



ESTRATÉGIAS (INCLUINDO NUTRICIONAIS) NO AUXÍLIO DA REDUÇÃO DO USO DE ANTIMICROBIANOS

Gustavo J. M. M. de Lima

Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves

Introdução

Os antimicrobianos são comumente usados na produção de suínos, muitas vezes para tratar infecções bacterianas importantes ou como uma medida preventiva contra as infecções primárias ou secundárias. Os antimicrobianos como melhoradores do desempenho cumprem papel importante no crescimento e desenvolvimento da indústria suinícola há mais de 50 anos, especialmente devido à sua eficiência no aumento da taxa de crescimento dos animais, melhorando a utilização dos alimentos e reduzindo a mortalidade pela diminuição da ocorrência de doenças [1]. Além disso, os antimicrobianos constituem-se em importantes ferramentas para a redução da emissão de poluentes no ambiente. Isto porque melhoram a eficiência alimentar e assim, aumentam a retenção de elementos nos tecidos animais e, por conseguinte, reduzem a excreção destes através da urina e fezes.

A intensificação da produção de suínos, observada ao longo das últimas décadas através do aumento da concentração de animais, tanto do ponto de vista de instalações como de unidades de produção, acarretaram na maior ocorrência de doenças, muitas delas causadas por agentes antes desconhecidos. A evolução tecnológica da produção, através do manejo, da nutrição, das instalações e da interação entre as unidades que compõem a cadeia de produção promoveram alterações na microbiologia presente no ambiente em que são criados os suínos. Este novo ambiente gerou condições para a maior pressão sanitária e a ocorrência de doenças, fazendo com que o uso profilático de produtos antimicrobianos, administrados principalmente através da dieta, ganhasse grande importância devido à facilidade de aplicação e dos resultados efetivos alcançados. Embora não seja a única causa, o amplo uso dos antimicrobianos colaborou para o aumento da seleção de microrganismos resistentes a antibióticos.

No entanto, os consumidores estão cada vez mais preocupados com a questão dos resíduos nas carnes e outros alimentos animais e a transmissão de microrganismos patogênicos resistentes à ação de antimicrobianos em animais e humanos, decorrentes do uso contínuo desta ferramenta nos sistemas de produção [2,3]. Como resultado, muitos países proibiram ou estão no processo de proibir a inclusão rotineira de antimicrobianos em dietas de suínos.

Em um programa de uso racional de antimicrobianos, existe uma série de medidas a serem tomadas antes de alterações na formulação das dietas. Há uma associação positiva entre aumento da adoção de medidas de biossegurança, com parâmetros de produção e redução do uso de antimicrobianos [4,5]. São vários os relatos de que os produtores tem a percepção de que a biossegurança é uma importante ferramenta para reduzir a ocorrência de doenças.



As medidas de higiene e outras medidas de gestão da produção, como a produção em lotes, também desempenham um papel na melhoria do estado de sanitário de um rebanho, diminuindo indiretamente a necessidade de agentes antimicrobianos [6]. De forma semelhante, o conforto ambiental das instalações dos suínos pode levar a uma menor pressão microbiana [7].

O programa de vacinação dos animais também pode ser visto como uma alternativa aos agentes antimicrobianos, pois deve reduzir a pressão de infecção e aumentar a imunidade. Portanto, a vacinação pode melhorar o estado geral de saúde dos suínos, diminuindo o risco de infecção (secundária). Vários estudos confirmam a redução do uso de antimicrobianos após a inclusão de vacinas no manejo sanitário das granjas [8 -15].

Como consequência da sinalização da sociedade na busca de redução do uso rotineiro de antimicrobianos com uso rotineiro nas dietas, muitas pesquisas têm sido realizadas nas últimas décadas com enfoque no desenvolvimento de alternativas aos antimicrobianos para manter a saúde e o desempenho dos suínos, e várias revisões já foram publicadas sobre este assunto. As alternativas mais pesquisadas incluem probióticos [16-184-6], prebióticos [16,19], enzimas [20 - 22], acidificantes [23 - 26] e extratos vegetais [16, 27, 28].

O objetivo deste artigo é revisar as alternativas mais promissoras para reduzir o uso de antimicrobianos na produção de suínos, ressaltando (1) alguns aspectos relacionados ao excesso de minerais e nitrogênio que influenciam no crescimento microbiano, em especial os patogênicos; e (2) apresentar um exemplo real de sistema de produção de suínos que não utiliza antimicrobianos nas dietas.

Zinco, Cobre e Cálcio

Para todos os microrganismos, o acesso a íons metálicos é essencial para a sua sobrevivência no meio ambiente ou no hospedeiro. Os íons metálicos são necessários em muitos processos biológicos como componentes de metaloproteínas e servem como cofatores ou elementos estruturais para enzimas. No entanto, é fundamental, do ponto de vista do crescimento microbiano, que as bactérias assegurem que a absorção e a disponibilidade do metal estejam de acordo com as suas necessidades fisiológicas, uma vez que o desequilíbrio na homeostasis da bactéria pode comprometer o seu crescimento.

