

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM
AMINOÁCIDOS FUNCIONAIS PARA SUÍNOS EM
CRESCIMENTO DESAFIADOS SANITARIAMENTE**

Discente: Isabela Cristina Milla

Orientador: Prof. Dr. Luciano Hauschild

Coorientador: Eng. Agr. Ismael França

Jaboticabal – SP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM AMINOÁCIDOS
FUNCIONAIS PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO DESAFIADOS
SANITARIAMENTE**

Isabela Cristina Milla

Orientador: Prof. Dr. MSc. Zoot. Luciano Hauschild

Coorientador: Eng. Agr. Ismael França

Trabalho de Conclusão de Curso (Iniciação Científica) apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para graduação em Zootecnia.

Jaboticabal – SP

08/2022

DEPARTAMENTO: ZOOTECNIA

CERTIFICADO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM AMINOÁCIDOS
FUNCIONAIS PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO DESAFIADOS
SANITARIAMENTE

ACADÊMICO: Isabela Cristina Milla

CURSO: Zootecnia

ORIENTADORES: Prof. Dr. MSc. Zoot. Luciano Hauschild (Orientador)
Eng. Agr. Ismael França (Coorientador)

PERÍODO: Semestre 09 Ano 2022


Aprovado com conceito: A B C

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. Sim Não

Reprovado:

BANCA EXAMINADORA:

Presidente Prof. Dr. Luciano Hauschild
Membro MSc. Thayssa de Oliveira Littiere
Membro Dra. Alini Mari Vieira

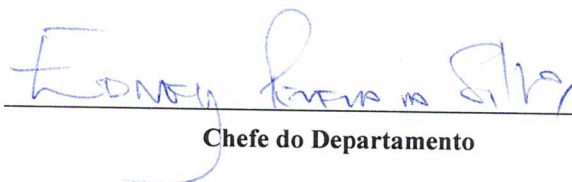


Thayssa de O. Littiere

Alini Mari Vieira

Jaboticabal 31 / 08 / 2022

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: / /



Chefe do Departamento

M645e	<p>Milla, Isabela Cristina</p> <p>EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM AMINOÁCIDOS FUNCIONAIS PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO DESAFIADOS SANITARIAMENTE / Isabela Cristina Milla. -- Jaboticabal, 2022</p> <p>40 p.</p> <p>Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Luciano Hauschild</p> <p>Coorientador: Ismael França</p> <p>1. Aminoácidos. 2. Desafio Imune. 3. Sanidade. 4. Nutrição. 5. Suíno. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho em memória a minha avó, Eva Aparecida, pelo exemplo de coragem e simplicidade, que com muito carinho e amor me ensinou o caminho certo e sempre esteve comigo, sem ela não teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde, força e sabedoria para que eu conseguisse enfrentar todos os desafios, fazendo com que eu não desistisse dos meus sonhos.

Aos meus pais e irmãos, pelo amor, e por sempre me apoiarem, sem eles com certeza a tarefa teria sido muito mais difícil.

Meus agradecimentos aos meus avós que foram a minha base, minha tia Isilda que sempre acreditou em mim, que me ajudaram sempre com muito carinho.

Ao Prof. Dr. Luciano Hauschild, pela orientação durante este trabalho e durante os anos que realizei meu estágio junto ao laboratório, e por ter confiado na minha capacidade para a realização deste trabalho.

Ao Ismael França, pela coorientação, por ter me ajudado a elaborar, escrever e realizar esse projeto, com todas as atividades que foram desenvolvidas, sempre me ensinando e corrigindo meus erros.

Ao SUINESP, e seus membros, que me proporcionaram tantos aprendizados e experiências, contribuindo extremamente com a minha formação profissional e pessoal.

A equipe do Laboratório de Estudos em Suinocultura (LABSUI) por ter me orientado na realização da minha iniciação científica e por todos os ensinamentos ao longo de todos os anos que fui estagiária.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, e a todos os seus membros e funcionários.

A FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela bolsa de estudo e auxílio financeiro.

Ao meu namorado Pedro Henrique, que sempre esteve comigo, compartilhando todas as experiências acadêmicas e pessoais, nunca medindo esforços para me ajudar.

Aos meus amigos, Leticia, Giovanna, Larissa, Luís, Willian, Lucas, Thamiris, Rebecca, Jaqueline, Mariana, e Luana que dividiram suas rotinas comigo e estiveram presentes em vários momentos da minha vida.

A todos que não foram citados nominalmente, mas que de alguma forma contribuíram e acreditaram em mim e no meu potencial.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais na fase de crescimento.....	16
Tabela 2 - Desempenho de suínos na fase inicial de crescimento desafiados com condições precárias de alojamento e inoculados com <i>Salmonella</i> Typhimurium, suplementados com uma combinação de aminoácidos funcionais (Tre, Trip e Met) fornecida pré-desafio e/ou pós-desafio.....	19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Consequência na ingestão de ração e eficiência alimentar em suínos com o sistema imunológico ativado por diferentes desafios.	6
Figura 2 - Temperatura retal (°C) de suínos desafiados sanitariamente até o sétimo dia pós desafio.	17
Figura 3 - Eliminação de <i>Salmonella</i> Typhimurium (UFC Log 10) de suínos desafiados sanitariamente até o vigésimo primeiro dia pós desafio.	18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Desafios da produção de suínos nos trópicos	3
2.2	Resposta animal frente ao desafio sanitário	4
2.3	Salmonelose na suinocultura.....	7
2.4	Aminoácidos funcionais: importância na saúde dos suínos	8
2.4.1	Treonina na integridade intestinal	10
2.4.2	Metionina na resposta oxidativa.....	11
2.4.3	Triptofano e o desempenho sob estresse	11
3	HIPÓTESE	13
4	OBJETIVO	13
5	MATERIAL E MÉTODOS	14
5.1	Animais, alojamento e desenho experimental	14
5.2	Dietas experimentais e alimentação.....	15
5.3	Dados coletados e análise estatística.....	15
6	RESULTADOS	17
7	DISCUSSÃO	20
8	CONCLUSÃO	23
9	RESUMO	24
10	ABSTRACT	25
11	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1 Introdução

A produção de suínos no Brasil vem crescendo acentuadamente nos últimos anos, isso se deve aos altos investimentos tecnológicos e o aumento da produtividade das granjas. Dentre os maiores exportadores de carne suína, o Brasil ocupa a quarta colocação com 1,137 milhão de toneladas produzidas em 2021, um aumento de 5,97% em relação a 2020. Do total produzido cerca de 24% foram destinados à exportação e os demais 76% foram destinados ao mercado interno em 2021 (ABPA, 2021). Dessa forma, a suinocultura brasileira tem grande relevância no mercado internacional da carne suína, a carne segunda mais consumida no mundo.

Ao longo do sistema de produção, os suínos são expostos a diversos fatores potencialmente prejudiciais, que impactam na produtividade, gerando efeitos negativos no seu desempenho. Dentre esses fatores estão os manejos estressantes, desafios nutricionais, exposição a patógenos e estresse ambiental (como condições precárias de alojamento e mistura de lotes). Esse conjunto de fatores podem ainda afetar de forma conjunta ou independente o desempenho dos suínos do nascimento ao abate (HECK, 2009). A condição sanitária, pode ser considerada um dos principais fatores limitadores do desempenho produtivo de animais na fase de crescimento, o que se deve ao fato da ocorrência de doenças clínicas ou subclínicas em suínos expostos a microrganismos patogênicos presentes no ambiente de criação. Dentre os patógenos comumente encontrados nas granjas comerciais brasileiras, os patógenos entéricos são encontrados em todas as fases produtivas (JACOBSON *et al.*, 2005). As doenças entéricas mais amplamente distribuídas nas granjas são aquelas causadas por patógenos como as bactérias *Salmonella spp.* (SCHWARTZ, 1999), *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (SONGER & UZAL, 2005) e *Escherichia coli* (BERTSCHINGER & FAIRBROTHER, 1999). Ao entrar em contato com um patógeno entérico, o organismo inicia o processo de resposta imune (WELLINGTON *et al.*, 2019) e podem apresentar sinais clínicos típicos a essas doenças, como a ocorrência de diarreia (CORREA MATOS *et al.*, 2003), aumento da temperatura corporal (GEBRU *et al.*, 2010) e redução do consumo de ração (PASTORELLI *et al.*, 2012).

A redução do consumo de ração está geralmente associada a resposta animal frente a uma condição de desafio sanitário. Entretanto, a redução do consumo de alimento não é capaz de explicar totalmente a redução do desempenho do animal frente a distintas condições de desafio imposta (PASTORELLI *et al.*, 2012). Pastorelli *et al.* (2012) aponta que para desafios entéricos e para condições precárias de alojamento, 10,2 e 4,1% da redução do crescimento pode ser explicada pela redução no consumo de ração, respectivamente, sendo o restante explicado principalmente pela redução na eficiência alimentar. Ademais, quando suínos são

submetidos a um desafio imunológico pode haver um redirecionamento dos nutrientes, que poderiam ser usados para o crescimento, para apoiar a resposta imune (JOHNSON, 1997). A resposta fisiológica e metabólica do hospedeiro frente a uma infecção entérica demanda ainda um maior aporte energético para melhor eficiência do sistema imune (VAN DER MEER *et al.*, 2016).

A fim de amenizar estes efeitos negativos das doenças entéricas, o uso de antibióticos melhoradores de desempenho tem sido feito de forma preventiva e adotado em larga escala por diversos produtores de carne suína (GAVIOLI *et al.*, 2013). A pressão mercadológica e de saúde pública tem imposto cada vez mais restrições ao uso de antibióticos promotores de crescimento (APCs) e alternativas ao seu uso tem sido amplamente estudada nos últimos anos (HAESE *et al.*, 2004). No Brasil, a proibição de alguns APCs para suínos, tais como tilosina, lincomicina e tiamulina (MAPA, 2020) já é uma realidade. Dentro das ações para redução ao uso de APCs, a adoção de estratégias nutricionais como uso de aditivos fitogênicos, probióticos e prebióticos, tem sido o objetivo de vários estudos. Estudos feitos por Martins *et al.* (2017), fornecendo aos suínos uma dieta com antibióticos e dietas com probióticos, evidenciou que a contagem de *Salmonella sp.* foi menor nas fezes de suínos alimentados com probióticos e que todos os órgãos dos animais alimentados com probióticos apresentaram menor contagem de *Salmonella sp.* quando comparados aos animais alimentados com antibióticos.

Uma alternativa para combater os efeitos do desafio sanitário sem o uso dos APCs é a adoção de estratégias nutricionais aminoacídicas, com a suplementação com aminoácidos funcionais na dieta. Estudos têm demonstrado que as exigências individuais de alguns aminoácidos (AA), incluindo a treonina (Tre; WELLINGTON *et al.*, 2018), metionina (Met; LITVAK *et al.*, 2013) e triptofano (Trip; DE RIDDER *et al.*, 2012), aumentaram em situações de estimulação do sistema imunológico. Um estudo conduzido por Van der Meer *et al.*, (2016) aponta que o teor de proteína da dieta e a suplementação dietética extra de Met, Tre e Trip tem efeitos benéficos na modulação da resposta imunológica de suínos em crescimento mantidos em más condições de alojamento.

