

COMBINAÇÃO DE PREBIÓTICOS NA DIETA DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS INFLUENCIAM A EXPLOSÃO RESPIRATÓRIA DE MONÓCITOS

PATRICIA V. A. ALVARENGA¹, MARCOS L. P. TSE¹; RICARDO O. ORSI¹; MARGARIDA M. BARROS²; MAYRA A. D. SALEH¹; RAFAEL F. NALIATO²; VINICIUS R. C. PAULA¹; SILVIA L. FERREIRA¹; CARLOS. R. PADOVANI³; FABIANA G. LUIGGI⁴; DIRLEI A. BERTO¹

¹Depto. de Produção Animal, FMVZ/UNESP, Botucatu, SP; ²Depto. de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ/UNESP, Botucatu, SP; ³Depto. de Bioestatística, IBB/UNES, Botucatu, SP; ⁴YES Synergy, Campinas, SP
Contato: patyversuti@gmail.com

Resumo: Foram utilizados 30 leitões recém-desmamados (21 dias e PV de 7,22kg) distribuídos em um delineamento de blocos ao acaso, com cinco tratamentos e oito repetições com objetivo de avaliar diferentes combinações de prebióticos na dieta, em substituição à antimicrobiano melhorador de desempenho, sobre a produção de peróxido de hidrogênio (H2O2) e óxido nítrico (NO) de monócitos, sendo: T1= dieta basal (DB) + 120ppm de halquinol; T2= DB + MOS e β -glucano (3,0kg/t); T3= DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 1:9); T4= DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 3:7); T5= DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 5:5). No 14º dia do experimento, os leitões foram desafiados com injeção intramuscular de LPS de E.coli. Os animais do T2, antes do desafio apresentaram maior ($P<0,05$) produção de H2O2, comparados aos do T1. Houve maior produção de NO ($P<0,05$) antes do desafio, nos animais que receberam T4 e T5, comparados aos do T1. Os animais do T2, T4 e T5 reduziram ($P<0,05$) a produção de NO após o desafio. Conclui-se que leitões alimentados com prebióticos com maior concentração de FOS (T3) estão mais preparados para uma resposta imunológica celular por ocasião de desafio imunológico.

Palavras Chave: aditivos; desmame; imunidade; saúde; suínos

BLEND OF PREBIOTICS IN DIETS OF WEANLING PIGS INFLUENCE THE RESPIRATORY BURST OF MONOCYTES

Abstract: It were used 30 weaned piglets (21-d-old and BW of 7.22kg) housed in a randomized complete block design with five treatments and eight replication to evaluate blends of prebiotics on diet, in replacement of the antimicrobial growth promoter, on the production of hydrogen peroxide (H2O2) and nitric oxide (NO). The treatments were: T1 = basal diet (BD) + 120ppm of halquinol; T2 = BD + MOS and β -glucan (3.0kg/t); T3 = BD + MOS and β -glucan (2.0kg/t) + GOS and FOS (1.0kg/t) (GOS:FOS ratio of 1:9); T4 = BD + MOS and β -glucan (2.0kg/t) + GOS and FOS (1.0kg/t) (GOS:FOS ratio of 3:7); T5 = BD + MOS and β -glucan (2.0kg/t) + GOS and FOS (1.0kg/t) (GOS:FOS ratio of 5:5). On the 14th day of experiment, the piglets were challenged with intramuscular injection of LPS from E. coli. The animals fed T2, before the challenge showed higher ($P<0.05$) production of H2O2, compared to those fed T1. Before the LPS inoculation, animals fed T4 and T5 showed higher ($P<0.05$) NO production, compared to those fed T1. The animals fed T2, T4 and T5 showed reduction ($P<0.05$) in the NO production after challenge. In conclusion, piglets fed with prebiotics with higher amount of FOS (T3) are more prepared to an immune response due to an immune challenge.

Keywords: additives; weaning; immune response; health; swine

Introdução: O desmame é uma prática de manejo crítica para os suínos, pois sofre ação de diversos eventos estressores. A imaturidade fisiológica e imunológica dos leitões na idade de desmame podem tornar o ambiente gastrointestinal propício à proliferação de microrganismos patogênicos, levando à ocorrência de distúrbios entéricos e sistêmicos e, conseqüentemente, a queda nos índices de desempenho (Pluske et al., 2003). Para contornar estes problemas os antimicrobianos vêm sendo utilizados, porém, vários países baniram seu uso de forma subterapêutica após constatação do surgimento de cepas bacterianas resistentes às drogas existentes. Desta forma, aditivos alternativos como os prebióticos vêm sendo estudados na dieta de leitões como forma de melhorar a resposta imunológica (Kogan e Kocher, 2007). Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos de mananoligossacarídeos (MOS), β -glucano, galacto-oligossacarídeo (GOS) e frutoligossacarídeo (FOS) em dietas de leitões sobre a explosão respiratória de monócitos.