O uso de prébióticos, probióticos, ácidos orgânicos e extratos de plantas são frequentemente recomendados como ferramentas para substituir o uso de antimicrobianos na dieta, mas parece que os sais de Zn e Cu possuem maior eficácia. O Zn vem sendo utilizado em doses farmacológicas desde o início dos anos 90, adicionado na forma de óxido, por duas a três semanas, porque promove aumento do ganho de peso e reduz a ocorrência de diarreia em leitões após o desmame [29 - 33]. Contudo, o uso de Zn, em doses muito acima dos níveis exigidos pelos animais (2400 a 3200 mg/kg) sempre foi um assunto de discussão porque, embora promova redução da ocorrência de diarreia e aumento no ganho de peso nos leitões, é um metal pesado que pode ser tóxico nessas concentrações além da maior parte ser eliminada nas fezes [34] podendo se acumular no solo, com risco de poluição ambiental e contaminação da água. Além disso, as altas concentrações de Zn no alimento podem acarretar no desenvolvimento da resistência antimicrobiana e podem regular a expressão de genes que modificam a resposta imune dos leitões [35].



Estudos demonstraram que Zn e Cu utilizados em altas concentrações por um período mais longo podem promover a propagação da resistência antimicrobiana da microbiota intestinal em suínos [36]. Foi demonstrado que a exposição prolongada a doses farmacológicas de Zn pode aumentar a resistência em alguma forma de microrganismos, inclusive *Escherichia coli* multirresistente em leitões tratados por quatro semanas com 2500 mg/kg na dieta, na forma de ZnO [37]. Outros autores [38] observaram aumento da prevalência e persistência de *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina no pós-desmame de leitões tratados com altas doses de ZnO dietético. Foi observado que leitões desmamados que receberam dietas de sulfato de Cu (125 mg/kg) durante três semanas, o Cu apresentou impacto significativo na expressão de alguns genes [39]. O uso prolongado de metais pesados, como Zn e Cu, oferece pressão seletiva sobre bactérias resistentes a antimicrobianos, e essa é uma razão pela qual o uso de altas doses destes metais pode desempenhar um papel na manutenção da resistência antimicrobiana [40].

O mecanismo de ação do Zn contra a diarreia ainda não é bem compreendido, mas há várias hipóteses. Alguns autores sugeriram que altas concentrações de Zn dietético diminuem a permeabilidade intestinal, impedindo a translocação de bactérias patogênicas através da barreira intestinal [41]. No entanto, no tratamento da diarreia, apenas altas doses farmacológicas de Zn são eficientes. O Zn aumenta a síntese de Ig A no intestino e reduz a translocação de bactérias tanto anaeróbicas como produtoras de ácido láctico nos linfonodos mesentéricos [42]. Por outro lado, doses farmacológicas de Zn, durante quinze dias após o desmama, aumentaram a expressão do gene do peptídeo antimicrobiano PR-39 na medula óssea de leitões [43]. In vitro, o ZnO reduz a expressão de genes ligados a citocinas anti-inflamatórias, que são estimuladas por *E. coli* enterotóxicas. O Zn também protege a integridade da membrana intestinal através da redução da adesão e invasão de *E. coli* enterotóxicas [44].

A absorção de Zn ocorre, principalmente, no intestino delgado dos suínos, após esse mineral se combinar especificamente com a prostaglandina E₂ ou um de seus metabólitos no lúmen [45]. Vários componentes dietéticos podem afetar a absorção desse mineral tais como níveis altos de Ca, P, Cu, Cd e Cr, além de fitato e fibra [45].

Um estudo foi realizado para avaliar se o efeito de altos níveis de Zn suplementar na dieta sofre influência do nível dietético de Ca [46]. Nele, foram testados os efeitos de níveis de Zn (zero e 2400 ppm), na forma de óxido, em dietas contendo 0,80% (adequado) ou 1,20% de Ca. As dietas experimentais foram fornecidas aos animais durante duas semanas, sendo que nos 14 dias restantes do experimento todos os animais foram alimentados com uma única dieta contendo 150 ppm de Zn e 0,80% de Ca. Seis animais morreram por enterite, sendo que todos receberam dietas sem Zn suplementar: dois do grupo alimentado com a dieta com 0,80% Ca e os demais com 1,20% Ca. A adição de Zn promoveu uma redução significativa na frequência de animais com diarreia. Observou-se que dietas contendo maior nível de Ca ocasionaram maior ocorrência de diarreia nos leitões. Considerando-se o período total de experimento, o consumo diário de ração foi maior nos animais que receberam dietas contendo maior nível de Zn e nível adequado de Ca. A suplementação das dietas com 2400 ppm de Zn promoveu um aumento no ganho diário de peso dos leitões no período de suplementação e no período subsequente. Ao contrário, o maior nível de Ca na dieta reduziu o ganho diário de peso dos leitões nos primeiros 14 dias de experimento, talvez devido à redução da digestibilidade dos nutrientes



resultante da elevação do pH e à formação de quelatos com outros nutrientes no intestino. Verificou-se interação entre níveis de Zn e Ca para o ganho diário de peso no período total de experimento, sendo que os animais que não receberam Zn suplementar na dieta apresentaram respostas similares, independente do nível de Ca dietético. Em contrapartida, os leitões que consumiram dietas com 2400 ppm de Zn apresentaram menor ganho diário de peso quando o nível de Ca foi de 1,20%. Isto demonstra que a ação do Zn é maior quando o nível de Ca na dieta é adequado. Considerando-se o período total de experimentação, o uso de altos níveis de Zn na dieta acarretou melhor conversão alimentar, ao passo que esta variável não foi afetada pelo nível de Ca na dieta. Concluiu-se que a suplementação de 2400 ppm de Zn nas dietas de leitões após o desmame foi eficiente no controle da diarreia e no aumento do consumo diário de ração e ganho diário de peso. Altos níveis de Ca deprimem o desenvolvimento dos leitões, aumentando a ocorrência de diarreia e reduzindo a ação benéfica de doses farmacológicas de Zn na dieta [46].