Rodrigues *et al.* (2021a) mostraram que leitões desmamados alimentados com dietas com suplementação extra de aminoácidos, incluindo Tre, Trip e Met pré e pós desafio entérico com a inoculação de *Salmonella* Typhimurium (ST) apresentaram melhor desempenho e estado imunológico comparados aos suínos alimentados com uma dieta controle. Os efeitos positivos associados à resposta de fase aguda e melhorias na resposta antioxidante podem estar associados a suplementação preventiva desses AA. O efeito da suplementação de Tre, Trip e

Met tem sido pouco avaliada para suínos em fase de crescimento desafiados sanitariamente. Além disso, o uso de estratégias aminoacídicas previamente ao momento de desafio sanitário (uso preventivo) ainda não foi avaliado para animais nessa fase. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o desempenho dos suínos em crescimento suplementados antes ou durante uma condição de desafio sanitário com um *blend* de AA funcionais (Trip, Tre, Met).

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Desafios da produção de suínos nos trópicos

A produção de suínos no Brasil vem crescendo acentuadamente nos últimos anos, isso se deve aos altos investimentos tecnológicos e o aumento da produtividade das granjas. Dentre os maiores exportadores de carne suína, o Brasil ocupa a quarta colocação com 1,137 milhão de toneladas produzidas em 2021, um aumento de 5,97% em relação a 2020. Do total produzido cerca de 24% foram destinados à exportação e os demais 76% foram destinados ao mercado interno em 2021 (ABPA, 2021). Dessa forma, a suinocultura brasileira tem grande relevância no mercado internacional da carne suína, sendo a segunda mais consumida no mundo.

O Brasil é um país de clima tropical e é o único grande produtor mundial de suínos que não está localizado em uma zona de clima temperado. Essa característica climática está associada a grande variação de temperaturas nas distintas regiões produtoras de suínos do Brasil. Tipicamente, durante o verão a temperatura e umidade do ar são elevadas, o que pode influenciar negativamente na produção (VALE, 2008). Quando comparados a outras espécies domésticas, os suínos são animais sensíveis ao estresse térmico, devido sua baixa quantidade de glândulas sudoríparas funcionais, tendo os suínos dificuldades no processo de perda de calor. Quando os suínos são submetidos a condições de estresse por calor, tendem a reduzir consideravelmente a ingestão de alimento como estratégia de adaptação para reduzir a produção metabólica de calor (RENAUDEAU, 2020). Essa diminuição no consumo de ração, acarreta a redução do crescimento, aumenta a variação do peso e altera a composição da carcaça (ROSS *et al.*, 2015).

A associação da alta umidade relativa do ar e alta temperatura ambiente, que geralmente ocorre em áreas tropicais e subtropicais, pode também beneficiar a proliferação e disseminação de patógenos, aumentando a carga patogênica ambiental, que por sua vez pode colaborar na ocorrência de doenças nos animais (CAMPOS *et al.*, 2017). Este cenário resulta na estimulação do sistema imunológico e, conseqüentemente, na produção de citocinas pró-inflamatórias e

ajustes neuroendócrinos, que prejudica o crescimento e eficiência alimentar dos suínos (JOHNSON, 2012). Dessa forma, é indispensável o conhecimento da capacidade fisiológica de adaptação dos animais a estas condições, para assegurar a máxima produtividade que está diretamente ligada ao bem-estar dos animais (NUNES *et al.*, 2016).

2.2 Resposta animal frente ao desafio sanitário

Sistemas de produção altamente intensivos proporcionam aos animais o contato com uma alta carga de microrganismos patogênicos, gerando muitas vezes a uma situação de estresse imune ao animal. Estas situações de estresse podem tornar os animais mais susceptíveis a infecções (JOHNSON *et al.*, 2001). Um estudo realizado por Williams *et al.*, (1997) evidenciou que animais criados em ambientes com condições sanitárias precárias, reduzem o consumo de alimento e o ganho de peso, quando comparados a animais criados em ambientes limpos. Nessas situações alguns nutrientes que seriam direcionados para o crescimento do animal podem ser redirecionados para auxiliar a resposta imune contra os agentes patogênicos.

Chatelet *et al.* (2017) demonstraram que animais criados em condições precárias de higiene apresentam pior condição de saúde resultando em maior incidência de pneumonia e lesões pulmonares, maiores concentrações plasmáticas de haptoglobina, contagem de leucócitos e granulócitos comparado com animais alojados em boas condições. Esses resultados indicam que a estimulação do sistema imunológico pode ser dada em resposta a condições precárias de limpeza das instalações. Animais alojados em condições sanitárias ruins estão mais susceptíveis as bactérias patogênicas, que podem ocasionar quadros como as infecções entéricas.

As infecções entéricas estão entre as doenças mais frequentes na produção de suínos, e são responsáveis por impactos econômicos significativos (VANNUCCI *et al.*, 2009). A estimulação do sistema imunológico desencadeia uma série de respostas do animal, como o aumento da temperatura corporal e do gasto energético, redução do consumo de alimento (BLACK, 1999) e na produção de citocinas e proteínas de fase aguda (HEEGAARD *et al.*, 2011). Estas respostas provocam prejuízos como a perda de peso, mortalidade e gastos com antibióticos (MC ORIST, 2005).

Uma forma de auxiliar o animal a lidar com algum desafio é pela atuação do intestino, que é considerado o principal órgão imune dos suínos, a atuação das células do epitélio juntamente com as secreções atua contra a ação de patógenos. Mas para um bom funcionamento deste órgão as vilosidades da mucosa devem estar íntegras. Quando os suínos são desafiados e

tem a liberação de uma resposta inflamatória, pode comprometer a capacidade digestiva, assim como sua função imune (LE FLOC'H *et al.*, 2018).

Rakhshandeh & De Lange (2011) revisaram o impacto da ativação do sistema imunológico em suínos em crescimento, e observaram que a função digestiva e absorptiva do trato gastrointestinal é comprometida durante uma inflamação sistêmica. As alterações incluem alterações na motilidade intestinal, permeabilidade, produção de mucina, microflora, expressão de enzimas digestivas e sistemas de transporte epitelial.

O epitélio intestinal é composto primariamente por enterócitos que são responsáveis por absorver os nutrientes do lúmen, liberar IgA (Imunoglobulina A), produzir peptídeos antimicrobianos e citocinas pró inflamatórias em resposta a presença de patógenos (GONÇALVES *et al.*, 2016). Quando os animais são acometidos por esse tipo de desafio, alterações metabólicas induzidas por citocinas como a diminuição da síntese de proteínas do músculo esquelético, aumento da síntese hepática de proteínas de fase aguda e aumento da desaminação de aminoácidos glicogênicos podem ocorrer.

Dessa forma o intestino desempenha várias outras funções além da digestão e absorção, executando um importante papel imunológico. Com a ação das vilosidades, que aumentam a superfície de absorção, e assim impede a passagem de patógenos, também com a produção das mucinas, que são potenciais moléculas de adesão para microrganismos, e pela atuação das junções que impede a passagem de patógenos (LIMA *et al.*, 2016).

Pastorelli *et al.* (2012) demonstraram através de um estudo de meta-análise como o consumo e a eficiência alimentar explicam diferentes respostas de crescimento de suínos em diferentes situações de desafio (Figura 1). Diferenças significativas entre os diferentes modelos de desafios imune avaliados no estudo podem ser observadas, onde a redução do consumo pode explicar parcialmente as reduções no crescimento animal.

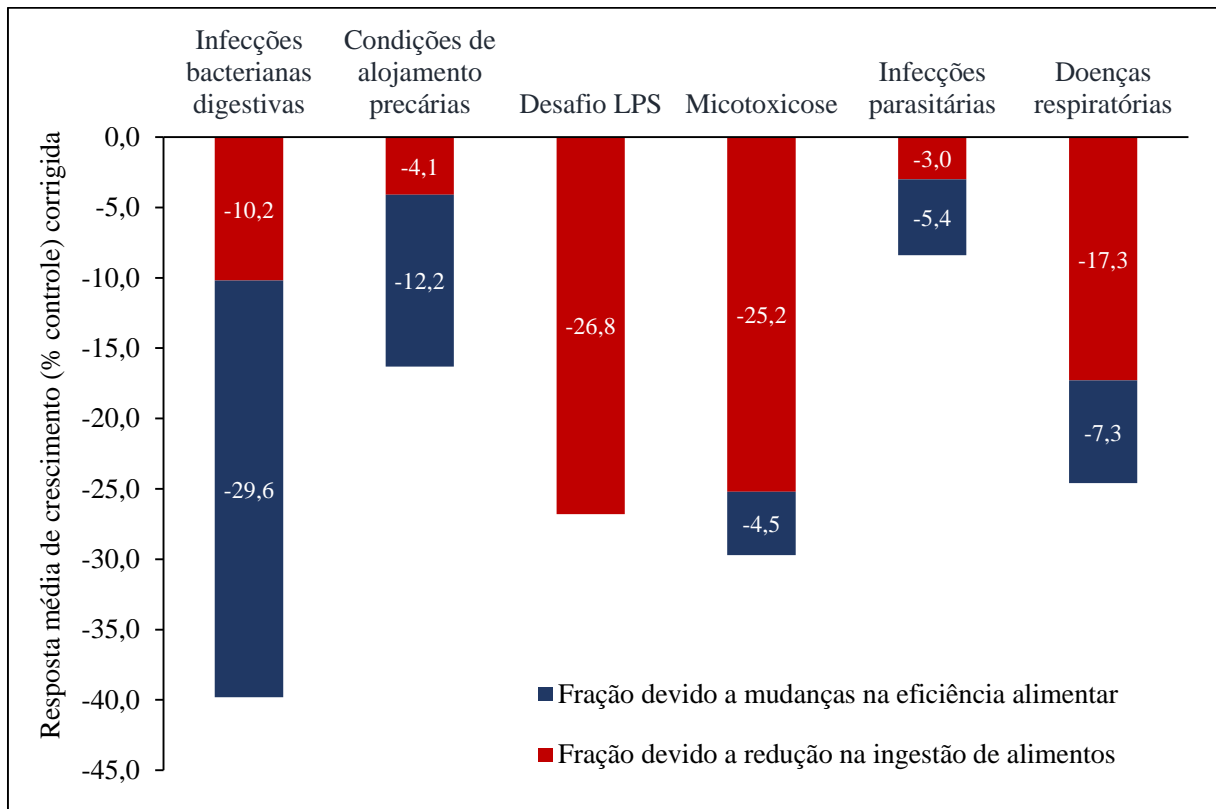


Figura 1 - Consequência na ingestão de ração e eficiência alimentar em suínos com o sistema imunológico ativado por diferentes desafios.

Adaptado de Pastorelli *et al.* (2012)

Os autores analisaram 20 estudos avaliando as más condições de alojamento que corresponderam a suínos submetidos ao calor ou estresse por frio e limitação de espaço, e 29 estudos sobre as infecções bacterianas direcionadas ao trato gastrointestinal de suínos principalmente desafiados com *E. coli* administrado via oral ou intragástrica. Dessa forma a meta-análise de Pastorelli *et al.*, (2012) permitiu combinar os resultados de diferentes experimentos sobre o efeito de diferentes modelos de desafio imune no desempenho dos suínos e aponta que a estimulação do sistema imunológico leva a redução do crescimento, dada em parte devido a redução da ingestão de alimento, mas também devido as alterações na eficiência de utilização do alimento (EA). Quando ocorre a estimulação do sistema imunológico, os suínos podem reduzir a ingestão de ração ou até mesmo parar de se alimentar, e o que define esta intensidade de consumo é o tipo do desafio, a capacidade do animal em lidar com o mesmo e também a natureza do patógeno (KYRIAZAKIS & HOUDIJK., 2007). Portanto as infecções entéricas têm grande importância dentro da cadeia produtiva, sendo responsável por grandes prejuízos e assim devem receber atenção dentro das granjas pelo seu impacto negativo.

