

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

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE TREONINA,  
TRIPTOFANO E METIONINA SOBRE O DESEMPENHO E  
COMPOSIÇÃO CORPORAL DE SUÍNOS EM  
CRESCIMENTO DESAFIADOS COM *Salmonella*  
*Typhimurium* E ALOJADOS SOB MÁS CONDIÇÕES  
SANITÁRIAS**

Discente: Larissa Gonçalves Barbosa

Orientador: Prof. Dr. Luciano Hauschild

Coorientadora: MSc.Graziela Alves da Cunha Valini

Jaboticabal – SP

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

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE TREONINA, TRIPTOFANO E  
METIONINA SOBRE O DESEMPENHO E COMPOSIÇÃO  
CORPORAL DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO DESAFIADOS COM  
*Salmonella Typhimurium* E ALOJADOS SOB MÁS CONDIÇÕES  
SANITÁRIAS**

**Larissa Gonçalves Barbosa**

**Orientador: Prof. Dr. Luciano Hauschild**

**Coorientadora: MSc. Graziela Alves da Cunha Valini**

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

Jaboticabal – SP

10/2022

**FICHA CATALOGRÁFICA**

B238e	<p>Barbosa, Larissa Gonçalves</p> <p>Efeito da suplementação de treonina, triptofano e metionina sobre o desempenho e composição corporal de suínos em crescimento desafiados com <i>Salmonella Typhimurium</i> e alojados sob más condições sanitárias / Larissa Gonçalves Barbosa. -- Jaboticabal, 2022</p> <p>37 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>Coorientadora: Graziela Alves da Cunha Valini</p> <p>1. Aminoácidos na nutrição animal. 2. Sanidade. 3. Nutrição. 4. Suínos. 5. Desafio imune. 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.

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO: Zootecnia

## CERTIFICADO

### TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**TÍTULO:** EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE TREONINA, TRIPTOFANO E METIONINA SOBRE O DESEMPENHO E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO DESAFIADOS COM *Salmonella* Typhimurium E ALOJADOS SOB MÁIS CONDIÇÕES SANITÁRIAS

**ACADÊMICO:** Larissa Gonçalves Barbosa

**CURSO:** Zootecnia

**ORIENTADOR (ES):** Prof. Dr. Luciano Hauschild  
Me. Graziela Alves da Cunha Valini

**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:

	(Nomes)
<b>Presidente</b>	Me. Graziela Alves da Cunha Valini
<b>Membro</b>	Dra. Alini Mari Veira
<b>Membro</b>	Dra. Daniela Gomes da Silva

	(Assinaturas)

Jaboticabal 04 / 10 / 2022

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 04 / 10 / 2022

Chefe do Departamento

Prof. Dr. EDNEY PEREIRA DA SILVA  
Chefe do Departamento de Zootecnia  
Matrícula Nº 422823-6

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho em memória de meu pai, Vanderlei. Carrego seus ensinamentos em todas as minhas ações, e seu amor, em meu coração. Sem ele, eu não teria chegado até aqui. A ti te dedico, pai.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me permitiu chegar até aqui, com força e resiliência.

Ao meu pai, Vanderlei, que infelizmente partiu na metade da minha caminhada pela UNESP, mas que esteve presente o máximo que pôde, meu eterno amor.

À minha mãe, Sandra, mulher pela qual sou grata e serei eternamente, que esteve sempre presente, apoiando, escutando, direcionando, sempre pacientemente.

À minha irmã, Lenise, meu grande amor, a qual agradeço imensamente por tudo e à minha querida e teimosa vó, dona Nica, sempre presente. À Eduarda, amada. Ao Uislei, meu maior exemplo de dedicação e de zootecnista. E a todos da família que se preocuparam. Muito obrigada, amo demais vocês!

Ao professor Luciano, por todos estes anos de ensinamento, por acreditar em mim e por todas as oportunidades que me deu.

À minha coorientadora, Graziela, que desempenhou um papel muito além do designado, e seu tornou uma grande amiga, apoiando, escutando e auxiliando.

Ao LABSUI e seus membros, por terem me auxiliado e ensinado tanto, em especial ao Danilo e Diego, por toda orientação e ensinamentos. E ao José Antonio Segeci por todos os ensinamentos e risadas no setor, nestes quatro anos em que fiz estágio.

Ao SUINESP, grupo maravilhoso, por ter me permitido crescer e aprender tanto. E à Alícia, pelo convite e paciência, muito obrigada!

Aos meus irmãos de vida, Mariana e Willian, que dividiram comigo a casa, angústias, alegrias e tempestades durante a graduação, amo-os. E aos amigos, Adrian, Camila, Felipe (Secóia), Fernanda, Gabriel (Wats), Gabriela, Isabela Milla, Lunna, Luís Gustavo, Nathália (Mojito), Mikaella, Paulo (Dí-casa) e Victória, por todos estes desafiadores anos de faculdade. E à Andressa e Maria Izabel, que mesmo de longe, estiveram presentes.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo auxílio financeiro para desenvolvimento desta pesquisa - 2020/03497-7.

À Unesp-FCAV, por me dar a oportunidade de me tornar uma zootecnista. Espero devolver meus conhecimentos em prol da ciência e da população!

## Índice

<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Revisão da literatura.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Desafio sanitário.....</b>	<b>2</b>
<b>2.2 Suplementação de AAs e suas funções .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2.1 Treonina na imunidade .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2.2 Triptofano na imunidade.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2.3 Metionina na imunidade.....</b>	<b>6</b>
<b>3. Material e Métodos .....</b>	<b>7</b>
<b>3.1 Animais, instalações e delineamento experimental .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2 Desafio sanitário .....</b>	<b>8</b>
<b>3.3 Dietas experimentais .....</b>	<b>10</b>
<b>3.4 Coleta de dados.....</b>	<b>10</b>
<b>3.4.1 Variáveis fisiológicas.....</b>	<b>10</b>
<b>3.4.2 Desempenho e composição corporal.....</b>	<b>11</b>
<b>3.5 Análise estatística .....</b>	<b>13</b>
<b>4. Resultados .....</b>	<b>13</b>
<b>5. Discussão .....</b>	<b>19</b>
<b>5.1 Efeito da condição sanitária e suplementação dietética de Thr, Trp e Met sobre a temperatura retal e o escore fecal.....</b>	<b>19</b>
<b>5.2 Efeito da condição sanitária e suplementação de Thr, Trp e Met sobre o desempenho e composição corporal .....</b>	<b>20</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>22</b>
<b>7. Resumo .....</b>	<b>22</b>
<b>8. Summary.....</b>	<b>23</b>
<b>9. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>24</b>



## 1. Introdução

Nos últimos anos, houve a intensificação da produção de suínos no Brasil, a qual não foi totalmente acompanhada por altos investimentos em instalações, resultando em granjas com alta densidade de suínos por m<sup>2</sup> e uso das instalações sem correto manejo sanitário (ROJO-GIMENO *et al.*, 2016; CAMPOS *et al.*, 2017; RAUW *et al.*, 2020). Nestas condições, a intensificação da produção animal associada às condições climáticas (WELLOCK *et al.*, 2003) e o grau de higiene das instalações (WILLIAMS *et al.*, 1997), constantemente expõe os animais a diferentes condições de desafio sanitário devido à maior pressão patogênica (multiplicação e disseminação de microrganismos patogênicos; CAMPOS *et al.*, 2017).

Consequentemente, suínos alojados em um ambiente com más condições de higiene apresentam aumento da temperatura corporal (GEBRU *et al.*, 2010), piora da consistência das fezes (presença de diarreia; WELLINGTON *et al.*, 2019) e queda na produtividade (LE FLOC'H *et al.*, 2004), caracterizada pela redução no consumo de ração (LE FLOC'H *et al.*, 2018), ganho de peso (PASTORELLI *et al.*, 2012) e piora na eficiência alimentar (VAN DER MEER *et al.*, 2016), devido à ativação recorrente do sistema imunológico. Quando os suínos são submetidos às condições de desafio sanitário, há modificações fisiológicas, associadas aos processos de digestão e absorção, e metabólicas (eficiência de utilização de nutrientes; LE FLOC'H *et al.*, 2018) na tentativa de restaurar a homeostase corporal. Após a ativação do sistema imunológico, há o redirecionamento de nutrientes do crescimento para dar suporte à resposta imune (REEDS *et al.*, 1994; REEDS & JAHOOR, 2001). Essas alterações são desencadeadas com o propósito de aumentar a disponibilidade de nutrientes destinados à síntese de células imunes (LE FLOC'H *et al.*, 2004), como a proliferação e atividade de células de defesa, como os leucócitos (LI *et al.*, 2007), síntese de anticorpos e proteínas de fase aguda (APP) (REEDS *et al.*, 1994).

A redução na disponibilidade de aminoácidos (AAs) e outros nutrientes para o crescimento (síntese e deposição de proteína muscular) tem como consequência um efeito negativo para a lucratividade dos sistemas de produção de suínos. Nesse sentido, uma alternativa para minimizar os efeitos negativos dos desafios sanitários no desempenho dos animais, consiste na suplementação extra de AAs essenciais para a resposta imune (KIPPER *et al.*, 2011). Dentre esses AAs, destacam-se a treonina (Thr), o triptofano (Trp)

e a metionina (Met), que estão envolvidos na síntese de componentes do sistema imunológico como: anticorpos, APP, mucinas e substâncias antioxidantes (JANKOWSKI *et al.*, 2014; LE FLOC'H *et al.*, 2018).