O uso de complexos orgânicos de Cu e Zn dietéticos, que apresentam maior biodisponibilidade, permite obter melhoria no desempenho de leitões em comparação com suplementação com fontes inorgânicas desses metais [47]. Por exemplo, Zn orgânico pode ser usado em concentrações de 100 e 250 mg/kg e resultar em algum impacto positivo no crescimento de leitões [48]. Outra maneira de reduzir a quantidade de ZnO adicionada ao alimento é aumentar a área de superfície ativa da molécula pelo uso de produtos de alta porosidade ou introdução de nanopartículas. Os ensaios iniciais com esta forma de ZnO mostraram ser muito promissores. Nanopartículas de ZnO tem uma superfície de interação muito maior com o tecido gastrointestinal e a população microbiana, mostrando-se uma tecnologia muito promissora [49, 50]. A genotoxicidade dessas partículas é baixa. No entanto, estudos in vitro sobre linhas celulares mostraram que a indução de dano celular genotóxico também é observados nas concentrações de ZnO abaixo de 100 µg/ml [51], sendo já conhecidas as propriedades antibacterianas e o mecanismo de toxicidade das nanopartículas de ZnO [52].

Ferro

A quantidade de Fe no interior da célula é cuidadosamente regulada para fornecer um nível adequado do elemento, evitando a acumulação e a toxicidade. Acredita-se que o excesso de Fe gera estresse oxidativo, entendido como um aumento na concentração de intermediários radicais de oxigênio. Por outro lado, o Fe na luz intestinal é imprescindível para o crescimento de bactérias. Estas podem captar o Fe necessário e utilizá-lo no metabolismo possibilitando às mesmas exercer, com maior eficácia, o seu efeito patogênico. Portanto, não é desejável que haja falta, e muito menos, excesso de Fe na dieta.

A anemia por deficiência de Fe é comum entre humanos lactentes e crianças nas populações subdesenvolvidas. A fortificação de farinhas com Fe efetivamente reduz o risco de deficiência do elemento, garantindo que as necessidades sejam atendidas. No entanto, a dose de Fe administrada através das farinhas fortificadas é geralmente mais alta do que o necessário, o que aumenta o risco de diarreia [53]. Em estudos controlados, as farinhas fortificadas com Fe aumentam o risco de diarreia em lactentes, podendo variar de casos modestos a graves. Estudos recentes in vitro e in vivo forneceram informações sobre o mecanismo desse efeito. A provisão de fortificantes de Fe para crianças em idade escolar e farinhas fortificadas com Fe



para bebês desmamados diminui o número de bactérias intestinais comensais, como, por exemplo, as bifidobactérias. Além disso, aumenta a relação entre enterobactérias e bifidobactérias e a abundância de patógenos oportunistas, como *Escherichia coli* patogênica, induzindo a inflamação intestinal [53]. Assim, embora as farinhas fortificadas com Fe sejam altamente eficazes na redução da deficiência de ferro, eles podem aumentar a morbidade gastrointestinal.

Um aspecto interessante no metabolismo de Fe é o papel da lactoferrina, que é uma glicoproteína com alta afinidade pelo elemento, presente no leite da maioria dos mamíferos e mais abundante no leite humano [54]. A lactoferrina tem atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de microorganismos patogênicos através de vários mecanismos antimicrobianos que explicam a sua ação. A lactoferrina reduz a disponibilidade de Fe, que é indispensável para o crescimento de microorganismos, devido à sua alta capacidade de ligação com o elemento, danifica as membranas dos microrganismos através de interações com sua região catiônica ou inibir a formação de biofilmes. Além disso, foi demonstrado que a lactoferrina exerce sinergicamente atividade antimicrobiana, favorecendo a predominância de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* [55,56]. Portanto, essa proteína atua seletivamente, inibindo o suprimento de Fe para as bactérias patogênicas e favorecendo o crescimento das bactérias benéficas.

Proteína bruta (Nitrogênio)

Embora as dietas devam ser formuladas com base em ingredientes digestíveis, como para aminoácidos digestíveis, por exemplo, ainda é comum se observar que um valor mínimo de proteína bruta é usado como restrição no cálculo das fórmulas. Esse detalhe faz com que a dieta tenha um teor maior de nitrogênio do que o necessário. Essas dietas com elevado teor de proteína bruta desempenham papel importante tanto para a biodisponibilidade de antimicrobianos, como as tetraciclinas [57] como para o desenvolvimento de certos microrganismos, como *E. Coli*, relacionada à ocorrência de diarreia pós-desmama [58]. Já em 1990 [59], pesquisadores da Embrapa observaram que dietas com 16% de proteína bruta, suplementadas com lisina e 2% de ácido cítrico preveniram a ocorrência de diarreia pós-desmama por *E. coli*, com desmame dos leitões realizado aos 35 dias de idade. Esses autores relataram que o excesso de proteína no estômago associado à imaturidade do sistema digestivo do leitão jovem promove a elevação prolongada do pH gástrico acima de 3,0, o que acarretaria na proliferação exagerada de *Escherichia coli*. A redução da proteína bruta da dieta promove melhora na saúde intestinal através da redução do pH e aumento da população de lactobacilos no cólon proximal [60-62].