2.3 Salmonelose na suinocultura

As infecções bacterianas entéricas em suínos têm um grande impacto para a cadeia produtiva, estando presentes em diferentes categorias nas granjas (JACOBSON *et al.*, 2005). Lesões geradas por estas infecções podem ser permanentes ou transitórias, resultando no atraso do crescimento, na redução da eficiência alimentar e em custo com tratamentos e alimentação adicionais (MC ORIST & GEBHART., 1999). As bactérias do gênero *Salmonella* são bacilos Gram-negativos que compõem o grupo mais complexo das enterobactérias. O gênero *Salmonella* faz parte de um grupo de agentes patogênicos que acometem o trato gastrointestinal de suínos, podendo resultar em uma doença infecciosa generalizada e de alta transmissibilidade entre os animais. A principal via de infecção é oral, podendo a bactéria permanecer nos linfonodos do trato gastrointestinal, e quando o animal for submetido a um fator estressante como o transporte ou reagrupamento ser excretada intermitentemente (MACHADO *et al.*, 2016).

A *Salmonella entérica* sorotipo Choleraesuis é um sorovar adaptado a espécie suína, capaz de causar doenças clínicas (KICH *et al.*, 2011). Um estudo feito por GREY *et al.*, (1996) observou nos animais desafios com *Salmonella choleraesuis*, febre, sinais clínicos graves, incluindo diarreia, calafrios, e desconforto respiratório. No entanto os sorovares mais frequentes são Typhimurium, Panamá, Senftenberg, Derby e Mbandaka (KICH *et al.*, 2011). A infecção por *Salmonella entérica* sorotipo Typhimurium (ST) está presente nos suínos nas fases produtiva, desde a maternidade até a terminação e entre a mais prevalente no Brasil, Estados Unidos e na Europa (STEGE *et al.*, 2000; BACCARO *et al.*, 2003; SUH & SONG, 2005). A *Salmonella* Typhimurium é a segunda mais importante nas infecções alimentares em humanos, e também são responsáveis por causam perdas econômicas significativas na produção animal, assim a implementação de programas de controle, com cuidados nas unidades produtoras, transporte, e até mesmo no abate é fundamental na cadeia produtiva da carne suína (LIMA *et al.*, 2016; VANUCCI & GUEDES., 2009).

A infecção por *Salmonella* possui um grande impacto ao longo da cadeia produtiva, uma vez que os animais portadores podem excretar a bactéria e contaminar o restante dos animais do mesmo lote de forma silenciosa (BUSSER *et al.*, 2013). A introdução da *Salmonella* na cadeia de produção pode ocorrer de diferentes formas, as fontes de infecção podem ser animais pertencentes ao próprio grupo, de outros grupos e até mesmo de produtores ou fatores externos, como ração, pessoas ou vetores biológicos (MACHADO *et al.*, 2016). Além disso, durante o

transporte, nos caminhões ou até mesmo no abatedouro, pode haver a contaminação cruzada por animais excretadores, que são potenciais fontes de infecção (KICH & CARDOSO, 2012).

A caracterização do quadro clínico e dos sintomas decorrentes da infecção é dependente do sorovar presente na granja. Por exemplo, quadros de septicemia e aumento da mortalidade são esperados na ocorrência do sorovar Choleraesuis ou à quadros mais brandos como enterocolite e refugarem de animais com o sorovar Typhimurium (LANTMANN *et al.*, 2022; KICH *et al.*, 2017). O tratamento de quadros clínicos de salmonelose em suínos é realizado com o uso de antimicrobianos. Cada vez mais a ocorrência de cepas de *Salmonella* resistentes a antimicrobianos tradicionalmente adotados no seu controle ao longo do sistema produtivo tem sido observada (OLIVEIRA *et al.*, 2005). Dessa forma, se faz cada vez mais necessário a adoção de práticas para prevenção e controle desse patógeno, visto a importância a saúde animal e humana que esse gênero de bactéria possui.

2.4 Aminoácidos funcionais: importância na saúde dos suínos

Imunonutrição é um conceito relativamente moderno e de grande importância no que diz respeito a interação entre a nutrição e imunidade do animal. Essa área de estudos tem se dedicado a entender como estratégias nutricionais podem auxiliar na modulação da resposta imunológica dos animais (CALDER, 2003). Uma série de estratégias e ferramentas nutricionais tem sido estudadas nos últimos anos frente a esse conceito, como o nível de energia e proteína da dieta, perfil lipídico, uso de enzimas exógenas, aditivos fitogênicos, eubióticos e aminoácidos sintéticos. Estratégias nutricionais para atenuar os efeitos negativos da ativação do sistema imune sobre o desempenho do animal podem ser empregadas com objetivo de atenuar os efeitos deletérios da resposta imune sobre o desempenho e auxiliar o animal frente a uma condição de desafio sanitário ou ambiental (SILVA *et al.*, 2009).

Os aminoácidos são moléculas orgânicas que contém pelo menos um grupamento amina e um grupamento carboxila, são os constituintes das proteínas e formação de outros metabólitos. Devido às variações em suas cadeias laterais, os aminoácidos têm propriedades e funções bioquímicas diferentes (WU *et al.*, 2007).

Os aminoácidos funcionais recebem esta denominação por desempenharem outras funções além de síntese de proteína para crescimento ou produção (WU, 2010). Le Floc'h *et al.*, (2018) e Wu (2010) definem os aminoácidos funcionais como aqueles capazes de auxiliar no crescimento, desenvolvimento, reprodução, melhora a saúde dos animais, e que formam peptídeos ou proteínas com funções benéficas sobre esses aspectos. Alguns estudos

evidenciaram os efeitos positivos dos aminoácidos funcionais no metabolismo animal. Suenaga *et al.*, (2008) administrou L-arginina para pintos neonatos e observou efeitos positivos no estresse agudo relacionados ao uso desse AA. Um trabalho feito por Wu *et al.*, (2007) que estudou os aminoácidos funcionais no crescimento, reprodução e saúde, evidenciou que estes podem atuar na imunidade, como na síntese de uma variedade de proteínas específicas (incluindo citocinas e anticorpos), agir sob o estresse agudo, e ainda regular as principais vias metabólicas.

A ativação do sistema imunológico frente a uma condição de desafio pode modificar o perfil de aminoácidos que o animal precisa devido à produção de proteínas imunes, como proteínas de fase aguda e imunoglobulinas (SCHWERING *et al.*, 2019). Reeds *et al.* (1994) relataram que as proteínas de fase aguda apresentam maiores porcentagens em aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina) em comparação com a proteína muscular. Os principais aminoácidos que participam da síntese proteica são os de cadeia ramificada como leucina, isoleucina e valina (HTOO & WILTAFSKY, 2011).

A necessidade de manutenção de aminoácidos pode aumentar até 30% em suínos com sistema imunológico ativado. Um estudo mostrou que a necessidade de aminoácidos para a manutenção pode aumentar em 15 % para a lisina, 23 % metionina + cisteína, e 5% treonina. Quando os suínos são desafiados com lipopolissacarídeo (LPS) um aumento na utilização de aminoácidos sulfurados (AAS) para a síntese de compostos não proteicos que estão envolvidos na resposta imune (SCHWERING *et al.*, 2019).

Rodrigues *et al.* (2021b) em estudo com suínos suplementados com aminoácidos por um período mais longo de tempo, observaram que a suplementação com os aminoácidos funcionais pode prepará-los melhor para lidar com um desafio entérico por ST. Em um outro estudo de Rodrigues *et al.* (2021a) suplementando aminoácidos funcionais na dieta de leitões recém desmamados desafiados com ST, observaram um efeito positivo no desempenho de crescimento e no estado imunológico, independente do teor de proteína bruta da dieta. Isso pode ser devido às funções desempenhadas pelos aminoácidos, como substratos para a síntese de proteínas imune, auxílio na manutenção da barreira intestinal e regulação da defesa antioxidante (WU, 2010; LE FLOC'H *et al.*, 2018). O mesmo foi observado por Van der Meer *et al.*, (2016) que avaliaram o desempenho de suínos mantidos em diferentes condições sanitárias com suplementação com 20% mais de Trip, Tre e Met. Os animais que não receberam a dieta suplementada e alojados em condições sanitárias ruins apresentaram menor eficiência

alimentar, indicando que as exigências dietéticas para esses AA podem diferir dependendo da condição sanitária.

2.4.1 Treonina na integridade intestinal

A treonina é o segundo ou terceiro AA limitante em dietas para suínos à base de milho e farelo de soja, que são os ingredientes mais comuns adotados na alimentação de suínos no Brasil. Porém, quando a dieta é suplementada com lisina sintética, a treonina pode se tornar o primeiro aminoácido limitante (ISOLA, 2015).

Como não há síntese endógena de treonina pelos suínos, uma vez que esse AA não passa pelo processo de transaminação, toda a treonina exigida pelo animal deve ser fornecida pela dieta (CERON *et al.*, 2016). A treonina participa da síntese proteica muscular, além de corresponder a cerca de 28 a 35 % do total aminoácidos que constituem as mucinas e da síntese de imunoglobulinas (NICHOLS & BERTOLO, 2008). Além de participar da síntese proteica, o catabolismo da treonina gera produtos, como glicina, acetil-coenzima A (acetil CoA), piruvato e propionato (KIDD & KERR, 1996).

Estudos com suínos em crescimento indicam que a ingestão de treonina pode alterar componentes do sistema imune (LI *et al.*, 1999). Um trabalho realizado por Wang *et al.*, (2006) mostrou que o aumento na ingestão de treonina elevou os níveis séricos de IgG e as concentrações de IgG e IgA na mucosa jejunal de suínos jovens desafiados com *Escherichia coli*, enquanto diminuiu a concentração de IL-6 (mediadora da resposta inflamatória).

Liang *et al.*, (2018) evidenciaram que a suplementação de treonina na dieta alterou a composição e diversidade microbiana intestinal, melhorando a função da barreira da mucosa intestinal e diminuindo a expressão de citocinas inflamatórias intestinais em leitões desmamados saudáveis. Wellington *et al.*, (2019), avaliando o desempenho e o crescimento dos suínos suplementados com treonina que receberam dietas de baixa e alta fibra, desafiados com *Salmonella Typhimurium*, obtiveram resultados que evidenciaram que a treonina melhorou o desempenho dos animais alimentados com alta ou baixa fibra. Porém o desempenho dos suínos desafiados com alta fibra, suplementados, foi inferior à baixa fibra suplementada. Esses resultados sugerem que embora a treonina tenha melhorado não foi suficiente para atender às exigências de suínos alimentados com dietas de alta fibra e desafiados com um patógeno entérico.