A suplementação de Thr, Trp e Met, acima das recomendações do NRC (2012), tem sido utilizada como estratégia nutricional para atenuar os efeitos negativos dos desafios sanitários sobre o desempenho devido ao seu efeito funcional sobre a integridade da mucosa intestinal, a síntese de células imunes e sistema antioxidante e a composição corporal dos suínos (VAN DER MEER *et al.*, 2016; WELLINGTON *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2021). Suínos desafiados que receberam uma dieta suplementada com 120% nos níveis de Thr, Trp e Met recomendado pelo NRC (2012) apresentaram melhora no ganho de peso (+4%; WELLINGTON *et al.*, 2019), na eficiência alimentar (+8%; RODRIGUES *et al.*, 2021) e na composição de carcaça (+4%; VAN DER MEER *et al.*, 2016). Dessa forma, a suplementação dietética desses AAs representa uma estratégia nutricional para atenuar o impacto causado por um desafio sanitário para os suínos.

Entretanto, ainda há um número reduzido de estudos na fase de crescimento que avaliaram a suplementação de Thr, Trp e Met em conjunto como uma estratégia nutricional para suínos alojados em grupo, como observado nas granjas de suínos. Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da suplementação de AA funcionais (Thr, Trp e Met) durante um desafio sanitário (inoculação oral com *Salmonella* Typhimurium (ST) e má condição de higiene da instalação) sobre o desempenho e a composição corporal de suínos na fase de crescimento.

## **2. Revisão da literatura**

### **2.1 Desafio sanitário**

Muitos sistemas de produção de suínos possuem um número elevado de animais alojados e, muitas vezes, as condições de higiene são precárias, já que há uma falta de práticas de biossegurança, tais como a limpeza e retirada dos dejetos diariamente, limpeza dos calçados antes da entrada nas instalações e uso de roupas limpas (ALARCÓN *et al.*, 2021). Tais situações podem estimular uma resposta do sistema imunológico dos animais pela presença de microrganismos existentes em ambientes com baixa higiene, o que pode resultar na queda do desempenho e da utilização dos nutrientes da dieta, bem

como no aumento dos gases de efeito estufa (LE FLOC'H *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2017). Logo, a adoção de práticas de biossegurança é extremamente importante, pois, além de prevenirem doenças, prezam o bem-estar animal e garantem bons resultados econômicos (ALARCÓN *et al.*, 2021).

Normalmente, em ambientes com condições de higiene baixa e com infecções, mesmo que subclínicas, o organismo dos animais faz um redirecionamento do uso dos nutrientes. Assim, AAs que seriam utilizados para o crescimento ou produção são usados pelo sistema imunológico para produção e manutenção das células e tecidos que atuarão na defesa do organismo (LE FLOC'H *et al.*, 2004).

Ao ser ativado, o sistema imunológico produz as citocinas, secretadas pelos macrófagos, os quais são as primeiras células a serem ativadas quando há um tipo de desafio (JOHNSON, 1997). As principais citocinas que atuam são as interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), as quais desempenham papéis diversos, sendo a IL-6 a principal responsável pela indução da produção de APP no fígado e pela estimulação dos hepatócitos para a captação de AAs (JOHNSON, 1997). Já a IL-1 é capaz de produzir efeito anoréxico, e, juntamente com o TNF- $\alpha$ , pode causar febre nos animais e diminuição do apetite, além de processos que resultam na lipólise e proteólise (JÚNIOR *et al.*, 2013). Ainda, de acordo com Johnson (1997), por volta de 60% do AAs utilizados para a produção de proteínas advém da degradação de proteínas.

Assim, a ativação do sistema imunológico devido ao desafio sanitário reduz a taxa de crescimento, porém, essa redução não é causada totalmente pela redução no consumo da dieta, mas também pela modificação na eficiência alimentar (PASTORELLI *et al.*, 2012), ou seja, no uso dos nutrientes advindos da alimentação, resultando em redução do ganho de peso (VAN DER MEER *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2021).

Além disso, durante toda a fase produtiva, os suínos podem estar sujeitos a condições que afetam o consumo e o crescimento, e podem ser causadas por doenças resultantes da presença de vírus, bactérias e fungos, ou mesmo pela condição climática e de higiene do ambiente (PASTORELLI *et al.*, 2012). A infecção causada por *Salmonella* sp., por exemplo, é uma das doenças entéricas mais presentes na fase de crescimento e terminação no Brasil e a principal via de infecção é a fecal-oral (BARRACO *et al.*, 2003). As *Salmonella* sp. São caracterizadas como bacilos Gram-negativos, são as mais complexas bactérias dentro das enterobactérias (MACHADO *et al.*, 2016) e causam

doenças em animais e humanos. A transmissão aos humanos ocorre por meio de alimentos, dos quais, grande parte é de produtos que possuem origem animal (SCALLAN *et al.*, 2011). A salmonelose é uma das piores zoonoses, no ano de 2010 causou mais de 500 mortes e prejuízo de mais de US\$2 bilhões somente nos Estados Unidos (LI *et al.*, 2017).

Na suinocultura, a doença causa grandes problemas aos animais, como quadros clínicos de diarreia acompanhada de febre, redução da ingestão de alimentos, prostração, e, em casos mais extremos, óbito (LANTMANN *et al.*, 2022). No entanto, há poucos estudos que avaliaram seus efeitos no desempenho de suínos durante a fase de crescimento e, dessa forma, a inoculação de ST como parte do modelo de desafio sanitário para suínos em crescimento é de extrema importância tanto para a suinocultura industrial como para a ciência. Para tanto, estudos têm sido realizados para avaliar a suplementação de aminoácidos funcionais a fim de auxiliar na manutenção da mucosa intestinal de animais frente a desafios para que possam manter o desempenho e integridade intestinal.

## **2.2 Suplementação de AAs e suas funções**

Para dar suporte ao sistema imunológico ativado, ocorre o redirecionamento dos AAs de funções, como o crescimento, para células de defesa (LE FLOC'H *et al.*, 2004), pela diferenciação da demanda por AAs, uma vez que o perfil de AAs para a síntese proteica é diferente daquele usado para a síntese de proteínas imunes (SCHWERING *et al.*, 2019). Estudos têm sido realizados para avaliar como a suplementação de alguns AAs auxilia os animais em períodos de desafio.

Os AAs funcionais são aqueles que participam e atuam ao regular o metabolismo para promover saúde, manutenção, crescimento, lactação e demais funções no organismo (WU, 2010; LE FLOC'H *et al.*, 2018), e, para tanto, têm sido utilizados para auxiliar na manutenção de animais, como leitões e frangos de corte, frente a desafios, para que possam manter o desempenho e integridade intestinal (CHALVON-DERMESAY *et al.*, 2021). Van der Meer *et al.* (2016) avaliaram como a suplementação de AAs funcionais (Thr, Trp e Met), 20% acima do recomendado auxiliaria no desempenho de suínos na fase de creche criados sob diferentes condições sanitárias. Aqueles que receberam a dieta suplementada e estavam sob baixas condições sanitárias tiveram melhora na eficiência alimentar, o que ilustrou que as necessidades dietéticas para esses AAs são afetadas pelas

condições sanitárias, e que a suplementação conjunta destes três AAs dá suporte ao sistema imunológico.

### **2.2.1 Treonina na imunidade**

A Thr é um AA essencial para os suínos, cujo metabolismo é elevado no intestino (HAMARD *et al.*, 2007), pela sua atuação na síntese de imunoglobulinas (IgA) e por ser o principal AA que compõe as proteínas que são produzidas no intestino, como as mucinas (CERÓN *et al.*, 2016; GENOVA *et al.*, 2017) e, assim, contribui para a formação da defesa do epitélio intestinal. Desse modo, a suplementação de Thr em ambiente sanitariamente desafiador pode contribuir para a manutenção da funcionalidade intestinal (RUTH & FIELD, 2013), prevenindo a ligação microbiana à superfície da mucosa, e a ativação do sistema imunológico.

Para avaliar se a suplementação de Thr teria efeito na morfologia do intestino delgado e na resposta imune de leitões desmamados e desafiados com *Escherichia coli* K8, Ren *et al.* (2014) forneceram níveis a 50, 100 e 150% de Thr recomendados pelo NRC (2012) e observaram que no intestino, a suplementação de Thr a 150% aumentou a secreção de IgM e muco, o que demonstra a importância desse AA na resposta imune.

Ademais, maiores aportes dietéticos de Thr têm demonstrado melhores resultados de desempenho em suínos submetidos a diferentes tipos de desafio. Animais em crescimento e terminação mantidos em más condições sanitárias ou submetidos a desafio por ST apresentaram melhora na eficiência alimentar quando alimentados com dieta de maior nível de AA (+ 10% nos níveis de Thr; JAYARAMAN *et al.*, 2015) e no ganho de peso (+ 20% no nível de Thr; WELLINGTON *et al.*, 2019), respectivamente.

### **2.2.2 Triptofano na imunidade**

O Trp é um AA essencial e se encontra nos tecidos e no plasma (LE FLOC'H *et al.*, 2004). Além disso, é um dos precursores da quinurerina, um composto que atua na resposta imune, a qual é formada através da degradação do Trp pela ação de uma enzima conhecida como IDO (indoleamina 2,3-dioxigenase) (LE FLOC'H *et al.*, 2011). O catabolismo do Trp, pela ação da IDO é necessária para a melhor resposta do sistema imune (BADAWY *et al.*, 2016), devido à regulação da proliferação de células T e tolerância imunológica (LE FLOC'H *et al.*, 2018).

