardo Freitas, Germano Augusto, Luiz Euquerio e Faviano Moreira pelas valiosas contribuições dedicadas a este trabalho.

À Universidade Federal do Ceará, por toda estrutura e suporte concedidos.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Por fim, aos 96 leitões utilizados neste experimento, a eles todo meu respeito.

RESUMO

Objetivou-se avaliar a associação do anacardato de cálcio (AC) e do ácido cítrico (AcC) como promotores de crescimento alternativos, em rações para leitões desmamados, sobre desempenho, ocorrência de diarreia, pH dos conteúdos gastrointestinais, parâmetros sanguíneos, morfometria e imunohistoquímica intestinal. O período experimental foi de 42 dias, divididos em período I (21 a 32 dias), período II (21 a 42 dias) e período total (21 a 63 dias). Foram utilizados 96 leitões com peso médio de $5,965 \pm 0,804$ kg distribuídos em delineamento em blocos ao acaso, com 4 tratamentos e 8 repetições, considerando a baia contendo 3 animais como unidade experimental. Os tratamentos consistiram em: controle negativo (CN) – ração sem adição de promotor de crescimento; controle positivo (CP) – ração com adição de antibiótico promotor de crescimento (APC), ração contendo 0,6% AC + 1% AcC e ração contendo 1% AC + 1% AcC. Observou-se, durante o período total do experimento, que os leitões que receberam antibiótico promotor de crescimento e os dois níveis de AC associado a AcC apresentaram melhor conversão alimentar comparados aos do tratamento controle negativo. Embora não tenha reduzido a ocorrência de diarreia, a associação de AC e AcC resultou em maior espessura de mucosa (EM) em relação aos animais alimentados sem promotor de crescimento. Além de ter apresentado resultados similares ao tratamento com APC com relação à altura de vilosidade (AV) e à área absorptiva (AA) no duodeno dos leitões. Observou-se que animais do tratamento 1% AC + 1% AcC apresentaram maiores resultados de hematócrito, já para VCM, CHCM e monócitos, os leitões alimentados com ração contendo associação do anacardato de cálcio e ácido cítrico apresentaram valores semelhantes aos alimentados com ração contendo APC. Considerando que houve benefícios na morfometria intestinal e nos parâmetros séricos, além de não ter apresentado prejuízos no desempenho a associação do anacardato de cálcio e ácido cítrico pode ser uma alternativa aos APC para leitões desmamados.

Palavras-chave: Pós-desmame. Morfometria Intestinal. Imunohistoquímica.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the association of calcium anacardate (CA) and citric acid (CAc) as alternative growth promoters in rations for weaned piglets, on performance, occurrence of diarrhea, pH of gastrointestinal contents, blood parameters, intestinal morphometry and immunohistochemistry. The experimental period was 42 days, divided in period I (21 to 32 days), period II (21 to 42 days) and total period (21 to 63 days). A total of 96 piglets with a mean weight of 5.965 ± 0.804 kg were distributed in a randomized block design, with 4 treatments and 8 replicates, considering the bay containing 3 animals as experimental unit. The treatments consisted of: negative control (NC) - ration without addition of growth promoter; positive control (PC) - ration with antibiotic growth promoter (AGP), ration containing 0.6% CA + 1% CAc and ration containing 1% CA + 1% CAc. It was observed, during the whole period of the experiment that the piglets that received antibiotic growth promoter and the two levels of CA associated with CAc presented better feed conversion compared to the negative control treatment. Although, it did not reduce the occurrence of diarrhea, the association of CA and CAc resulted in a higher mucosal thickness (MT) in relation to the animals fed without growth promoter. Moreover, they presented results similar to AGP treatment with relation to villus height (VH) and absorptive area (AA) in the duodenum of piglets. It was observed that animals treatment with 1% CA + 1% CAc presented higher hematocrit results, for MCV, MCHC and monocytes, piglets fed with ration containing calcium anacardate and citric acid showed values similar to those fed with diet containing AGP. Considering that there were benefits in intestinal morphometry and in serum parameters, in addition to showing no impairment in performance, the association of calcium anacardate and citric acid may be an AGP for weaned piglets.

Key-words: Post weaning. Intestinal Morphometry. Immunohistochemistry.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Composição percentual e nutricional da ração controle negativo para leitões nas Fases I – 21 a 32 dias, II – 33 a 42 dias e III - 43 a 63 dias.....	26
Tabela 2	- Desempenho de leitões alimentados com rações contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico nos período I (21 a 32 dias de idade), período II (21 a 42 dias de idade) e período.....	32
Tabela 3	- Ocorrência de diarreia em leitões dos 21 aos 63 dias de idade alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.....	34
Tabela 4	- Valores de pH do estômago, intestino delgado e ceco de leitões aos 42 dias de idade, alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.....	35
Tabela 5	- Hemograma, leucograma e proteínas séricas de leitões alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico, aos 43 dias de idade.....	37
Tabela 6	- Altura de vilosidade, profundidade de cripta, relação altura de vilosidade/profundidade de cripta, largura de vilo, espessura de mucosa, área absorptiva e contagem de células caliciformes do duodeno e jejuno de leitões alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.....	39
Tabela 7	- Número de células em mitose no duodeno e jejuno de leitões abatidos aos 42 dias de idade, alimentados com ou sem antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.....	41

SÚMARIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1	O desmame de leitões e seus efeitos na fase de creche.....	11
2.1.1	<i>Sistema enzimático do leitão desmamado.....</i>	12
2.1.2	<i>pH estomacal.....</i>	13
2.1.3	<i>Alterações na morfologia intestinal dos leitões após o desmame...</i>	14
2.2	O uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação de leitões desmamados.....	16
2.3	Uso de ácidos orgânicos como promotores de crescimento alternativos.....	17
2.3.1	<i>Ácido anacárdico e suas ações biológicas.....</i>	19
2.3.1.1	<i>Uso do anacardato de cálcio.....</i>	20
2.3.2	<i>Ácido cítrico.....</i>	21
2.3.3	<i>Uso de misturas de ácidos orgânicos ou seus sais.....</i>	22
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	Animais e Instalações.....	24
3.2	Obtenção do anacardato de cálcio (AC).....	24
3.3	Tratamentos.....	25
3.4	Desempenho.....	27
3.5	Ocorrência de diarreia.....	27
3.6	pH do conteúdo estomacal, intestinal e cecal.....	28
3.7	Avaliação morfométrica intestinal do duodeno e jejuno.....	28
3.8	Análise imunohistoquímica.....	29
3.9	Parâmetros séricos.....	30
3.10	Análise estatística.....	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

Na suinocultura, o desmame representa um período crítico para os leitões, devido ao estresse sofrido por estes, em consequência da separação da mãe, mudanças na alimentação e de ambiente, além da reorganização social. Além disso, em função da imaturidade fisiológica, os animais nesta fase passam por desequilíbrio na microbiota intestinal, que pode causar alterações histológicas no intestino delgado, tendo como consequência a redução na digestão e absorção dos nutrientes da dieta (TUCCI *et al.*, 2011), resultando em baixo desempenho por deficiência nutricional.

Nesse sentido, a manutenção da integridade epitelial é de fundamental importância para o desenvolvimento da capacidade digestiva dos leitões, já que, associada ao sistema imune, confere uma essencial barreira aos ataques de microrganismos e componentes antigênicos de origem alimentar (CUNNINGHAM, 1992).

Logo o uso de antibióticos promotores de crescimento vem sendo utilizado visando à redução da incidência de diarreia pós-desmame, através do controle e prevenção de bactérias patogênicas, além de melhorar o desempenho zootécnico, proporcionando melhor saúde e aumento da produção dos leitões (MIGUEL *et al.*, 2011; SUIRYANRAYNA & RAMANA, 2015). Entretanto, a preocupação com os prováveis efeitos causados por possíveis resíduos deixados na carne pelo uso de antibióticos promotores de crescimento (APC) na criação de suínos aumentou a busca por substâncias alternativas (ZANGERÔNIMO *et al.*, 2011), destacando-se os ácidos orgânicos e seus sais.

De acordo com o modo de ação, os ácidos orgânicos podem ser classificados entre aqueles que agem indiretamente na redução das populações de bactérias patogênicas, por meio da diminuição do pH do estômago, como os ácidos láctico, fumárico e cítrico, e os que apresentam efeito direto, difundindo-se passivamente através da parede celular da bactéria quando o pH interno desta é superior à constante de dissociação (pKa), reduzindo o pH intracelular, causando a morte daquelas que não toleram um gradiente de pH em ambos os lados da membrana (CHIQUIERI *et al.*, 2009; VONDRUSKOVA *et al.* 2010). Neste último grupo, enquadram-se os ácidos fórmico, acético, propiônico e sórbico, bem como os ácidos orgânicos naturais oriundos de plantas, como o ácido anacárdico.

O ácido anacárdico é um composto fenólico encontrado nas diferentes partes do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) e, em maior proporção na castanha do caju, apresentando diversas atividades biológicas (HAMAD & MUBOFU, 2015), destacando-se aquelas voltadas à atividade inibidora seletiva contra microrganismos patogênicos (HOLLANDS *et al.*, 2016), podendo ser utilizado sob a forma de anacardato de cálcio (AC).

O ácido cítrico (AcC), embora possua baixo efeito antimicrobiano devido a muitos microrganismos o produzirem, tem como principal efeito a redução do pH gástrico, fazendo com que as enzimas do animal possam atuar em um ambiente adequado, além de ser metabolizado através do ciclo do ácido cítrico como fonte de energia (PARTANEN; MROZ, 1999).

Como os efeitos dos ácidos orgânicos na atividade microbiana dependem do seu grau de dissociação relacionado ao pH do meio luminal, e por sua vez o pKa do ácido anacárdico estar entre 4 e 5. Então um pH abaixo desse valor proporcionaria a dissociação do sal e liberação do princípio ativo dentro da bactéria patogênica (DIAS JÚNIOR, 2011). A partir desse contexto, a ação conjugada do AcC ao reduzir o pH gástrico pode potencializar a ação do ácido anacárdico sobre os microrganismos patogênicos entéricos, possibilitando melhor desempenho dos leitões desmamados na fase de creche.

Diante do exposto, com o presente trabalho, objetivou-se avaliar a ação do anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico nas rações para leitões desmamados sobre o desempenho, ocorrência de diarreia, pH do conteúdo estomacal, intestinal e cecal, parâmetros séricos, morfometria e imunohistoquímica intestinal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O desmame de leitões e seus efeitos na fase de creche

No Brasil, em sistemas intensivos de produção de suínos, o desmame precoce é uma estratégia de manejo bastante utilizada, que consiste na quebra antecipada do vínculo maternal, realizado em média aos 21 dias, com o objetivo de aumentar a produção (GRECCO, 2014), por meio da redução do intervalo entre partos/porca/ano. Dessa forma, os leitões são transferidos para as instalações de creche, onde são mantidos, em média, até os 63 dias de idade.

De fato, a fase de creche é considerada um período preocupante no ciclo produtivo de suínos, pois os leitões são expostos a desafios fisiológicos e nutricionais devido a várias fontes de estresse como: a separação da mãe, mudança de instalações, transição da dieta líquida, de alta digestibilidade, para dieta sólida, normalmente de origem vegetal, que por sua vez possui uma menor digestibilidade, além do reagrupamento social e da imaturidade digestiva (PERINA, 2012). Além disso, devido ao perfil fisiológico limitado do trato gastrointestinal e à imaturidade do sistema imune, esses fatores estressantes geram como consequência a queda no consumo de ração e a perda da eficiência produtiva (LANGE *et al.*, 2010).

Após o desmame, os leitões podem sofrer com modificações na histologia do intestino delgado, como a atrofia das vilosidades, hiperplasia das criptas e alteração da taxa de mitose no epitélio celular (PLUSKE *et al.*, 1997). Além disso, podem apresentar mais dificuldade em acidificar o conteúdo gástrico, com consequente proliferação de bactérias patogênicas (LALLÈS *et al.*, 2007), podendo diminuir a capacidade digestiva e absorptiva, induzindo à diarreia pós-desmame. Essas alterações refletem diretamente em perdas econômicas, determinadas por mortalidade, decréscimo na taxa de ganho de peso e piora na conversão alimentar (CAMPBELL *et al.*, 2013).

Ademais, a retirada do leite com elevado teor de imunoglobulinas torna os leitões susceptíveis a enfermidades e distúrbios entéricos, refletindo no baixo ganho de peso das leitegadas (UTIYAMA, 2004), prejudicando o desempenho produtivo.