2.4.2 Metionina na resposta oxidativa

A metionina é considerada o AA mais importante doador de radicais metil para os processos de metilação de moléculas, e está diretamente relacionada as funções imunológicas por ser precursora de muitas moléculas como por exemplo, creatina, carnitina, epinefrina, colina, melatonina e poliaminas (BAKER, 1991). Esta última é muito importante por ser uma molécula reguladora que pode aumentar a proliferação de células imunes durante um desafio imune (GRIMBLE, 2002).

A metionina e a cistina estão envolvidas nos processos de síntese da glutatona, que é uma importante molécula necessária para a ativação de linfócitos T e leucócitos, e para a produção de citocinas. Os linfócitos T, leucócitos e citocinas vão atuar na ativação da resposta do sistema imunológico acometido por algum patógeno (WU *et al.*, 2004). Este aminoácido também está associado a cistina, que desempenha função estrutural de proteínas, como a insulina e as imunoglobulinas (BAKER, 1991).

A metionina mais a cistina também estão envolvidas nos processos de manutenção do organismo, como na renovação de tecidos intestinais e várias funções biológicas (LOUGHMILLER *et al.*, 1996). A taurina é sintetizada a partir da metionina e da cisteína, e é o aminoácido livre mais abundante nos linfócitos e um potente antioxidante que reduz a produção de citocinas pró inflamatórias e prostaglandina (Yang & Wu, 2002).

Além de estar relacionada com a imunidade e síntese proteica, a metionina desempenha funções no crescimento, desenvolvimento, e reprodução (WU, 2010). Podendo ser relacionada com a iniciação da tradução de proteínas (GOTO *et al.*, 2008), fornecimento de enxofre (BUNCHASAK, 2009), e anti-oxidação (LUO & LEVINE, 2008). Esta capacidade da metionina de oxidação, pode proteger muitas proteínas do dano oxidativo (JANKOWSKI *et al.*, 2014). Dessa forma este aminoácido é considerada um antioxidante endógeno, que atua defendendo na resposta inflamatória (LUO & LEVINE, 2008).

2.4.3 Triptofano e o desempenho sob estresse

O Triptofano é um aminoácido que se caracteriza por apresentar os mais complexos processos metabólicos na quebra das substâncias mais complexas em simples, pertence ao grupo dos aminoácidos aromáticos, que possui cadeias laterais aromáticas e relativamente apolares (PASQUETTI, 2014). O triptofano é um aminoácido essencial na nutrição de leitões e suínos em crescimento e terminação (NRC, 2012). É um importante aminoácido que

desempenha várias funções no organismo e participa diretamente nos efeitos do estresse, beneficiando a saúde dos animais. Dessa forma é indispensável seu uso, e para estimar suas exigências em dietas de suínos deve-se atentar aos níveis de proteína e digestibilidade e levar em consideração o *status* sanitário dos animais (GUZIK *et al.*, 2005).

Quando as dietas não atendem as exigências de triptofano pode influenciar negativamente na síntese de proteína, ganho de peso e eficiência alimentar dos animais (LE FLOC'H *et al.*, 2007). Além da síntese proteica, participa da produção de serotonina, N-acetilserotonina, melatonina e ácido antranílico (KIM *et al.*, 2007). Este aminoácido participa da resposta imune, controlando a atividade das células T e a auto-tolerância durante a inflamação, o que permite que o sistema imune seja capaz de distinguir os antígenos nocivos das células T (PLATTEN *et al.*, 2005). Além disso, é responsável pela produção da serotonina, primeiramente convertido a 5-hidroxitriptofano pela enzima hidroxilase, que é então descarboxilado a serotonina pela enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilase (VEDOVATO *et al.*, 2014). Quando o animal apresenta alterações nos níveis cerebrais de triptofano, influencia na síntese da serotonina, que atua na regulação da temperatura e na sensibilidade a dor (LI *et al.*, 2006).

Em um estudo com leitões na creche, que receberam dois teores de Trip na dieta, um correspondente a uma dieta pobre em Trip (1,5 g de Trip/kg de dieta) e o segundo uma dieta de Trip adequado (2 g de Trip/kg de dieta) desafiados com infecção pulmonar, observou que a inflamação aumenta o catabolismo de Trip e que pode diminuir a disponibilidade de Trip para o crescimento, e que os animais que receberam uma dieta com o nível de trip adequado tiveram uma inflamação moderada (LE FLOC'H *et al.*, 2008). O triptofano também participa da composição da quinurenina, que atua reduzindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias (CHALVON-DEMERSAY *et al.*, 2021). Um estudo conduzido por Liang *et al.*, (2018), que suplementou Trip na dieta de leitões desmamados, observou que teve efeito positivo na composição da microbiota intestinal, melhorando a barreira de mucosa e diminuindo a expressão de citocinas inflamatórias.

3 Hipótese

A suplementação com um *blend* de AA funcionais (Tre, Trip e Met) fornecida de forma preventiva e/ou curativa atenua os efeitos negativos sobre o desempenho de suínos desafiados sanitariamente com condições precárias de alojamento e inoculados com *Salmonella* Typhimurium no início da fase de crescimento.

4 Objetivo

Esse estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação dietética de uma combinação de aminoácidos funcionais (Tre, Trip e Met) fornecidos pré-desafio (preventiva, durante a última semana da fase de creche) e/ou pós-desafio (curativa, durante a fase inicial de crescimento) no desempenho de suínos desafiados sanitariamente com condições precárias de alojamento e inoculados com *Salmonella* Typhimurium ao início da fase de crescimento.

5 Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Estudos em Suinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP – FCAV), na cidade de Jaboticabal, SP, Brasil, sendo avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição (protocolo nº: 2296/21).

5.1 Animais, alojamento e desenho experimental

O experimento foi conduzido com um total de 60 leitões machos inteiros com 68 dias de idade, oriundos de uma unidade produtora de leitões desmamados de alto status sanitário (pirâmide produtiva certificada livre de *Mycoplasma hyopneumoniae*). Os suínos foram alojados em um galpão climatizado com fornecimento livre de água em bebedouros tipo chupeta e a ração ad libitum. O fornecimento de ração foi realizado com o uso de alimentadores automáticos e inteligentes de precisão (*Automatic Intelligent Precision Feeder*) AIPF. Este tipo de alimentador permite a alimentação individualizada de cada animal, que ao solicitar o fornecimento de ração para a máquina receba a dieta pré-definida para ele conforme identificação eletrônica feita com o uso de brinco eletrônicos.

Durante o período pré-desafio de 7 dias, correspondente a última semana da fase de creche ($21,5 \pm 4,4$ kg de peso corporal), um grupo de leitões ($n=30$) foram alimentados com uma dieta controle, formulada para atender as recomendações mínimas de Trip, Tre e Met+Cis do NRC (2012), enquanto o outro grupo ($n=30$) recebeu uma dieta com suplementação extra de 20% nas relações Trip:Lis, Tre:Lis e Met+Cis:Lis (AA+). Ao final da fase de creche ($24,9 \pm 5,6$ kg de peso corporal), início da fase de crescimento, os suínos foram distribuídos em blocos casualizados, de acordo com o peso, em quatro tratamentos: 1) tratamento controle, em que os suínos ($n=15$) foram alimentados com a dieta controle durante o período pré-desafio e por todo experimento; 2) tratamento curativo, onde os animais ($n=15$) foram alimentados com a dieta controle no período pré-desafio e com a dieta suplementada durante o experimento; 3) tratamento preventivo, em que os suínos ($n=15$) receberam a dieta suplementada no período pré-desafio e passaram a receber a dieta controle durante o experimento; e 4) tratamento contínuo, onde os animais ($n=15$) foram alimentados com a dieta suplementada durante o período pré-desafio e por todo experimento.

No dia zero (D0), os suínos foram submetidos a um desafio sanitário que consistiu no alojamento em instalações com condições de higiene precárias (dejetos frescos de um rebanho comercial foram espalhados sobre o piso do galpão) e inoculação com *Salmonella Typhimurium*

(ST). Todos os animais foram inoculados com 5 mL de caldo BHI contendo 2×10^9 UFC mL⁻¹ de ST isolada de um surto a campo e resistente ao ácido nalidíxico. As instalações não foram limpas e não houve nenhum protocolo de biosseguridade durante o período de desafio. O desafio sanitário teve duração de 28 dias (D0 a D28).

5.2 Dietas experimentais e alimentação

Os suínos foram alimentados com uma dieta a base de milho e farelo de soja, formulada para atender as recomendações mínimas estabelecidas pelo NRC (2012) para suínos machos inteiros dos 25 a 50 kg. As dietas foram formuladas com base nos teores de AA dos ingredientes analisados e nos coeficientes digestíveis ileal padronizado (SID) de AA (AMINODat 4.0). Os tratamentos com suplementação extra de AA funcionais receberam níveis de Tre, Trip e Met em relação a lisina aumentados em 20% acima da dieta controle durante o período de D0 a D28. A composição calculada das dietas está apresentada na Tabela 1.

5.3 Dados coletados e análise estatística

As variáveis de desempenho (consumo diário de ração, ganho de peso médio diário e eficiência alimentar) foram avaliadas semanalmente durante todo o período experimental. Foram coletadas a temperatura retal dos animais antes do início do desafio e pelos sete primeiros dias após o desafio com o uso de um termômetro digital. A eliminação de *Salmonella* Typhimurium resistente ao ácido Nalidíxico foi avaliada através da eliminação fecal em amostras coletadas com o auxílio de um *swab* retal no D-7 (antes do inóculo) para teste de confirmação da negatividade para ST de todos os animais e em amostras de fezes coletadas (10g amostra⁻¹) para quantificação de ST realizadas nos dias 3, 7, 14, 21 e 28 pós-desafio. O consumo diário de ração foi obtido por meio dos AIPFs e o consumo semanal calculado para cada período. Os suínos foram pesados semanalmente e o ganho de peso diário (GPD) foi calculado, assim como a eficiência alimentar.

Os dados foram submetidos a análise de variância e os resíduos ao teste de normalidade. A identificação de *outliers* foi realizada pelos resíduos (± 3 DP). A análise foi realizada utilizando o software Minitab 18® aplicando um modelo linear generalizado como um delineamento em blocos casualizados e o animal foi considerado como a unidade experimental. Os tratamentos foram considerados como efeito fixo e o bloco como efeito aleatório. O peso inicial foi considerado como covariável e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os efeitos

foram considerados significativos a 5% de significância e tendência entre 5 a 10% de significância.

Tabela 1 - Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais na fase de crescimento.

Ingredientes, %	Dietas	
	25 a 50 kg	
	Controle ¹	Suplementada ²
Milho	75,62	75,62
Farelo de soja	21,05	21,05
Calcário	0,850	0,850
BioLys 60	0,496	0,496
Amido	0,500	0,232
Fosfato bicálcico	0,489	0,489
Óleo de soja	0,300	0,300
Sal	0,247	0,247
Moldzap (antifúngico)	0,100	0,100
Metamino	0,085	0,198
Trypamino	0,004	0,039
Threamino	0,072	0,192
Cloreto de colina	0,060	0,060
L-valina	0,011	0,011
Fitase	0,005	0,005
Premix Mineral	0,075	0,075
Premix Vitamínico	0,040	0,040
<i>Composição nutricional calculada</i>		
EM, Kcal	3345	3348
EL, Kcal	2550	2552
PB, %	16,53	16,72
SID Lis, %	0,99	0,99
SID Met+Cys, %	0,56	0,67
SID Met, %	0,31	0,43
SID Thr, %	0,59	0,71
SID Trp, %	0,17	0,20
SID Val, %	0,68	0,68
SID Arg, %	0,94	0,94
SID Ile, %	0,59	0,59
SID Leu, %	1,32	1,32
SID His, %	0,39	0,39
SID Phe+Tyr, %	1,23	1,23
SID Phe, %	0,70	0,70
P Dig, %	0,32	0,32
Ca, %	0,69	0,69
Na, %	0,11	0,11

¹Dieta controle. ²Dieta controle formulada para atender as exigências mínimas para suínos machos inteiros de acordo com o NRC (2012).