A interação entre administração prévia de antimicrobianos e o teor de proteína bruta das dietas de leitões sobre o perfil de microrganismos no ceco foi estudada recentemente [63]. Esses autores não observaram efeito significativo da administração oral prévia de antimicrobianos sobre os principais grupos bacterianos. Entretanto, foi observado em leitões que receberam dietas de baixa proteína bruta o aumento da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (propionato e butirato) e redução na contagem de *Escherichia coli* aos 77 e 120 dias de idade, além de menor teor de produtos de fermentação de proteínas (amônia, fenol e indol aos 77 dias de idade e amônia, tiramina, cadaverina e indol aos 120 dias de idade). Os autores concluíram que o emprego de dietas com baixo teor de proteína bruta promoveu maior proliferação de bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta e redução na conta-



gem de *Escherichia coli* e nas concentrações de produtos de fermentação das proteínas [63].

A composição da dieta pode afetar a composição e o metabolismo da microbiota intestinal, reflexo da adaptação ao ambiente e à disponibilidade de substrato (nutrientes) [64]. O teor de proteína dietética tem importância significativa sobre a composição da população de bactérias intestinais [65,66]. O excesso de proteína sofre fermentação podendo formar metabólitos derivados de aminoácidos [67] tais como amônia, ácidos graxos de cadeia ramificada e compostos fenólicos que podem ser tóxicos ao epitélio intestinal [68,69]. Em suínos foi observado que os níveis de proteína na dieta afetam a composição bacteriana e seu metabolismo no intestino grosso. Estudos indicaram que uma dieta de baixa proteína bruta, obtida com a inclusão de aminoácidos industriais, pode reduzir a formação de produtos de fermentação protéica e mudança de comunidades bacterianas no intestino grosso [70,71]. Foi observado [72] que dietas com baixos teores de proteína bruta reduzem marcadamente a fermentação protéica no intestino grosso promovendo redução nas contagens de *Escherichia coli* potencialmente patogênica e aumento nas contagens de bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia ramificada. Por causa da complexidade das reações metabólicas e interconversões envolvendo a microbiota e seu meio ambiente, é muito importante que novos estudos sejam realizados, especialmente envolvendo análise metagenômica para melhor explicar as alterações na microbiota sob diferentes condições de substrato (dieta), em especial em animais submetidos a diferentes níveis de proteína bruta.

Produção de suínos em família, sem uso preventivo de antimicrobiano e privilegiando o bem-estar animal - o modelo desenvolvido pela Embrapa

O estresse submetido aos animais pela mistura de indivíduos de diferentes leitegadas ou de diferentes granjas ocorre devido a brigas entre os leitões que buscam o estabelecimento de uma nova hierarquia na baia, favorecendo a transmissão horizontal de agentes patogênicos, normalmente presentes em subpopulações de leitões portadores. Esta situação normalmente ocorre ao desmame ou à saída de creche, e constitui-se em fatores relevantes para a transmissão e manifestação de problemas sanitários. Considerando esses aspectos, foi desenvolvido na Embrapa Suínos e Aves um sistema de produção alternativo de suínos em baixa escala, utilizando princípios de produção em família sem o uso de antimicrobianos promotores de crescimento, preventivos ou curativos, nas dietas ou na água, como alternativa para pequenos produtores [73, livre acesso através de <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/442748/producao-de-suinos-em-familia-sem-uso-preventivo-de-antimicrobiano-e-privilegiando-o-bem-estar-animal>]. Esse sistema foi estudado ao longo de três anos em uma granja em ciclo completo, sendo que atualmente está sendo operada como unidade de referência tecnológica para o treinamento de técnicos multiplicadores dessa tecnologia, facilitando o processo de transferência de conhecimento. Os pilares básicos desse sistema são: (1) produção em lotes, com idade média de desmame de 28 dias e abate aos 167 dias de idade, em média; (2) alojamento dos animais em famílias, onde os leitões eram criados em família (mesma leitegada/baia) do nascimento ao abate, havendo apenas mudança de baia no desmame e saída de creche, mas jamais mistura de leitões de diferentes leitegadas; (3) ênfase em medidas que valorizassem a biossegurança do sistema de



produção e uso de técnicas adequadas de produção no manejo diário dos animais foram seguidas [74]; (4) alimentação baseada em formulação com níveis nutricionais para atender os níveis preconizados recomendados para as genéticas atuais, mas reduzindo o nível total de proteína bruta com o uso de aminoácidos industriais; redução da inclusão de farelo e ingredientes à base de soja nas dietas; redução dos níveis de cálcio total calculado para cerca de 0,65%, nas dietas dos leitões na maternidade e creche; uso de altos níveis de plasma spray dried nas dietas de maternidade e creche e 0,5 – 1,0% nas dietas de alojamento dos suínos em crescimento e terminação e porcas em gestação e lactação; uso de probióticos em todas as dietas de animais jovens e adultos.