Por outro lado, segundo Oetting (2005), a presença do alimento no trato digestivo estimula as funções digestivas intestinais, através da secreção de hormônios, tendo como consequência modificações no pH estomacal, secreção

enzimática, motilidade e absorção intestinal, adquiridos através da adaptação ao novo regime alimentar (HANSEN, 1993).

Nesse sentido, por apresentar sistema digestório imaturo, produção insuficiente de diversas enzimas para digestão de ingredientes de origem vegetal e alta demanda de nutrientes, os leitões recém-desmamados precisam ser estimulados a consumir ração sólida, para que as enzimas possam atuar no trato digestório, reduzir o aparecimento de distúrbios, e assim, otimizar a ingestão de alimentos por esses animais. Diante disso, a produção de enzimas endógenas está condicionada à idade e à exposição aos substratos específicos (LOVATTO, 2002; BRANCO *et al.*, 2006).

2.1.1 Sistema enzimático do leitão desmamado

O desmame precoce contribui para promover alterações na fisiologia digestiva dos leitões desmamados aos 21 dias de idade, uma vez que estes possuem capacidade limitada do estômago e do intestino delgado, o que pode comprometer a digestão e a absorção adequada de nutrientes (MOLLY, 2001), resultando em baixo desempenho dos mesmos nas fases seguintes.

O aparelho digestório dos leitões desde o nascimento até o desmame é adaptado a digerir alimentos ricos em lipídios de cadeia curta, lactose e caseína, que permitem o seu rápido desenvolvimento (FONTES, 2003). Nesse período, a atividade da lactase é alta e das lipases e proteases são suficientes apenas para agir sobre as gorduras e as proteínas do leite, (MAXWELL & CARTER, 2001).

Ao serem submetidos às rações secas, os leitões passam a receber amido, óleos e proteínas vegetais, pois não apresentam sistema enzimático adequadamente desenvolvido e exigem alterações nos tipos de enzimas secretadas pelo organismo do leitão (FONTES, 2003; RUFINO, 2013).

Nesse sentido, a quantidade de enzimas intestinais, sacarase e maltase, e enzimas pancreáticas, tripsina e quimiotripsina, é baixa ao nascimento, porém aumentam a partir da segunda ou terceira semana de vida do leitão. Em resposta ao estresse do desmame, ocorre uma redução na quantidade dessas enzimas, voltando a níveis satisfatórios com a adaptação à dieta (MATOS, 2015). Os níveis de pepsina no tecido do estômago, após duas semanas, aumentam rapidamente, estando

associados com o aumento na produção de ácido clorídrico pelas células parietais (SWENSON & REECE, 1996).

O desenvolvimento desses sistemas enzimáticos pode ser acelerado com a estimulação do consumo de ração, ainda na maternidade, mesmo em pequenas quantidades (SANTOS, 2002). No pós-desmame, esse desenvolvimento pode ser acelerado se forem utilizados ingredientes altamente digestíveis e com baixo conteúdo de fatores antigênicos, com o intuito de promover o fornecimento de nutrientes para os leitões. Dessa forma, facilitaria a atuação enzimática sobre as partículas alimentares no estômago e, conseqüentemente, no intestino delgado, favorecendo a digestão e a absorção (MATOS, 2015).

2.1.2 pH estomacal

O pH do estômago de um suíno deve ser na faixa de 2,0 a 3,5, uma vez que essa acidez desempenha funções importantes, como formar uma barreira bacteriana para proteção do intestino delgado contra a entrada de microrganismos patogênicos, além de proporcionar um ambiente adequado para a ação da pepsina (MATOS, 2015; SUIRYANRAYNA e RAMANA, 2015).

A acidificação estomacal em leitões é mediada pelos ácidos clorídrico e láctico. A presença do alimento no estômago aumenta o pH e, através de estímulos nervosos e hormonais, induz a secreção de ácido clorídrico (HCl) pela mucosa estomacal (ROSTAGNO; PUPA, 1998). O aumento da produção de ácido clorídrico ocorre gradualmente com o avanço da idade. Entretanto, os leitões não alcançam a capacidade adulta de acidificação do estômago até, em média, dois meses e meio de idade, o que favorece a proliferação de bactérias patogênicas (FULLER, 1989). Além disso, o desmame provoca queda drástica na concentração de ácido láctico no estômago, devido à menor presença de lactose, sendo este o principal substrato para os *Lactobacillus* (UTIYAMA, 2004).

De acordo com Utiyama (2004), o fato dos leitões recém-desmamados não possuírem capacidade de acidificação estomacal satisfatória, deve-se à insuficiente produção de ácido clorídrico (HCl) pelas células parietais, aliada à queda na concentração de ácido láctico, o que resulta em um quadro de pH elevado, comprometendo a digestão das proteínas presentes na dieta. A proteína não digerida torna-se substrato para o desenvolvimento de bactérias patogênicas como

Escherichia coli e *Salmonella spp.*, que secretam enterotoxinas, causando diarreia e outros distúrbios fisiológicos, o que favorece o aumento da mortalidade após o desmame (MATOS, 2015).

Nesse sentido, de acordo com Rostagno & Pupa (1998), a insuficiência digestiva e as desordens intestinais em leitões recém-desmamados podem estar parcialmente relacionadas com a condição de não manterem o pH gástrico baixo e pelos efeitos que exercem sobre a ativação da pepsina, proliferação de coliformes e taxa de esvaziamento estomacal.

2.1.3 Alterações na morfologia intestinal dos leitões após o desmame

O intestino delgado tem como unidade funcional as vilosidades, que são projeções da mucosa, que por sua vez são constituídas por uma camada de tecido epitelial, onde predominam os enterócitos. O desenvolvimento dos enterócitos se dá durante sua migração da cripta para o ápice das vilosidades e a sua renovação leva em média 3 a 4 dias (MOON, 1971, SANCHES, 2004).

O epitélio da mucosa intestinal é a primeira barreira que previne a entrada de agentes patogênicos e possui estruturas intercelulares organizadas que mantêm sua integridade. O epitélio se projeta para dentro do lúmen formando vilosidades, que ajudam a aumentar a área de superfície de contato, e na base dessas vilosidades, encontram-se as criptas que são responsáveis pela sua repopulação celular (YANG *et al.*, 2016).

O desenvolvimento da mucosa intestinal ocorre a partir da renovação celular, caracterizada por proliferação e diferenciação, resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e perdas por descamação, que ocorre naturalmente no ápice das vilosidades. Dessa forma, o acréscimo na altura e densidade das vilosidades ocorre quando há maior taxa de mitose com ausência ou redução da taxa de extrusão, havendo um aumento no número de células enterócitos (UNI *et al.*, 1998; FURLAN *et al.*, 2004).

A manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio intestinal é assegurada pelo equilíbrio entre estes dois processos (perda e proliferação celular). No entanto, quando o intestino responde a algum agente estimulador, a favor de um deles, deve ocorrer uma modificação na altura dos vilos (UNI *et al.*, 2000; FURLAN *et al.*, 2004).

Após o desmame, com a mudança na dieta do leitão, ocorrem alterações morfológicas que podem gerar maior agressão às vilosidades como encurtamento e mudança da forma das vilosidades, devido a uma maior descamação do ápice, sem que ocorra renovação dos mesmos em tempo hábil; hiperplasia das células da cripta e aumento da mitose no epitélio celular; além de alterações funcionais no intestino, o que pode causar a diminuição da capacidade digestiva e absorptiva do órgão (PLUSKE *et al.*, 1997; SCHNEEMAN *et al.*, 1998; McCracken *et al.*, 1999). No entanto, a redução na área de absorção resulta em menor desenvolvimento enzimático e, conseqüentemente, diminuição no transporte de nutrientes (RIOPÉREZ *et al.*, 1991), contribuindo para a ocorrência da diarreia pós-desmame.

Segundo Pluske *et al.* (2001), a atrofia dos vilos, normalmente observada no período pós-desmame, pode ser causada tanto pelo aumento na taxa de extrusão como pela diminuição na taxa de renovação. Se o encurtamento do vilo ocorrer via aumento na taxa de extrusão, então este estará associado a um aumento na proliferação celular da cripta e, geralmente, a um aumento de sua profundidade. A atrofia dos vilos também pode estar relacionada com a diminuição da divisão celular nas criptas. A capacidade absorptiva do intestino é diretamente proporcional à superfície disponível para absorção, a qual depende do tamanho e do número de vilos, bem como de microvilos (MACARI, 1998).

Devido à descamação celular, a mucosa do intestino apresenta crescimento contínuo, evidenciando a necessidade de energia para a reposição das células, essa energia proveniente das reservas do organismo animal e do alimento. Nesse sentido, é importante ressaltar que parte da energia ingerida pelo animal é destinada à manutenção da mucosa, e quanto maior a necessidade de reparo da mesma, menor será a energia utilizada para o ganho de peso (SANCHES, 2004).

Devido aos efeitos do estresse pós desmame, a digestão incompleta de carboidratos e proteínas somados ao pH mais elevado do estômago, também pode proporcionar um meio rico em substratos para bactérias nos intestinos delgado e grosso, provocando, assim, desequilíbrio. Além do mais favorece o crescimento de patógenos como *Escherichia coli*, *Streptococcus* e *Clostridium* que podem aderir-se à mucosa intestinal e, durante o processo de fermentação, produzir toxinas, agravando os danos ao epitélio intestinal (MOLLY, 2001), sendo ainda observado correlação com o maior índice de mortalidade de leitões na fase de creche (NABUURS, 1995).

Diante disso, na tentativa de controlar o desequilíbrio da flora intestinal decorrente do desmame, os antibióticos promotores de crescimento foram utilizados para a modulação de microrganismos no trato gastrointestinal, o que permitiu ser observado melhoras sobre parâmetros produtivos, tornando-os, assim, de uso contínuo para a produção de suínos (LANCINI, 1994).

2.2 O uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação de leitões desmamados

Durante muitas décadas, tem-se utilizado antibióticos na produção animal não apenas para prevenção e tratamento de doenças, mas também como promotores de crescimento, principalmente em leitões após o desmame precoce, visando redução na população bacteriana patogênica, melhora na eficiência nutricional e consequentemente um melhor desempenho dos animais (SANCHES, 2004).

Os antibióticos promotores de crescimento (APC) são compostos sintéticos orgânicos, químicos ou elementos inorgânicos simples, administrados em pequenas quantidades com a finalidade de melhorar a taxa de crescimento e/ou conversão alimentar (OETTING, 2005).

Independente do seu benefício, a utilização de antibióticos nas dietas de leitões está diminuindo gradativamente devido a proibições de seu uso em alguns países, devido à preocupação sobre as consequências que a utilização contínua e indiscriminada destes na produção animal podem causar, como rápido surgimento e difusão de patógenos levando à resistências simples e/ou cruzadas para humanos e animais, além da redução da eficiência desses antibióticos (DIERICK *et al.*, 2002; PLUSKE *et al.*, 2002; JAY *et al.*, 2009; VONDRUSKOVA *et al.*, 2010).

Alguns antimicrobianos foram proibidos a partir da década de 60 (RIZZO *et al.*, 2008). Então no ano de 1969 foi criado o “Relatório de Swann” pelo ministério inglês, neste foi estabelecido que os antibióticos utilizados na terapêutica humana e veterinária não deveriam ser utilizados como promotores de crescimento (NÉVOA *et al.*, 2013). No Brasil, em 1992, a Portaria nº 159, do Ministério da Agricultura, com o objetivo de adequar a produção às exigências internacionais veta o uso de antimicrobianos para ação como aditivos sistêmicos, promotores de crescimento ou conservantes, como tetraciclinas, penicilinas, cloranfenicol e sulfonamidas. A União Europeia proibiu o uso de alguns antibióticos na alimentação animal no ano de 1998,

já em 2006, foi oficializada a proibição total da utilização deste tipo de aditivo, de acordo com o regulamento CE N°. 1831/2003 (HUYGHEBAERT *et al.*, 2011).

Com a restrição do uso de antibióticos, tem-se aumentado a busca pelo desenvolvimento de novas formas de controle de infecções bacterianas e que também garantam o máximo desempenho dos animais, sem afetar a qualidade do produto para o consumidor. Deste modo, com alternativas aos APC, diversos produtos como os probióticos, prebióticos, simbióticos e ácidos orgânicos têm sido avaliados na suinocultura, com destaque para os acidificantes (CHIQUIERI *et al.*, 2009).