²Dieta suplementada: recebeu a suplementação extra de +20% de Trip, Tre e Met+Cys:Lis em relação a dieta controle.

6 Resultados

Um aumento da temperatura retal foi observado no primeiro dia após o desafio com ST e condições precárias de alojamento. Um aumento de 1,2 °C foi observado um dia após o desafio e a temperatura retal permaneceu aumentada durante os sete dias após a aplicação do desafio com ST e condição precária de alojamento. A figura 2 apresenta o comportamento da temperatura retal de todos os animais nos primeiros sete dias após o desafio.

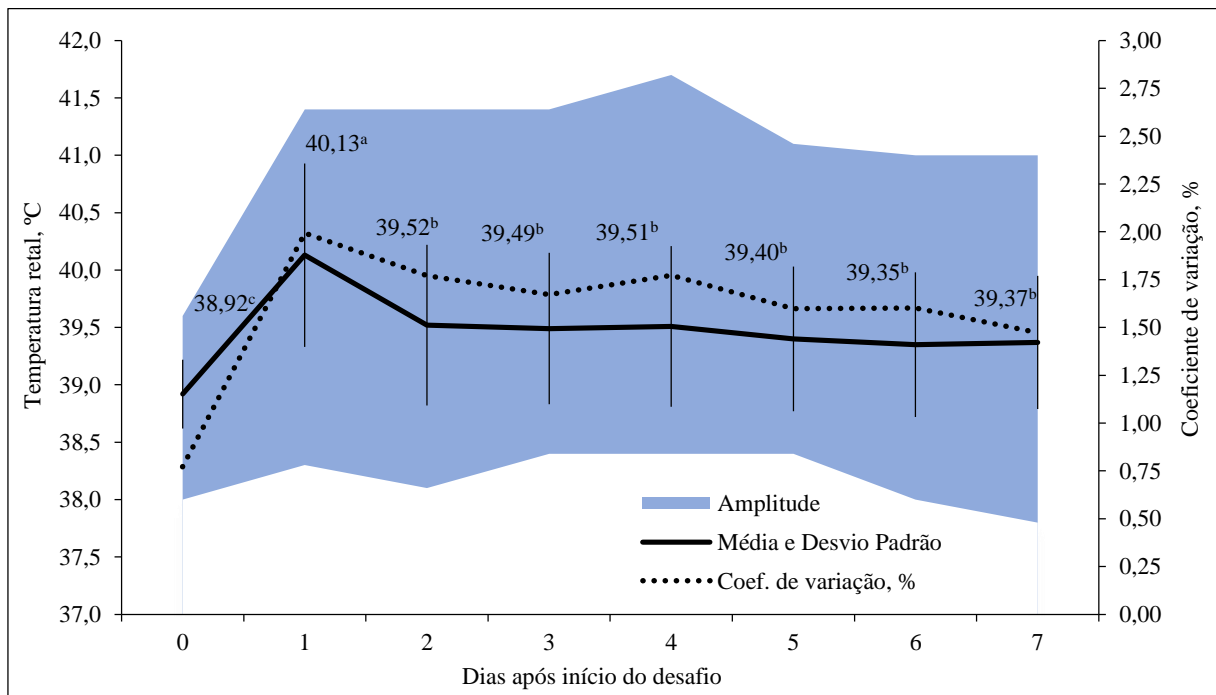


Figura 2 -Temperatura retal (°C) de suínos desafiados sanitariamente até o sétimo dia pós desafio.

*Médias com letras diferentes diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey. ($P < 0,001$).

Somente um animal não foi positivo para eliminação fecal de ST em nenhum dos dias avaliados, entretanto o mesmo apresentou aumento significativo na temperatura retal e redução no consumo de ração na primeira semana após o desafio. Uma redução na carga de ST fecal eliminada foi observada após o desafio. No 28º dia após desafio todos os animais foram negativos para eliminação fecal de ST.

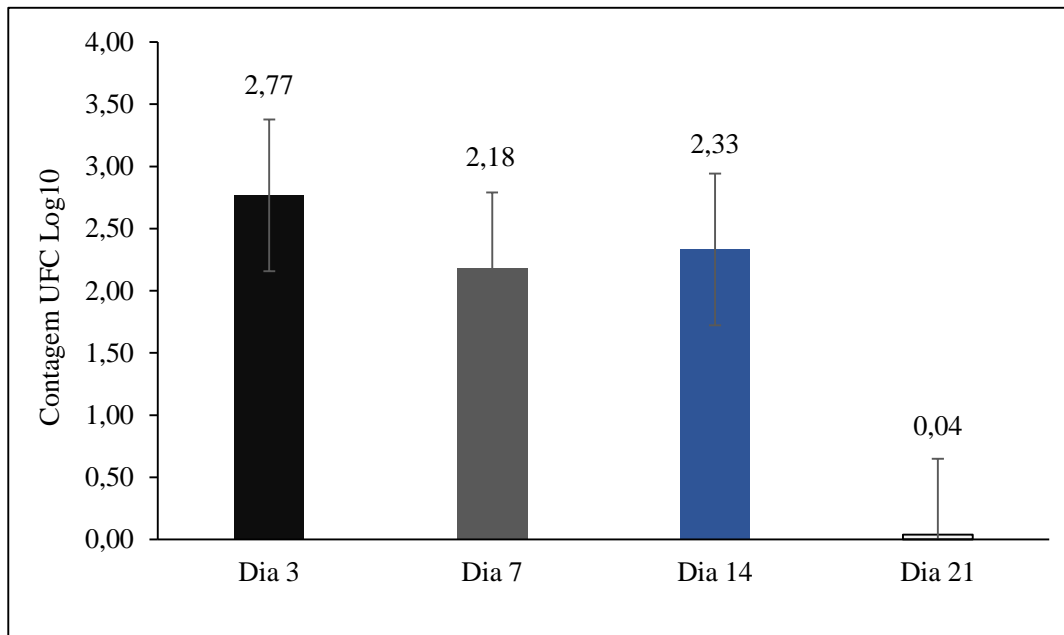


Figura 3 - Eliminação de *Salmonella Typhimurium* (UFC Log 10) de suínos desafiados sanitariamente até o vigésimo primeiro dia pós desafio.

A tabela 2 apresenta os resultados de desempenho zootécnico dos animais (fase pré-desafio e pós-desafio sanitário). Não houve efeito da suplementação preventiva sobre o peso corporal dos animais no dia zero ($P = 0,914$). Da mesma maneira, não houve diferenças para o CDR ($P = 0,824$), GPD ($P = 0,0507$) e EA ($P = 0,843$) entre os tratamentos durante a período pré-desafio.

Na primeira semana após o desafio sanitário (0 a 7d), uma tendência de melhora no ganho de peso foi observada ($P = 0,077$). Entretanto, não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo diário de ração ($P = 0,378$) e eficiência alimentar ($P = 0,502$). Entre 7 e 14 dias após o início do desafio, não houve efeito significativo dos tratamentos sobre o ganho de peso diário ($P = 0,500$), consumo de ração ($P = 0,259$) e eficiência alimentar ($P = 0,493$). Entre 14 e 21 dias, um efeito negativo da suplementação preventiva foi observado. Os animais que receberam a suplementação preventiva apresentaram uma redução de 27% no GPD em relação aos animais que receberam a suplementação de forma curativa (457 vs. 625 Kg). Uma tendência foi observada para a piora da eficiência alimentar ($P = 0,083$) seguindo o mesmo comportamento do GPD nessa fase. Entre os dias 21 e 28 após o desafio uma melhora no ganho de peso ($P = 0,007$) e na eficiência alimentar ($P = 0,006$) foi observada, para os tratamentos contínuo e curativo, respectivamente, quando comparados aos grupos controle e preventivo. Não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo nessa fase ($P = 0,235$).

Durante o período total (0 a 28 dias) uma redução no GPD foi observada nos animais do tratamento preventivo que receberam a suplementação de forma preventiva e deixaram de

ser suplementados durante a fase de desafio ($P = 0,032$), comparado ao tratamento contínuo. Não houve efeito significativo sobre o consumo ($P = 0,255$) ou eficiência alimentar ($P = 0,196$) no período total.

Tabela 2 - Desempenho de suínos na fase inicial de crescimento desafiados com condições precárias de alojamento e inoculados com *Salmonella* Typhimurium suplementados com uma combinação de aminoácidos funcionais (Tre, Trip e Met) fornecida pré-desafio e/ou pós-desafio.

Item	Suplementação*				EPM	p-valor
	Controle	Preventiva	Curativa	Contínua		
Peso 7 dias pré-desafio (D-7), kg	21,51	21,51	21,51	21,51	0,573	1,000
Peso ao desafio (D0), kg	24,62	24,95	24,65	25,26	0,721	0,914
Peso final (D28), kg	36,71 ^{ab}	36,42 ^b	38,93 ^{ab}	40,22 ^a	1,36	0,032
Período pré desafio (D-7 a D0)						
CDR, kg dia ⁻¹	0,926	0,944	0,962	0,989	0,040	0,824
GPD, kg dia ⁻¹	0,463	0,482	0,459	0,517	0,027	0,507
Eficiência Alimentar	0,516	0,518	0,494	0,531	0,015	0,843
Primeira semana desafio (D0 a D7)						
CDR, kg dia ⁻¹	0,628	0,68	0,655	0,801	0,045	0,378
GPD, kg dia ⁻¹	0,082	0,264	0,129	0,332	0,041	0,077
Eficiência Alimentar	-0,098	0,053	0,105	0,339	0,103	0,502
Segunda semana desafio (D7 a D14)						
CDR, kg dia ⁻¹	1,014	0,903	1,017	1,138	0,050	0,259
GPD, kg dia ⁻¹	0,477	0,426	0,536	0,539	0,035	0,500
Eficiência Alimentar	0,485	0,214	0,581	0,461	0,085	0,493
Terceira semana desafio (D14 a D21)						
CDR, kg dia ⁻¹	1,172	1,102	1,205	1,299	0,050	0,278
GPD, kg dia ⁻¹	0,566 ^{ab}	0,457 ^b	0,625 ^a	0,618 ^a	0,029	0,011
Eficiência Alimentar	0,497	0,395	0,518	0,469	0,018	0,083
Quarta semana desafio (D21 a D28)						
CDR, kg dia ⁻¹	1,375	1,22	1,312	1,444	0,053	0,235
GPD, kg dia ⁻¹	0,560 ^b	0,539 ^b	0,682 ^{ab}	0,729 ^a	0,029	0,007
Eficiência Alimentar	0,41 ^b	0,417 ^b	0,522 ^a	0,513 ^{ab}	0,015	0,006
Período total desafio (D0 a D28)						
CDR, kg dia ⁻¹	1,05	0,99	1,06	1,17	0,046	0,255
GPD, kg dia ⁻¹	0,408 ^{ab}	0,398 ^b	0,488 ^{ab}	0,534 ^a	0,025	0,032
Eficiência Alimentar	0,391	0,350	0,453	0,458	0,021	0,196

*A suplementação foi de 120% nas relações Trip:Lis, Tre:Lis e Met+Cis:Lis (AA+) acima da dos níveis recomendados pelo NRC (2012) e as dietas foram fornecidas antes e/ou durante o desafio sanitário.