Os bons resultados de desempenho e de saúde obtidos em diferentes experimentos [73,75], mesmo sem o uso de antimicrobianos preventivos, são atribuídos à manutenção dos leitões na mesma leitegada (sem mistura) do nascimento até o abate, à baixa escala de produção e à redução de fatores de risco que exacerbam a ocorrência de doenças. Quando suínos são alojados em família, sem mistura com outras leitegadas, há um bom nível de bem-estar, com redução do estresse e diminuição na transmissão horizontal de agentes infecciosos. Aliás, quando os leitões são movidos e misturados, há um grande efeito negativo sobre o estresse [76, 77], além de maior transmissibilidade horizontal de agentes infecciosos.

Conclusão

Atualmente, com a restrição e mesmo proibição do uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho, alternativas interessantes surgiram, porém seu uso deve vir acompanhado de melhorias nas técnicas de produção. Após um exame detalhado das experiências em diversos países, em diferentes tipos de sistema de produção, podemos destacar como mais importantes:

- Melhoria das condições de biossegurança, reduzindo a entrada de patógenos no rebanho.
- Idade ao desmame próximo aos 28 dias.
- Redução da mistura de animais e lotes.
- (4) Produção em lotes, enfatizando a limpeza, desinfecção e vazio sanitário das instalações.
- Melhorar o ambiente nas instalações com redução das variações de temperatura, umidade, etc.
- Uso de acidificantes na dieta e na água.
- Programa preventivo através de vacinações.
- Redução da densidade populacional.
- Melhoria da qualidade da alimentação, reduzindo-se o uso de farelo de soja e aumentando a inclusão de ingredientes de alta digestibilidade.
- Uso de aditivos alimentares que melhoram a saúde intestinal.
- Formulação das dietas mais precisas, evitando-se excedentes de N (proteína bruta), Ca e Fe.



- Utilizar fontes alternativas de Cu e Zn, que sejam moléculas orgânicas ou em nanopartículas.
- Melhoria da qualidade da água.

Referências

1. Cromwell GL: Why and how antibiotics are used in swine production. *Anim Biotechnol* 2002, 13:7-27.
2. [Vondruskova H, Slamova R, Trckova M, Zraly Z, Pavli I: Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhea in weaned piglets: a review. *Vet Med* 2010, 55:199-224.
3. Van der Fels-Klerx HJ, Puister-Jansen LF, Van Asselt ED, Burgers SL: Farm factors associated with the use of antibiotics in pig production. *J Anim Sci* 2011, 89:1922-1929.
4. Laanen, M., Maes, D., Hendriksen, C., Gelaude, P., De Vliegheer, S., Rosseel, Y., Dewulf, J. Pig, cattle and poultry farmers with a known interest in research have comparable perspectives on disease prevention and on-farm biosecurity. *Prev. Vet. Med.* 2014. 115:1-9.
5. Laanen, M., Persoons, D., Ribbens, S., de Jong, E., Callen, B., Strubbe, M., Maes, D., Dewulf, J. Relationship between biosecurity and production / antimicrobial treatment characteristics in pig herds. *Vet. J.* 2013. 198: 508-512.
6. Zimmermann, W., Odermatt, W., Tschudi, P. Enzootic pneumonia (EP): the partial curing of EP-reinfected swine herds as an alternative to total cure. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde.* 1989. 131:179-186.
7. Dee, S., Spronk, G., Reicks, D., Ruen, P., Deen, J. Further assessment of air filtration for preventing PRRSV infection in large breeding pig herds. *Vet. Rec.* 2012. 167: 976-977.
8. Adam, M. A meta-analysis on field experiences with vaccination against ileitis showing a reduction on antibiotic use. In: 8th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork (SafePork), Quebec, Canada, 2009. p. 3303.
9. Brockhoff, E., Cunningham, G., Misutka, C. A retrospective analysis of a high health commercial pig production system showing improved production and reduced antibiotic use after implementation of a PCV2 vaccination. In: 8th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork (SafePork), Quebec, Canada, 2009. pp. 182-187.
10. Aerts, R., Wertenbroek, N. Implementing PCV2 vaccination resulting in reduction of antibiotic use on Dutch farrow-to-finish farm. In: 9th International Symposium on the Epidemiology and Control of Food-borne Pathogens in Pork (SafePork), Maastricht, The Netherlands, 2011. pp.339-340.
11. Bak, H. A new advisory tool to help practitioners reduce antibiotic consumption in pig herds. In: 9th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork (SafePork), Maastricht, The Netherlands, 2011. pp. 134-137.
12. Bak, H., Rathkjen, P.H., Adam, M. Strategy to reduce antibiotic use in Danish nurseries and finishing units. In: 9th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork (SafePork), Maastricht, The Netherlands, 2011. p. 3373.
13. Coube, J., Serrano, E., Pottier, D., Jagu, R., Adam, M. Improvement in growth parameters and reduction in antibiotics use in a farrow to finish herd following successive implementation of vaccination with Ingelvac CircoFLEX and Enterisol Ileitis. In: 22nd International Pig Veterinary Society Congress (IPVS), Jeju, South Korea, 2012. p. 379.



