

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 18/03/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

PREBIÓTICOS EM SUBSTITUIÇÃO À ANTIMICROBIANO EM DIETAS DE LEITÕES
RECÉM-DESMAMADOS

PATRÍCIA VERSUTI ARANTES ALVARENGA

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de
Doutora em Zootecnia.

BOTUCATU – SP

Março - 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

PREBIÓTICOS EM SUBSTITUIÇÃO À ANTIMICROBIANO EM DIETAS DE LEITÕES
RECÉM-DESMAMADOS

PATRÍCIA VERSUTI ARANTES ALVARENGA

ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Dirlei Antonio
Berto

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Livio
Panhoza Tse

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de
Doutora em Zootecnia.

BOTUCATU – SP

Março – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Alvarenga, Patrícia Versuti Arantes.

Prebióticos em substituição à antimicrobiano em dietas
de leitões recém-desmamados / Patrícia Versuti Arantes
Alvarenga. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Dirlei Antonio Berto

Coorientador: Marcos Lívio Panhoza Tse

Capes: 50403028

1. Alimentos - Aditivos. 2. Prebióticos. 3. Dietas. 4.
Leitão (Suíno) - Desempenho. 5. Saúde animal.

Palavras-chave: aditivos; desempenho; saúde; suínos.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Patrícia Versuti Arantes Alvarenga - nascida em 13 de abril de 1991, na cidade de Santos/SP, filha de Marcelo Alvarenga e Janete Versuti, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, em março de 2009 e graduou-se em dezembro de 2013. Em março de 2014 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia da Unesp - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal, onde foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e graduou-se em janeiro de 2016. Em março de 2016 iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia da Unesp - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu, onde foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Durante a pós-graduação, atuou na área de nutrição e produção de suínos.

Dedicatória

À minha mãe Janete,

Pelo amor, paciência, ensinamentos de vida e espelho profissional.

Ao meu pai Marcelo,

Pelo amor, ensinamentos e base de força.

Ao meu irmão Douglas,

Pelo amor e exemplos de doçura e paz.

Aos meus avós Orlando e Maria do Carmo (*in memoriam*),

Pela base familiar, pelos exemplos de vida e profissionais, pelo amor incondicional.

Com muito amor e gratidão,

DEDICO.

Agradecimentos

À minha família, pela base que me proporcionou oportunidades e capacidade de chegar até aqui;

Ao Andrew, por todo o amor, paciência e ajuda neste período;

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pelo ensino gratuito e de qualidade desde a minha graduação;

Aos Departamentos de Zootecnia pelas bases de ensino e estrutura física e humana excelentes e únicas;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001;

Aos Professores Dirlei Antonio Berto e Marcos Livio Panhoza Tse, pela oportunidade de orientação, amizade, pelos exemplos pessoais e profissionais e por toda ajuda durante a condução deste trabalho;

Ao Professor Ricardo de Oliveira Orsi pela amizade, ensinamentos e ajuda imprescindíveis para a execução de análises e interpretação de resultados;

Ao Professor Carlos Roberto Padovani pela ajuda com as análises estatísticas e atenção às dúvidas;

À todos os Professores dos Departamentos de Zootecnia, pelos ensinamentos e pelo convívio;

Aos amigos e funcionários do setor de Suinocultura, Franco e Sérgio, pela ajuda nas coletas de sangue e manejo dos animais, assim como pela amizade e ensinamentos;

Ao Laboratório UNIPEX e aos seus funcionários Leandro, Lucas (*in memoriam*), Renata e Maria Regina, pela ajuda, receptividade e paciência na condução de análises laboratoriais e elucidação de dúvidas;

Aos amigos e colegas de grupo de pesquisa, Vinicius, Sílvia, Mayra e Filipe, pela amizade, boas lembranças e por toda a ajuda no preparo e condução dos experimentos;

Ao Rafael, pela amizade, paciência e pelo tempo despendido em me ajudar durante as análises;

Aos alunos Yasmim, Sérgio, Gustavo, Felipe e Angélica pela ajuda na condução dos experimentos;

Aos amigos de República Vinicius, Evelyn, Caio e Marconi, pelas boas lembranças compartilhadas e vivência;

Aos amigos Erick e Samantha, pelo amor fraterno, entendimento de minhas ausências e apoio;

Ao Olinto Rodrigues de Arruda Júnior, pela parceria no fornecimento dos leitões para condução dos experimentos;

À empresa YES Synergy®, pela parceria e financiamento da pesquisa;

À todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho;

Muito obrigada!