**Tratamentos: Controle (suínos alimentados com dieta controle na creche e no desafio); Preventiva (suínos alimentados com dieta suplementada na creche e controle no desafio); Curativa (suínos alimentados com dieta controle na creche e suplementada no desafio); Continua (suínos alimentados com dieta suplementada na creche e suplementada no desafio).

***CDR = consumo diário de ração (kg dia⁻¹). GPD = ganho de peso diário (kg dia⁻¹)

****As médias com letras diferentes diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey.

7 Discussão

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da suplementação de uma combinação de aminoácidos funcionais (Tre, Trip e Met) fornecida pré-desafio (preventiva, durante a última semana da fase de creche) e/ou pós-desafio (curativa, durante a fase inicial de crescimento) no desempenho de suínos desafiados sanitariamente com condições precárias de alojamento e inoculados com *Salmonella* Typhimurium ao início da fase de crescimento.

Um efeito benéfico da suplementação extra de Tre pode estar associado ao auxílio da manutenção da função de barreira intestinal. A treonina é abundante nas mucinas que é um dos principais constituintes da barreira intestinal e das imunoglobulinas que atuam na defesa contra patógenos (MUNASINGHE *et al.*, 2017). A metionina suplementada pode ter sido utilizada como substrato para a geração de compostos envolvidos na resposta imune, como glutatona e proteínas de fase aguda (LITVAK., *et al* 2013). Já a suplementação de triptofano pode ter ajudado no estresse oxidativo, um mecanismo associado a resposta inflamatória e a reduzir as concentrações plasmáticas de cortisol. (SHEN *et al.*, 2012; LE FLOC'H *et al.*, 2018).

Durante a semana de suplementação preventiva, antes do desafio, não houve efeito dos tratamentos no desempenho dos suínos. Isto confirma que as dietas foram adequadamente formuladas conforme o NRC (2012) para atender ou exceder os requisitos de nutrientes para essa faixa peso e que os animais não foram desafiados por algum fator não controlado antes do período planejado. Uma resposta semelhante foi observada por Rodrigues *et al.*, (2021b) ao suplementar leitões na fase de creche ($11,6 \pm 0,3$ kg PC) com 120% de Tre, Met e Trip durante 7 e 14 dias antes de um desafio com ST.

Os animais apresentaram aumento de temperatura retal e eliminação fecal de ST o que indica uma resposta aguda pelos animais frente ao modelo desafio imposto. O aumento de temperatura retal pós-desafio com ST está de acordo com a resposta observada em estudos de Rodrigues *et al.*, (2021b) & Wellington *et al.*, (2019) que avaliaram a temperatura retal em suínos pós-inoculação de *Salmonella* e relataram um aumento da temperatura após 24 horas pós-inoculação. A temperatura retal permaneceu elevada durante os sete primeiros dias, indicando uma resposta aguda ao desafio levando ao quadro de febre (RODRIGUES *et al.*, 2021b).

A eliminação fecal de ST e o aumento significativo da temperatura retal dos animais indica uma resposta aguda pelos animais frente ao modelo de desafio imposto e pode ser utilizada para a validação do mesmo. Rodrigues *et al.*, (2021a) também observaram em um

estudo com leitões desmamados que receberam suplementação de Tre, Met e Trip, independentemente do teor de proteína da dieta, desafiados com ST, eliminação até o sétimo dia após a inoculação. O mesmo foi observado por Wellington *et al.*, (2019) que suplementou treonina acima dos requisitos para suínos em crescimento desafiados com ST e alimentados com dietas de alta e baixa fibra, onde a temperatura aumentou após 24 horas após a inoculação de ST e que permaneceu elevada por 6 dias.

Diferente de Rodrigues *et al.*, (2021b), que suplementaram Tre, Met e Trip por 7 e/ou 14 dias pré-inoculação e por 7 dias após a inoculação com ST observaram melhora no desempenho de leitões, neste estudo foi observado melhora apenas a partir da terceira semana pós-desafio para os tratamentos que receberam a suplementação durante o período de desafio (forma curativa). A ausência de efeito da suplementação nas duas primeiras semanas pós-desafio pode ser um indicativo que o fornecimento extra de AA para suporte do sistema imune precisa de um período maior de tempo, evidenciando que o uso de aminoácidos funcionais pode ser usado de forma terapêutica.

Neste mesmo estudo Rodrigues *et al.*, (2021b) observou que o fornecimento de aminoácidos pode ter apoiado no desenvolvimento, com maiores valores de GPD e eficiência alimentar em suínos suplementados, o que pode ter auxiliado os animais a enfrentar o desafio e atenuar a redução no crescimento imposta pelo desafio sanitário. Esta diferença no desempenho, pode ser explicada por Rodrigues *et al.*, (2021b) devido a dose do patógeno utilizada de 1 mL contendo $2,15 \times 10^9$ UFC mL⁻¹ inoculados duas vezes num período de quatro horas em suínos suplementados com aminoácidos funcionais por um período de adaptação maior antes do desafio.

A melhoria no GPD durante a terceira semana após o desafio nos tratamentos que receberam a suplementação extra com AA funcionais em relação aos animais que somente foram suplementados de forma preventiva pode ser explicada pelo fato que a suplementação extra de aminoácidos pode ter auxiliado o sistema imunológico dos suínos. Animais desafiados podem utilizar os aminoácidos de crescimento para auxiliar no sistema imune. Estudos realizados por Rodrigues *et al.*, (2021a,b) observaram melhora do equilíbrio oxidante e aumento da resposta de crescimento em leitões que receberam um maior aporte (+120% dos requerimentos) dos AA Tre, Met, e Trip e desafiados com ST.

A suplementação utilizada de forma contínua com Tre, Met e Trip demonstrou ser mais efetiva no maior peso final dos animais (40,22 kg) do que a suplementação somente antes do desafio (preventiva). No período total avaliado o GPD foi maior nos suínos alimentados com a

suplementação contínua comparado a dieta preventiva, porém a eficiência alimentar foi igual entre os dois tratamentos. Isso pode ser explicado pelas funções desempenhadas pelos AA funcionais suplementados que são importantes para a manutenção da barreira intestinal e regulação da defesa antioxidante (LE FLOC'H *et al.*, 2018).

Os aminoácidos funcionais suplementados podem ter sido utilizados na manutenção do sistema imunológico, pois durante a ativação por patógenos, os nutrientes que antes eram direcionados para o crescimento são redirecionados para os processos de imunidade e resistência as doenças (KLASING & JOHNSTONE., 1991). Dessa forma, os aminoácidos funcionais são de extrema importância uma vez que podem ter desempenhado funções benéficas a condição de saúde dos animais, auxiliando na atenuação dos efeitos deletérios da condição de desafio sanitário.

No presente estudo foi observado que o tratamento preventivo se apresentou menos vantajoso, uma vez que, mesmo os animais que receberam a suplementação extra de AA no período pré-desafio não foram observados efeitos positivos cumulativos na fase subsequente. Dessa forma, para este modelo de desafio a suplementação de forma preventiva não foi suficiente para atenuar os efeitos do desafio, sendo menos eficiente que o tratamento contínuo. Portanto, no estudo atual foram fornecidos Tre, Met+Cis e Trip, 120% acima das recomendações do NRC (2012) em diferentes períodos, antes e/ou depois do desafio, e foi observado que a suplementação dietética durante todo o período experimental (tratamento contínuo) se apresenta como uma estratégia capaz de atenuar o impacto negativo do desafio no desempenho comparada a suplementação de forma preventiva que não teve o mesmo efeito.

8 Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a suplementação de aminoácidos funcionais (Tre, Met e Trip) 20% acima das recomendações do NRC (2012) para suínos em crescimento desafiados com ST e alojados em condições precárias de higiene, pode ser uma estratégia valiosa para atenuar os efeitos negativos desse tipo de desafio. Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo evidenciaram que a suplementação extra de um *blend* dos aminoácidos funcionais (Tre, Trip e Met), fornecida durante todo o período experimental (contínua) se apresenta como uma estratégia capaz de atenuar o impacto negativo do desafio no desempenho comparada a realização da suplementação somente de forma preventiva a um momento de desafio sanitário.

9 Resumo

Quando os animais são submetidos a fatores estressantes uma indução da resposta imune pode ser esperada. Isso pode ser considerado um dos principais aspectos que contribuem para a variação de desempenho dos animais especialmente na fase inicial de crescimento. A ativação do sistema imune altera a demanda do aporte de aminoácidos (AA), sejam estes ingeridos via dieta ou metabolizados a partir dos tecidos musculares, principalmente para a síntese de proteínas de resposta imune. Nesse contexto, estratégias nutricionais aminoacídicas podem ser capazes de atenuar a redução de desempenho de animais submetidos a uma condição de desafio sanitário. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação extra de uma combinação dos AA funcionais Treonina (Tre), Metionina (Met) e Triptofano (Trip) de forma preventiva, pré-desafio (durante a última semana da fase de creche) ou curativa, pós-desafio (durante a fase inicial de crescimento) sobre o desempenho de suínos na fase de crescimento desafiados com *Salmonella* Typhimurium com condições precárias de alojamento. Foram utilizados 60 leitões macho inteiros com 68 dias de idade (21,5 kg de peso inicial). Uma semana antes do desafio um grupo de leitões (n=30) foi alimentado com uma dieta controle, enquanto o outro grupo (n=30) recebeu uma dieta com suplementação extra de 20% nas relações Trip:Lis, Tre:Lis e Met+Cis:Lis. No D0 todos os animais foram inoculados com *Salmonella* Typhimurium e espalhado no galpão fezes de outra granja e os suínos foram distribuídos em blocos casualizados de acordo com o peso em quatro tratamentos: leitões alimentados com a dieta controle foram mantidos com a dieta controle (tratamento controle, n=15); outro grupo que foi alimentado com a dieta controle e passou a receber a dieta suplementada durante o período de desafio (tratamento curativo, n=15); no terceiro grupo, os leitões foram alimentados com a dieta suplementada e depois receberam a dieta controle (tratamento preventivo, n=15), e o último grupo foi mantido com a dieta suplementada (tratamento contínuo, n=15) no período de final de creche e de crescimento. O animal foi considerado como unidade experimental. As dietas foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais recomendadas pelo NRC (2012). O experimento teve duração de 28 dias. As variáveis estudadas foram consumo de ração, ganho de peso diário, eficiência alimentar, eliminação de ST e temperatura retal. No final do período experimental os resultados obtidos evidenciaram que a suplementação extra de Tre, Trip e Met, fornecida durante todo o período experimental (contínua) se apresenta como uma estratégia capaz de atenuar o impacto negativo do desafio no desempenho comparada a suplementação de forma preventiva que não teve o mesmo efeito.