14. Koenders, K., Wertenbroek, N. Implementing PCV2 vaccination results in reduction of antibiotic use and improved technical results on a Dutch farrow-to-finish farm. In: 22nd International Pig Veterinary Society Congress (IPVS), Jeju, South Korea, 2012. p. 940.
15. Tebar, S., Caravaca, I.H., Coll, T., Celma, S. Mycoplasma vaccination: the integrator point of view. In: 22nd International Pig Veterinary Society Congress (IPVS), Jeju, South Korea, 2012. p. 699.
16. Jacela JY, DeRouchey JM, Tokach MD, Goodband RD, Nelssen JL, Renter DG, Dritz SS: Feed additives for swine: fact sheets-prebiotics and probiotics, and phytochemicals. J Swine Health Prod 2010, 18:132-136.
17. Simon O: An interdisciplinary study on the mode of action of probiotics in pigs. J Anim Feed Sci 2010, 19:230-243.
18. Cho JH, Zhao PY, Kim IH: Probiotics as a dietary additive for pigs: a review. J Anim Vet Adv 2011, 10:2127-2134.
19. Halas V, Nochtal I: Mannan oligosaccharides in nursery pig nutrition and their potential mode of action. Animals 2012, 2:261-274.
20. Thacker PA: Recent advances in the use of enzymes with special reference to β -glucanases and pentosanases in swine rations. Asian-Aust J Anim Sci 2000, 13:376-385 (Special Issue).
21. Jacela JY, DeRouchey JM, Tokach MD, Goodband RD, Nelssen JL, Renter DG, Dritz SS: Feed additives for swine: fact sheets-carcass modifiers, carbohydrate-degrading enzymes and proteases, and anthelmintics. J Swine Health Prod 2009, 17:325-332.
22. Adeola O, Cowieson AJ: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. J Anim Sci 2011, 89:3189-3218.
23. Jacela JY, DeRouchey JM, Tokach MD, Goodband RD, Nelssen JL, Renter DG, Dritz SS: Feed additives for swine: fact sheets-acidifiers and antibiotics. J Swine Health Prod 2009, 17:270-275.
24. Kil DY, Kwon WB, Kim BG: Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. Revista Colombiana de Doencias Pecuarias 2011, 24:1-22.
25. Suruanarayana MV, Suresh J, Rajasekhar MV: Organic acids in swine feeding: a review. Agric Sci Res J 2012, 2:523-533.
26. Papatsiros VG, Billinis C: The prophylactic use of acidifiers as antibacterial agents in swine. In Antimicrobial agents. Edited by Bobbarala V; 2012. 295 -310.
27. Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A: Use of phytochemical products as feed additives for swine and poultry. J Anim Sci 2008, 86(E. Suppl):E140-E148.
28. Liu HW, Tong JM, Zhou DW: Utilization of Chinese herbal feed additives in animal production. Agric Sci China 2011, 10:1262-1272.
29. Botelho, F.G.; Miyada, V.S.; Menten, J.F.; Beduschi Neto, F.; Packer, I.U. Efeito de altos níveis de zinco suplementar em dietas semicomplexas de leitões recém desmamados. XXXII Reunião Anual da S.B.Z. Anais... Brasília, 1995. pp.484-485.
30. Holm, A. Escherichia coli-betinget fraevningsdiarr hos gris. Zinkoxid tilsat foderet som antibacteriel princip. Dan. Veterinaertidsskr. 1988. 72:1118.
31. Lima, G.J.M.M.; Guidoni, A.L.; Mores, N.; Bertol, T.M.; Gil, L.H.G.V. Efeito do uso de diferentes fontes de óxido de zinco em dietas de leitões após o desmame. In: XXXIII Reunião Anual da S.B.Z. Anais... Fortaleza. 1996. pp.177-179.