2.3 Uso de ácidos orgânicos como promotores de crescimento alternativos

Ácidos orgânicos são substâncias que contém uma ou mais carboxilas em sua molécula, são geralmente solúveis em água e em solventes orgânicos e podem ser produzidos através da atividade metabólica dos seres vivos (MATOS, 2015).

Em geral, quando o termo ácido orgânico é empregado na produção animal, refere-se aos ácidos fracos e de cadeia curta, que possuem até sete átomos de carbono na sua estrutura (PENZ, 1993; DIBNER e BUTTIN, 2002). Estes possuem atividade antimicrobiana (PAPATSIROS *et al.*, 2012), especialmente contra bactérias gram-negativas como *E. coli*, *Clostridium spp* e *Salmonella* (SILVA JÚNIOR, 2009). Logo, sua utilização pode resultar em melhora no aproveitamento dos nutrientes da ração e no desempenho dos animais (VIOLA & VIEIRA, 2003).

Com relação à quantidade de acidificante a ser adicionada à ração, seus efeitos dependem do seu pH e da capacidade tamponante da dieta. Quanto à escolha física, os ácidos orgânicos podem ser encontrados na forma livre e como sais (GAUTHIER, 2002). Na sua forma livre, a maioria apresenta-se no estado líquido e possui natureza corrosiva, características que dificultam seu manuseio e utilização (EIDELSBURGUER, 2001). Por outro lado, os sais dos ácidos orgânicos são formados a partir da substituição do íon hidrogênio por uma base, como potássio, sódio e cálcio e, de forma geral, podem apresentar alto poder higroscópico e também menores efeitos do que os ácidos de origem (FRANÇA, 2008), porém são mais utilizados, por serem mais fáceis de manusear.

De acordo com Pupa (2008), as ações dos acidificantes se baseiam na redução do pH, ativação da conversão de pepsinogênio para pepsina, estímulo da

coagulação das proteínas, elevação do tempo de permanência da ração no estômago, melhoram a digestibilidade dos nutrientes da ração, diminuem a produção de microrganismos patogênicos através do controle bacteriostático, além de reduzirem os riscos de infecções subclínicas, melhorando sobretudo o desempenho dos animais (SUIRYANRAYNA & RAMANA, 2015). Segundo Krabbe (2001), quando aplicados na ração, ainda protegem o alimento, impedindo o desenvolvimento de microrganismos e formação de toxinas.

Dessa forma, a partir dos diferentes modos de ação, os ácidos orgânicos podem ser classificados entre aqueles que agem indiretamente na redução das populações de bactérias patogênicas, por meio da diminuição do pH do estômago, e os que apresentam efeito direto, difundindo-se passivamente através da parede celular da bactéria (CHIQUIERI *et al.*, 2009; VONDRUSKOVA *et al.* 2010).

Em relação aos ácidos orgânicos cujo modo de ação consiste na redução do pH gástrico, destacam-se os ácidos láctico, fumárico e cítrico (VONDRUSKOVA *et al.* 2010). A partir da hidrólise gástrica, os ácidos liberam íons H⁺, convertendo o pepsinogênio em pepsina, inibindo o crescimento bacteriano, melhorando a capacidade digestiva proteica do animal (RAVINDRAN e KORNEGAY, 1993; MROZ, 2005; SURYANARAYANA *et al.*, 2012). A dissociação intestinal libera íons H⁺ que protegem o trato gastrointestinal contra a invasão e colonização por patógenos (MROZ, 2005; AHMED *et al.*, 2014).

No que se refere aos ácidos orgânicos bacteriostáticos destacam-se fórmico, acético, propiônico e sórbico (VONDRUSKOVA *et al.* 2010). Devido à capacidade de suas formas não dissociadas difundir-se livremente através da membrana celular dos micro-organismos até o citoplasma, onde o pH é mantido perto de 7,0, os ácidos podem dissociar-se alterando o pH, inibindo sistemas enzimáticos e de transporte de nutrientes, além de inibir a síntese de DNA e RNA, impedindo a multiplicação celular; pois prejudicam a célula e a tornam incapaz de repor o equilíbrio de energia (PARTANEN e MROZ, 1999; KUANA, 2001; GAUTHIER, 2005; MROZ, 2005).

As bactérias gram-negativas são mais susceptíveis aos ácidos com menos de oito carbonos, enquanto as bactérias gram-positivas apresentam sensibilidade aos ácidos com cadeias maiores e moléculas mais lipídicas (PARTANEN e MROZ 1999; BEST, 2000; CANIBE *et al.*, 2001).

A eficácia do ácido em eliminar bactérias patogênicas dependerá do seu tempo de exposição, sua concentração, do tipo de ácido, da composição da dieta

basal e da idade do animal (COSTA *et al.*, 2013), além do valor do pKa. Os ácidos orgânicos usados como aditivos zootécnicos apresentam o valor pKa entre 3 e 5, e quanto menor é o valor pKa de um ácido maior a sua tendência de ionizar, o que relaciona com a sua capacidade de reduzir o pH do meio (NG & KOH, 2016).

Os ácidos orgânicos mais utilizados para suínos são o acético, fórmico, propiônico, láctico, fumárico e cítrico (PARTENEN, 2002). No entanto, é possível também a utilização de ácidos orgânicos naturais oriundos de plantas como o ácido anacárdico. Visto que, segundo Matos (2015), ao estudar o anacardato de cálcio (sal oriundo do ácido anacárdico) na alimentação de leitões na fase de creche, observou efeitos positivos na morfologia intestinal e nos parâmetros séricos.

2.3.1 Ácido anacárdico e suas ações biológicas

O ácido anacárdico (AA) é um composto fenólico biossintetizado a partir de ácidos graxos (DIÓGENES *et al.*, 1996), com cadeia lateral de 15 carbonos, que pode conter uma, duas ou três ligações insaturadas. É um produto natural encontrado em diferentes partes do cajueiro (*Anacardium occidentale* L) e em outras plantas, como *Ginkgo biloba* (WANG *et al.*, 1998) e espécies do gênero *Knema* (GONZALES *et al.*, 1996).

No cajueiro, o AA é encontrado em maior proporção na castanha de caju e constitui cerca de 90% do líquido total extraído da casca da castanha de caju. Em menor concentração, também é encontrado no pedúnculo do caju, sendo parte deste transferida para o suco e, outra, remanescente no bagaço após a extração do suco e na amêndoa da castanha (TREVISAN *et al.*, 2006; BROINIZI *et al.*, 2008).

O AA tornou-se de grande interesse nos últimos anos, devido às suas propriedades antitumorais, antibióticas, gastroprotetoras e antioxidantes (HAMAD; MUBOFU, 2015). Com isso, foi associado ao tratamento e à prevenção de doenças cérebro-vasculares, cardiovasculares e tumorigênicas (ITOKAWA *et al.*, 1987; WANG *et al.*, 1998).

De acordo com Andrade *et al.* (2011), o ácido anacárdico se apresenta como um dos ácidos orgânicos mais relatados na literatura com relação à atividade biológica, já que desnaturam as proteínas de microrganismos como as bactérias e fungos.

Toyomizu *et al.* (2003) observaram que o ácido anacárdico possui alta capacidade para reduzir a deposição de gordura corporal em ratos submetidos à dieta que normalmente promove aumento da deposição de gordura, sem alterar o ganho de peso, o consumo de ração e a eficiência alimentar dos animais.

Morais *et al.* (2010) notaram que o ácido anacárdico, associado aos mecanismos antioxidantes, exerce efeito gastroprotetor. Segundo Kubo *et al.* (2006), o ácido anacárdico é absorvido no trato gastrointestinal e direcionado para os locais onde é necessária sua utilização.

Com relação à ação antimicrobiana do AA, Gellerman *et al.* (1968) afirmaram que há maior efeito inibitório sobre as bactérias Gram positivas *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus* quando comparados com as leveduras *Candida albicans* e *Candida utilis*. A diferença de ação entre os tipos de microrganismos, de acordo com a literatura, pode ser devido a uma maior ou menor dificuldade do ácido anacárdico em penetrar a membrana das células de diferentes microrganismos, em função do pH gástrico do animal. Por esta razão, o uso de um acidificante com o intuito de reduzir o pH do estômago favoreceria a liberação do princípio ativo do ácido anacárdico dentro da bactéria patogênica. Dessa forma, o ácido anacárdico pode ser atuante contra bactérias e protozoários patogênicos, inclusive atuando no sistema digestório dos animais (MATOS, 2015).

2.3.1.1 Uso do anacardato de cálcio

A obtenção do anacardato de cálcio ocorre a partir da reação do ácido anacárdico com hidróxido de cálcio, resultando em um sal de cálcio, apresentando-se em forma de pó, o que possibilita uma melhor utilização nas rações (MATOS, 2015). Conforme Metodologia apresentada por Paramashivappa *et al.* (2001) e adaptada por Trevisan *et al.* (2006), a obtenção do ácido anacárdico na forma de anacardato de cálcio realiza-se através da utilização do líquido da castanha de caju, água destilada, etanol e hidróxido de cálcio sob agitação e aquecimento.

Ao testar a adição de anacardato de cálcio na ração de leitões na fase de creche em três níveis de inclusão (0,4; 0,8 e 1,2%), Matos (2015) concluiu que, acima de 0,8% de inclusão, o anacardato de cálcio pode ser um substituto aos

antibióticos promotores de crescimento, pois promove benefícios na morfologia intestinal e nos parâmetros séricos dos animais.

Considerando o pK do ácido anacárdico entre 4 e 5 (DIAS JÚNIOR, 2011), a dissociação do princípio ativo do anacardato de cálcio garantiu efeitos positivos da sua inclusão nas rações para leitões aos 42 dias de idade (MATOS, 2015), porém antes disso o pH estomacal dos leitões não está favorável para dissociação do anacardato de cálcio.

2.3.2 Ácido cítrico

O ácido cítrico é o segundo ácido mais eficaz na redução do pH da dieta e, apesar de não ter sido possível definir um nível ótimo deste ácido na alimentação de suínos, tem apresentado respostas positivas quanto ao ganho diário de peso dos animais, eficiência alimentar, além de melhorar a conversão alimentar, sendo metabolizado através do ciclo do ácido cítrico como fonte de energia. Além disso, o ácido cítrico pode apresentar efeito sinérgico como antioxidantes, prevenindo a oxidação de óleos e gorduras (PARTANEN e MROZ, 1999; BELLAVER, 2000; DIBNER e BUTTIN, 2002; BRAZ, 2007; VILAS, BOAS, 2014).

O ácido cítrico apresenta-se cristalino e inodoro, sendo geralmente menos efetivo como agente antimicrobiano que outros ácidos orgânicos, pois devido sua importância no metabolismo, muitos microrganismos são adaptados e resistentes a este ácido, além deste apresentar baixo pKa (3,13) (PARTANEN *et al.*, 1999; BÜHLER, 2009).

Alguns estudos evidenciam o efeito da inclusão de ácido cítrico na dieta sobre a acidificação gástrica (Falkowski e Aherne, 1984), redução na taxa de esvaziamento do órgão e menor formação de sais insolúveis de cálcio, permitindo que maior quantidade de cálcio seja absorvida (RADCLIFFE *et al.*, 1998), corroborando com Rice *et al.* (2002), que observaram que a adição de ácido cítrico nas dietas de suínos aumenta a digestibilidade da matéria seca e diminui o pH do estômago e da urina.

Henry *et al.* (1985), ao avaliarem leitões desmamados aos 10 dias de idade, durante 25 dias, notaram que o ganho de peso e consumo voluntário de ração foram significativamente maiores em leitões alimentados com dietas contendo 3% de ácido cítrico em comparação aos animais alimentados com ração contendo ácido fumárico

e controle. Por sua vez, Radcliffe *et al.* (1998), estudando a inclusão de 3% de ácido cítrico, observaram melhoras significativas de 9,5% na eficiência alimentar dos leitões.

Estudos sobre a adição de ácido cítrico em dietas para leitões recém-desmamados mostram resultados positivos. No entanto, por não ser um forte agente antimicrobiano, observa-se seu uso potencial em combinações deste com outros ácidos orgânicos com o objetivo de melhorar o desempenho de leitões pós-desmame.