Palavras-chave: aminoácidos, desafio imune, estado de saúde, nutrição, sanidade.

10 Abstract

When animals are subjected to stressful factors, an induction of the immune response can be expected. This can be considered one of the main aspects that contribute to the performance variation of the animals, especially in the initial phase of growth. The activation of the immune system alters the demand for the supply of amino acids (AA), whether ingested via the diet or metabolized from muscle tissues, mainly for the synthesis of immune response proteins. In this context, amino acid nutritional strategies may be able to attenuate the performance reduction of animals submitted to a sanitary challenge condition. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of extra supplementation of a combination of the functional AAs Threonine, Methionine and Tryptophan in a preventive, pre-challenge (during the last week of the daycare phase) or curative, post-challenge (during the initial phase of growth) on the performance of pigs in the growth phase challenged with *Salmonella Typhimurium* with poor housing conditions. Sixty male piglets aged 68 days (21.5 kg of initial weight) were used. One week before the challenge, one group of piglets (n=30) was fed a control diet, while the other group (n=30) received a diet with an extra 20% supplementation in the Trip:Lys, Tre:Lys and Met ratios. +Cis:Lis. On D0, all animals were inoculated with *Salmonella Typhimurium* and feces from another farm were spread in the shed and the pigs were distributed in randomized blocks according to weight in four treatments: piglets fed the control diet were kept on the control diet (control treatment, n=15); another group that was fed the control diet and started to receive the supplemented diet during the challenge period (curative treatment, n=15); in the third group, the piglets were fed the supplemented diet and then received the control diet (preventive treatment, n=15), and the last group was maintained on the supplemented diet (continuous treatment, n=15) at the end of daycare and growth. The animal was considered as an experimental unit. The diets were formulated according to the nutritional requirements recommended by the NRC (2012). The experiment lasted 28 days. The variables studied were feed intake, daily weight gain, feed efficiency, ST elimination and rectal temperature. At the end of the experimental period, the results obtained showed that the extra supplementation of Tre, Trip and Met, provided throughout the experimental period (continuous) is presented as a strategy capable of mitigating the negative impact of the challenge on performance compared to supplementation in a preventive way, which did not have the same effect.

Keywords: amino acids, health status, immune challenge, nutrition, sanity.

11 Referências Bibliográficas

- ABPA- Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual das Estatísticas da produção de suínos 2021**. São Paulo, 2022. Disponível em: <http://abpa-br.org/mercados/>. Acesso em: 16. agosto.2022.
- BACCARO, M.R.; MORENO, M.A.; SHINYA, T.L.; DOTTO, D.S. Identification of bacterial agents of enteric diseases by multiplex PCR in growing-finishing pigs. **Brazilian Journal Microbiology**, v.34, p.225-229, 2003.
- BAKER, D.H. Partitioning of nutrients for growth and other metabolic functions. **Poultry Science**, v.70, p. 1797-1805, 1991.
- BERTSCHINGER, H.U.; FAIRBROTHER, J.M. Escherichia coli Infections. In: STRAW, B.E. et al. (Eds.). **Diseases of Swine**. Ames, Iowa: Iowa State University, Cap.32, p.431-457,1999.
- BLACK, J.L; BRAY, H.J.; GILES L.R. The termal and infectious environment. **CAB Internacional**, Wallingford, p. 71-97,1999.
- BUNCHASAK, C. T. Role of Dietary Methionine in Poultry Production. **Poultry Science**, v. 46, p. 169-179, 2009.
- BUSSER, E.V.D.; ZUTTER, L.D.; DEWULF, J.; HOUF, K.; MAES, D. *Salmonella* control in live pigs at slaughter. **The Veterinary Journal**, v.196, p.20-27, 2013.
- CALDER, P. C. Immunonutrition: May have beneficial effects in surgical patients. **British Medical Group Journals**, v. 19, p. 117–118, 2003.
- CAMPOS, P.H.R. F.; LE FLOC'H, N. L.; NOBLET, J.; RENAUDEAU, D. Physiological responses of growing pigs to high ambiente temperature and/or inflammatory challenges. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, p.6, 2017.
- CERON, M. S.; OLIVEIRA, V.; QUADROS, A. B.; GEWEHR, C. E.; ROCHA, L, T.; ALVES, D. Efficiency of threonine utilization in the growing pigs. **Revista MVZ Córdoba** vol.21, n.1, 2016.
- CHALVON-DEMERSAY, T. Functional Amino Acids in Pigs and Chickens: Implication for Gut Health. **Frontiers in veterinary science**, v.8 p, 663727, 2021, doi:10.3389/fvets.2021.663727
- CHATELET, A.; GONDRET, F.; MERLOT, E.; GILBERT, H.; FRIGGENS, N. C.; LE FLOC'H, N. Impact of hygiene of housing conditions on performance and health of two pig genetic lines divergent for residual feed intake. **Journal of Animal Science**, v.12, p. 350-358, 2017.
- CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA (NRC). Exigências nutricionais de suínos. 11ª rev. ed. **National Academies Press**, 2012.
- CORREA-MATOS, N. J.; DONOVAN, S. M.; ISAACSON, R.E.; GASKINS, H. R.; WHITE, B.A.; TAPPENDEN, K.A. Fermentable fiber reduces recovery time and improves intestinal

function in piglets following *Salmonella typhimurium* infection. **Journal of Animal Science**, v. 6, p.1845-52, 2003.

DE RIDDER, K.; LEVESQUE, C. L.; HTOO, J. K.; DE LANGE, C. F. M. Immune system stimulation reduces the efficiency of tryptophan utilization for body protein deposition in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3485–3491, 2012.

GAVIOLI, D, F; OLIVEIRA, E, R; SILVA, A; ROMERO, N, C ; LOZANO, A, P ; MONTEIRO, R, A; BRIDI, A, M; OBA, A; SILVA, C, A. Efeito de promotores de crescimento para suínos sobre o desempenho zootécnico, a qualidade intestinal e a ciência da biodigestão dos dejetos. *Ciências Agrárias*, v. 34, p. 3983-3998, 2013.

GEBRU, E.; LEE, J. S.; SON, J. C.; YANG, S. Y.; SHIN, S. A.; KIM, B.; KIM, M .K.; PARK, S.C. Effect of probiotic, bacteriophage, or organic acid-supplemented feeds or fermented soybean meal on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigs challenged with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3880–3886, 2010.

GONÇALVES, J.L.; YAOCHITE, J.U.N.; QUEIROZ, C.A.A.; CÂMARA, C.C.; ORIÁ, R.B. Bases do sistema imunológico associado à mucosa intestinal. **Sistema digestório: integração básico-clínica**, c.15,2016.

GOTO, Y. H.; MURAKAMI, H. S. Initiating translation with D-amino acids. **RNA journal**, v.14, p. 1390-1398, 2008.

GREY, J.T.; FEDORKA-CRAY, P.J.; STABEL, T.J.; THEODORE, E.T. Natural transmission of *Salmonella choleraesuis* in swine. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 141–146, 1996.

GRIMBLE, R.F. Sulphur amino acids, glutathione and immune function. **Frontiers of nutrition**, v. 1, p. 133-150, 2002.

GUZIK, A.C.; PETTT, M.J.; BELTRANENA, E. Threonine and tryptophan ratios fed to nursery pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.89, p.297-302. 2005.

HECK, A. Factors that influence the development of growing and finishing pigs. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, p.211-218, 2009.

HEEGAARD, P.M.H.; STOCKMARR, A.; PIÑEIRO, M.; CARPINTERO, R.; LAMPREAVE, F.; CAMPBELL, F.M.; ECKERSALL, D. P; TOUSSAINT, M.J.M.; SORENSEN, S.N. Optimal combinations of acute phase proteins for detecting infectious disease in pigs. **Veterinary Research**, v. 42, p. 1-13,2011.

HTOO, J.; WILTAFSKY, M. K. Roles, metabolism y antagonismos de aminoacidos de cadena ramificada en la nutrición animal. **Amino News**, v. 16, n. 1, p. 25-32, 2011.

ISOLA, R. D. G. **Resposta individual a ingestão de treonina para suínos em fase de crescimento**. Tese (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Ciências agrarias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, p. 9, 2015.

JACOBSON, M.; GERTH, L.M.; HOLMGREN, N.; LUNDEHEIM, N.; FELLSTRÖM, C. The prevalences of *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in Swedish piglet producing herds and wild boar population. **Journal of Veterinary Medicine**, v.52, p. 386-391, 2005.

JANKOWSKI, J. M.; KUBIŃSKA, E. Z. Nutritional and immunomodulatory function of methionine in poultry diets– a review. **Annals of Animal Science**, v.14, no.1, p.17-32, 2014.

JOHNSON, R.W.; ESCOBAR, J.; WEBEL, D.M. Nutrition and Immunology of Swine. In: Lewis A.J.; Southern L.L. (Eds) **Swine Nutrition**. Nebraska: CRC Press, p.545-562, 2001.

JOHNSON, R. W. Fueling the immune response: what's the cost. In: Feed efficiency in swine. **Wageningen Academic Publishers**, Wageningen, p.211-223,2012.

JOHNSON, R. W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1244-1255, 1997.

KICH, J. D.; MENEGGUZZI, M.; REICHEN, C. Salmonelose clínica em suínos no Brasil: diagnóstico e controle. In: **Anais do 10º Simpósio Internacional de Suinocultura** p. 153-166, 2017.

KICH, J.D.; CARDOSO, M. Salmonelose In: SOBESTIANSKY, Y.; BARCELLOS, D. **Doenças dos suínos**. Goiânia: Canône Editorial, p.257-264, 2012.

KICH, J.D.; COLDEBELLA, A.; MORÉS, N.; NOGUEIRA, M.G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P.M.; CALL, J.E.; FEDORKA-CRAY, P.; LUCHANSKY, J.B. Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v.151, p.307-313, 2011.

KIDD, M. T.; KERR, B. J. L-Threonine for poultry: a review. **The Journal of Applied Poultry Science**, v. 5, n. 4, p. 358-567, 1996.

KIM, S. W.; MATEO, R. D.; YIN, Y. L.; WU, G. Functional amino acids, and fatty acids for enhancing production performance of sows and piglets. **Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 2, p. 295-306, 2007.

KLASING.; JOHNSTONE. Monokines in growth and development. **Poult Science**, v.70, p. 1781-1789,1991.

KYRIAZAKIS, I.; HOUDIJK, J.G.M. Food intake and performance of pigs during health, disease and recovery. **62nd Easter School in the Agricultural and Food Sciences** (ed. J. Wiseman, M.A. Varley, S. Mc Orist and B. Kemp), p.493-513, 2007.

LANTMANN, T.L.; SIMONETTI, T.; KINDLEIN, L.; MELLO, J.R.B. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp. em suínos: **Revisão. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 29611225777, 2022.

LE FLOC'H, N.; MELCHIOR, D.; OBLED, C. Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. **Livestock Production Science**, v.87, p.37-45, 2004.

LE FLOC'H, N.; WESSELS, A.; CORRENT, E.; WU, G.; BOSI, P. The relevance of functional amino acids to support the health of growing pigs. **Livestock Production Science**, v.245, p.104-116, 2018.

LE FLOC'H, N.; OTTEN, W.; MERLOT, E. Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. **Amino Acid**, v. 41, p. 1195 -205,2011.