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 1**

- Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais nas fases pré-inicia I, pré-iniciais II e iniciais 61
- Tabela 2. Valores nutricionais calculados para as fases pré-iniciais I, pré-iniciais II e iniciais¹ 62
- Tabela 3. Níveis de inclusão (%) de mananoligossacarídeo (MOS), β -glucano, galactoligossacarídeo (GOS), frutoligossacarídeo (FOS) e do antimicrobiano melhorador de desempenho nas dietas experimentais de leitões recém-desmamados 62
- Tabela 4. Consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP), conversão alimentar (CA) e incidência de diarreia (ID) dos leitões durante o período experimental (41 dias)65
- Tabela 5. Altura média de vilos (AV), profundidade média de criptas (PC), relação AV:PC, área de superfície de vilos (AS) e área de Placas de Peyer (PP) dos leitões aos 35 dias de idade 66
- Tabela 6. Microbiologia do conteúdo do ceco dos leitões aos 35 dias de idade 66
- Tabela 7. Concentração de ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo do cólon proximal dos leitões aos 35 dias de idade..... 66

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 2**

- Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais nas fases pré-iniciais I, pré-iniciais II e iniciais..... 78
- Tabela 2. Valores nutricionais calculados para as fases pré-iniciais I, pré-iniciais II e iniciais¹ 79
- Tabela 3. Níveis de inclusão (%) de mananoligossacarídeo (MOS), β -glucano, frutoligossacarídeo (FOS), galactoligossacarídeo (GOS), e do antimicrobiano melhorador de desempenho nas dietas experimentais de leitões recém-desmamados..... 79
- Tabela 4. Eritrograma e plaquetas dos leitões antes e três horas após o desafio com LPS₈₃
- Tabela 5. Leucograma dos leitões antes e três horas após o desafio com LPS..... 84
- Tabela 6. Produção de espécies reativas de oxigênio (H₂O₂) e nitrogênio (NO₂) no sangue periférico dos leitões antes e três horas após o desafio com LPS 84
- Tabela 7. Citocinas séricas antes e três horas após o desafio com LPS..... 85
- Tabela 8. Imunoglobulinas séricas dos leitões antes e 15 dias após o desafio com LPS 85
- Tabela 9. Proteína C-reativa e haptoglobina séricas dos leitões antes e 24 horas após o desafio com LPS..... 86
- Tabela 10. Proteínas totais, albumina, globulinas e relação albumina:globulina do soro dos leitões antes e 24 horas após o desafio com LPS 86

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

A = Albumina

A/G = Relação albuminas:globulinas

AGCC = Ácidos graxos de cadeia curta

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APT = Água peptonada tamponada

AS = Área de superfície de vilos

AV = Altura de vilos

AV:PC = Relação altura de vilos:profundidade de criptas

CA = Conversão alimentar

CDR = Consumo diário de ração

CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média

CV = Coeficiente de variação

DAMP = Padrão molecular associado à lesão

DB = Dieta basal

DC = Células dendríticas

ERN = Espécies reativas de nitrogênio

ERO = Espécies reativas de oxigênio

FAO = Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

FDA = *Food and Drug Administration*

FMVZ = Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

FOS = Frutoligossacarídeo

G = Globulinas

GALT = tecido linfóide associado à mucosa do trato gastrintestinal

GDP = Ganho diário de peso

GOS = Galactoligossacarídeo

ID = Incidência de diarreia

IFN = Interferon

IL = Interleucina

IN = Instrução Normativa

LPS = Lipopolissacarídeo

MALT = Tecido linfóide associado à mucosa

MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MHC = Complexo de histocompatibilidade principal
MOS = Mananoligossacarídeo
NK = Células *Natural Killer*
OIE = Organização Mundial de Saúde Animal
OMC = Organização Mundial do Comércio
OMS = Organização Mundial da Saúde
ONDs = Oligossacarídeos não digestíveis
PAMP = Padrão molecular associado à patógeno
PC = Profundidade de criptas
PC = Proteína C-reativa
PFA = Proteínas de fase aguda
PRR = Receptor de reconhecimento padrão
PT = Proteínas totais
RDW = Amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos
TGI = Trato gastrointestinal
Th-1 = Linfócitos T *helper* 1
Th-2 = Linfócitos T *helper* 2
TLR = Receptor celular do tipo TOLL
TNF- α = Fator de necrose tumoral- α
VCM = Volume corpuscular médio
ZnO = Óxido de zinco
CuSO₄H₂O = sulfato de cobre
Zn = Zinco
Cu = Cobre
Co = Cobalto
Mn = Manganês
I = Iodo
Se = Selênio
Fe = Ferro
H₂O₂ = Peróxido de hidrogênio
NO = Óxido nítrico
OCl⁻ = Ânion hipoclorito