2.3.3 Uso de misturas de ácidos orgânicos ou seus sais.

Os ácidos orgânicos podem ser fornecidos aos animais na forma individual ou através de misturas ou combinações de outros ácidos, com o objetivo de aumentar o potencial de ação dos mesmos. As misturas têm algumas vantagens potenciais, pois produzem maior diversidade de pK, o que aumenta a presença de um espectro carboxilado no lúmen intestinal, potencializando a ação antimicrobiana, além de permitir uma ação complementar entre os diferentes ácidos no metabolismo intermediário (MONTEIRO, 2007).

Ao avaliarem os efeitos da inclusão crescente de misturas de ácidos orgânicos (ácido láctico, fórmico, fosfórico e acético), Freitas *et al.* (2006) observaram que a utilização de 0,84% de inclusão dessa mistura na dieta proporcionou melhor conversão alimentar em leitões no período de 21 a 35 dias, além de melhor consistência de fezes e controle de *E. coli* e *Streptococcus sp.*

Cristani (2008) testou a associação do ácido cítrico com outros ácidos orgânicos e inorgânicos como o fumárico, fosfórico e benzoico, e observou a redução na incidência de diarreia em leitões de 21 a 35 dias de idade.

Braz *et al.* (2011) avaliaram diferentes combinações de acidificantes contendo ácido fórmico, fosfórico, láctico e butirato de sódio, em comparação ao tratamento com colistina e dieta controle para leitões desmamados aos 24 dias de idade. Os estudiosos observaram que misturas contendo láctico mais butirato de sódio proporcionaram melhores ganho diário de peso e conversão alimentar aos 14 dias de experimento (38 dias de idade), além de apresentar menores valores de profundidade de cripta do jejuno e maior relação altura de vilosidade/profundidade de cripta do jejuno que outros tratamentos.

Grecco (2014), estudando a ação de acidificantes em dietas de leitões desmamados, observou que os leitões que receberam ração com misturas de ácidos orgânicos contendo butirato de sódio, ácido láctico e de ácido fórmico apresentaram melhor peso vivo aos 14 dias, melhor ganho diário de peso e conversão alimentar, em relação aos demais tratamentos.

Como a ação dos ácidos orgânicos não está totalmente elucidada, mais estudos precisam ser realizados a respeito da utilização dos mesmos de forma isolada, combinada e de seus sais (VILAS BOAS, 2014). Dessa forma, a combinação de um ácido que reduz o pH gástrico com um ácido bacteriostático, pode ser uma forma de garantir a dissociação do princípio ativo do ácido dentro da bactéria, podendo obter efeitos positivos para a produção de suínos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

As atividades do experimento foram conduzidas no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, durante 42 dias, sob protocolo experimental de nº 38/2017, aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará – UFC.

3.1 Animais e Instalações

Para o experimento foram utilizados 96 leitões machos castrados da linhagem Topigs Norsvin, desmamados aos 21 dias de idade, com peso médio de $5,965 \pm 0,804$ kg, provenientes de granja comercial. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos ao acaso, em 4 tratamentos com 8 repetições, considerando a baia contendo 3 animais como unidade experimental. O critério adotado para a formação dos blocos foi o peso inicial dos animais, $5,29 \pm 0,51$ e $6,57 \pm 0,43$ kg, para os blocos leve e pesado, respectivamente.

Os animais foram alojados em galpão construído em alvenaria, com pé-direito de 3,0m e equipado com cortinas nas laterais para o controle da ventilação interna, as baias foram equipadas com comedouro e bebedouro.

3.2 Obtenção do anacardato de cálcio (AC)

O ácido anacárdico foi adicionado nas rações na forma de anacardato de cálcio, produto intermediário do processo de obtenção do ácido puro, a partir do líquido da castanha de caju (LCC). O LCC é o líquido obtido a partir do aquecimento a 120°C da castanha de caju, por um período mínimo de uma hora e posteriormente armazenado.

A produção do anacardato de cálcio (AC) foi realizada no Laboratório de Extração do Setor de Avicultura do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), conforme metodologia apresentada por Paramashivappa *et al.* (2001) e adaptada por Trevisan *et al.* (2006), a partir da reação do ácido anacárdico com hidróxido de cálcio, formando um sal de cálcio. O processo de síntese do AC iniciou-se através da adição de 550mL de LCC, 150mL de água destilada e etanol em um becker, sob agitação por 4h e aquecimento a

50°C, sob monitoramento constante da temperatura. Ao longo do procedimento, obedecendo a um intervalo de 10 minutos do início da agitação, foi incorporado à mistura 250g de hidróxido de cálcio. Em seguida, o ácido anacárdico reagiu com o hidróxido de cálcio formando um sal de cálcio, o anacardato de cálcio.

Ao final do processamento e decantação por 1 hora, o sobrenadante foi retirado e adicionado 500 mL de etanol sob agitação e aquecimento por 1 hora. Após a decantação por igual período para a retirada do sobrenadante, todo o procedimento foi realizado novamente para obter uma purificação mais eficaz do ácido anacárdico. O precipitado foi filtrado com o auxílio de um tecido (TNT) de 0,5mm, para a separação do AC e do sobrenadante que ainda estava misturado ao precipitado. O AC, retido no TNT, foi encaminhado para secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, e então moído e peneirado.

3.3 Tratamentos

Os tratamentos experimentais foram: Controle negativo (CN) - ração sem adição de promotor de crescimento; Controle positivo (CP) - ração com adição de antibiótico promotor de crescimento (0,05% de bacitracina de zinco); ração com adição de 0,6% de anacardato de cálcio e 1,0% ácido cítrico como promotores de crescimento alternativos (0,6% AC + 1% AcC); ração com adição de 1,0% de anacardato de cálcio e 1,0% ácido cítrico como promotores de crescimento alternativo (1% AC + 1% AcC). Nos tratamentos com inclusão de ácido cítrico, utilizou-se o ácido cítrico monohidratado (P.A). A inclusão de bacitracina de zinco, anacardato de cálcio e ácido cítrico foi realizada em substituição ao ingrediente inerte.

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas para serem isonutritivas e isoenergéticas, fornecidas aos animais na forma peletizada, considerando os valores da composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para leitões da fase I (21 a 32 dias de idade), fase II (33 a 42 dias de idade) e fase III (43 a 63 dias de idade), de acordo com recomendações de Rostagno *et al.* (2011).

Tabela 1 Composição percentual e nutricional da ração controle negativo para leitões nas Fases I – 21 a 32 dias, II – 33 a 42 dias e III - 43 a 63 dias.

	Fase I	Fase II	Fase III
Milho grão	42,73	46,70	59,33
Farelo de soja	26,70	30,55	31,30
Nuklospray L70 ¹	14,00	8,00	0,00
Nuklospray P34 ²	5,00	3,00	0,00
Óleo de soja	3,32	3,94	2,11
Açúcar	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	1,65	1,57	1,48
Calcário calcítico	0,74	0,77	0,78
Sal comum	0,57	0,51	0,43
L-Lisina HCL	0,73	0,52	0,26
DL-Metionina	0,31	0,18	0,06
Suplemento vitamínico- Inerte ⁴	0,25	0,25	0,25
Total	100,00	100,00	100,00

Composição nutricional calculada

Energia metabolizável	3,34	3,35	3,23
Proteína bruta (%)	19,50	20,00	19,24
Fósforo disponível (%)	0,50	0,45	0,38
Cálcio (%)	0,85	0,82	0,76
Lisina digestível (%)	1,46	1,33	1,09
Metionina + cistina digestível	0,82	0,74	0,61
Sódio (%)	0,25	0,23	0,20

¹Nuklospray L70 (produto rico em lactose - com 70% de lactose). ²Nuklospray P34 (Combinação de proteínas lácteas e proteínas vegetais – com 34% de proteína bruta). ³Suplemento vitamínico-mineral – quantidade por kg do produto: 1.500.000 UI de vitamina A, 450.000 UI de vitamina D3, 22,50 mg de biotina, 68 mg de colina, 7.500 mg de niacina, 4.500 mg de pantotenato de cálcio, 5.000 mg de vitamina B12, 1.300 mg de vitamina B2, 7.500 mg de vitamina E, 1.500 mg de vitamina K3, 12,5g de ferro, 5.250 mg de cobre, 8.750 mg de manganês, 26,25 g de zinco, 350 mg de iodo, 75 mg de selênio. ⁴Areia lavada.

3.4 Desempenho

Durante o período experimental, os animais receberam ração e água à vontade. As rações foram administradas na forma peletizada, sendo disponibilizadas três vezes ao dia. Animais e rações foram pesados ao início do experimento e ao final de cada fase experimental, enquanto as sobras de ração foram recolhidas ao final de cada dia e pesadas no final de cada fase.

As variáveis de desempenho zootécnico avaliadas foram o consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA). O cálculo do CDR foi realizado por meio da diferença entre o peso da ração fornecida e o peso das sobras recolhidas no período, dividido pelo número de dias do período experimental em cada fase. O cálculo do GDP foi feito a partir da diferença entre o peso final e o peso inicial dos leitões, dividido pelo número de dias do período experimental em cada fase. A CA foi calculada em função da relação entre o consumo de ração total e o ganho de peso total durante o período experimental em cada fase.

Os resultados de desempenho foram analisados nos seguintes períodos: I – 21 aos 32 dias de idade; II – 21 aos 42 dias de idade; III – 21 aos 63 dias de idade.

3.5 Ocorrência de diarreia

Com o objetivo de verificar a influência das dietas experimentais sobre a ocorrência de diarreia, foi realizado o levantamento dos escores fecais dos leitões, durante os 42 dias do período experimental. Duas vezes ao dia, sempre nos horários de 08h00 e de 16h00, foi verificada a consistência das fezes, mediante análise visual, de acordo com os seguintes escores: 0 – fezes com consistência sólida (normal); 1 – fezes com consistência pastosa, e 2 – fezes com consistência líquida, sendo o escore 2 considerado como presença de diarreia. As observações foram tabuladas e calculadas em porcentagens de ocorrência de diarreia para cada tratamento (HUAYNATE *et al.*, 2006).

3.6 pH do conteúdo estomacal, intestinal e cecal

Aos 42 dias de idade, com base no peso médio, um animal de cada repetição foi eutanasiado mediante insensibilização por eletronarcose e sangria, para avaliar o pH dos conteúdos do estômago, intestino delgado e ceco. Imediatamente após a eutanásia, foram retirados os conteúdos gastrointestinais, e colocados separadamente em recipientes plásticos para determinação do pH, com auxílio de peagâmetro digital HI99163 (Hanna Instruments Brasil, Barueri, SP, Brasil).

3.7 Avaliação morfométrica intestinal do duodeno e jejuno

Para avaliação da estrutura do intestino delgado, após cada eutanásia, foi retirado um fragmento fechado com aproximadamente 3 cm de comprimento do duodeno e do jejuno. O fragmento do duodeno foi coletado a 15 cm da inserção do estômago e o fragmento do jejuno foi coletado a 95 cm da junção ileocecal.

Os segmentos intestinais (duodeno e jejuno) foram fixados em solução de Metacarn (60% de metanol; 30% de clorofórmio; 10 de ácido acético) por doze horas e mantidos sobre refrigeração. Em seguida, foram armazenados em solução de álcool (70%). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Histologia do programa de Pós-graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB), Campus de Areia/PB, para confecção das lâminas histológicas, onde foram realizadas as análises morfométricas do epitélio intestinal por microscopia de luz.

Para confecção das lâminas, foram realizados cortes longitudinais nas amostras, estas foram armazenadas em cassetes, onde permaneceram em solução de álcool (70%) por 24 horas. Após este período, foram lavadas em água corrente para retirada do fixador e posteriormente desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Em seguida, realizou-se a microtomia dos blocos de parafina para a confecção das lâminas histológicas. A coloração dos cortes para visualização de altura de vilos (AV), profundidade de cripta (PC), largura de vilos (LV), espessura de mucosa (EM) foi realizada com hematoxilina-eosina, já para visualização e contagem de células caliciformes (CC), a coloração utilizada foi a PAS (Ácido-periódico Schiff).

Para avaliar a AV, PC, AV/PC, EM, LV e contagem de CC, foi realizada a metodologia modificada descrita por Moreira Filho *et al.* (2015), sendo a EM determinada através da soma entre AV e PC. Já a área absortiva (AA) foi determinada a partir do produto entre AV e LV, segundo metodologia de Silva (2016). Para as leituras das lâminas histológicas, foram utilizados microscópio de luz modelo *Olympus BX53* e câmera *Zeiss Axion*, acoplada com programa de captura de imagens digitais *Cellsens Dimension*.