LE FLOC'H, N.; MELCHIOR, D.; OBLED, C. Dietary tryptophan helps to preserve tryptophan homeostasis in pigs suffering from lung inflammation. **Journal of Animal Science**, v.12, p. 3473,2008).

LI, D. F.; XIAO, C. T.; QIAO, S. Y.; ZHANG, J. H.; JOHNSON, E. W.; THACKER, P. A. Effects of dietary threonine on performance, plasma parameters and immune function of growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 78, n. 3, p. 179-188, 1999.

LI, D.F.; XIAO, C.T.; QIAO, S.Y.; ZHANG, J.H.; JOHNSON, E.W.; THACKER, P. A. Effects of dietary threonine on performance, plasma parameters and immune function of growing pigs. **Animal Feed Science Technological**, v.78, p.179-188, 1999.

LI, Y.Z.; KERR, B.J.; KIDD, M.T.; GONYOU, H.W. Use of supplementary tryptophan to modify the behavior of pigs. **Journal of Animal Science**, v.84, p.212-220, 2006.

LIANG, H.; DAI, Z.; LIU, N.; JI, Y.; CHEN, J.; ZHANG, Y.; YANG, Y.; LI, J.; WU, Z.; WU, G. Dietary L-Tryptophan modulates the structural and functional composition of the intestinal microbiome in weaned piglets. **Frontiers in Microbiology**, v.9, p.1736, 2018.

LIMA, A.L.; RODRIGUES, D.P.; ARAÚJO, M.S.; REIS, E.M.F.; FESTIVO, M.L.; RODRIGUES, E.C.P.; LÁZARO, N.S. Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella spp.* isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, p.39-47, 2016.

LIMA, A.; RODRIGUES, F. A.P; PRATA, M. M. G; MEDEIROS, P. H. Fisiologia da Barreira Epitelial Intestinal. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**, v.18, p. 441 -478, 2016.

LITVAK, N.; RAKHSHANDEH, A.; HTOO, J. K.; DE LANGE, C. F. M. Immune system stimulation increases the optimal dietary methionine to methionine plus cysteine ratio in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.91, p. 4188-4196, 2013.

LOUGHMILLER, J. A.; GOODBAND, R. D.; TOKACH, M. D.; NELSSSEN, J. L.; SMITH, I.J. W.; BERGSTROM, J.R. Evaluation of the sulfur amino acid requirement of finishing pigs. **Swine Day**, p. 130-132, 1996.

LUO.; LEVINE. Methionine in proteins defends Against oxidative stress. **FASEB Journal**, v. 23, p. 464-472 ,2008.

MACHADO, G. B.; MOURA, S. V.; FORTES, T. P.; FELIX, S.R.; TIMM, C.D.; SILVA, E.F. Impact of salmonellosis on pork meat industry and its implications on public health. **Arquivo Instituto Biológico**, v.83, p. 1-5, 2016.

MACHADO, G.B.; MOURA, S.V.; FORTES, T.P.; FELIZ, S.R.; TIMM, C.D.; SILVA, E.F. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivo Instituto Biológico**, v.83, p.1-5, 2016.

MARTINS, A. D. O.; MENDONÇA, R. C. S.; MARTINS, M. C. BENEVENUTO, W. C. A. N. *Salmonella* sp em suínos alimentados com probiótico e promotores de crescimento. **Higiene Alimentar**, [S.L.], v. 31, n. 268/269, p. 111-115, 2017.

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

MC ORIST, S.; GEBHART, C.J. Porcine proliferative enteropathies. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Eds.). **Diseases of Swine**. 8. ed. Ames, Iowa: Iowa State University, p.521-534, 1999.

Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento/secretaria de defesa agropecuária. **Instrução normativa nº 1**, de 13 de janeiro de 2020. [s. L.: s. N.], 2020.

MUNASINGHE, L. L.; ROBSON, J. L.; SCOTT, V. H.; BRUNTON, J. A.; BERTOLO, R. F. Protein Synthesis in Mucin-Producing Tissues Is Conserved When Dietary Threonine Is Limiting in Piglets. **Journal of Nutrition**, v. 147, p. 202-210, 2017.

NICHOLS, N. L.; BERTOLO, R. F. Luminal threonine concentration acutely affects intestinal mucosal protein and mucin synthesis in piglets. **The Journal of Nutrition**, v.138, p.1298-1303, 2008.

NUNES, M.L.A. Physiological evaluation of heat stress in gestating sows under different housing systems in bedding and concrete floor. **Engenharia Agrícola**, v. 34, p. 1, 2016.

OLIVEIRA, S.D.; FLORES, F.S.; SANTOS, L.R.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. **International Journal of Food Microbiology**, v.97, n.3, p.297-305, 2005.

PASQUETTI, T. J. **Triptofano para leitões e sua relação com a lisina na fase inicial**. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, p 18, 2014.

PASTORELLI, H.; MILGEN, J. V.; LOVATTO, P.; MONTAGNEL, L. Meta-analysis of feed intake and growth responses of growing pigs after a sanitary challenge. **The International Journal of Animal Bioscience**, v.6, p.952-96, 2012.

PLATTEN, M.; HO, P. P.; YOUSSEF, S.; FONTOURA, P. Treatment of autoimmune neuroinflammation with a synthetic tryptophan metabolite. **Science**, v. 310, n. 5749, p. 850-855, 2005.

RAKSHANDEH, A.; DE LANGE, C.F.M. Immune system stimulation in the pig: effect on performance and implications for amino acid nutrition. **Handling of pig production**, v. 13, p.31, 2011.

REEDS, P. J.; FJELD C. R.; FJELD F. Do the differences between the amino acid compositions of acute-phase and muscle proteins have a bearing on nitrogen loss in traumatic states. **Journal of Nutrition**, v.124, p.906–910, 1994.

RENAUDEAU, D. Impact of single or repeated short-term heat challenges mimicking summer heat waves on thermoregulatory responses and performances in finishing pigs. **Translational Animal Science**, v. 4, ed. 4, 2020.

RODRIGUES, L. A.; WELLINGTON, M. O.; GONZÁLEZ-VEGA, J. C.; HTOO, J. K.; VAN KESSEL, A. G.; COLUMBUS, D. A. Functional amino acid supplementation, regardless of dietary protein content, improves growth performance and immune status of weaned pigs challenged with *Salmonella* Typhimurium. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 99, n. 2, 2021. a.

RODRIGUES, L. A.; WELLINGTON, M. O.; GONZÁLEZ-VEGA, J. C.; HTOO, J. K.; VAN KESSEL, A. G.; COLUMBUS, D. A. A longer adaptation period to a functional amino acid-supplemented diet improves growth performance and immune status of *Salmonella* Typhimurium-challenged pigs. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 99, n. 5, p. skab146, 2021. b.

ROSS, J. W.; HALE, B. J.; GABLER, N. K.; RODAS, P. R.; KEATING, A. F.; BAUMGARD, L. E. Physiological consequences of heat stress in swine. **Animal Production Science**, v.55, p.1381-1390,2015.

SALDANA, C.I.; KNABE, D.A.; OWEN, K.Q. Digestible threonine requirements of starter and finisher pigs. **Journal of Animal Science**, v.72, n.1, p.144-150, 1994.

SCHWARTZ, K.J. Salmonellosis. In: STRAW, B.E. et al. (Eds.). **Diseases of swine**. 8.ed. Ames, Iowa: Iowa State University, Cap.39, p.535-551, 1999.

SCHWERING, V.P. P; KOOPMANS, S. J; JANSMAN, A.J.M.Amino acid requirements in relation to health status in growing and finishing pigs. Wageningen, v. 1168, 2019.

SHEN, Y.; BIN, V.G.; KIM, J.D.; ODLE, J.; KIM, S.W. Effects of increasing tryptophan intake on growth and physiological changes in nursery pigs. **Journal Animal Science**, v. 90, p. 2264-2275.2012.

SILVA, V.K.; DELLA TORRE DA SILVA, J.; TORRES, K.A.A.; DE FARIA FILHO, D.E.; HADA, F.H.; DE MORAES, V.M.B. Humoral immune response of broilers fed diets containing yeast extract and prebiotics in the prestarter phase and raised at different temperatures. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18. p.530-540, 2009.

SONGER, J.G.; UZAL, F.A. Clostridial enteric infections in pigs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17, n.6, p.528-536, 2005.

STEGE, H. Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.46, p.279-292, 2000.

SUENAGA, R.; TOMONAGA, S.; YAMANE, H. Intracerebroventricular injection of L-arginine induces sedative and hypnotic effects under an acute stress in neonatal chicks. **Amino Acids**, v. 35, p.139-146, 2008.

SUH, D.K.; SONG, J.C. Prevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* in swine herds. **Journal Veterinary Science**, v.6, n.4, p.289-293, 2005.

VALE, M. M. **Caracterização e previsão de ondas de calor com impacto na mortalidade de frangos de corte**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). 101f, 2008, FEAGRI, Faculdade de Engenharia Agrícola, UNICAMP, Campinas, SP: [s.n.], 2008.

VAN DER MEER, Y.; LAMMERS, A.; JANSMAN, A. J.; RIJNEN, M. M.; HENDRIKS, W. H.; GERRITS, W. J. Performance of pigs kept under different sanitary conditions affected by protein intake and amino acid supplementation. **Journal Animal Science**, v. 94. p. 4704-4719, 2016.

VANUCCI, F. A.; GUEDES, R. M. C. Pathophysiology of swine diarrhea. **Ciência Rural**, v.39, p. 7, 2009.

VEDOVATO, K.; TREVIZAN, A. R.; ZUCOLOTO, C. N.; BERNARDI, M. D. L.; ZANONI, J. N.; MARTINS, J. V. C. P. O eixo intestino cérebro e o papel da serotonina. **Arquivo Ciência Saúde Unipar**, v. 18 n. 1, p. 33-42, 2014.

WANG, X.; QIAO, S. Y.; LIU, M.; MA, Y. X. Effects of graded levels of true ileal digestible threonine on performance, serum parameters and immune function of 10–25 kg pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 129, n. 3-4, p. 264-278, 2006.

WELLINGTON, M. O.; AGYEKUM, A. K.; HAMONIC, K.; HTOO, J. K.; VAN KESSEL, A. G.; COLUMBUS, D. A. Effect of supplemental threonine above requirement on growth performance of *Salmonella typhimurium* challenged pigs fed high fiber diets¹. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 97, n. 9, p. 3636–3647, 2019.

WELLINGTON, M. O.; K.; HTOO, J. K.; KESSEL, A.G.V; A. G.; COLUMBUS, D. A. Impact of dietary fiber and immune system stimulation on threonine requirement for protein deposition in growing pigs. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 96, p. 5222-5232, 2018.

WILLIAMS N.H., STALY T.S. & ZIMMERMAN D.R. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency composition of growth, and lysine needs of pig feed from 6 to 27 kg. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2463, 1997.

WOLF, H. The Effect of Hormones and Vitamin B6 on Urinary Excretion of Metabolites of the Kynurenine Pathway. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, v. 33, p. 11-87, 1974.

WU, G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. **Advances in nutrition** (Bethesda, Md), v. 1, p. 31, 2010.

WU, G.; LI, P.; KIM, S. W. Amino acids and immune function. **The British journal of nutrition**, v. 98, p. 237-52, 2007.