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	18
Considerações Iniciais	19
1. REVISÃO DE LITERATURA	20
1.1 Desenvolvimento fisiológico e imunológico de leitões	20
1.2 Sistema imune dos suínos	22
1.2.1 Sistema imune inato.....	23
1.2.2 Sistema imune adaptativo	28
1.3 Aditivos utilizados na suinocultura	30
1.3.1 Antimicrobianos melhoradores de desempenho	32
1.3.2 Prebióticos	35
1.3.2.1 β -glucanos.....	36
1.3.2.2 Mananoligossacarídeos	39
1.3.2.3 Frutoligossacarídeos	40
1.3.2.4 Galactoligossacarídeos	42
2. OBJETIVOS	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO 2.....	56
1. Introdução	59
2. Material e Métodos	60
2.1. <i>Instalação experimental e animais</i>	60
2.2 <i>Delineamento e dietas experimentais</i>	60
2.3 <i>Variáveis analisadas</i>	62
2.3.1 <i>Experimento I</i>	62
2.3.2 <i>Experimento II</i>	63
2.4 <i>Análise estatística</i>	64
3. Resultados	64
3.1 <i>Desempenho</i>	64
3.2 <i>Morfometria, microbiologia e concentração de ácidos graxos de cadeia curta</i>	65
4. Discussão	66
4.1 <i>Desempenho</i>	66
4.2 <i>Morfometria, microbiologia e ácidos graxos de cadeia curta</i>	68
Referências	69
CAPÍTULO 3	73
1. Introdução	76
2. Material e Métodos	77
2.1 <i>Instalação experimental e animais</i>	77

<i>2.2 Delineamento e dietas experimentais</i>	77
<i>2.3 Desafio imunológico e coletas de sangue</i>	79
<i>2.4 Variáveis analisadas</i>	80
<i>2.4.1 Hemograma completo e citocinas</i>	80
<i>2.4.2 Quantificação de proteínas de fase aguda</i>	80
<i>2.4.3 Imunoglobulinas</i>	81
<i>2.4.4 Explosão Respiratória</i>	81
<i>2.5 Análise estatística</i>	82
3. Resultados	82
4. Discussão	86
<i>4.1 Hemograma completo</i>	86
<i>4.2 Explosão respiratória</i>	87
<i>4.3 Citocinas e imunoglobulinas</i>	88
<i>4.4 Proteínas de fase aguda e proteínas séricas</i>	89
Referências	91
Implicações	96

Prebióticos em substituição à antimicrobiano em dietas de leitões recém-desmamados

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar combinações dos prebióticos mananligossacarídeo, β -glucano, frutoligossacarídeo e galactoligossacarídeo, em substituição ao antimicrobiano halquinol, em dietas de leitões recém-desmamados, sobre o desempenho, incidência de diarreia, saúde intestinal, parâmetros hematológicos e imunológicos. Foram realizados três experimentos, utilizando o total de 200 leitões recém-desmamados com idade média de 21 dias, distribuídos em delineamento em blocos inteiramente casualizados, com cinco tratamentos e oito repetições. Os tratamentos foram constituídos: CON = dieta basal (DB) + 120 ppm de halquinol; M β = DB + MOS e β -glucano (3,0 kg/t); F₉G₁ = DB + MOS e β -glucano (2,0 kg/t) + FOS e GOS (1,0 kg/t) (relação FOS:GOS 9:1); F₇G₃ = DB + MOS e β -glucano (2,0 kg/t) + FOS e GOS (1,0 kg/t) (relação FOS:GOS 7:3); F₅G₅ = DB + MOS e β -glucano (2,0 kg/t) + FOS e GOS (1,0 kg/t) (relação FOS:GOS 5:5). No período de 0-15d, os animais dos tratamentos CON e F₉G₁, apresentaram melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar (CA) que os animais do tratamento M β . No período de 0-28d, os animais do tratamento F₉G₁ apresentaram tendência de melhor ($P < 0,10$) CA. No período de 0-41d, os animais do tratamento CON apresentaram melhor ($P < 0,05$) CA em comparação aos animais do F₇G₃, não diferindo dos demais tratamentos. Ao 14º dia experimental, 40 leitões foram abatidos para coleta de amostras, e outros 40 leitões receberam injeção via intramuscular de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* (O55:B5). Para as variáveis de morfometria, no duodeno, houve maior ($P < 0,05$) altura de vilos (AV) nos animais dos tratamentos CON, M β e F₉G₁ em relação aos animais do tratamento F₇G₃ e também maior ($P < 0,05$) área de superfície de vilos (AS) nos animais dos tratamentos M β e F₉G₁ em relação aos animais do F₇G₃. No jejuno, houve maior ($P < 0,05$) relação altura de vilos:profundidade de criptas (AV:PC) nos animais que receberam CON comparados aos animais do tratamento F₇G₃. Para o hemograma, após o desafio, houve redução ($P < 0,05$) na contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito nos animais do grupo F₉G₁, porém, aumento ($P > 0,05$) da concentração de hemoglobina corpuscular média, comparando com o momento anterior ao desafio. Todas as variáveis do leucograma foram reduzidas ($P < 0,05$) após o desafio, para todos os tratamentos. Antes do desafio, os leitões que receberam o tratamento CON apresentaram maior ($P < 0,05$) contagem de neutrófilos segmentados comparada com os leitões do grupo F₅G₅. Com relação à explosão respiratória, após desafio com LPS, somente os animais do tratamento F₉G₁ aumentaram ($P < 0,05$) a produção de

peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e somente os animais dos grupos F_9G_1 e CON mantiveram ($P>0,05$) a produção de óxido nítrico (NO), com relação ao momento anterior ao desafio. Houve aumento ($P<0,05$) na produção de proteína C-reativa (PC) nos leitões dos grupos CON, M β e F_9G_1 , comparando os momentos antes e após desafio. Conclui-se que leitões alimentados com dietas contendo a combinação de prebióticos na proporção 0,20% de MOS e β -glucano, 0,09% de FOS e 0,01% de GOS (F_9G_1) apresentaram melhorias sobre o desempenho e saúde dos animais, de forma semelhante ou melhorada ao uso do antimicrobiano halquinol.

Palavras-chave: aditivos, desempenho, saúde, suínos

Prebiotics in substitution to antimicrobial in diets of weanling pigs

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate prebiotic combinations of mannanigosaccharide, β -glucan, fructooligosaccharide and galactooligosaccharide, in substitution to antimicrobial halquinol, in diets of weanling pigs, on the performance, diarrhea incidence, intestinal health, hematological and immunological parameters. It were carried out three experiments, using a total of 200 weanling pigs, 21 d-old in average, distributed in a completely randomized block design with five treatments and eight replicates. The treatments were: CON = basal diet (BD) + 120 ppm of halquinol; M β = BD + MOS and β -glucan (3.0 kg/t); F₉G₁ = BD + MOS and β -glucan (2.0 kg/t) + FOS and GOS (1.0 kg/t) (FOS: GOS ratio 9:1); F₇G₃ = BD + MOS and β -glucan (2.0 kg/t) + FOS and GOS (1.0 kg/t) (FOS: GOS ratio 7:3); F₅G₅ = BD + MOS and β -glucan (2.0 kg/t) + FOS and GOS (1.0 kg/t) (FOS:GOS ratio 5:5). In the period of 0-15d, the animals of CON and F₉G₁ treatments presented better ($P < 0.05$) feed conversion ratio (FCR) compared to the animals of M β treatment. In the period of 0-28d, the animals from F₉G₁ treatment tended to improve ($P < 0.10$) FCR. In the period of 0-41d, animals fed CON treatment showed better ($P < 0.05$) FCR compared to the animals fed F₇G₃, not differing from the other treatments. On the 14th experimental day, 40 piglets were slaughtered to collect samples, and others 40 piglets received intramuscular injection of *Escherichia coli* LPS (O55:B5). For morphometric variables, in the duodenum, there was higher ($P < 0.05$) villus height (VH) in animals fed CON, M β and F₉G₁ treatments compared to those of F₇G₃ and also higher ($P < 0.05$) villus surface area (SA) for the animals fed M β and F₉G₁ compared to animals of those of F₇G₃. In the jejunum, there was a higher ($P < 0.05$) villus height crypt depth ratio (VH:CD) in the animals fed CON compared to the animals from F₇G₃ treatment. For blood count, after challenge, there was a reduction ($P < 0.05$) for the erythrocyte, hemoglobin and hematocrit counts in F₉G₁ group, but also an increase ($P > 0.05$) in the mean corpuscular hemoglobin concentration, compared to period prior challenge. All leukogram variables were reduced ($P < 0.05$), after challenge, for all treatments. Prior to challenge, piglets from CON group had higher ($P < 0.05$) segmented neutrophil counts compared to piglets of F₅G₅ group. Regarding the respiratory burst, after challenge with LPS, only F₉G₁ animals increased ($P < 0.05$) hydrogen peroxide (H₂O₂) production, and only animals fed F₉G₁ and CON kept ($P > 0.05$) nitric oxide (NO) production, compared to the moment before challenge. There was an increase ($P < 0.05$) in the production of C-reactive protein (CP) in the piglets of the CON, M β and F₉G₁ groups, comparing the moments before and after LPS application. It is concluded

that piglets fed diets containing a combination of prebiotics in the proportion of 0.20% of MOS and β -glucan, 0.09% of FOS and 0.01% of GOS (F₉G₁) led to improvements in performance and health of the animals, similarly or better than the use of the antimicrobial halquinol.

Keywords: additives, health, performance, swine

CAPÍTULO 1

Considerações Iniciais

O desmame é um manejo crítico na produção de suínos, devido à ação de diversos agentes estressores, de ordens social (separação abrupta da porca e leitegada, mistura à novos lotes), ambiental (troca de galpão) e nutricional (troca de leite para ração sólida). Estes eventos, associados à imaturidade fisiológica e imunológica dos animais na idade de desmame, podem tornar o ambiente gastrointestinal propício à proliferação de bactérias patogênicas, levando à ocorrência de quadros diarreicos e danos ao epitélio, com redução da área absorptiva e, conseqüentemente, queda nos índices de desempenho (Pluske et al., 2003).