3.8 Análise imunohistoquímica

Os fragmentos dos segmentos do duodeno e jejuno foram colhidos e processados seguindo os mesmos procedimentos utilizados para análise morfométrica. As lâminas foram confeccionadas no Laboratório de Histologia do programa de Pós-graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB), Campus de Areia/PB. O protocolo utilizado para a revelação de Proteína Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) foi baseado na técnica de imunohistoquímica (LUNA *et al.*, 2014).

Para a determinação da taxa de mitose nas criptas da mucosa da porção inicial do duodeno e média do jejuno, foi utilizado o anticorpo primário Anti-PCNA (Abcam®).

Os cortes foram desparafinizados em estufa a 60°C por no mínimo uma hora e posteriormente foram reidratados em xilol por 15 minutos, em série decrescente de etanol e lavados em água destilada. Após a reidratação foi feita a recuperação antigênica.

Realizou-se o bloqueio da peroxidase endógena com três banhos, de dez minutos cada, com solução de peróxido de hidrogênio. A recuperação antigênica foi feita com solução de tampão citrato (pH 6,0) em micro-ondas durante dez minutos, seguido de um tempo de vinte minutos para que a temperatura baixasse. Em seguida, foi realizado o bloqueio das proteínas endógenas, com incubação das lâminas em *Protein Block* (DAKO) durante trinta minutos. Na etapa seguinte, as lâminas foram incubadas a 4°C (*Overnight*), com anticorpo primário contra PCNA (Abcam®) diluído em solução de tampão fosfato – PBS (1:100) para revelação da taxa de mitose nas células.

No dia seguinte, foi colocado nas lâminas o anticorpo secundário biotina durante quinze minutos, com posterior incubação em complexo conjugado de Streptavidina-peroxidase (DAKO-LSAB) por trinta minutos. Logo após, foi usada a diaminobenzidina (DAB-DAKO) durante cinco minutos como cromógeno para revelação da reação. A coloração dos cortes foi realizada com hematoxilina-eosina.

Entre as etapas foram realizadas três lavagens, de três minutos cada, com solução de PBS (pH 7,4). Ao final, as lâminas foram desidratadas em séries crescentes de álcool, diafanizadas com xilol e montadas. As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio e luz modelo *Olympus BX53* e câmera *Zeiss Axion*, acoplada com programa de captura de imagens digitais *Cellsens Dimension*.

Já as taxas de mitose nas células da porção inicial do duodeno e média do jejuno foram analisadas nas criptas, medidas de maneira aleatória, perfazendo 10.000 μm por tratamento. Tais epitélios foram quantificados quanto ao número de células anti-PCNA⁺. Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador.

3.9 Parâmetros séricos

Para avaliação dos parâmetros sanguíneos dos animais, foi realizada coleta de sangue em um animal sorteado por baia, aos 43 dias de idade, sendo analisados o hemograma, o leucograma e as proteínas séricas. Para os hemogramas e leucogramas, foram coletados 2 mL de sangue por acesso na veia jugular, sendo colocados em tubos contendo anticoagulante (ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA). Por meio do hemograma, foram determinadas as concentrações de hemácias (μL), hemoglobina (g%), hematócrito (%), VCM (μm^3) e CHCM (%). Foi realizada a contagem diferencial de leucócitos, calculando-se as percentagens de linfócitos, neutrófilos segmentados, monócitos e plaquetas. Para a avaliação das proteínas séricas, foram coletados 4 mL de sangue, por acesso a veia jugular, sendo as amostras centrifugadas e no soro resultante avaliadas as concentrações de proteínas séricas totais.

3.10 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLM do programa estatístico SAS *University Edition* e as médias comparadas pelo teste *Student Newman-Keuls* a 5% de probabilidade para os dados de desempenho, morfometria e imunohistoquímica intestinal, pH do conteúdo gastrointestinal e parâmetros sanguíneos também tiveram suas médias comparadas pelo teste *Student Newman-Keuls* a 5% de probabilidade. Os dados de ocorrência de diarreia foram transformados pela função $y = \arcsen\sqrt{(p/100)}$ e submetidos à análise de variância e à comparação de médias também pelo teste *Student Newman-Keuls* a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados obtidos (Tabela 2), nos três períodos avaliados (21 a 32, 21 a 42 e 21 a 63 dias) não foram observados efeitos dos tratamentos sobre o CDR e o GDP ($P>0,05$). Também não houve efeito significativo para a conversão alimentar no período I para todos os tratamentos.

Tabela 2. Desempenho de leitões alimentados com rações contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico nos período I (21 a 32 dias de idade), período II (21 a 42 dias de idade) e período.

Variáveis ¹	Tratamentos ²				CV ³ (%)	Valor de P
	CN	CP	0,6%AC+ 1%AcC	1%AC+ 1%AcC		
Período I (21 a 32 dias de idade)						
CDR (g)	115,36	120,44	117,69	115,36	19,54	0,9706
GDP (g)	46,25	55,20	54,12	50,37	16,56	0,1699
CA	2,53	2,19	2,18	2,37	18,23	0,3177
Período II (21 a 42 dias de idade)						
CDR (g)	252,58	231,84	223,50	209,21	17,03	0,1861
GDP (g)	95,94	111,94	105,85	84,00	21,75	0,0764
CA	2,69 ^A	2,14 ^B	2,17 ^B	2,56 ^A	13,13	0,0025
Período total (21 a 63 dias de idade)						
CDR (g)	495,76	506,71	515,71	489,88	9,78	0,7344
GDP (g)	248,33	283,99	287,52	266,72	12,74	0,1155
CA	2,05 ^A	1,79 ^B	1,80 ^B	1,84 ^B	8,65	0,0085

¹(CDR) Consumo diário de ração, (GPD) Ganho diário de peso, (CA) Conversão alimentar. ²CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico). ³Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste *Student Newman-Keuls* 5% de probabilidade.

Para a conversão alimentar, observou-se efeito significativo ($P<0,05$) nos períodos II e total. No período II, a adição de antibiótico promotor de crescimento e 0,6% de AC + 1% de AcC nas rações resultou em melhora na conversão alimentar dos leitões em comparação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si. No entanto, para o período total, a adição de antibiótico promotor de crescimento e as

duas associações entre anacardato de cálcio e ácido cítrico nas rações não diferiram entre si. Todavia proporcionaram melhora na conversão alimentar quando comparados aos animais alimentados com ração controle negativo.

Na literatura, as respostas ao uso de acidificantes em rações de leitões desmamados se mostram variáveis, em função de diferentes matérias primas na composição das rações, condições sanitárias, idade dos animais no desmame, capacidade tamponante, tipo e nível de inclusão dos acidificantes (MIGUEL, 2008), sendo essas as possíveis razões para variabilidade dos resultados obtidos com as duas associações de anacardato de cálcio e ácido cítrico, nas diferentes fases de avaliação do desempenho dos leitões.

Contudo, considerando que o fornecimento da dieta contendo 1% de AC + 1% de AcC não melhorou a conversão alimentar dos leitões até os 42 dias de idade, a quantidade de ácido cítrico pode não ter sido insuficiente para acidificar o meio necessário para que o anacardato de cálcio atingisse o pKa para liberação do princípio ativo dentro da bactéria. Ao contrário do que foi observado nos animais alimentados com ração contendo 0,6 de AC + 1% de AcC, os resultados encontrados foram semelhantes aos animais do tratamento controle positivo. Por sua vez, a melhoria dos animais alimentados com o maior nível de anacardato de cálcio a partir dos 42 dias de idade, possivelmente, pode ser associada ao fato dos animais nessa idade apresentarem maior acidificação endógena, o que resultaria no pKa necessário para a ação do anacardato de cálcio.

Para a ocorrência de diarreia não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre os animais nos diferentes tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Ocorrência de diarreia em leitões dos 21 aos 63 dias de idade alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.

Consistência das fezes	Tratamentos ¹				CV (%) ²	Valor de P
	CN	CP	0,6%AC+ 1,0%AcC	1,0%AC+ 1,0%AcC		
Sólida (normal)	46	58	54	49		
Pastosa	123	138	145	135		
Líquida (diarreia)	487	460	457	472		
Total	656	656	656	656	3,32	0,4161
% de diarreia	74,24	70,12	69,66	71,95		
MODT ³	1,61	1,58	1,58	1,58		

¹CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico). ² Coeficiente de variação. ³ MODT (médias de ocorrência de diarreia transformadas).¹CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico). ² Coeficiente de variação. ³ MODT (médias de ocorrência de diarreia transformadas).

A ocorrência intensificada de diarreia pode ter ocorrido devido à dificuldade dos animais em manter o pH baixo necessário para a produção eficiente da pepsina, o que pode ter favorecido a proliferação de microrganismos patogênicos durante o período experimental. Logo, a diarreia por má absorção, em geral, se deve à perda do epitélio gastrointestinal, que acontece devido à maior perda celular em relação à velocidade de reposição dessas células (CUNNINGHAM, 1992).

No período após o desmame, a digestão incompleta de carboidratos e proteínas pode proporcionar um meio rico em substratos para a proliferação de bactérias patogênicas (MOLIST *et al.*, 2014), devido ao aumento do trânsito intestinal, agressivo para a mucosa, que pode promover menor tempo de digestão e absorção do alimento fazendo com que este e os fluídos sejam lançados em direção à parte final do intestino (LIMA *et al.*, 2009). No entanto, a falta de motilidade pode promover uma rápida proliferação de bactérias patogênicas, e sua adesão na mucosa do epitélio intestinal induz mudanças na permeabilidade e na osmolaridade

do conteúdo intestinal, desencadeando os sinais clínicos da diarreia (KIM *et al.*, 2012; MOLIST *et al.*, 2014).

Apesar de não diferirem quanto à ocorrência de diarreia, aos 42 dias de idade, os leitões que receberam ração com adição 0,6% AC + 1,0% AcC e antibiótico promotor de crescimento apresentaram melhor conversão alimentar em relação aos demais tratamentos, possivelmente atribuído à recuperação mais rápida das células epiteliais e ao menor desgaste da mucosa intestinal, refletindo, assim, no desempenho destes animais.

Para avaliação do pH do estômago e intestino delgado, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos, porém para o pH do ceco houve efeito significativo ($P < 0,05$) para os animais do tratamento 1% de AC + 1% de AcC, apresentando maior valor de pH em relação aos animais do tratamento controle negativo e positivo e não diferindo daqueles alimentados com ração contendo 0,6% AC + 1,0% AcC (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de pH do estômago, intestino delgado e ceco de leitões aos 42 dias de idade, alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.

Variáveis	Tratamentos ¹				CV (%) ²	Valor de P
	CN	CP	0,6%AC+ 1,0%AcC	1,0%AC+ 1,0%AcC		
pH do estômago	4,21	3,24	4,12	3,77	20,17	0,082
pH do intestino delgado	5,65	6,25	5,93	5,48	10,16	0,193
pH do ceco	5,61 ^B	5,57 ^B	5,89 ^{BA}	5,95 ^A	4,53	0,012

¹CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico).
²Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste *Student Newman-Keuls* 5% de probabilidade.

O pH ideal do estômago está na faixa de 2 a 3,5 (SUIRYANRAYNA & RAMANA, 2015). No entanto, mesmo estando dentro da faixa ideal com pH de 3,24, os animais do tratamento controle positivo não diferiram dos demais, o que pode estar relacionado a diferentes nutrientes na alimentação animal, que aumentam a capacidade tamponante (CT) do quimo, associado à imaturidade do leitão desmamado que pode promover uma elevação prolongada do pH gástrico acima de 3,0 e do trato digestivo proximal (LIMA, 2009).

Apesar de todas as vantagens dos ácidos orgânicos, de acordo com Partanen *et al.* (2002), a composição da dieta pode influenciar a eficácia dos mesmos, gerando variabilidade nos resultados. Logo, a intensidade com a qual os ácidos orgânicos funcionam depende do tipo de dieta, conteúdo mineral, além dos produtos lácteos.