32. Lima, G.J.M.M.; Mores, N.; Fialho, F.B.; Brito, M.A.V.P.; Gomes, P.C. Efeito do período de suplementação de zinco na dieta sobre o desempenho de suínos desmamados. Rev. Soc. Bras. Zootec. 1994. 23(6): p.949-958.
33. Lima, G.J.M.M.; Mores, N.; Guidoni, A.L.; Brito, M.A.V.P.; Zanotto, D.L. Níveis de suplementação de zinco na dieta sobre o desempenho de suínos desmamados. VI Congresso Bras. da ABRAVES. Anais... Goiânia. 1993. p.156.
34. Cristani, J.; Mores, N.; Riet-Correa, F.; Barioni Jr., W.; Lima, G.J.M.M.; Bertol, T.M.; Zanotto, D.L. 1997. Níveis de Zn nos tecidos e fezes de leitões suplementados com 2400 ppm de Zn para o controle da diarreia pós desmame. In: VIII Congresso Bras. da ABRAVES. Anais... Foz do Iguaçu. 1997. pp.243-244.
35. Debski, B. Supplementation of pigs diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. Polish J. of Vet. Sci. 2016. 19 (4): 917-992.
36. Holzel, C.S.; Muller, C.; Harms, K.S.; Mikolajewski, S.; Schwaiger, K.; Bauer, J. Heavy metals in liquid pig manure in light of bacterial antimicrobial resistance. Environ. Res. 2012. 113: 21-27.
37. Bednorz, C.; Oelgeschlager, K.; Kinnemann, B.; Hartmann, S.; Neumann, K.; Pieper, R.; Bethe, A.; Semmler, T.; Tedin, K.; Schierack, P.; Wieler, L. H.; Guenther, S. The broader context of antibiotic resistance: zinc feed supplementation of piglets increases the proportion of multi-resistant *Escherichia coli* in vivo. Int. J. Med. Microbiol. 2013. 303: 396-403.
38. Slifierz, M. J.; Friendship, R.; Weese, J. S. Zinc oxide therapy increases prevalence and persistence of methicillin-resistant *Staphylococcus* in pigs: a randomized controlled trial. Zoonoses Public Health. 2014. 62: 301-308.
39. Agga, G. E.; Scott, H. M.; Vinasco, J.; Nagaraja, T. J.; Amachawadi, R. G.; Bai, J.; Norby, B.; Renter, D. G.; Dritz, S. S.; Nelssen, J. L.; Tokach, M. D. Effects of chlortetracycline and copper supplementation on the prevalence, distribution, and quantity of antimicrobial resistance genes in the fecal metagenome of weaned pigs. Prev. Vet. Med. 2015. 119: 179-189.
40. Holman, D. B.; Chenier, M. R. Antimicrobial use in swine production and its effect on the swine gut microbiota and antimicrobial resistance. Can. J. Microbiol. 2015. 61: 785-798.
41. Zhang, B.; Guo, Y. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occluding and zonula occludens proteins 1 (ZO-1) expression in weaning piglets. Br. J. Nutr. 2009. 102: 687-693.
42. Broom, L. J.; Miller, H. M.; Kerr, K. G.; Knapp, J. S. Effects of zinc oxide and *Enterococcus faecium* SF68 dietary supplementation on the performance, intestinal microbiota and immune status of weaned piglets. Res. Vet. Sci. 2006. 80: 45-54.
43. Wang, Y. Z.; Xu, Z. R.; Lin, W. X.; Huang, H. Q.; Wang, Z. Q. Developmental gene expression of antimicrobial peptide PR-39 and effect of zinc oxide on gene regulation of PR-39 in piglets. J. Anim. Sci. 2004. 17: 1635-1640.
44. Roselli, M.; Finamore, A.; Garaguso, I.; Britti, M. S.; Mengheri, E. Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *Escherichia coli*. J. Nutr. 2003. 133: 4077-4082.
45. Miller, E.R., Stowe, M.D.; Ku, P.K.; Hill, G.M. Copper and zinc in swine nutrition. In: National Feed Ingredients Association. Copper and zinc in animal nutrition. Iowa, NFIA. 1979. p.1-139.
46. Lima, G.J.M.M.; Zanotto, D.L.; Bellaver, C.; Bertol, T. M.; Mores, N. Efeito de altos níveis de zinco suplementar associado ao teor de cálcio em dietas de suínos desmamados. In: VIII Congresso Bras. da ABRAVES. Anais... Foz do Iguaçu, 1997. p.373-374.



47. Hernandez, A.; Pluske, J.R.; D'Souza, D.N.; Mullan, B.P. Levels of copper and zinc in diets for growing and finishing pigs can be reduced without detrimental effects on production and mineral status. *Animal*. 2008. 2: 1763-1771.
48. Mullan, B.P.; Wilson, R.H.; Harris, D.; Allen, J.G.; Naylor, A. Supplementation of weaning pig diets with zinc oxide or Bioplex TM Zinc. *Pig Industry*, 2007. 1288. en.engormix/pig/supplementation-weaner-pig/141-pO
49. Malka, E.; Perelshtein, I.; Lipovsky, Y.; Shalom, Y.; Naparstek, L.; Perkas, N.; Patrick, T.; Lubart, R.; Nitzan, Y.; Banin, E.; Gedanken, A. Eradication of multi-drug resistant bacteria by a novel Zn-doped CuO nanocomposite. *Small* 2013. 9: 4069-4076.
50. Tayel, A.A.; El-Tras, W.F.; Moussa, S.; El-Baz, A.F.; Mahrous, H.; Salem, M.F.; Brimer, L. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *J. Food Safety*. 2011. 31: 211-218.
51. Demir, E.; Akca, H.; Kaya, B.; Burgucu, D.; Tokgun, O.; Turna, F.; Aksakal, S.; Vales, G.; Creus, A.; Marcos, R. Zinc oxide nanoparticles: genotoxicity, interaction with UV-light and cell-transforming potential. *J. Hazard Mater*. 2014. 264: 420-429.
52. Sirelkhatim, A.; Mahmud, S.; Seeni, A.; Kaus, N.H.; Ann, L.C.; Bakhori, S.K.; Hasan, H.; Mohamad, D. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters* 2015. 7: 219-242.
53. Paganin, D.; Uyoga, M. A.; Zimmermann, M. B. Iron Fortification of Foods for Infants and Children in Low-Income Countries: Effects on the Gut Microbiome, Gut Inflammation, and Diarrhea. *Nutrients*. 2016. 8: 494-504.
54. Oda, H.; Wakabayashi, H.; Yamauchi, K.; Abe, F. Lactoferrin and bifidobacteria. *Biometals*. 2014. 27:915-922.
55. Wang, Y. Z.; Shan, T. Z.; Xu, Z. R.; Feng, J.; Wang, Z. Q. Effects of the lactoferrin (LF) on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 2007.135: 263-272.
56. Donovan, S. M. The role of lactoferrin in gastrointestinal and immune development and function: a preclinical perspective. *The J. Pediatrics*. 2016. 173S: S16-S28.
57. Granados-Chinchilla, F.; Rodríguez, C. Bioavailability of in-feed tetracyclines is influenced to a greater extent by crude protein rather than calcium. *Animal Feed Sci. Tech*. 2016.42: 188-196.
58. Proházka, L.; Baron, F. The predisposing role of high dietary protein supplies in enteropathogenic *E. coli* infections of weaned pigs. *Zentralbl. Veterinaermed*. 1980. 27: 222-232.
59. Morés, N.; Marques, J. L.; Sobestiansky, J.; Oliveira, A.; Coelho, L. S. Influência do nível protéico e/ou da acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame em leitões causada por *Escherichia coli*. *Pesq. Vet. Bras*. 1990.10:85-88.
60. Nyachoti, C. M.; Omogbenigun, F. O.; Rademacher, M.; Blank, G. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino-acid supplemented diets. *J. Anim. Sci*. 2006. 84: 125-134.
61. Wellock, I. J.; Fortomaris, P. D.; Houdijk, J. G. M.; Kyriazakis, I. Effect of weaning age, protein nutrition and enterotoxigenic *Escherichia coli* challenge on the health of newly weaned piglets. *Livestock Science*. 2007. 108: 102-105.
62. Wellock, I. J.; Fortomaris, P. D.; Houdijk, J. G. M.; Kyriazakis, I. The effect of dietary protein supply on the performance and risk of post-weaning enteric disorders in newly weaned pigs. *Anim. Sci*. 2006. 82: 327-335.