Para controlar a proliferação de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal, compostos antimicrobianos têm sido comumente utilizados como melhoradores de desempenho, porém, seu uso exacerbado tem sido associado à seleção de cepas bacterianas resistentes à antimicrobianos utilizados na medicina humana (Thacker et al., 2013). Desta forma, vários países limitaram ou mesmo proibiram o uso destes compostos como melhoradores de desempenho, reforçando a necessidade de estudos com outros compostos bioativos naturais capazes de melhorar a saúde geral e o desempenho dos suínos.

Neste sentido, os prebióticos vêm sendo amplamente estudados como aditivos alternativos aos antimicrobianos, os quais definem-se como compostos que não são digeridos ou absorvidos pelo organismo animal, porém servem como substrato para bactérias benéficas do trato gastrointestinal, levando à melhorias na saúde e desempenho do hospedeiro (Gibson e Roberfroid, 1995). Entre as substâncias prebióticas mais estudadas estão os oligossacarídeos não digestíveis (ONDs); como os frutoligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS), galactoligossacarídeos (GOS) e β -glucanos; os quais são fermentados seletivamente por microrganismos benéficos no intestino grosso (Roy e Gibson, 1998). Dentre estes destacam-se as bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que produzem substâncias estimulatórias para o sistema imune local do intestino, além de produzirem ácidos orgânicos, reduzindo o pH do meio e assim controlando indiretamente a proliferação de bactérias patogênicas (Silva e Nörnberg, 2003).

Diferenciando a funcionalidade dos ONDs, o MOS adsorve bactérias patogênicas gram negativas com fímbrias tipo-1 específicas (*Escherichia coli* e *Salmonella* spp.), impedindo-as de infectar enterócitos, sendo eliminadas nas fezes (Firon et al., 1983). Os β -glucanos, como moléculas imunomoduladoras, estimulam diretamente células imunológicas específicas, favorecendo a atividade antimicrobiana e citotóxica, e assim, aumentam a capacidade de induzir resposta imunológica mais rápida e eficiente por meio de maior produção de mediadores pró-inflamatórios (Williams et al., 1996; Rice et al., 2004). Os FOS e

GOS possuem alta capacidade bifidogênica, ou seja, são altamente seletivos por bactérias do gênero *Bifidobacterium*, que promovem uma série de melhorias na saúde do animal, através da produção de metabólitos que estimulam o sistema imune local intestinal e ativam uma cascata de reações imunológicas celulares e humorais (Xu et al., 2002; Tzortis et al., 2005).

De forma geral, a literatura demonstra resultados benéficos com a utilização de prebióticos na dieta de suínos, porém, não há estudos com leitões no período de creche avaliando os quatro compostos (MOS, β -glucano, FOS e GOS) combinados, em diferentes doses nas dietas, o que demonstra a importância de estudos com essa finalidade.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Desenvolvimento fisiológico e imunológico de leitões

A placenta da fêmea suína, denominada epitélio-corial, não permite a passagem de macromoléculas ao feto e dentre estas moléculas incluem-se as imunoglobulinas, de modo que os suínos nascem imunologicamente imaturos e recebem imunidade passiva somente ao ingerir o colostro materno. A ingestão do colostro pelos leitões é de suma importância, especialmente nas primeiras 24 horas, período em que as barreiras físicas intestinais do neonato ainda permitem a absorção das imunoglobulinas (Rooke e Bland, 2002). Contudo, após as primeiras horas do nascimento, o intestino delgado dos recém-nascidos segue se desenvolvendo e sofrendo alterações, podendo alterar a capacidade de absorção de macromoléculas, de modo que a absorção máxima de imunoglobulinas é atingida 4 a 12 horas após o nascimento, declinando posteriormente (Varley, 1995). Desta forma, o manejo de assistência ao parto é essencial para menor taxa de mortalidade, sendo a orientação à mamada um estímulo à ingestão de colostro nas primeiras horas pós-parto (Sobestiansky et al., 1998).

A taxa de sobrevivência na maternidade, por sua vez, não depende somente da absorção satisfatória das imunoglobulinas colostrais pelos neonatos (imunidade passiva), mas também da capacidade dos leitões desenvolverem adequadamente a imunidade ativa, que inicia seu desenvolvimento nas primeiras semanas de vida e atinge grau adequado de proteção aproximadamente aos 35 dias de idade (Brown et al., 1961). Além da imunidade adquirida pelas imunoglobulinas absorvidas via colostro, a imunidade inata, composta por células de defesa inespecíficas, ainda está em desenvolvimento nas primeiras semanas de vida dos suínos (Miller e Stokes, 1993).

À idade de 21 dias, quando normalmente tem sido realizado o desmame nas suinoculturas tecnificadas no Brasil, os leitões são fisiologicamente e imunologicamente imaturos, contudo, através do leite, recebem componentes biologicamente ativos (enzimas,

ótimas de cada molécula, as quais promovam benefícios sobre a saúde dos animais, reduzindo assim, a necessidade de utilização de antimicrobianos de forma exacerbada.