De acordo com Suiryanrayna & Ramana (2015), as principais fontes de cálcio e fósforo utilizados nas dietas, como fosfato bicálcico e calcário calcítico, apresentam efeito tamponante que dificulta a ação dos ácidos orgânicos no lumen intestinal. Por sua vez, a inclusão de produtos lácteos com elevado teor de lactose na composição da ração também pode ter influenciado na ação do anacardato de cálcio e ácido cítrico; visto que a lactose, presente em todas as rações minimiza o desafio nutricional dos animais, por serem mais digestíveis, além da fermentação da lactose originar ácido láctico, o que reduz a necessidade de acidificação da dieta (MIGUEL *et al.*, 2011).

Os valores de pH do ceco foram maiores para os animais pertencentes ao tratamento contendo 1,0% AC e 1,0% AcC ($P < 0,05$) na ração, não diferindo dos animais alimentados com o tratamento 0,6% AC + 1,0% AcC. No entanto, possivelmente o aumento no pH do ceco pode ter ocorrido devido ao maior teor de cálcio associado ao maior nível de anacardato, podendo ter causado efeito tamponante.

Para os dados de análise sanguínea, não foi observado efeito significativo entre os tratamentos (Tabela 5) para as variáveis de hemácias (μL), hemoglobina (g%), linfócitos (%), segmentados (%) e plaquetas (μL). Em contrapartida, houve efeito significativo ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis de hematócrito (%), VCM (μm^3), CHCM (%), monócitos (%) e proteínas séricas totais (g/dL).

Tabela 5. Hemograma, leucograma e proteínas séricas de leitões alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico, aos 43 dias de idade.

Variáveis ¹	Tratamentos ²				Valores de Ref. ³	CV ⁴ (%)	Valor de P
	CN	CP	0,6%AC + 1,0%Ac	1,0%AC+ 1,0%AcC			
He (µl)	5,82	5,70	5,44	5,84	05 - 08	7,26	0,2271
Hb (g/%)	11,44	11,26	11,08	11,91	10 - 16	5,38	0,0661
Ht (%)	33,94 ^B	34,33 ^B	33,63 ^B	36,74 ^A	32 - 50	5,89	0,0208
VCM (µm ³)	58,42 ^B	60,25 ^B	61,86 ^{BA}	62,94 ^A	50 - 68	5,03	0,0352
		A					
CHCM (%)	33,72 ^A	32,82 ^A	33,02 ^A	31,78 ^B	30 - 34	2,83	0,0031
Leucócitos (%)	22,11	20,62	18,97	17,36	11 - 22	22,36	0,1860
Segmentados (%)	56,57	62,25	59,37	56,48	28 - 47	10,16	0,1933
Linfócitos (%)	35,57	31,50	29,37	33,37	39 - 62	25,25	0,4833
Monócitos (%)	15,00 ^A	9,75 ^{BA}	10,00 ^{BA}	7,35 ^B	02 - 10	44,39	0,0218
Plaquetas (µL)	622,43	530,13	514,13	448,64	100 - 900	22,70	0,0561
Proteína (g/dL)	5,40 ^{BA}	5,42 ^{BA}	5,32 ^B	5,95 ^A	6,0 - 8,0	8,24	0,0388

¹(He) Hemácias; (Hb) Hemoglobina; (Ht) Hematócrito; (VCM) Volume Corpuscular Médio; (CHCM) Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. ²CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico). ³THORN (2000). ⁴Coefficiente de variação. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste *Student Newman-Keuls* 5% de probabilidade.

Observou-se os melhores resultados de hematócrito (%) para os leitões alimentados com ração contendo 1,0% AC e 1,0% AcC. Para o VCM, os leitões que receberam 1,0% AC e 1,0% AcC também apresentaram maior valor em relação aos animais alimentados com ração sem promotor de crescimento (CN). Eles não diferiram daqueles alimentados com ração contendo antibiótico promotor de crescimento e 0,6% AC + 1,0% AcC, mostrando a eficácia desse nível de associação de ácidos orgânicos. Entretanto, para a CHCM (%), os animais do tratamento controle apresentaram valores semelhantes aos que receberam ração com APC e 6% AC + 1,0% AcC, sendo estes superiores aos do tratamento 1,0% AC + 1,0% AcC.

Verificou-se que os valores de hematócrito, VCM e CHCM apresentaram-se dentro da variação normal para a espécie, dessa forma, não indicando anomalias, como anemia. Nesse sentido, as respostas adquiridas com a associação entre anacardato de cálcio e ácido cítrico tornam-se importantes, uma vez que o número inadequado ou o funcionamento deficiente de hemácias faz com que os tecidos não sejam supridos suficientemente com oxigênio (SWENSON,1996).

Apenas os valores de monócitos dos animais que não receberam antibiótico promotor de crescimento na ração foi superior aos animais que receberam 1,0% AC + 1,0% AcC, estando os animais do controle negativo acima dos valores de referência. Devido aos monócitos desempenharem papel importante na defesa imunológica contra microrganismos infecciosos, os animais alimentados com ração sem promotor de crescimento estavam mais susceptíveis à ação de bactérias patogênicas ao longo do trato intestinal, adquirindo, o que resultaria em maior resposta inflamatória, corroborando com a pior conversão alimentar dos animais observados até os 42 dias de idade.

O melhor resultado para os valores de monócitos foi para os animais alimentados com 1,0% AC + 1,0% AcC como promotores de crescimento alternativos na ração, este por sua vez não diferiu dos tratamentos com adição de antibiótico e 0,6% AC + 1,0% AcC.

Para os dados de proteína total (g/dL), notou-se que os melhores valores ($P < 0,05$) foram encontrados nos animais que receberam 1,0% AC + 1,0% AcC como promotor de crescimento na ração, não diferindo dos animais alimentados com ração contendo antibiótico promotor de crescimento e sem promotor de crescimento. No entanto, todos os valores encontrados estão um pouco abaixo da referência para a espécie. Dessa maneira, quando a concentração de proteínas totais encontra-se diminuída, de acordo com González e Silva (2008), provavelmente é devido a transtornos intestinais, hepáticos e renais ou por má absorção de nutrientes.

Na Tabela 6, encontram-se os resultados da morfometria dos segmentos do duodeno e jejuno. Para o duodeno, houve efeito significativo ($P < 0,05$) para altura da vilosidade, espessura da mucosa e área absorptiva. Entretanto, para o jejuno, observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) apenas para células caliciformes.

Tabela 6. Altura de vilosidade, profundidade de cripta, relação altura de vilosidade/profundidade de cripta, largura de vilo, espessura de mucosa, área absorptiva e contagem de células caliciformes do duodeno e jejuno de leitões alimentados com ração contendo ou não antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.

Variáveis ¹	Tratamentos ¹				CV (%) ²	Valor de P
	CN	CP	0,6%AC+ 1,0%AcC	1,0%AC+ 1,0%AcC		
Duodeno						
AV (µm)	192,33 ^B	236,18 ^A	210,22 ^{BA}	210,50 ^{BA}	27,29	0,0037
PC (µm)	124,58	134,52	151,57	138,38	38,42	0,0951
AV/PC	1,79	1,89	1,57	1,63	39,60	0,0888
LV (µm)	71,05	79,07	79,50	76,82	25,60	0,1336
EM (µm)	308,58 ^B	368,09 ^A	358,47 ^A	348,88 ^A	24,29	0,0037
AA (µm ²)	14.366 ^B	18.923 ^A	17.615 ^{BA}	16.542 ^{BA}	43,54	0,0213
CC	153,75	157,50	143,75	131,25	29,46	0,6257
Jejuno						
AV (µm)	231,29	236,21	250,42	258,07	23,17	0,0778
PC (µm)	137,60	146,92	148,55	158,05	36,99	0,3397
AV/PC	1,77	1,78	1,96	1,72	37,85	0,3523
LV (µm)	78,24	77,82	75,17	76,74	25,69	0,8759
EM (µm)	375,03	365,72	373,88	397,67	30,17	0,5575
AA (µm ²)	19.958	17.545	17.489	19.796	51,45	0,4104
CC	171,88 ^{BA}	178,13 ^{BA}	183,13 ^A	132,50 ^B	22,22	0,0421

¹AV (altura de vilosidade), PC (profundidade de cripta), AV/PC (relação altura de vilosidade/profundidade de cripta), LV (largura de vilo), EM (espessura de mucosa), AA (área absorptiva) e CC (contagem de células caliciformes). ²CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico). ³Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste *Student Newman-Keuls* 5% de probabilidade.

Para as variáveis do duodeno, observou-se maior AV e AA em leitões alimentados com rações contendo APC em relação aos animais alimentados com ração sem promotor de crescimento (CN), não diferindo daqueles alimentados com ração contendo adição de 0,6% de AC + 1% de AcC e 1% de AC + 1% de AcC. A ação do APC bem como a associação entre AC e AcC sobre a capacidade absorptiva intestinal promovem uma recuperação mais rápida da mucosa intestinal dos leitões após o desmame. Já para a EM, os melhores resultados foram para os tratamentos com APC, 0,6% de AC + 1% de AcC e 1% de AC + 1% de AcC, sugerindo menor agressão da parede intestinal nos animais que receberam rações com estes

tratamentos. Nesse sentido, nota-se que os animais alimentados com ração sem adição de promotor de crescimento apresentaram menor capacidade de digestão e absorção intestinal, resultando na pior conversão alimentar dos mesmos.

As vilosidades intestinais estão diretamente relacionadas com a absorção de nutrientes no intestino, apresentando um papel fundamental no desempenho dos leitões. No entanto, após o desmame, ocorre redução na altura do vilão, que pode ser provocada por uma maior taxa de perda celular na vilosidade, devido ao início do consumo de ração sólida, baixo consumo de ração, toxinas bacterianas e adesão de bactérias aos enterócitos (TUCCI *et al.*, 2011). Isso causa má absorção dos nutrientes, desencadeando baixo desempenho, o que possivelmente ocorreu com os animais do tratamento controle; pois mesmo não alterando o ganho de peso, apresentaram menor capacidade de digestão e absorção intestinal, resultando em piora na conversão alimentar, quando comparado aos demais tratamentos.

O número e o tamanho dos vilos dependem da quantidade de células que compõem a mucosa, pois quanto mais íntegra for a mucosa, maior será o número de células e tamanho dos vilos. Isso possibilita maior aderência e captação de nutrientes para absorção no epitélio intestinal, e por consequência, maior a área de absorção (BOARO, 2009; DENCK *et al.*, 2017). Provavelmente deve ter ocorrido para proporcionar um aumento na altura dos vilos e na área absorptiva no segmento do duodeno dos animais alimentados com APC, 0,6% de AC + 1% de AcC e 1% de AC + 1% de AcC, resultando em menor desgaste na estrutura da mucosa intestinal. No entanto, mesmo ocorrendo um aumento na altura do vilão e na área absorptiva no duodeno, não foi suficiente para que ocorresse uma maior absorção direcionada para o ganho de peso dos animais, visto que este não foi alterado, possivelmente porque o duodeno tem uma área menor de absorção, quando comparado com o jejuno.

No jejuno, o maior número de células caliciformes (CC) foi encontrado nos animais alimentados com adição de 0,6% de AC + 1% de AcC na ração, indicando que este nível de associação de ácidos orgânicos proporcionou o aumento na produção de mucina, importante para a proteção da parede intestinal. De acordo com Junqueira & Carneiro (2013), as glicoproteínas presentes protegem e lubrificam o revestimento do intestino, dificultando a adesão de micro-organismos patogênicos. Entretanto, a adição do nível superior de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico não resultou em efeito semelhante sobre as CC, o que pode ter contribuído

para uma piora na conversão alimentar observada nestes animais até os 42 dias de idade.

Para o número de células em mitose, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) para os segmentos do duodeno e jejuno nos tratamentos analisados (Tabela 7).

Tabela 7. Número de células em mitose no duodeno e jejuno de leitões abatidos aos 42 dias de idade, alimentados com ou sem antibiótico promotor de crescimento e diferentes níveis de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico.

Local	Tratamentos ¹				CV (%) ²	Valor de P
	CN	CP	0,6%AC+ 1,0%AcC	1,0%AC+ 1,0%AcC		
Duodeno	712,50	678,33	715,00	649,17	21,18	0,7774
Jejuno	597,50	687,50	629,17	676,67	20,54	0,5064

¹CN (controle negativo), CP (controle positivo), 0,6%AC+1%AcC (0,6% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico), 1,0%AC+1%AcC (1,0% de anacardato de cálcio + 1,0% ácido cítrico).
²Coefficiente de variação. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste *Student Newman-Keuls* 5% de probabilidade.