Leitões desmamados desafiados com diquat, um herbicida, tiveram maior estresse oxidativo, queda do Trp no plasma e aumento da quinurerina (LV *et al.*, 2011). De acordo com Le Floch *et al.* (2018), todas essas mudanças no metabolismo do Trp provavelmente mudam a disponibilidade deste AA para o crescimento dos animais. Além disso, o Trp é precursor da serotonina, a qual é um neurotransmissor capaz de influenciar na ingestão de alimentos, e inibir a produção de metabólitos do sistema imune, como as citocinas, e ainda é um precursor da melatonina, que tem capacidade antioxidante e inibe a produção de citocinas (WU, 2009).

Como exemplo, Liang *et al.* (2018) avaliaram a suplementação com Trp a níveis de 0%, 0,2% e 0,4% acima do recomendado pelo NRC (2012) para suínos desmamados e observaram que houve melhora no ganho de peso diário e no consumo de ração diária pelos animais que receberam as dietas de 0,2% e 0,4%, além de uma maior diversificação da composição microbiana intestinal. Adicionalmente, os animais tiveram maior integridade da mucosa intestinal e redução de citocinas, o que indica que a suplementação deste AA resulta na melhora no desempenho físico e fisiológico dos suínos.

### **2.2.3 Metionina na imunidade**

A Met também é um AA essencial para os suínos, e desempenha papéis muito importantes além da síntese de proteínas musculares (início da tradução de proteínas). Ela é doadora de grupos metil e provê enxofre a muitas reações metabólicas. Além disso, este AA é muito importante para o metabolismo de outros AA sulfurados e seus produtos, como a cistina e a glutatona (YANG *et al.*, 2020), potente antioxidante endógeno, e é um precursor para a síntese de poliaminas, auxiliando na proliferação celular e de linfócitos quando há algum tipo de desafio (DWYER, 1979; WU *et al.*, 2004).

No estudo de Le Floch *et al.* (2006), uma diminuição na concentração plasmática de AAs sulfurados e de glutatona foi observada em leitões desmamados submetidos a más condições de higiene de alojamento, o que indica maior demanda desse AA. Dessa forma, a suplementação de Met pode auxiliar na manutenção da integridade de mucosa, através da proliferação celular e aumento do tamanho dos vilos, bem como reduzir o estresse oxidativo e auxiliar na produção da glutatona (LIAO, 2021)

Por outro lado, Liu *et al.* (2022) avaliaram a suplementação de Met a 25% acima do nível recomendado pelo NRC (2012) para matrizes e suas leitegadas desafiados com

LPS. A suplementação dietética materna e neonatal de Met possibilitou a melhora na capacidade dos leitões de resistir à lesão hepática e no baço induzida por LPS.

Diante do exposto, dada a escassez de estudos sobre a suplementação destes AAs além da exigência para suínos em crescimentos alojados em grupo sob condições de desafio, objetivou-se com o presente experimento avaliar o efeito da suplementação de AA funcionais (Thr, Trp e Met) durante um desafio sanitário (inoculação oral com *ST* e má condição de higiene da instalação) sobre o desempenho e a composição corporal de suínos na fase de crescimento.

### **3. Material e Métodos**

O estudo foi conduzido no Laboratório de Estudos em Suinocultura (LABSUI) do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP/ FCAV, Câmpus de Jaboticabal/SP). Todos os procedimentos experimentais seguiram os princípios éticos em pesquisa animal (CONCEA, 2020) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNESP/ FCAV (protocolo n. 4784/20).

#### **3.1 Animais, instalações e delineamento experimental**

Foram utilizadas 120 fêmeas suínas (Pietran x [Large White x Landrace]), com peso corporal (PC) inicial de  $25,4 \pm 3,7$  kg. Os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial  $2 \times 2$ : duas condições sanitárias (CS; boa e ruim) e duas dietas (controle, CN; e suplementada, AA+), e cada tratamento foi composto por 30 animais ( $n=30$ ). Os blocos foram formados de acordo com o peso inicial dos animais e a unidade experimental foi composta por um animal. Os suínos foram alojados em dois galpões de crescimento e terminação (60 animais/galpão), com piso de concreto ( $1,58 \text{ m}^2/\text{animal}$ ) e temperatura controlada por um sistema de resfriamento tipo *pad cooling* ( $24^\circ\text{C} \pm 2^\circ \text{C}$ ), durante 28 dias. Ambos os galpões foram equipados com quatro alimentadores de precisão automatizados e inteligentes (Automatic Intelligent Precision Feeders, AIPF; Universidade de Lleida, Lleida, Espanha) e sete bebedouros tipo chupeta que permitiram acesso *ad libitum* à ração e água, respectivamente (Figura 1).

Todos os animais receberam um transponder (Allflex, Joinville, SC, Brasil) fixado na orelha, e foram alocados nos galpões experimentais 14 dias antes do início do experimento para adaptação aos AIPFs e receberam uma dieta formulada com base no NRC (2012) para fêmeas de 15 a 25 kg. Os AIPFs foram previamente descritos por (ANDRETTA *et al.*, 2014) e, basicamente, consistiram em alimentadores automáticos de precisão, capazes de comportar até quatro tipos de dietas, e misturá-las para fornecer a ração destinada a cada animal, uma vez que eles foram equipados com um sensor que identificou o transponder preso à orelha do suíno, forneceu a dieta correspondente ao tratamento do qual o animal fez parte, e registrou a quantidade de ração consumida. O uso dos AIPFs permitiu que os animais fossem alojados em grupo e, concomitantemente, recebessem diferentes dietas experimentais.



**Figura 1.** Fêmeas no galpão sob condição sanitária boa e fêmeas sob condição sanitária ruim, respectivamente.

### 3.2 Desafio sanitário

Durante o período de adaptação, antes da inoculação com ST, suabes retais individuais foram colhidos para detecção da presença fecal de *Salmonella* sp, para garantir que os animais estavam livres de ST antes da inoculação. As amostras de conteúdo retal foram diluídas em solução PBS (Phosphate Buffered Saline; 1:10). Em seguida, foi adicionado igual volume de caldo Rappaport-Vassiliadis (código CM0669, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra), preparado em dupla concentração. As amostras foram incubadas a 37° C por 24h. Posteriormente, as amostras foram plaqueadas em ágar verde brilhante (código CM0263, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) e incubadas a 37° C por 24h. Todas as fêmeas foram negativas para excreção de *Salmonella* sp.



Para simular as condições sanitárias estudadas, foram utilizadas as metodologias propostas por Le Floc'h *et al.* (2006) e Li *et al.* (2017), com algumas adaptações. Na CS boa, os suínos foram mantidos em condição ideal de alojamento com rígido controle de biossegurança, que compreendeu limpeza diária e pulverização semanal com desinfetante (1:200, Virkon, Inovet, RJ) na instalação. Ademais, os membros da equipe foram instruídos a usar roupas limpas e realizar a higienização das botas com uma solução de água sanitária (1:10) antes de entrar no galpão.

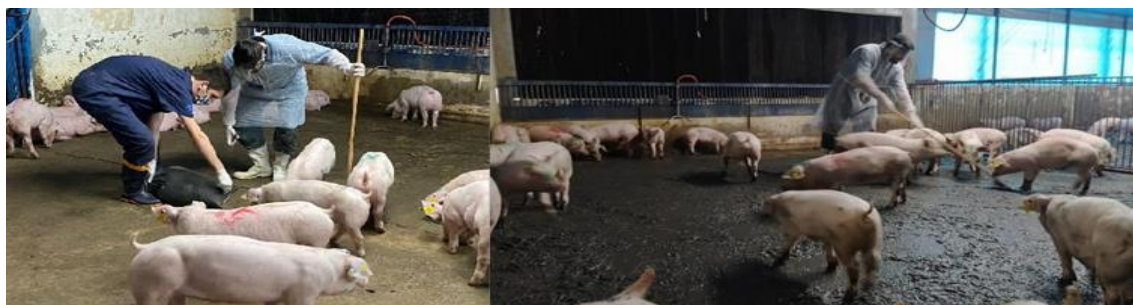
Por outro lado, na CS ruim, no início da fase experimental, os animais foram inoculados com 5 mL de caldo BHI (Oxoid, Thermo Fisher Scientific, Hampshire, Inglaterra) contendo  $2,0 \times 10^9$  UFC de ST (isolada de um surto a campo). A inoculação oral foi realizada com auxílio de uma sonda gástrica, após 6 horas de jejum de alimento e 1 hora de jejum hídrico (figura 2).



**Figura 2.** Inoculação de *Salmonella* Typhimurium nos animais do galpão de condição sanitária ruim.

O inóculo foi preparado de acordo com as recomendações de Wood *et al.* (1991) e Oliveira *et al.* (2010) de uma amostra de ST (RLO971/09), armazenada no Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP. O inóculo oral foi feito 48 horas antes da incubação a 37°C em água peptonada tamponada e diluída em PBS para atingir uma concentração final de  $10^9$  UFC. Após a inoculação de ST, fezes de um rebanho comercial foram espalhadas sobre o piso da instalação (duas aplicações, no

dia 0 e aos 14 dias de experimento; figura 3) e nenhum protocolo de limpeza e biosseguridade foi adotado durante o período experimental.