De forma geral, os resultados deste estudo demonstraram que os animais alimentados com dietas contendo maior quantidade de FOS (F₉G₁) apresentaram maior efetividade na resposta imune frente ao desafio causado pela endotoxina LPS, possibilitando o uso desta combinação em substituição ao antimicrobiano halquinol, visando melhorias na saúde de leitões em período pós-desmame.

Referências

Alava, M.A., González-Ramón, N., Heegaard, P., Guzylack, S., Toussaint, M.J.M., Lipperheide, C., Madec, F., Gruys, E., Eckersall, P.D., Lampreave, F., Piñeiro, A., 1997. Pig-MAP, porcine acute phase proteins and standardisation of assays in Europe. *Comparative Haematology International*. 7, 208–213.

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 1995. *Official methods of the Association of the Agricultural Chemists*. sixteenth ed. Washington, DC.

Baert, K., Sonck, E., Goddeeris, B.M., Devriendt, B., Cox, E., 2015. Cell type-specific differences in β -glucan recognition and signalling in porcine innate immune cells. *Developmental & Comparative Immunology*. 48, 192-203.

Becattini, S., Taur, Y., Pamer, E.G., 2016. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends in Molecular Medicine*. 22, 458-478.

Black, S., Kushner, I., Samols, D., 2004. C-reactive protein. *Journal of Biological Chemistry*. 279, 48487-48490.

Blaser, H., Dostert, C., Mak, T.W., Brenner, D., 2016. TNF and ROS crosstalk in inflammation. *Trends in Cell Biology*, 26, 249-261.

Che, T.M., Johnson, R.W., Kelley, K.W., Dawson, K.A., Moran, C.A., Pettigrew, J.E., 2011. Effects of mannan oligosaccharide on cytokine secretions by porcine alveolar macrophages and serum cytokine concentrations in nursery pigs. *Journal of Animal Science*. 90, 657–668.

Dacie, J.D., Lewis, S.M. 1995. *Practical Hematology*. Churchill Livingstone, Edinburgh.

Dewulf, E. M., Cani, P.D., Claus, S.P., Fuentes, S., Puylaert, P.G., Neyrinck, A.M., Bindels, L.B., de Vos, W.M., Gibson, G.R., Thissen, J.P., Delzenne, N.M., 2012. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut*. 62, 1112–1121.

Failace, R., Fernandes, F., 2015. *Hemograma: Manual de Interpretação*. Artmed, Porto Alegre.

Feldman, B. F., Zinkl, J. G., Jain, N. C., 2000. *Schalm's veterinary hematology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Fransen, F., Sahasrabudhe, N.M., Elderman, M., Bosveld, M., ElAidy, S., Hugenholtz, F., Borghuis, T., Kousemaker, B., Winkel, S., van der Gaast-de Jongh, C., de Jonge, M.I., Boekschoten, M.V., Smidt, H., Schols, H.A., de Vos, P., 2017. β 2 \rightarrow 1-Fructans modulate the immune system in vivo in a microbiota-dependent and independent fashion. *Frontiers in Immunology*. 8, 1-14.

Friendship, R. M., Henry, S.C. Cardiovascular system, hematology, and clinical chemistry. In: Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.L., D'allaire, S., Taylor, D.J. *Diseases of Swine*, 1992. Ames: Iowa State University Press, 3-11.

Fukuda, S., Toh, H., Hase, K., Oshima, K., Nakanishi, Y., Yoshimura, K., Tobe, T., Clarke, J.M., Topping, D.L., Suzuki, T., Taylor, T.D., Itoh, K., Kikuchi, J., Morita, H., Hattori, M., Ohno, H., 2011. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*. 469, 543-547.

Gaggia, F., Mattarelli, P., Biavati, B., 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*. 146, 15-28.

Gibson, G.R., Scott, K.P., Rastall, R.A., Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., Gareau, M., Murphy, E.F., Saulnier, D., Loh, G., Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Lenoir-Wijnkoop, I., Walker, C., Buddington, R., 2010. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science & Technology Bulletin Functional Foods*. 7:1-19.

Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., Cummings, J.H., 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*. 108, 975-982.

Green, L.C., Luguriaga, V.R., Wager, D.A., Rand, W., Istfan, N., Yeung, V.R., Tannenbaum, S.R., 1981. Nitrate biosynthesis in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 78, 7764-7768.

Grivennikov, S.I., Greten, F.R., Karin, M. Immunity, inflammation and cancer. *Cell*. 140, 883-889.

Gutteridge, J.M., 1987. The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin-stimulated lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 917, 219-223.

Healy, D.P., Silverman, P.A., Neely, A.N., Holder, I.A., Babcock, G.E., 2002. Effect of antibiotics on polymorphonuclear neutrophil apoptosis. *Pharmacotherapy*. 22, 578-585.