O epitélio intestinal está em constante renovação, devido ao envelhecimento ou ao esgotamento funcional de suas células e à deterioração das mesmas pelo atrito causado pela passagem da digesta e pela ação de agentes químicos relacionados com os processos de digestão da mesma como pH e enzimas (CHENG e LEBLOND, 1974; UNI *et al.*, 1996). Essa renovação epitelial do intestino acontece devido às células indiferenciadas situadas na base das criptas, as quais sofrem mitoses, iniciarem o processo de diferenciação originando os tipos celulares do epitélio intestinal (NASCIUTTI *et al.*, 2016).

Nesse sentido, mesmo não diferindo estatisticamente entre os tratamentos, a taxa de mitose apresentou-se aparentemente normal, levando em consideração o aumento da altura da vilosidade para os animais alimentados com APC, 0,6% de AC + 1% de AcC e 1% de AC + 1% de AcC, pois obtiveram recuperação mais rápida da mucosa intestinal. No entanto, mesmo com o desafio da diarreia, estes animais não apresentaram prejuízos no desempenho, contrariamente observado nos animais alimentados com ração sem promotores de crescimento, que apresentaram piora na conversão alimentar.

5 CONCLUSÃO

A adição de anacardato de cálcio associado ao ácido cítrico na ração de leitões desmamados pode ser uma alternativa aos antibióticos promotores de crescimento, sem prejuízos sobre o desempenho dos animais.

A associação do anacardato de cálcio e ácido cítrico apresentou resultados satisfatórios para os parâmetros sanguíneos e morfometria intestinal do duodeno, porém não reduz a ocorrência de diarreia e o pH dos conteúdos do estômago, intestino delgado e ceco de leitões desmamados.

REFERÊNCIAS

AHMED, S. T.; HWANG J. A.; HOON, J.; MUN, H. S.; YANG, C. J. Comparison of Single and Blend Acidifiers as Alternative to Antibiotics on Growth Performance, Fecal Microflora, and Humoral Immunity in Weaned Piglets. **Asian Australasian Journal Animal Science**, [S.l.], v. 27, n. 1, p. 93-100, 2014.

ANDRADE, T. J. A. S.; ARAÚJO, B. Q.; CITÓ, A. M. G. L.; SILVA, J.; SAFFI, J.; RICHTER, M. F.; FERRAZ, A. B. F. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, [S.l.], v. 126, p. 1044-1048, 2011.

BELLAVER, C. **O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar.**

Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/memorias2000_bellaver.pdf. 2000. Data de acesso: 28 dez. 2017.

BEST, P. Como atuam los ácidos como promotores de crecimiento? Problabe modo complejo de acción: atacando micróbios patogênicos y ayudando la digestión de amino ácidos. **Alimentos Balanceados para Animales**, p. 18-19, 2000.

BLANK, R.; SAUER, W. C.; MOSENTHIN, R.; ZENTEK, J.; HUANG, S.; ROTH, S. Effect of fumaric acid supplementation and dietary buffering capacity on the concentration of microbial metabolites in ileal digesta of young pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 345-353, 2001.

BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. *In*: CONFERENCIA FACTA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 27., 2009, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre: facta, 2009.

BOSI, P.; SARLI, G.; CASINI, L.; DE FILIPPI, S.; TREVISI, P.; MAZZONI, M.; MÈRIALDI, G. The influence of fat protection of calcium formate on growth and intestinal defence in Escherichia coli K88-challenged weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 139, p. 170-185, 2007.

BRANCO, P. A. C.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T. Utilização de farinha pré-gelatinizada de milho e soja micronizada em dietas de leitões dos 21 aos 56 dias de idade. **Boletim de Indústria Animal**, [S.l.], v. 63, n. 1, p. 01-10, 2006.

BRAZ, D. B. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche.** 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

BRAZ, D. B.; COSTA, L. B.; BERENCHTEIN, B. T.; ALMEIDA, V. V.; MIYADA, V. S. Acidificantes como alternativa aos antimicrobianos promotores do crescimento de leitões. **Archivos de Zootecnia**, [S.l.], v. 60, n. 232, 745-756, 2011.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.l.], v. 44, n. 4, p. 773 – 781, 2008.

BÜHLER, K. **Benzoic acid as feed additive in pig nutrition: Effects of diet composition on performance, digestion and ecological aspects**. 2009. 161 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – ETH ZURICH, Suíça, 2009.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J.D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [S.l.], p. 1-4, 2013.

CANIBE, N.; STEIEN, S. H.; OVERLAND, M.; JENSEN, B. B.; Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. **The Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 79, p. 2123-2133, 2001.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F.; REINHART, G. A.; WHITMOYER, R. E. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 66, p. 574-584, 1988.

CHENG, H.; LEBLOND, C. P. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cells in the mouse small intestine. IV. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. **American Journal of Anatomy**, [S.l.], v. 141, p. 537-61, 1974.

CHIQUIERI, J.; SOARES, R. T. R. N.; LYRA, M. S.; HURTADO NERY, V. L. ; FONSECA, J. B. Ácidos orgânicos na alimentação de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, [S.l.], v. 58, n. 1, p. 609-612, 2009.

COSTA, L. B. *et al.* Herbal extracts and organic acids as natural feed additives in pig diets. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v. 43, p. 181- 193, 2013.

CRISTANI, J. **Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém desmamados**. 2008. 57 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

CRUZ, C. E. B. **Anacardato de cálcio como fonte de ácido anacárdico na alimentação de frangos de corte**. 2015. 107 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Departamento de Zootecnia, Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 450 p.

DENCK, F. M.; HILGEMBERG, J. O.; LEHNEN, C. R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de Zootecnia**, [S.l.], v. 66, n. 256, p. 629-638, 2017.

DIAS JÚNIOR, G.S. **Desempenho de vacas leiteiras suplementadas com sal de cálcio rico em ácido linoléico ou grão de soja tostado**. 2011. 74 f. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

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

DIERICK, N. A.; DECUYPERE, J. A.; MOLLY, K.; VAN BEEK, E.; VANDERBEKE, E. Combined use of triacylglycerols (TAGs) containing medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition. II. In vivo release of MCFAs in gastric cannulated and slaughtered piglets by endogenous and exogenous lipases; effects on the luminal gut flora and growth performance. **Livestock Production Science**, v. 76, p. 1-16, 2002.

DIOGENES, M. J. N.; MARAIS, S. M.; CARVALHO, F. F. Contact dermatitis among cashew nut workers. **Contact Dermatitis**, [S.l.], v. 35, p. 114-115, 1996.

EIDELSBURGUER, U. Feeding short-chain organic acids to pigs. *In*: WISEMAN, J.; GARNSWORTHY, P.C. (Ed.). **Recent Developments in Pig Nutrition 3**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p. 107-121.

FALKOWSKI, J. F.; AHERNE, F. X. Fumaric and citric acid as feed additives in starter pig nutrition. **Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 58, n. 4, p. 935-938, 1984.

FONTES, D.O. Avanços na nutrição de leitões. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2003, Itapetinga. **Anais...** Itapetinga: SBN, 2003. p. 253-268.

FRANÇA, M. I. **Uso de formiato de sódio e potássio em rações para frangos**. 2008. 53 f. Dissertação (Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FREITAG, M. **Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry**. Acidifiers in animal nutrition: A guide for feed preservation and acidification to promote animal performance. **Nottingham University Press**, p. 01-13, 2007.

FREITAS, L. S. *et al.* Avaliação de ácidos orgânicos em dietas para leitões de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, 2006.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. *In*: SIMPÓSIO TÉCNICO DE

INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú: UNESP, 2004.

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

GAUTHIER, R. **Organic acids and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoters in poultry.** Disponível em: <<http://www.jifo.ca/pdf/avicola/AnaisAveExpo-R.Gauthier.pdf>> 2005. Data de acesso: 27 de dezembro de 2016.

GONZALES, M. J. T. G.; OLIVEIRA, C. J. C.; FERNANDES, J. O.; KIJOA, A.; HERZ, W. Further alkyl and alkenylphenols of *Knema Laurina* and *Knema austrosiamensis*: location of the double bond in the alkenyl side chains. **Phytochemistry**. [S.l.], v. 43, n. 6, p. 1333-1337, 1996.

GONZÁLEZ F. H. D; SILVA S. C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.

HAMAD, F.; MUBOFU, E. Potential Biological Applications of Bio-Based Anacardic Acids and Their Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.l.], v. 16, n. 4, p. 8569–8590, 2015.

HANSEN, J. A. Evaluation of animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 1853, 1993.

HENRY, R. W; PICKARD, D. W.; HUGHES, P. E. Citric acid and fumaric acid as food additives for early-weaned piglets. **Animal production**, [S.l.], v. 40, p. 505-509, 1985.

HOLLANDS, A.; CORRIDEN, R.; GYSLER, G.; DAHESH, S.; OLSON, J.; ALI, S. R.; KUNKEL, M. T.; LIN, A. E.; FORLI, S.; NEWTON, A. C.; KUMAR, G. B.; NAIR, B. G.; PERRY, J. J. P.; NIZET, V. Natural product anacardic acid from cashew nut shells stimulates neutrophil extracellular trap production and bactericidal activity. **The Journal of Biological Chemistry**, [S.l.], v. 291, p. 13964-13973, 2016.

HUAYNATE, R. A. R.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N. Uso de probiótico em dietas de suínos, incidência de diarreia, desempenho zootécnico e digestibilidade de rações. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. [S.l.], v. 43, n. 5, p. 664-673, 2006.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **Veterinary Journal**, [S.l.], v. 187, p. 182-188, 2011.

ITOKAWA, H. *et al.* Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. **Chemistry Pharmacy Bulletin**, [S.l.], v. 35, p. 3016–3020, 1987.

JAY, Y.; JACELA, D. V. M.; DEROUCHÉY, J. M.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; NELSSSEN, J. L.; RENTER, D. G.; DRITZ, S. S. In-feed antibiotics. **Journal Swine Health Production**, [S.l.], v. 17, p. 270–275, 2009.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556 p.

KUANA, S. Pontos críticos de controle de salmonella em fábricas de rações. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba. 2001. p 7.

KENWORTHY, R. Observation of the effects of weaning in the young pig. Clinical and histopathological studies of intestinal function and morphology. **Research Veterinary Science**, [S.l.], v. 21, p. 69-73, 1976.

KIM, J. C.; HANSEN, C. F.; MULLAN, B. P.; PLUSKE, J. R. Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 173, p. 3-16, 2012.

KNARREBORG, A.; MIQUEL, N.; GRANLI, T.; JENSEN, B. B. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 99, p. 131-140, 2002.

KRABBE, E.L. Alternativas aos promotores de crescimento convencionais Potencial e Viabilidade. *In*: PRÉ-SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL: AVES E SUÍNOS, 2001, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 2001, p. 61-69.

KUBO, I. *et al.* Antioxidant activity of anarcardic acids. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 99, p. 555-562, 2006.

LANCINI, J. B. Fatores exógenos na função gastrintestinal. **Fisiologia da digestão e absorção das aves**, Campinas, p. 99-126, 1994.

LANGE, C. F. M. *et al.* Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, New York, v. 134, p. 124-134, 2010.

LANGHOUT, P. New additives for broiler chickens. Alternatives to antibiotics. **Feed Mix Special**, [S.l.], p. 24-27, 2000.

LALLÈS, J. P.; BOSI, P.; SMIDT, H.; STOKES, C. R. Weaning a challenge to gut physiologists. **Livestock Production Science**, [S.l.], v. 108, p. 82–93, 2007.

LIMA, G. J. M. M.; MORÉS N.; SANCHES, R. L.; As diarreias nutricionais na suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, [S.l.], v. 37 (Supl 1): p. 17-30, 2009.

LOVATTO, P. A. Nutrição e alimentação. *In*: **Suinocultura geral**. 2002. cap. 05, p. 63-83.

LUBIC, M.; THACHIL, E. T. Copolymerization of cashew nut shell liquid (CNSL) and phenol by condensation with hexamine. **International Journal of Polymeric Materials**, [S.l.], v. 52, p. 793-807, 2003.

LUNA, A. C. L.; PASSOS, C. C. ; FERREIRA, A. O. ; BATEMAN, A.; MIGLINO, M. A.; GUERRA, R. R. Expression of progranulin during the first stages of liver development in rat Fischer 344. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** (Impresso), [S.l.], v. 50, p. 270-278, 2014.