**Figura 3.** Aplicação de fezes de um rebanho comercial no galpão de condição sanitária ruim.

### 3.3 Dietas experimentais

As dietas experimentais, CN e AA+, foram formuladas à base de milho e farelo de soja, para atender ou exceder as exigências nutricionais para fêmeas suínas de 25 a 50 kg (NRC, 2012). A dieta CN foi formulada para atender 100% das recomendações de Trp, Thr e Met+Cys sugeridas pelo NRC (2012), enquanto a dieta AA+ foi formulada para suprir 120% das exigências de Trp, Thr e Met+Cys preconizadas para a fase de 25 a 50 kg (Tabela 1). Ambas as dietas foram fornecidas aos animais na forma peletizada durante todo o período experimental e não houve inclusão de antibióticos ou melhoradores de desempenho.

### 3.4 Coleta de dados

#### 3.4.1 Variáveis fisiológicas

Para acompanhamento da ativação do sistema imune pelo desafio sanitário imposto aos animais, durante os primeiros 7 dias pós-desafio (dpd) foi aferida a temperatura retal (TR) de 80 animais (n= 20 animais/tratamento). Concomitantemente, aos 5, 7, 14 e 21 dpd, fezes de todos os animais alojados na CS ruim foram colhidas para avaliação do escore de consistência fecal (EF) (RODRIGUES *et al.*, 2021). Um sistema de pontuação fecal foi usado para classificar as fezes, sendo 0 para fezes de consistência normal, 1 para fezes semissólidas (pastosas), 2 para fezes líquida-pastosa e a pontuação 3 para fezes líquidas.

### 3.4.2 Desempenho e composição corporal

Os animais foram pesados, individualmente, uma vez por semana após 6 horas de jejum, para mensuração do PC, enquanto o consumo de ração foi mensurado diariamente pelos AIPFs. Posteriormente, foram calculados o ganho de peso diário (GPD) e a eficiência alimentar desses animais.

A composição corporal total de tecido magro e gordura foi mensurada (20 suínos/tratamento) no dia -1 pré-desafio e no dia 28 dpd por meio do equipamento de absorciometria de raios X de dupla energia (DXA, GE Lunar Prodigy Advance; GE Healthcare, Madison, WI). Os suínos foram escaneados em decúbito ventral usando o modo de escaneamento de corpo inteiro (GE Lunar enCORE, versão 8.10.027; GE Healthcare). Para tanto, os animais foram mantidos em jejum por oito horas antes de serem anestesiados, via intramuscular, com acepromazina 1 mg/kg e, posteriormente, com cloridrato de xilazina 2 mg/kg e cloridrato de ketamina 10 mg/kg.

Após o escaneamento, os valores de massa magra e gordura corporal foram convertidos em seus equivalentes químicos de proteína e lipídio, conforme proposto por Pomar e Rivest (1996). Em seguida, a deposição diária de proteína (DP) e lipídio (DL) corporal foram obtidas calculando a diferença entre a composição ao início e ao final do período experimental e divididas pelo número de dias experimentais.

Tabela 1. Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais.

Ingredientes, %	Fase 25 – 50 kg	
	CN	AA+
Milho	74,32	74,32
Farelo de soja	22,09	22,09
Calcário	0,732	0,732
BioLys (600g/kg Lisina) <sup>1</sup>	0,485	0,485
Maltodextrina	0,500	0,500
Sal	0,448	0,448
Fosfato bicálcico	0,532	0,532
Inerte	0,300	0,046
Vit+min premix <sup>2</sup>	0,150	0,150
MetAmino (990g/kg Met) <sup>1</sup>	0,090	0,201
ThreAmino (985g/kg Thr) <sup>1</sup>	0,075	0,183
Óleo de soja	0,100	0,100
Antifúngico	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,060	0,060
TrypAmino (980g/kg Trp) <sup>1</sup>	0,010	0,045
Fitase <sup>4</sup>	0,005	0,005
ValAmino (980g/kg Valina) <sup>1</sup>	0,002	0,002
Total	100,0	100,0
<i>Composição nutricional calculada</i>		
Energia líquida, Kcal	2.550	2.559
Proteína bruta (PB), %	16,56	16,74
Nitrogênio total, %	2,649	2,677
Lisina:PB	5,917	5,855
SID <sup>5</sup> Lisina, %	0,980	0,980
SID Met+Cis, %	0,550	0,660
SID Met, %	0,317	0,427
SID Thr, %	0,590	0,696
SID Trp, %	0,170	0,204
SID Valina, %	0,670	0,670
SID Arginina, %	0,951	0,951
SID Isoleucina, %	0,588	0,588
SID Leucina, %	1,276	1,276
SID Histidina, %	0,385	0,385
SID Fenilalanina, %	0,697	0,697
Cálcio, %	0,660	0,660
STTD <sup>6</sup> P, %	0,310	0,310
Cloro, %	0,345	0,345
Potássio, %	0,642	0,642
Sódio, %	0,190	0,190

CN, dieta controle com 100% da exigência (NRC 2012); AA+, dieta com 120% da exigência para Thr (treonina), Trp (triptofano) e Met, metionina.

<sup>1</sup>Aminoácidos fornecidos pela Evonik Nutrition & Care GmbH (HanauWolfgang, Alemanha).

<sup>2</sup>Premix mineral (por kg de dieta): Manganês (40 mg); cobre (15 mg); ferro (24,93 mg); cobalto (0,168 mg); iodo (1,416 mg); e zinco (74,971 mg). Premix vitamínico (por kg de dieta): Ácido Fólico (0,32 mg); ácido D-pantoténico (14,8 mg); Biotina (0,04 mg); Niacina (28 mg); Selênio (0,25 mg); Vit. A (6000 UI); Vit. B1 (1,2 mg); Vit. B12 (22 mcg); Vit. B2 (4,4 mg); Vit. B6 (1,4mg); Vit. D3 (1400 UI); Vit. E (26 UI); e Vit. K3 (2,16 mg).

<sup>4</sup>Enzae, Cargill (Wayzata, Minnesota, EUA) contem 500 FTU/ton.

<sup>5</sup>SID = digestibilidade ileal padronizada.

<sup>6</sup>STTD = digestibilidade total padronizada.

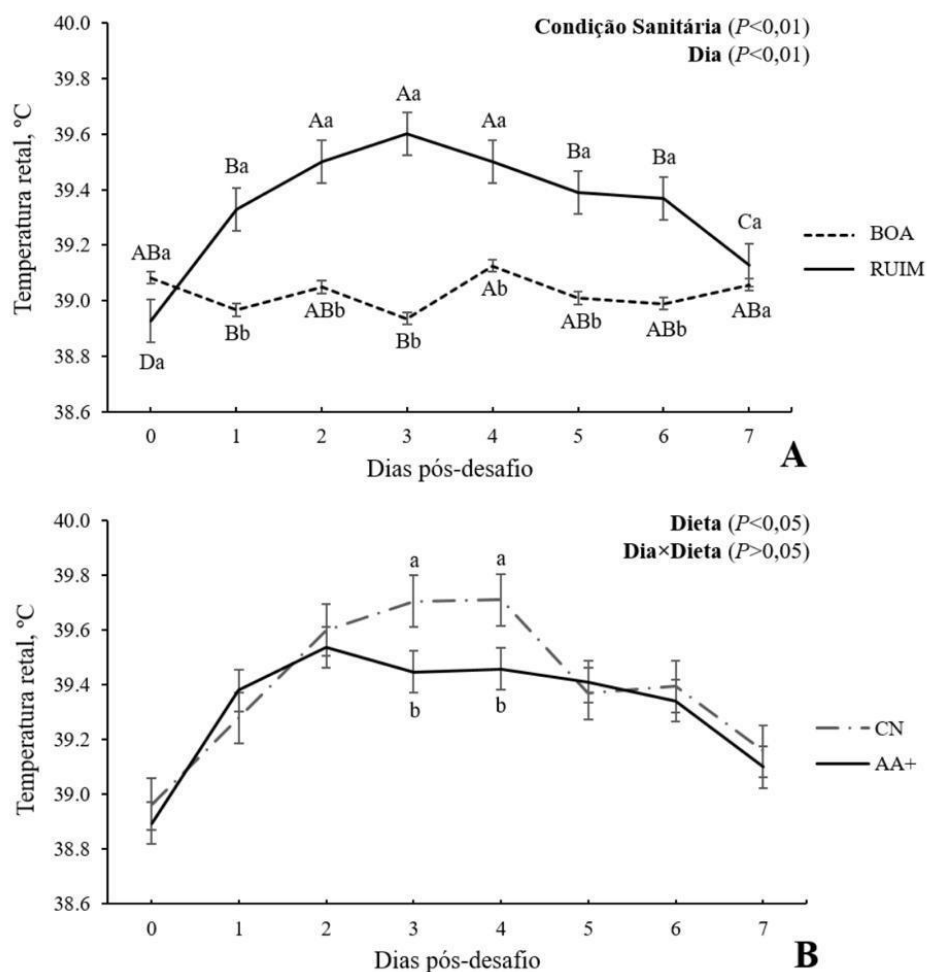
### 3.5 Análise estatística

Os dados foram testados para normalidade usando o procedimento UNIVARIATE do SAS (versão 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC) e os resíduos estudentizados foram usados para identificar outliers (> 3 desvios padrão da média). Os dados foram analisados usando o procedimento GLIMMIX do SAS. As dietas experimentais, as condições sanitárias e suas interações foram incluídas no modelo estatístico como efeitos fixos, enquanto o bloco de peso corporal foi incluído como efeito aleatório. Cada animal foi considerado uma unidade experimental. As diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey e consideradas significativas a  $P \leq 0,05$  e tendência quando  $0,05 < P \leq 0,10$ .