Heegaard, P.M., Klausen, J., Nielsen, J.P., González-Ramón, N., Piñeiro, M., Lampreave, F., Alava, M.A., 1998. The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid a protein are sensitive indicators of infection. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 119, 365-373.

Jain, N.C., 1996. In: *Schalm's Veterinary Hematology*. Lea and Febiger, Philadelphia.

Kalghatgi, S., Spina, C.S, Costello, J.C, Liesa, M., Morones-Ramirez, J. R., Slomovic, S., Molina, A., Shirihai, O.S., Collins, J.J., 2013. Bactericidal Antibiotics Induce Mitochondrial

Dysfunction and Oxidative Damage in Mammalian Cells. *Science Translational Medicine*. 5, 1-11.

Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press, San Diego.

Ladirat, S.E., Schoterman, M.H.C., Rahaoui, H., Mars, M., Schuren, F.H.J., Gruppen, H., Schols, H A., 2014. Exploring the effects of galacto-oligosaccharides on the gut microbiota of healthy adults receiving amoxicillin treatment. *British Journal of Nutrition*. 112, 536–546.

Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 680-685.

Lampreave, F., González-Ramón, N., Martínez-Ayensa, S., Hernández, M.A., Lorenzo, H.K., García-Gil, A., Piñeiro, A., 1994. Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. *Electrophoresis*. 15, 672-676.

Lepczyński, A., Herosimczyk, A., Ozgo, M., Skomiał, J., Taciak, M., Barszcz, M., Bereżecka, N., 2015. Dietary supplementation with dried chicory root triggers changes in the blood serum proteins engaged in the clotting process and the innate immune response in growing pigs. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*. 66, 47-55.

Lei, X.J., Kim, Y.M., Park, J.H., Baek, D.H., Nyachoti, C.M., Kim, I.H., 2018. Effects of levan- type fructan on growth performance, nutrient digestibility, diarrhoea scores, faecal shedding of total lactic acid bacteria and coliform bacteria, and faecal gas emission in weaning pigs. *Journal of the Science and Food Agriculture*. 98, 1539-1544.

Li, J., Kim, I.H., 2013. Effects of levan-type fructan supplementation on growth performance, digestibility, blood profile, fecal microbiota, and immune responses after lipopolysaccharide challenge in growing pigs. 91, 5336-5343.

Madrigal-Bujaidar, E., Morales-González, J.A, Sánchez, G.M, Izquierdo-Vega, J.A., Reyes-Arellano, A., Álvarez, G.I., Pérez-Pasten, R., Madrigal-Santillán, E., 2015. Prevention of aflatoxin B1-induced DNA breaks by β -D-glucan. *Toxins (Basel)*. 7, 2145-2158.

Maathuis, A.J., van den Heuvel, E.G., Schoterman, M.H., Venema, K., 2012. Galacto-oligosaccharides have prebiotic activity in a dynamic in vitro colon model using a (¹³C)-labeling technique. *The Journal of Nutrition*. 142, 1204-1212.

Meek, R.W., Vyas, H., Piddock, L.J.V., 2015. Nonmedical Uses of Antibiotics: Time to Restrict Their Use?. *PLOS Biology*. 13, 1-11.

Miller, E.R., Ulrey, D.E., Ackermann, I., Schmidt, D.A., Luecke, R.W., Hoefler, J.A., 1961. Swine hematology from birth to maturity. II. Erythrocyte population, size and hemoglobin concentration. *Journal of Animal Science*. 20, 890-897.

Pick, R., Keisari, Y., 1980. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *Journal of Immunological Methods*, 38, 61-170.