63. Zhang, C.; Yu, M.; Yang, Y.; Mu, C.; Su, Y.; Zhu, W. Effect of early antibiotic administration on cecal bacterial communities and their metabolic profiles in pigs fed diets with different protein levels. *Anaerobe*. 2016.42: 188-196.
64. Scott, K.P.; Gratz, S.W.; Sheridan, P.O.; Flint, H.J.; Duncan, S.H. The influence of diet on the gut microbiota, *Pharmacol. Res.* 2013. 69: 52-60.
65. Liu, X.; Blouin, J.M.; Santacruz, A.; Lan, A.; Andriamihaja, M.; Wilkanowicz, S.; Benetti, P.H.; Tome, D.; Sanz, Y.; Blachier, F.; Davila, A.M. High-protein diet modifies colonic microbiota and luminal environment but not colonocyte metabolism in the rat model: the increased luminal bulk connection, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2014. 307: G459-G470.
66. Mu, C.L.; Yang, Y.X.; Luo, Z.; Guan, L.L.; Zhu, W.Y. The colonic microbiome and epithelial transcriptome are altered in rats fed a high-protein diet compared with a normal-protein diet, *J. Nutr.* 2016. 146: 474-483.
67. Nyangale, E.P.; Mottram, D.S.; Gibson, G.R. Gut microbial activity, implications for health and disease: the potential role of metabolite analysis, *J. Proteome Res.* 2012. 11: 5573-5585.
68. Geypens, B.; Claus, D.; Evenepoel, P.; Hiele, M.; Maes, B.; Peeters, M.; Rutgeerts, P.; Ghoo Y. Influence of dietary protein supplements on the formation of bacterial metabolites in the colon, *Gut*. 1997. 41:70-76.
69. Rist, V.T.; Weiss, E.; Eklund, M.; Mosenthin R. Impact of dietary protein on microbiota composition and activity in the gastrointestinal tract of piglets in relation to gut health: a review, *Animal*. 2013. 7: 1067-1078.
70. Luo, Z.; Li, C.B.; Cheng, Y.F.; Hang, S.Q.; Zhu, W.Y. Effects of low dietary protein on the metabolites and microbial communities in the caecal digesta of piglets, *Arch. Anim. Nutr.* 2015. 69:212-226.
71. Zhou, L.P.; Fang, L.D.; Sun, Y.; Su, Y.; Zhu, W.Y. Effects of the dietary protein level on the microbial composition and metabolomic profile in the hindgut of the pig, *Anaerobe*. 2016. 38:61-69.
72. Zhang, C; Yu, M; Yang, Y.; Mu, C.; Su, Y.; Zhu, W. Effect of early antibiotic administration on cecal bacterial communities and their metabolic profiles in pigs fed diets with different protein levels. *Anaerobe*. 2016. 42:188-196.
73. Mores, N.; Amaral, A. L. ; Lima, G. J. M. M.; Dalla Costa, O. A ; Coldebella, A.; Miele, M. ; Sandi, A. J.; Oliveira, P. A. V. Produção de suínos em família, sem uso preventivo de antimicrobiano e privilegiando o bem-estar animal. 1. ed. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2013. 1: 114. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/442748/producao-de-suinos-em-familia-sem-uso-preventivo-de-antimicrobiano-e-privilegiando-o-bem-estar-animal>
74. Amaral, A. L.; Silveira, P. R. S.; Lima, G. J. M. M. et al. Boas práticas de produção de suínos. Circular Técnica, 50, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, 2006. 60p.
75. Raymaker, R.; Stockhofe-Zurwieden, N.; Van Der Peet-Schwering, C. Restricted contact structures result in a significant reduction of pneumonia in slaughter pigs. In: International Pig Veterinary Society Congress, 20th, Durban, 2008. Proceedings... IPVS, 2008. p.231.
76. Martinsson, K.; Olsson, O. Breeding of pigs in the same pen from birth to slaughter. II: Effects on production and health. In: International Pig Veterinary Society Congress, 13th, Bangkok, 1994. Proceedings... IPVS. 1994. p.499.
77. Pedersen, B. K.; Jensen, T.; Baekbo, P. Production in pigs reared in the same pen from farrow to finish or from weaning to finish. In: International Pig Veterinary Society Congress, 16th, Melbourne, 2000. Proceedings... IPVS, 2000, p.358.