MACARI, M. Aspectos fisiológicos do sistema digestivo das aves. *In*: SEMANA ACADÊMICA VETERINÁRIA, 8., 1998. São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.] 1998. p. 4-18.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicadas a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/ UNESP, 2002. p. 375.

MAKKINK, C. Capacidad de aglutinación de ácido de lós insumos – Reducción Del ‘valor tampón (valor B)’, especialmente para animales jóvenes. **Alimentos Balanceados para Animales**, Mayo-Junio, 2002.

MATOS, A. V. S. **Anacardato de cálcio como promotor de crescimento alternativo para leitões na fase de creche**. 2015. 41 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

MAXUELL, C. V.; CARTER, S. D. Feeding the weaned pig. *In*: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (Eds.). **Swine nutrition**, Florida: Ed. CRC Press, 2001, p. 691-723.

McCRACKEN, B. A.; SPURLOK, M. E.; ROOS, M. A.; ZUCKERMANN, F. A.; GASKINS, H. R. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. **Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 129, p. 613-619, 1999.

MIGUEL, W. C. **Suplementação de acidificantes em rações de leitões desmamados: desempenho e digestibilidade**. 2008. 58 f. Dissertação (Dissertação em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2008.

MIGUEL, W. C; TRINDADE NETO, M. A. da; BERTO, D. A; KOBASHIGAWA, E. GANDRA, E. R. S. Suplementação de acidificantes em rações de leitões desmamados: desempenho e digestibilidade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [S.l.], v. 48, n. 2, p. 141-146, 2011.

MILLER, B.G. Creep feeding and post weaning diarrhea in piglets. **The Veterinary Record**, London, v. 114, n. 12, p. 296 – 297, 1984.

MOLIST, F.; VAN OOSTRUM, M.; PÉREZ, J. F.; MATEOS, G. G.; NYACHOTI, C. M.; VAN DER AAR, P. J. Relevance of functional properties of dietary fibre in diets for weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, [S.l.], v. 189, p. 1-10, 2014.

MOLLY, K. Formulation to solve the intestinal puzzle. **Pig Progress**, [S.l.], v. 17, p. 20-22, 2001.

MONTEIRO, A.C. **Utilização de antibiótico e ácidos orgânicos em rações de frangos de corte**. 2007. 52 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá – Maringá, PR. p. 20, 21. 2007.

MOON, H. M. Epithelial cell migration in the migration of the suckling pig. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, [S.l.], v.137, p. 151-154, 1971.

MORAIS, T. C. *et al.* Protective effect of Anacardic Acids from Cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 9, p. 183-264. 2010.

MOREIRA FILHO, A. L. B.; OLIVEIRA, C. J. B.; OLIVEIRA, H. B. *et al.* High Incubation Temperature and Threonine Dietary Level Improve Ileum Response Against Post Hatch Salmonella Enteritidis Inoculation in Broiler Chicks. **Plos One**, 2015.

MORITA, V. S. **Efeito da pectina cítrica sobre o desenvolvimento e a saúde do intestino delgado de frangos de corte**. 2011. 145 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Unesp), Jaboticabal, 2011.

MROZ, Z. *et al.* **The effect of dietary buffering capacity and organic acid supplementation on digestibility of nutrient, water intake and excreta production in growing pigs**. Branch Runderwag, Lelystad: Institute for Animal Science and Health, 1997. p. 3096-3106.

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

NABUURS, M. J. A. Microbiological, structural and functional changes of the small intestine of pigs at weaning. **Pigs New and Information**, [S.l.], v. 16, n. 3, p. 93-97, 1995.

NASCIUTTI, L. E; NARCISO, M. S; LIMA, A. V. P. de; BRITO, G. A. C; ORIÁ, R. B. "Histologia do Tubo Digestório". *In: Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica*. São Paulo: Blucher, 2016. p. 273-314.

NÉVOA, M. L.; CARAMORI JR, J. G.; VIEITES, F. M.; NUNES, R. V.; DE VARGAS JUNIOR, J. G.; KAMIMURA, R. Antimicrobianos e prebióticos nas dietas de animais não ruminantes. **Scientia Agraria Paranaensis**, [S.l.], v. 12, p. 85- 95, 2013.

NG, W. & KOH, C. B. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. **Reviews in Aquaculture**, [S.l.], p. 1-27, 2016.

- OETTING, L. L. **Extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados**. 2005. 66 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) - Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2005.
- PAPATSIROS, V. G.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; FILIPPOPOULOS, L. C. The use of organic acids in monogastric animal (swine and rabbits). **Journal of Cell and Animal Biology**, [S.l.], v. 6, p. 154-159, 2012.
- PARAMASHIVAPPA, R.; PHANI KUMAR, P.; VITHAYATHIL, P. J.; RAO A. S. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 49, p. 2548–2551, 2001.
- PARTANEN, H. K.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, [S.l.], v. 12, n. 1, p. 117-145, 1999.
- PARTANEN, K. H. Using organic acids in pig feeding as an alternative to antibiotics feed additives. *In: Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos e tecnologia na produção de rações*, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, p. 45-62, 2002.
- PERINA, D.P. **Sorbitol na alimentação de leitões recém-desmamados**, 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, SP.
- PENZ Jr, A. M, SILVA, A. B., RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. *In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologias Avícolas*, Santos. **Anais...** Santos, p. 111-119. 1993.
- PLUSKE, J. R. *et al.* Morphological and functional changes in the small intestine of the newly weaned pig. *In: PIVA, A.; KNUDSEN, K. E. B.; LINDBERG, J. E. Gut environment of pigs*. Nottingham: University Press, 1997. p. 1-27.
- PLUSKE, J. R.; PIVA, A.; KNUDSEN, K. E. B. *et al.* Morphological and functional changes in the small intestine of the newly weaned pig. *In: Gut environment of pigs*. Nottingham: University Press, 2001. p. 1-27.
- PLUSKE J. R., HAMPSON D. J. & WILLIAM I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaning pig: a review. **Livestock Production Science**, [S.l.], v. 51, p. 215-236, 2001.
- PLUSKE, J. R., PETHICK, D. W.; HOPWOOD, D. E.; HAMPSON, D. J. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. **Nutrition Research Reviews**, [S.l.], v. 15, p. 333-371, 2002.
- PUPA, J. M. R. Saúde intestinal de leitões. *In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA*, 1., 2008, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, 2008. p. 13-27.
- RADCLIFFE, J. S.; ZHANG, Z.; KORNEGAY, E. T. The effects of microbial phytase, citric acid, and their interaction in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. **Journal of Animal Science**, [S.l.], v. 76, n. 7, p. 1880-1886, 1998.

RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E. T. Acidification of weaner pig diets: A review. **Journal Science Food Agriculture**, [S.l.], v. 62, p. 313-322, 1993.

RICE, J. P.; PLEASANT, R. S.; RADCLIFFE, J. S. The Effect of Citric Acid, Phytase, and Their Interaction on Gastric pH, and Ca, P, and Dry Matter Digestibilities. **Purdue University Swine Research Report**, Purdue University, West Lafayette. p. 36-42. 2002.

RIOPÉREZ, J.; SÁNCHEZ, C. P.; CANTAÑO, M. Estudio histopatológico Del ileon de lechones precozmente destetados dependiente Del cereal utilizado em su alimentacion. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 40, n. 150, p. 261-271, 1991.

RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C. Foundation and perspectives of the use of plant extracts as performance enhancers in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [S.l.], v. 10, p. 195-204, 2008.

ROSTAGNO, H. S., PUPA, J. M. R. Fisiologia da digestão e alimentação de leitões. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E MANEJO DE LEITÕES, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1998. p. 60-87.

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. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 3. ed. Viçosa: UFV/ DZO, 2011. 186 p.

RUFINO, L. M. **Ácidos orgânicos e fitase em rações para leitões desmamados**. 2013. 117 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2013.

RUSSEL, J. B. Another Explanation for the toxicity of fermentation acids at low Ph: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, [S.l.], v. 73, p. 363-370, 1992.

SANCHES, A. L. **Probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame**, 2004. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, W. G. 2002. **Manose na alimentação de leitões na fase de creche (desempenho, parâmetros fisiológicos e microbiológicos)**. 2002. 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, A. V; FIALHO, E. T; ZANGERÔNIMO, M. G; CANTARELLI, V. S; TEOFILO, T. S; MOLINO, J. P. 2016. Aditivos Antibiótico, Probiótico E Prebiótico Em Rações Para Leitões Desmamados Precocemente. **Ciência animal. brasileira**, Goiânia, v. 17, n. 1, p. 1-10 jan./mar. 2016.

SCHEEMAN, B. O.; RICHTER, D. B.; JACOBS, L. R. Response to dietary wheat bran in the exocrine pancreas and intestine of rats. **Journal of Nutrition**, [S.l.], v. 112, p. 283-286, 1982.

SILVA, D. R. P. da. **Adição de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados**. 2016. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB.

SILVA JUNIOR, A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolípidios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 238-245, 2009.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica**, 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, v. 1 e 2., 2002.

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, p. 1-11, 2015.

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

SWENSON, M.J.; REECE, W.O.; DUKES. **Fisiologia dos animais domésticos**, 11 ed. Guanabara Koogan, 1996. 856p.

TARDIN, A.C. Fisiologia digestiva e nutrição no desmame precoce de leitões. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2., 1985, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 1985. p.33-57.

THORN, C.E . Normal hematology of the pig . In: Feldman, B.F ; Zinkl, J.G; Jain, NC , eds. **Schalm ' s Veterinary Hematology** , 5th ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins , 2000 ; 1089 – 1095.

TOYOMIZU, SCHALM´ s Veterinary Hematology (2000) CONMO REFERENCIARM. *et al.* Reducing effect of dietary anacardic acid on body fatpads in rats. **Animal Science Journal**, [S.l.], v. 74, p. 499-504, 2003b.

TREVISAN, M. T. S.; PFUDENSTEIN, M.; HAUBNER, R. WURTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R. W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, [S.l.], v. 44, p. 188-197. 2006.

TUCCI, F. M.; THOMAZ, M. C.; NAKAGHI, L. S. O.; HANNAS, M. I.; SCANDOLERA, A. J.; BUDIÑO, F. E. L. Efeito da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a estrutura e ultraestrutura do intestino delgado e sobre o desempenho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.l.], v. 63, n. 4, p. 931-940, 2011.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Development of the small intestine in heavy and light starin chicks before and after hatching. **British Poultry Science**, [S.l.], v. 36, p. 63-71, 1996.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, [S.l.], v. 77, n. 1, p. 75-82, 1998.

UNI, Z., GEYRA A., BEN-HUR H., SKLAN D. Small intestinal development in the young chick: Crypt formation and enterocyte proliferation and migration. **Br. Poultry Science**, [S.l.], v. 41: 544–551. 2000.

UTIYAMA, C. E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém desmamados**. 2004. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

VILAS BOAS, A. D. C. V. **Suplementação de ácidos orgânicos em dietas para leitões na fase de creche**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em produção animal sustentável). Instituto de Zootecnia da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 2014.

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

VIOLA, E. S. **Uso de acidificantes em dietas de frangos de corte: resíduos no trato digestivo e efeitos sobre o desempenho animal e morfologia intestinal**. Porto Alegre, RS. 196 f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

VONDRUSKOVA H, SLAMOVA, R.; TRCKOVA, M.; ZRALY, Z.; PAVLI, I. Alternatives to antibiotic growth 45 promoters in prevention of diarrhea in weaned piglets: a review. **Veterinary Medicine**, [S.l.], v. 55, p. 199-224, 2010.

WANG, D.; GIRARD, T. J.; KASTEN, T. P.; LACHANCE, R. M.; MILLER-WIDEMAN, M. A.; DURLEY, R. C. Inhibitory activity of unsaturated fatty acids and anacardic viia complex. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 1352-1355, 1998.

XU, R. J. Development of the newborn GI tract and relation to colostrum milk intake: a review. **Reproduction, Fertility and Development, Melbourne**, [S.l.], v. 8, p. 35-48, 1996.

YANG, H. et al. Effects of weaning on intestinal upper villus epithelial cells of piglets. **Plos One**, San Francisco, v. 11, p. 1-20, 2016.

ZANGERÔNIMO, M. G.; CANTARELLI, V. S.; FIALHO, E. T.; AMARAL, N. O.; SILVEIRA, H.; PEREIRA, L. M.; PEREIRA, L. J. Herbal extracts and symbiotic mixture replacing antibiotics in piglets at the initial phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, n. 5, p. 1045-1051, 2011.