Material e Métodos: O experimento foi realizado na Área de Suinocultura da FMVZ – UNESP, Botucatu/SP, e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 133/2016). Foram utilizados 30 leitões recém-desmamados (21 dias e $7,22 \pm 0,65$ kg). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com cinco tratamentos (T) e seis repetições, sendo: T1 = dieta basal (DB) + 120ppm de halquinol; T2 = DB + MOS e β -glucano (3,0 kg/t); T3 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 1:9); T4 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 3:7); T5 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (relação GOS:FOS de 5:5). Todas as dietas foram formuladas de acordo com Rostagno et al. (2011). No 14º dia do experimento, os leitões receberam por via intramuscular $30\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso vivo de lipopolissacarídeo (LPS) de E. coli (O55:B5 Sigma Aldrich L2630) dissolvidos em 1mL de solução salina. Foram coletados 4mL de sangue por animal da veia cava, com uso de tubos à vácuo com solução de EDTA, nos momentos imediatamente anterior e três horas após a aplicação de LPS. Mensurou-se a produção de peróxido de hidrogênio (H2O2) e óxido nítrico (NO) pelos monócitos, de acordo com Secombes (1990) com modificações. Os dados foram submetidos à análise multivariada e as médias comparadas por teste de Bonferroni ($P<0,05$).

Resultado e Discussão: Os animais que receberam o T2, antes do desafio com LPS, apresentaram monócitos

com maior ($P < 0,05$) capacidade de produção de H_2O_2 , comparados aos animais alimentados com dietas contendo antimicrobiano (T1) (Tabela 2), indicando que a proporção de prebióticos do T2 foi mais eficiente em estimular a ativação de monócitos, provavelmente tornando-os mais reativos frente a uma possível infecção (Tizard, 2014). A dieta do T2 continha maior quantidade de β -glucano, confirmando que esta molécula foi capaz de ativar um fagócito diretamente e de estimular a atividade antimicrobiana (Rice et al., 2004). Por outro lado, o único tratamento que induziu maior ($P < 0,05$) produção de H_2O_2 após o desafio com LPS, comparado com o momento antes do desafio, foi o T3, indicando maior reatividade dos monócitos nos animais deste tratamento, o que sugere que os mesmos encontravam-se mais preparados para uma resposta imunológica celular por ocasião de desafio imunológico. Com relação ao NO, antes da aplicação de LPS, os animais que receberam T4 e T5 apresentaram maior ($P < 0,05$) produção, comparados aos animais que receberam o T1, indicando maior ativação de monócitos. Por outro lado, os animais dos tratamentos 2, 4 e 5 apresentaram redução ($P < 0,05$) na produção de NO após a aplicação de LPS, comparado com a produção antes da aplicação, indicando que os animais alimentados com T1 e T3 foram mais eficientes em manter a produção de NO pelos monócitos, em resposta ao desafio imunológico.

Tabela 1. Níveis de inclusão (%) de mananoligossacarídeos (MOS), β -glucano, galactoligossacarídeo (GOS), frutoligossacarídeo (FOS) e do antimicrobiano melhorador de desempenho nas dietas experimentais

	Tratamentos, %				
	T1	T2	T3	T4	T5
MOS + β -glucano	-	0,30	0,20	0,20	0,20
GOS	-	-	0,01	0,03	0,05
FOS	-	-	0,09	0,07	0,05
Halquinol (Clorohidroxiquinolina 60%)	0,02	-	-	-	-

Tabela 2. Explosão respiratória de monócitos no sangue periférico dos leitões antes e três horas após o desafio com LPS¹

Variáveis	Momentos	Tratamentos ²				
		T1	T2	T3	T4	T5
$H_2O_2^3$, nmol	Antes	0,999 ^b	2,733 ^a	1,523 ^{ab*}	1,769 ^{ab}	1,933 ^{ab}
	Após	1,577	2,068	2,672*	1,892	2,151
NO ⁴ , μ mol	Antes	12,917 ^b	24,291 ^{ab*}	19,639 ^{ab}	29,646 ^{a*}	27,685 ^{a*}
	Após	10,033	10,885*	15,697	18,488*	12,163*

¹Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$); Médias seguidas na coluna por *, diferem entre os momentos antes e 3h após desafio com LPS pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$).

²T1 = dieta basal (DB) + 120ppm de halquinol; T2 = DB + MOS e β -glucano (3,0 kg/t); T3 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (1:9); T4 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (3:7); T5 = DB + MOS e β -glucano (2,0kg/t) + GOS e FOS (1,0kg/t) (5:5); ³ H_2O_2 = Peróxido de hidrogênio; ⁴NO = Óxido nítrico.

Conclusão: Leitões desmamados com dieta suplementada com combinação de prebióticos com maior concentração de frutoligossacarídeo (T3) estão mais preparados para uma resposta imunológica celular por ocasião de desafio imunológico, pois apresentam padrões de secreção mais eficientes das espécies reativas, NO e H_2O_2 .

Referências Bibliográficas: KOGAN, G.; KOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*; v.109, p.161–165, 2007. PLUSKE, J. R.; LE DIVIDICH, J.; VERSTEGEN, M. W. A. **Weaning the pig: Concepts and consequences**. Wageningen Academic Publishers, 2003, 432 p. RICE, P.J.; LOCKHART, B.E.; BARKER, L.A.; et al. Pharmacokinetics of fungal (1-3) beta-D-glucans following intravenous administration in rats. *International Immunopharmacology*, v.4, p. 1209-1215, 2004. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: Imprensa Universitária/UFV, 2011, 252 p. SECOMBES, C.J. **Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity**. In: STOLEN, J.; FLETCHER, T.C.; ANDERSON, D.P.; ROBERSON, B.S.; VAN MUISWINKEL, W.B. (Eds). *Techniques in fish Immunology*. Fair Haven: SOS Publications, p.137-154. 1990. TIZARD, I.R. *Imunologia veterinária*. 9 ed. São Paulo: Elsevier, 568p. 2014.