- Rastall, R. A., Gibson, G. R., 2015. Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. *Current Opinion in Biotechnology*. 32, 42–46.
- Rice, P.J., Lockhart, B.E., Barker, L.A., Adams, E.L., Ensley, H.E., Williams, D.L., 2004. Pharmacokinetics of fungal (1-3) beta-D-glucans following intravenous administration in rats. *International Immunopharmacology*. 4, 1209-1215.
- Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan K., Coxam, V., Davicco, M.J., Leotoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N.M., Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Meheust, A., 2010. Prebiotic effects of metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*. 104, 1–63.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S.L.T., Euclides, R.F., 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais. Imprensa Universitária/UFV, Viçosa.
- Sagar, S., Vos, A.P., Morgan, M.E., Garssen, J., Georgiou, N.A., Boon, L., Kraneveld, A.D., Folkerts, G., 2014. The combination of *Bifidobacterium breve* with non-digestible oligosaccharides suppresses airway inflammation in a murine model for chronic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1842, 573–583.
- Sahoo, P.K., Mukherjee, S.C., 2001. Effect of dietary β -1, 3 glucan on immune responses and disease resistance of healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised rohu (*Labeo rohita* Hamilton). *Fish and Shellfish Immunology*. 11, 683-95.
- Saleh, M.A.D, Amorim, A.B, Grecco, H.A.T, Berto, D.A., Padovani, C.R., Orsi, R.O., Tse, M.L.P., 2015. Effects of β (1→3,1→6)-D-glucan and density of diets on the bloodprofiles of immunologically challenged weaned piglets. *International Journal of Biological Micromolecules* .80, 659-667.
- Schokker, D., Fledderus, J., Jansen, R., Vastenhouw, S.A., Bree, F.M., Smits, M.A., Jansman, A.A.J.M., 2018. Supplementation of fructooligosaccharides to suckling piglets affects intestinal microbiota colonization and immune development. *Journal of Animal Science*. Doi: 10.1093/jas/sky110.
- Secombes, C.J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen, J.; Fletcher, T.C.; Anderson, D.P.; Roberson, B.S.; Van Muiswinkel, W.B. (Eds). *Techniques in fish Immunology*. SOS Publications, Fair Haven.
- Seifert, S., Watzl, B., 2007. Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. *The Journal of Nutrition*. 137, 2563-2567.
- Spurlock, M.E., Frank, G.R., Willis, G.M., Kuske, J.L., Cornelius, S.G., 1997. Effect of dietary energy source and immunological challenge on growth performance and immunological variables in growing pigs. *Journal of Animal Science*. 75, 720-726.
- Szalai, A. J., VanCott, J. L., McGhee, J. R., Volanakis, J. E., Benjamin, W. H., Jr., 2000. *Infection and Immunity*. 68, 5652–5656.
- Tizard, I.R. *Imunologia Veterinária: Uma Introdução.*, 2014. Elsevier: São Paulo.

Torrecillas, S., Montero, D., Izquierdo, M., 2014. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: Potential mode of action. *Fish & Shellfish Immunology*. 36, 525-544.

Tumbleson, M.E., Schmidt, D.A., Scholl, E., 1986. Hematology and clinical chemistry. In: Leman, A.D., Straw, B.E., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C., Scholl, E. *Diseases of swine*. Ames: Iowa State University Press, 27-44.

Vetvicka, V. Glucan-immunostimulant, adjuvant, potential drug., 2011. *World Journal of Clinical Oncology*. 2, 115-119.

Wilson, M.R., Svendsen, J., 1972. Immunity to *Escherichia coli* in pigs: Serum gamma globulin levels, indirect hemagglutinating antibody titres and bactericidal activity against *E. coli* in pigs up to five weeks of age. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 36, 38-43.

Wismar, R., Brix, S., Frokiaer, H., Nygaard, L.H., 2010. Dietary fibers as immunoregulatory compounds in health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1190, 70–85.

Xu, Z.R., Zou, X.T., Hu, C.H., Xia, M.S., Zhan, X. A., Wang, M.Q., 2002. Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Growing Pigs. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 15, 1784-1789.

Zhao, P.Y., Jung, J.H., Kim, I.H., 2012. Effect of mannan oligosaccharides and fructan on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and diarrhea score in weanling pigs. *Journal of Animal Science*. 90, 833-839.

IMPLICAÇÕES

O presente estudo traz contribuições para a comunidade de suinocultores e pesquisadores da área de nutrição de suínos, já que demonstrou que combinações de prebióticos estudadas agiram semelhantemente ao antimicrobiano halquinol, amplamente utilizado como melhorador de desempenho na suinocultura brasileira, na resposta imune e no desempenho de leitões recém-desmamados.

O uso exacerbado de antimicrobianos trouxe um problema de saúde pública mundial: surgimento de estirpes bacterianas resistentes aos antimicrobianos existentes na medicina humana e veterinária. Contudo, a redução ou banimento do uso destes compostos em dietas animais, sobretudo animais jovens, trouxeram problemas de aumento da morbidade e mortalidade. Neste contexto, o estudo e a identificação de compostos, principalmente bioativos naturais, é de suma importância para substituir o uso de antimicrobianos, trazendo benefícios de melhorias sobre saúde intestinal e sistêmica, e assim, melhorias sobre o desempenho animal e maior retorno econômico ao produtor.

Deve-se enfatizar que a utilização de aditivos de forma isolada nunca é totalmente eficaz na melhoria da qualidade sanitária e produtiva da granja. Manejos produtivos profiláticos devem ser seguidos rigorosamente pelos produtores, para que o uso dos aditivos, de forma geral, seja uma ferramenta adicional ao incremento na produtividade da suinocultura.

Novos experimentos avaliando as combinações de prebióticos podem ser realizados a fim de acompanhar os animais do desmame à terminação, com a hipótese de que as melhorias sobre a saúde trazidas com a inclusão de prebióticos em dietas de leitões em fase de creche podem reduzir os dias para o abate, e assim, reduzir os gastos com a manutenção destes animais na propriedade. Ainda, torna-se interessante a investigação do uso de pulsos de prebióticos, em períodos mais curtos de utilização e em momentos mais críticos à saúde dos animais, a fim de se avaliar e comparar a eficácia de uso deste aditivo com fim profilático.