## 4. Resultados

O modelo de desafio foi bem-sucedido na indução dos sinais clínicos, caracterizado pela elevação da temperatura retal (TR) e alteração na consistência fecal (Figuras 5 e 6). No dia 0, não houve diferença na TR ( $P > 0,05$ ) dos suínos alojados na CS boa ou CS ruim. Após o estabelecimento do desafio, houve aumento da TR ( $P < 0,05$ ) dos suínos alojados na CS ruim em comparação aos animais da CS boa (Figura 1A). A TR máxima observada nos animais na CS ruim foi observada aos 3 dpd, com média de 39,6 °C. Após atingir o pico, a TR começou a decrescer continuamente até o 7º dpd. Entretanto, a média de TR de suínos CS ruim permaneceu mais elevada em comparação aos animais alojados na CS boa ( $P < 0,01$ ) até os 6 dpd. Aos 7 dpd, não houve diferença na TR entre animais alojados na CS boa ou CS ruim ( $P > 0,05$ ).

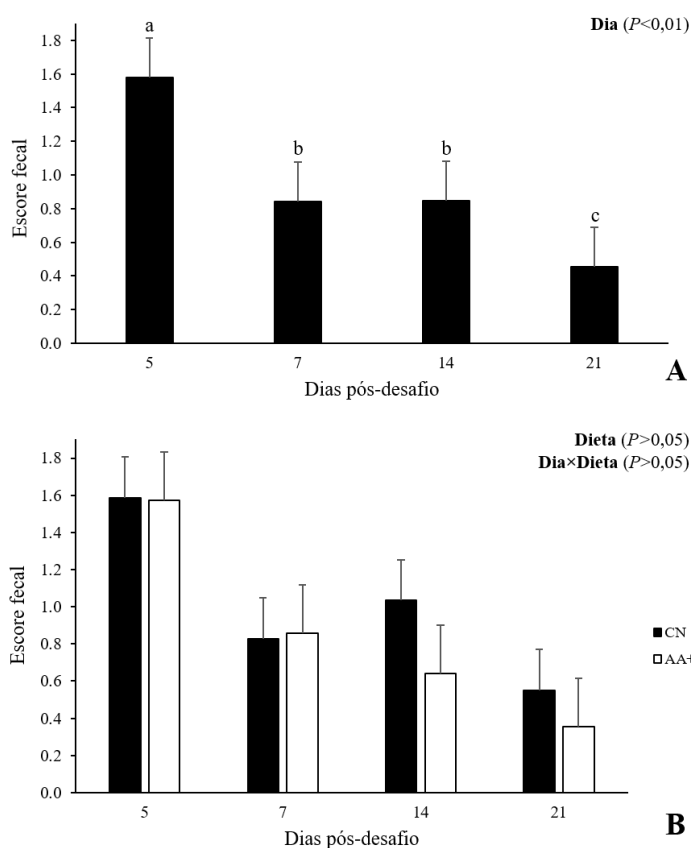
Em contrapartida, a suplementação dos aminoácidos Thr, Trp e Met atenuou a resposta inflamatória dos animais alojados na CS ruim (Figura 5). Suínos alojados na CS ruim e alimentados com a dieta AA+ apresentaram queda da TR mais rapidamente quando comparado a dieta CN ( $P < 0,05$ ). Aos 3 e 4 dpd, os animais alimentados com a dieta AA+ apresentaram menor TR em relação aos animais alimentados com a dieta CN ( $P < 0,05$ ), enquanto a redução de TR dos animais alimentados com a dieta CN ocorreu após 5 dpd.



**Figura 5.** A: Temperatura retal de suínos alojados em boas ou más condições sanitárias. Letras minúsculas diferentes indicam a diferença entre as condições sanitárias pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam a diferença entre os dias para a mesma condição sanitária. B: Temperatura retal de suínos alojados em condições

sanitárias ruins (CS Ruim) alimentados com dieta controle (CN: 100% NRC para Trp, Thr e Met) ou suplementada com AA (AA+: 120% NRC para Trp, Thr e Met). Letras diferentes indicam a diferença entre as dietas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os suínos alojados na CS ruim tiveram aumento do EF (maior incidência de fezes pastosas-líquidas e líquidas - escores 2 e 3) aos 5 dpd em comparação aos 7, 14 e 21 dpd ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, houve redução do EF aos 21 dpd ( $P < 0,05$ ), com a maior parte dos animais apresentando fezes normais (escore 0) (Figura 6A). Entretanto, não houve efeito significativo da dieta sobre o EF ( $P > 0,05$ ; Figura 6).



**Figura 6.** Escore fecal médio pós-desafio de suínos alojados em condições sanitárias ruins (A) alimentados com dieta CN: 100% de requisitos de NRC para treonina (Thr), triptofano (Trp) e metionina (Met) ou suplementado com AA (AA+: 120% de requisitos de NRC para Trp, Thr e Met) dieta (B). Letras minúsculas diferentes indicam a diferença entre os dias pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os resultados de desempenho e composição corporal durante o período experimental são apresentados na Tabela 2. Após o desafio, os suínos alojados na CS ruim apresentaram desempenho inferior à CS boa ( $P < 0,05$ ). Na primeira semana após o desafio, a CS ruim afetou o consumo de ração diário (CRD), com uma redução de 22% da ingestão de ração quando comparada a CS boa. O mesmo padrão foi observado para GPD, eficiência alimentar e PC. Animais alojados sob CS ruim tiveram uma redução de 37%, 28% e 4% no GPD, eficiência alimentar e PC, respectivamente, em comparação aos suínos da CS boa.

De 0 a 14 dpd, houve tendência de interação entre as CS e as dietas para CRD ( $P = 0,06$ ), GPD ( $P = 0,07$ ) e efeito significativo da CS para o PC ( $P < 0,01$ ). Os suínos na CS ruim alimentados com a dieta AA+ apresentaram maior GPD (+ 24%) do que os suínos alimentados com dieta CN. Além disso, animais na CS ruim alimentados com a dieta AA+ apresentaram CRD semelhante aos animais da CS boa. Por outro lado, suínos CS ruim tiveram PC inferior (-6%) em comparação a suínos alojados na CS boa ( $P < 0,05$ ).

Houve interação entre as CS e as dietas para CRD ( $P = 0,05$ ) e GPD ( $P = 0,03$ ) e tendências de interação para PC ( $P = 0,07$ ) e eficiência alimentar ( $P = 0,08$ ) para o período de 0 a 21 dpd. Suínos na CS ruim alimentados com a dieta AA+ apresentaram maior CRD (+ 50 g), GPD (+ 22%) e tendência para maior eficiência alimentar (+ 19%) e PC (+ 7%) em comparação aos suínos alimentados com dieta CN.

Durante toda o período experimental (0 a 28 dpd), houve interação entre CS e dieta para GPD ( $P < 0,03$ ) e tendências de interação para PC ( $P < 0,06$ ), CRD ( $P < 0,08$ ) e eficiência alimentar ( $P < 0,06$ ) foram observadas. Os animais alojados na CS ruim e alimentados com a dieta AA+ apresentaram maior GPD (+ 17%) e uma tendência para maior PC final (+ 7%) e CRD (+ 50g) em comparação com os da dieta CN. Além disso, os suínos alimentados com a dieta AA+ apresentaram tendência de melhor eficiência alimentar em relação à dieta CN em ambas as condições ( $P = 0,06$ ). No entanto, a suplementação de Thr, Trp e Met melhorou a eficiência alimentar quando fornecida aos animais alojados na CS ruim comparados aos suínos na CS boa (14 vs. 5%, respectivamente).

Em relação à composição corporal, houve tendência de interação entre CS e dieta ( $P < 0,10$ ; Tabela 2) para o conteúdo de proteína corporal e a deposição diária de proteína.



Aos 28 dpd, a suplementação de AA tendeu a aumentar o teor de proteína corporal ( $P = 0,06$ ) dos suínos sob desafio sanitário. Na CS ruim, os suínos alimentados com a dieta AA+ tenderam a apresentar maior concentração de proteína corporal em comparação aos animais alimentados com a dieta CN (+ 7%) e concentrações semelhantes aos animais alojados na CS boa. Além disso, os suínos na CS ruim alimentados com AA+ tenderam a apresentar maior deposição proteica ( $P = 0,07$ ; + 17%) em comparação a suínos na CS ruim alimentados com dieta CN. Não foi observada interação para o conteúdo lipídico. Houve um efeito significativo da CS ( $P < 0,01$ ), com suínos alojados na CS boa apresentando maior concentração de lipídio (+ 9%) e deposição diária de lipídio (+ 25%) em comparação a CS ruim.

Tabela 2. Desempenho e composição corporal de suínos em crescimento alimentados com dieta (D) controle (CN) ou suplementada com Trp, Thr e Met (AA+) e criados sob condição sanitária (CS) BOA ou RUIM durante 28 dias

Item	BOA		RUIM		RSD	P-valor		
	CN <sup>1</sup>	AA+ <sup>2</sup>	CN	AA+		CS	D	CS×D
<b>Condição inicial</b>								
PC <sup>3</sup> , kg	25,42	25,36	25,36	25,48	0,58	0,92	0,91	0,77
Proteína corporal, kg	3,38	3,37	3,38	3,39	0,02	0,32	0,87	0,48
Lipídeo corporal, kg	4,92	4,95	4,88	4,86	0,08	0,18	0,93	0,58
<b>0 a 7 dias</b>								
PC 7, kg	29,45	29,19	27,60	28,22	0,95	<0,01	0,72	0,36
GPD <sup>4</sup> , kg	0,58	0,56	0,32	0,39	0,09	<0,01	0,65	0,26
CRD <sup>5</sup> , kg	1,20 <sup>x</sup>	0,94 <sup>x</sup>	0,74 <sup>y</sup>	0,79 <sup>y</sup>	0,06	<0,01	0,62	0,08
EA <sup>6</sup> , kg/kg	0,54	0,57	0,37	0,44	0,09	0,01	0,32	0,65
<b>0 to 14 dias</b>								
PC 14, kg	34,02	33,92	31,06	32,58	1,08	<0,01	0,20	0,14
GPD, kg	0,61 <sup>x</sup>	0,61 <sup>x</sup>	0,41 <sup>z</sup>	0,51 <sup>y</sup>	0,05	<0,01	0,08	0,07
CRD, kg	1,16 <sup>x</sup>	1,09 <sup>xy</sup>	0,96 <sup>z</sup>	1,00 <sup>yz</sup>	0,02	<0,01	0,59	0,06
EA, kg/kg	0,52	0,56	0,40	0,49	0,03	<0,01	<0,01	0,20
<b>0 a 21 dias</b>								
PC 21, kg	40,19 <sup>x</sup>	40,02 <sup>x</sup>	35,91 <sup>y</sup>	38,30 <sup>y</sup>	1,37	<0,1	0,11	0,07
GPD, kg	0,70 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,50 <sup>c</sup>	0,61 <sup>b</sup>	0,05	<0,01	0,05	0,03
CRD, kg	1,34 <sup>a</sup>	1,26 <sup>ab</sup>	1,12 <sup>c</sup>	1,17 <sup>bc</sup>	0,02	<0,01	0,69	0,05
EA, kg/kg	0,52 <sup>x</sup>	0,55 <sup>x</sup>	0,43 <sup>y</sup>	0,51 <sup>x</sup>	0,03	<0,01	<0,01	0,08
<b>0 a 28 dias</b>								
PC 28, kg	47,98 <sup>x</sup>	47,84 <sup>x</sup>	42,18 <sup>z</sup>	45,12 <sup>y</sup>	1,60	<0,01	0,08	0,06
Proteína corporal 28, kg	7,24 <sup>x</sup>	7,27 <sup>x</sup>	6,46 <sup>y</sup>	6,95 <sup>x</sup>	0,22	<0,01	0,03	0,06
Lipídeo corporal 28, kg	7,38	7,32	6,51	6,84	0,24	<0,01	0,31	0,16
GPD, kg	0,81 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,60 <sup>c</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,04	<0,01	0,04	0,03
CRD, kg	1,45 <sup>x</sup>	1,38 <sup>xy</sup>	1,24 <sup>z</sup>	1,29 <sup>yz</sup>	0,07	<0,01	0,80	0,08
EA, kg/kg	0,55 <sup>y</sup>	0,58 <sup>x</sup>	0,47 <sup>z</sup>	0,54 <sup>y</sup>	0,01	<0,01	<0,01	0,06
Deposição proteica, g/d	137 <sup>x</sup>	139 <sup>x</sup>	109 <sup>y</sup>	127 <sup>x</sup>	7,71	<0,01	0,03	0,07
Deposição lipídica, g/d	87	84	57	70	8,60	<0,01	0,32	0,11

<sup>1</sup>CN – dieta controle

<sup>2</sup>AA+ - Dieta suplementada com AA+ (20% acima da razão Thr, Trp e Met+Cys:Lys).

<sup>3</sup>PC= Peso corporal

<sup>4</sup>GPD= Ganho de peso médio diário

<sup>5</sup>CRD= Consumo médio de ração diário

<sup>6</sup>EA= Eficiência alimentar

Para a composição corporal, o PN inicial foi utilizado como covariável para todas as variáveis,  $P \leq 0,05$ . a,b Letras minúsculas diferentes indicam a diferença entre os

tratamentos pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). x,y Letras minúsculas diferentes indicam tendência entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $0,05 < P < 0,10$ ).

## 5. Discussão

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da suplementação dietética de aminoácidos funcionais (Thr, Trp e Met) durante um desafio sanitário (inoculação oral com ST e má condição de higiene da instalação) sobre o desempenho e a composição corporal de suínos em fase de crescimento. Os resultados observados mostraram que o desafio desencadeou uma resposta do sistema imune dos animais e que os AAs suplementados na dieta atenuaram os efeitos negativos deste desafio.

### 5.1 Efeito da condição sanitária e suplementação dietética de Thr, Trp e Met sobre a temperatura retal e o escore fecal

Os animais alojados na CS ruim apresentaram aumento da TR e aumento do EF, indicando que houve ativação do sistema imune dos animais desafiados. A presença de febre é um indicador de defesa imune, já que é uma resposta aguda que ocorre em decorrência do desafio (GEBRU *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2021). Rodrigues *et al.* (2021) e Wellington *et al.* (2019) também observaram aumento da TR 24 horas após a inoculação com ST. Contudo, no presente estudo, os animais alojados na CS ruim que receberam a dieta AA+ apresentaram queda da TR mais rapidamente em relação aos que receberam a dieta CN, confirmando o papel funcional da suplementação de Thr, Trp e Met sobre a ativação da resposta imune. Além disso, esses AAs também atuam na manutenção da mucosa intestinal (RUTH & FIELD, 2013), que pode ser comprometida quando há algum tipo de desafio. Buscando retomar a homeostase, estes AAs possivelmente contribuíram para uma menor ativação do sistema imune local e maior integridade de mucosa, reduzindo a translocação bacteriana e a inflamação sistêmica, fatores importantes para o desencadeamento da resposta febril (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Os animais alojados na CS ruim apresentaram aumento do EF, ou seja, maior incidência de fezes pastosas e líquidas, sobretudo aos 5 dpd, assim como observado por Rodrigues *et al.* (2021), no qual ocorreu aumento do EF nos suínos desafiados com ST. A presença de fezes pastosas e líquidas está associada à redução da integridade de mucosa

e aumento da permeabilidade intestinal (LE FLOC'H *et al.*, 2018). Além disso, a maior incidência de diarreia é um indicador de fase aguda de distúrbios intestinais (CAMILLERI *et al.*, 2012) e de doenças (LE FLOC'H *et al.*, 2018) no rebanho que podem afetar o desempenho dos suínos. Porém, a suplementação com os AAs não teve efeito sobre o EF, semelhante aos resultados observados por Rodrigues *et al.* (2021).

## **5.2 Efeito da condição sanitária e suplementação de Thr, Trp e Met sobre o desempenho e composição corporal**

O modelo de desafio utilizado no presente estudo foi eficiente em gerar uma resposta nos animais, uma vez que os animais sob a CS ruim, desafiados por ST, tiveram pior desempenho e composição corporal que aqueles sob CS boa. Os suínos desafiados apresentaram, durante os 28 dias experimentais, menor GPD, CRD e eficiência alimentar, evidenciando o efeito do desafio. Li *et al.* (2017), ao desafiar suínos desmamados com condições de baixa higiene sanitária com a não remoção dos dejetos e sem adoção de práticas de biossegurança, e com ST ( $1 \times 10^9$  UFC), também observaram redução do GPD. Le Floc'h *et al.* (2006) ao desafiar leitões desmamados e desafiados por um ambiente com baixa condição sanitária, também observou menor GPD e eficiência alimentar, elucidando que as condições sanitárias impactam no desempenho dos animais.

A suplementação de Thr pode ter sido benéfica para manter a barreira intestinal. Tal AA tem atuação na síntese de mucinas e, portanto, contribui para a formação da defesa do epitélio intestinal (CERÓN *et al.*, 2016; GENOVA *et al.*, 2017). Enquanto o Trp pode ter ajudado na resposta com o estresse oxidativo, a fim de evitar que o desafio causasse redução no crescimento dos animais (LE FLOC'H *et al.*; 2018 LV *et al.*, 2011). Além disso, a Met, por participar da geração de produtos que atuam na resposta imune, como a glutatona (WU *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2020), pode ter auxiliado o sistema antioxidante dos animais desafiados.

Ainda, os animais alojados na CS ruim apresentaram redução no desempenho e na deposição corporal de proteína e lipídio em relação aos animais na CS boa. Van der Meer *et al.* (2016) também observaram menor PC em suínos alojados em más condições sanitárias de alojamento. O pior desempenho dos animais desafiados, pode ser explicado pela partição de nutrientes entre o sistema imunológico e a síntese e deposição de tecidos

corporais. Os resultados do presente estudo indicam que o uso de nutrientes pelo sistema imunológico tem prioridade (LE FLOC'H *et al.*, 2004).

Durante a primeira semana de desafio, os animais tiveram, além do aumento de fezes pastosas e líquidas e da TR, acentuada redução do CRD, um comportamento observado em suínos desafiados (ADEWOLE *et al.*, 2015). Em concordância com o efeito do desafio sobre o CRD observado no presente estudo, Van Heugten *et al.* (1996) também observaram, nas duas doses de LPS inoculadas em suínos desmamados, acentuada queda do CRD, bem como Rodrigues *et al.* (2021), ao desafiarem suínos na fase de creche com ST. Devido ao desafio, e como resposta imune, citocinas são liberadas, e induzem algumas respostas, sobretudo no início do desafio, como a febre e a redução da serotonina, que é um dos hormônios que regula o apetite, o que resulta na redução do CRD (JÚNIOR *et al.*, 2013; NORDGREEN *et al.*, 2020).

A suplementação de Thr, Trp e Met auxiliou os suínos na CS ruim, uma vez que estes animais apresentaram melhor desempenho ao longo dos 28 dias de período experimental em relação aos suínos desafiados alimentados com a dieta CN. De maneira semelhante, Van der Meer *et al.* (2016) também observaram que a suplementação de Thr, Trp e Met (+20%) na dieta de suínos desafiados por baixas condições sanitárias atenuou a queda de desempenho, uma vez que os suínos que receberam a dieta suplementada apresentaram melhor CRD e tendência a melhor GPD. Provavelmente, os AAs podem auxiliar o sistema imune no restabelecimento da homeostase, reduzindo assim, a demanda por AAs para os mecanismos de defesa e permitindo que estes nutrientes fossem destinados à síntese de proteína muscular. Consequentemente, a suplementação de Thr, Trp e Met possibilitou uma maior robustez dos suínos, ou seja, maior capacidade do hospedeiro em lidar com perturbações sanitárias (REVILLA *et al.*, 2019), proporcionando mais rápida recuperação do crescimento.

Além disso, Littiere *et al.* (2017) ao suplementar com Lys, Thr e Trp suínos em crescimento desafiados por LPS, observaram, em análise pós-prandial, que houve, de fato, a necessidade do aumento destes AAs para dar suporte ao sistema imune. Sob desafio, como resultado e tentativa de combate, houve a produção de APP, a qual exigiu mais Thr e Trp dos animais desafiados, e foi atendida com a suplementação.

Ao final do experimento, a deposição de proteína dos animais na CS ruim que receberam a suplementação tendeu a ser maior que dos animais alimentados com a dieta

CN e semelhante aos animais alojados na CS boa. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Van der Meer *et al.* (2016), que observaram maior teor de massa magra em suínos terminados alojados sob más condições sanitárias e alimentados com dietas suplementadas com Thr, Trp e Met. Pode-se inferir que a suplementação destes AAs foi benéfica, para auxiliar o sistema imunológico, e ainda puderam ser destinados à produção de tecido muscular (LE FLOC'H *et al.*, 2004). Devido as diferenças observadas entre as variáveis de desempenho e composição corporal durante os 28 dias de experimento entre animais sob CS boa e ruim, é possível inferir que o desafio perdurou por todo o período experimental, e que a suplementação do blend de AAs para suínos em crescimento e alojados em grupo, com longo desafio, atenua os possíveis efeitos negativos no desempenho e composição corporal. Estudos que avaliem diferentes níveis de AAs suplementados para animais sob estas condições podem contribuir para o conhecimento da área e possibilitar o uso de medidas nutricionais em situações de desafios.

## **6. Conclusão**

A suplementação dietética de aminoácidos funcionais (Tre, Met e Trip) 20% acima das recomendações do NRC (2012) para fêmeas suínas desafiadas na fase de crescimento atenua os efeitos negativos do desafio sanitário sobre o desempenho e composição corporal de suínos.

## **7. Resumo**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de aminoácidos funcionais (Thr, Trp e Met) no desempenho e composição corporal de suínos em crescimento desafiados com *Salmonella* Typhimurium (ST) e alojados sob más condições sanitárias. Um total de 120 fêmeas suínas com peso corporal (PC) inicial de  $25,4 \pm 3,7$  kg foram alocadas em dois galpões semelhantes de alvenaria (n=60, 1,58 m<sup>2</sup>/animal) durante 28 dias. Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental de blocos casualizados em um arranjo fatorial  $2 \times 2$ , com duas condições sanitárias (CS): boa (CS boa) ou ruim (CS ruim) e duas dietas: controle (CN) ou suplementada com aminoácidos funcionais (Thr:Lys, Trp:Lys e Met:Cys:Lys) 20% acima do recomendado pelo NRC (2012) (AA+). Cada galpão representou uma condição sanitária. Ambos os galpões foram equipados com quatro alimentadores automáticos de

precisão (AIPF) para avaliação do consumo de ração diário (CRD) *ad libitum*. Pesagens semanais dos animais foram adotadas para avaliação do desempenho (PC, ganho de peso diário (GPD) e eficiência alimentar (EA)), enquanto a composição corporal (deposição de proteína (DP) e lipídio (DL)) foi realizada através do equipamento de absorciometria de feixe duplo de raios X (DXA) no início e ao final do período experimental. Além disso, a temperatura retal (TR), foi avaliada nos primeiros sete dias de desafio e o escore de consistência fecal (EF) foi avaliado aos 5, 7, 14 e 21 dias pós desafio. Os dados foram analisados usando um modelo misto, e as diferenças significativas entre tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Os animais da CS ruim apresentaram maior TR ( $P < 0,05$ ) entre o 1º e o 6º dia pós-infecção (dpi) e piora do EF. Houve interação entre CS×D para GPD ( $P < 0,03$ ) e tendência de interação para PC ( $P < 0,06$ ) e EA ( $P < 0,06$ ). Animais na CS ruim alimentados com dieta +AA apresentaram maior GPD ( $P < 0,03$ ) e tendência para maior PC final ( $P < 0,06$ ) e DP ( $P < 0,06$ ) quando comparado aos da dieta CN. O aporte de +20% de Thr, Trp e Met na dieta atenua o impacto do desafio sanitário no desempenho de suínos em crescimento.

Palavras-chave: composição corporal, desafio imune, desempenho, inflamação, nutrição.

## 8. Summary

The present study aimed to evaluate the effect of functional amino acid supplementation (Thr, Trp and Met) on growth performance and body composition of growing pigs challenged with *Salmonella* Typhimurium (ST) and housed under poor sanitary conditions. A total of 120 gilts with an initial body weight (BW) of  $25.4 \pm 3.7$  kg were housed in two similar barns ( $n=60$ ;  $1.58 \text{ m}^2/\text{animal}$ ) for 28 days. The animals were distributed in a randomized block experimental design in a  $2 \times 2$  factorial arrangement, with two sanitary conditions (SC): good (SC good) or poor (SC poor) and two diets: control (CN) or supplemented with amino acids functional (Thr:Lys, Trp:Lys and Met:Cys:Lys) 20% above the recommended by the NRC (2012) (AA+). Each barn represented a sanitary condition. Both barns were equipped with four automatic precision feeders (AIPF) to assess daily feed intake (DFI) *ad libitum*. Weekly weights of the animals were adopted to evaluate the performance (body weight (BW), daily weight gain (DWG) and feed efficiency (FE)), while the body composition (protein (PD) and lipid (LD) deposition) was performed using dual X-ray absorptiometry (DXA) equipment at

the beginning and in the end of the experimental period. In addition, rectal temperature (RT) was assessed in the first seven days of challenge and fecal score (FS) was assessed at 5, 7, 14 and 21 days post-challenge. Data were analyzed using a mixed model, and significant differences between treatments were compared by Tukey's test ( $P < 0.05$ ). Poor SC animals showed higher RT ( $P < 0.05$ ) between the 1st and 6th day post-infection (dpi) and increased FS ( $P < 0.05$ ). There was an interaction between SC×D for DWG ( $P < 0.03$ ) and an interaction trend for BW ( $P < 0.06$ ) and FE ( $P < 0.06$ ). Animals in poor SC fed +AA diet showed higher DWG ( $P < 0.03$ ) and a tendency towards higher final BW ( $P < 0.06$ ) and PD ( $P < 0.06$ ) when compared to the CN diet. The addition of +20% of Thr, Trp and Met in the diet mitigates the impact of the sanitary challenge on the performance and protein deposition of growing pigs.

Keywords: body composition, immune challenge, performance, inflammation, nutrition.

## 9. Referências Bibliográficas

- ADEWOLE, D. I.; KIM, I. H.; NYACHOTI, C. M. Gut health of pigs: challenge models and response criteria with a critical analysis of the effectiveness of selected feed additives — A Review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 29(7), 909–924. 2015.
- ALARCÓN, L. V.; ALLEPUZ, A.; MATEU, E. Biosecurity in pig farms: a review. **Porcine Health Management**, 7 (1). 2021.
- ANDRETTA, I.; POMAR, C.; RIVEST, J.; POMAR, J.; LOVATTO, P.A.; RADÜNZ NETO, J. The impact of feeding growing-finishing pigs with daily tailored diets using precision feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and carcass composition. **Journal of Animal Science** 92: 3925-3936. 2014.
- BADAWY, A. A.-B.; NAMBOODIRI, A. M. A.; MOFFETT, J. R. The end of the road for the tryptophan depletion concept in pregnancy and infection. **Clinical Science**, 130(15), 1327–1333, 2016.
- BARRACO, M. A.; MORENO, A. M., SHINYA, L. T.; DOTTO, D. S. Identification of bacterial agents of enteric diseases by multiplex PCR in growing-finishing pigs. **Veterinary Microbiology**. Braz. J. Microbiol. 34 (3). 2003.
- CAMILLERI, M.; MADSEN, K.; SPILLER, R.; VAN MEER VELD, B. G.; VERNE, G. N. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. **Neurogastroenterology and Motility**. 21: 503- 512. 2012.



- CAMPOS, P. H. R. F.; LE FLOC'H, N.; NOBLET, J.; RENAUDEAU, D. Physiological responses of growing pigs to high ambient temperature and/or inflammatory challenges. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 46:537-544. 2017.
- CHALVON-DEMERSAY, T.; LUISE, D.; LE FLOC'H, N.; TESSERAUD, S.; LAMBERT, W.; BOSI, P.; TREVISI, P.; BEAUMONT, M.; CORRENT, E. Functional Amino Acids in Pigs and Chickens: Implication for Gut Health. **Frontiers in Veterinary Science**. 8:663727, 2021.
- 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.
- DWYER, D. S. Regulation of the immune response by polyamines. **Medical Hypotheses**, 5(11), 1169–1181, 1979.
- 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, dez, 2010.
- GENOVA, J. L.; LEAL, I. F.; RUPOLO, P. E.; REIS, L. E.; BARBOSA, V. M. Aminoácidos limitantes na produção de suínos. **Nutritime Revista Eletrônica**, on-line, Viçosa, v.14, n.5, p.7032- 7045, set/out, 2017.
- HAMARD, A.; SÈVE, B.; LE FLOC'H, N. Intestinal development and growth performance of early-weaned piglets fed a low-threonine diet. **Animal**, 1:8, pp 1134–1142, 2007.
- JANKOWSKI, J.; KUBIŃSKA, M.; ZDUŃCZYK, Z. Nutritional and immunomodulatory function of methionine in poultry diets—a review. **Annals of Animal Science**. 14(1): 17-32. 2014.
- JAYARAMAN, B.; HTOO, J.; NYACHOTI, C. M. Effects of dietary threonine:lysine ratios and sanitary conditions on performance, plasma urea nitrogen, plasma-free threonine and lysine of weaned pigs. **Animal Nutrition**, 1(4). 2015.
- JOHNSON, R. W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1244-1255, 1997.

- JÚNIOR, G. M. O.; SILVA, F. C. O.; FERREIRA, A. S.; RODRIGUES, V. V. Efeitos do desafio sanitário e da suplementação de lisina, metionina, treonina e triptofano em leitões recém desmamados. **Revista eletrônica Nutritime**. Artigo 199 - Volume 10 - Número 03 – p. 2408 – 2427 – Maio–Junho. 2013.
- KIPPER, M.; ANDRETTA, I.; MONTEIRO, S. G.; LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R. Meta-analysis of the effects of endoparasites on pig performance. **Veterinary Parasitology**, 181(2-4), 316–320. 2011.
- 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.; JONDREVILLE, C.; MATTE, J. J.; SEVE, B. Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the postweaning period in piglets. **Archives of Animal Nutrition**. 60:23-34. 2006.
- 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.; 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.
- LI, M. M.; SEELNBINDER, K. M.; PONDER, M. A.; DENG, L.; RHOADS, R. P.; PELZER, K. D.; HANIGAN, M. D. Effects of dirty housing and a *Salmonella* Typhimurium DT104 challenge on pig growth performance, diet utilization efficiency, and gas emissions from stored manure1. **Journal of Animal Science**, 95(3). (2017).
- LI, P., Y. L. YIN, D. LI, S. W. KIM, E G. WU. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**. 98(2): 237-252. 2007.
- 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.
- LIAO, S. F. Invited review: maintain or improve piglet gut health around weaning: the fundamental effects of dietary amino acids. **Animals**, 11(4), 1110, 2021.

LITTIERE, T. O.; CAMPOS, P. H. R. F.; MELOT, E.; RENAUDEAU, D.; NOBLET, J., LE FLOC'H, N. Lysine, threonine and tryptophan postprandial metabolism in LPS challenged growing pigs. 54. Annual meeting of the brazilian society of animal science, Jul 2017, Foz do Iguaçu, Brazil. Brazilian Society of Animal Science, Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2017.

LIU, M.; ZHANG, Y.; CAO, K.; YANG, R.; XU, B.; ZHANG, W.; BATONON-ALAVO, D.; ZHANG, S.; SUN, L. Increased ingestion of hydroxy-methionine by both sows and piglets improves the ability of the progeny to counteract lps-induced hepatic and splenic injury with potential regulation of tlr4 and nod signaling. **Antioxidants (Basel)**. 2022 Feb 6;11(2):321. 2022.

LV, M.; YU, B.; MAO, X. B.; ZHENG, P.; HE, J.; CHEN, D. W. Responses of growth performance and tryptophan metabolism to oxidative stress induced by diquat in weaned pigs. **Animal**, 6(06), 928–934, 2011.

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

National Research Council (NRC). 2012. Nutrient requirements of swine. 11th rev. ed. Washington, DC: National Academies Press.

NORDGREEN, J.; EDWARDS, S. A.; BOYLE, L. A.; BOLHUIS, J. E.; VEIT, C.; SAYYARI, A.; VALROS, A. A Proposed role for pro-inflammatory cytokines in damaging behavior in pigs. **Frontiers in Veterinary Science**, 7. 2020.

OLIVEIRA, L. G.; CARVALHO, L. F. O. S.; MASSON, G. C. I. H.; FELICIANO, M. A. R. Infecção experimental por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama e tentativa de transmissão nasonasal em leitões desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 62: 1340-1347. 2010.

PASTORELLI, H.; VAN MILGEN, J.; LOVATTO, P.; MONTAGNE, L. Meta-analysis of feed intake and growth responses of growing pigs after a sanitary challenge. **Animal** 6:952–961. 2012.

POMAR, C.; RIVEST, J. 1996. The effect of body position and data analysis on the estimation of body composition of pigs by dual energy x-ray absorptiometry (DEXA). In: Proc. 46th **Annual Conference Canadian Society of Animal Science**, Lethbridge, AB, Canada. p. 26. 1996.

RAUW, W. M.; RYDHMER, L.; KYRIAZAKIS, I.; ØVERLAND, M.; GILBERT, H.; DEKKERS, J. C. M.; GOMEZ-RAYA, L. Prospects for sustainability of pig production in relation to climate change and novel feed resources. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 2020.

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

REEDS, P. J.; JAHOR, E F. The amino acid requirements of disease. **Clinical Nutrition**. 20(1): 15-22. 2001.

REVILLA, M.; FRIGGENS, N. C.; BROUDISCOU, L.P.; LEMONNIER, G.; BLANC, F.; RAVON, L.; MERCAT, M. J.; BILLON, Y.; ROGEL-GAILLARD, C.; LE FLOC'H, N.; ESTELLÉ, J.; MUNOZ-TAMAYO, R. Towards the quantitative characterisation of piglets' robustness to weaning: a modelling approach. **Animal**. 13 (11): 2536-2546. 2019.

REN, M.; LIU, X. T.; WANG, X.; ZHANG, G. J.; QIAO, S. Y.; ZENG, X. F. Increased levels of standardized ileal digestible threonine attenuate intestinal damage and immune responses in *Escherichia coli* K88+ challenged weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, 195, 67–75, 2014.

RODRIGUES, L. A.; WELLINGTON, M. O.; GONZÁLEZ-VEGA, J. C.; HTOO, J. K.; KESSEL, G. V.; 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**. 99: (2), 1–13. 2021.

ROJO-GIMENO, C.; POSTMA, M.; DEWULF, J.; HOGEEVEEN, H.; LAUWERS, L.; WAUTERS, E. Farm-economic analysis of reducing antimicrobial use whilst adopting improved management strategies on farrow-to-finish pig farms. **Preventive Veterinary Medicine**. 129:74–87. 2016.

RUTH, M. R.; FIELD, E C. J. The immune modifying effects of amino acids on gut-associated lymphoid tissue. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. 4: 27. 2013.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R.M.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.V.; WIDDOWSON, M.; ROY, S.L.; JONES, J.L.; GRIFFI, P.M. 2011. Food borne illness acquired in the United States - Major pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, n.1, p.7-15.

- 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.
- VAN DER MEER, Y.; LAMMERS, A.; JANSMAN, A. J.; RIJNEN, M. M.; HENDRIKS, W. H., GERRISTS, W. J. Performance of pigs kept under different sanitary conditions affected by protein intake and amino acid supplementation. **Journal of Animal Science**. 94:4704–4719. 2016.
- VAN HEUGTEN, E.; COFFEY, M. T.; SPEARS, J. W. Effects of immune challenge, dietary energy density, and source of energy on performance and immunity in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, 74(10), 2431. 1996.
- WELLINGTON, M. O.; AGYEKUM, A. K.; K.; HAMONIC, J. K.; HTOOA, G.; VAN KESSEL, COLUMBUS, D. A. Effect of supplemental threonine above requirement on growth performance of Salmonella Typhimurium challenged pigs fed high-fiber diets. **Journal of Animal Science**. 97:3636–3647. 2019.
- WELLOCK, I. J.; EMMANS, G. G.; KYRIAZAKIS, E. I. Predicting the consequences of social stressors on pig food intake and performance. **Journal of Animal Science**. 81:2995-3007. 2003.
- WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, E D. R. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 kg. **Journal of Animal Science**. 75:2481-2496. 1997.
- WOOD, R. L.; ROSE, R.; COE, N. E.; FERRIS, K. E. Experimental establishment of persistent infection in swine with a zoonotic strain of Salmonella Newport. **American Journal of Veterinary Research**. 52:813-819. 1991.
- WU, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, 37(1), 1–17, 2009.
- WU, G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. **Advances in nutrition** (Bethesda, Md), v. 1, p. 31, 2010.
- WU, G.; FANG, Y.-Z.; YANG, S.; LUPTON, J. R.; TURNER, N. D. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. **The Journal of Nutrition**, 134(3), 489–492, 2004.
- YANG, Z.; HTOO, J. K.; LIAO, S. F. Methionine nutrition in swine and related monogastric animals: beyond protein biosynthesis. **Animal Feed Science and Technology**, 114608, 2020.