

VALÉRIA VÂNIA RODRIGUES

**PLASMA SANGÜÍNEO COM OU SEM ANTIBIÓTICO EM DIETAS PARA
LEITÕES DESMAMADOS AOS 28 DIAS DE IDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

R696p
2013

Rodrigues, Valéria Vânia, 1983-
Plasma sanguíneo com ou sem antibiótico em dietas para
leitões desmamados aos 28 dias de idade / Valéria Vânia
Rodrigues. – Viçosa, MG, 2013.
ix, 88 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Aloízio Soares Ferreira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Suíno - Nutrição. 2. Suíno - Registros de desempenho.
3. Plasma sanguíneo. 4. Intestinos. 5. Dieta. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.40852

VALÉRIA VÂNIA RODRIGUES

**PLASMA SANGÜÍNEO COM OU SEM ANTIBIÓTICO EM DIETAS PARA
LEITÕES DESMAMADOS AOS 28 DIAS DE IDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 22 de março de 2013

Dr. Francisco Carlos de Oliveira Silva

Prof^ª. Dra. Melissa Izabel Hannas

Prof^ª. Dra. Cristina Mattos Veloso

Prof. Dr. Dalton de Oliveira Fontes

Prof. Dr. Aloízio Soares Ferreira
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar comigo em todos os momentos.

Ao meu amado marido Guilherme pelo incentivo e por acreditar e compartilhar
comigo cada sonho.

Aos meus pais Neuza e João Bosco pelo amor imensurável, pilares de minha vida.

Às minhas irmãs, Flávia e Dani, pela amizade, confiança e pela torcida de me ver
sempre feliz.

À minha sogra Ediná pelo carinho e cuidado.

Aos meus cunhados Luiz Henrique, José Luciano, Flávia, Alexandre e Mônica pelos
bons momentos compartilhados.

Aos meus estimáveis familiares e amigos.

À minha cachorrinha Gaya por ser minha fiel companheira.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, pela
oportunidade de realização e acolhimento durante o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela
concessão da bolsa.

Ao professor Aloízio Soares Ferreira pela orientação e confiança, amizade e pelos
valiosos ensinamentos transmitidos.

Ao pesquisador e conselheiro Francisco Carlos de Oliveira Silva pelas sugestões para
o enriquecimento deste trabalho e pelo apoio durante a condução do experimento.

Aos membros da Banca Examinadora e amigos, Professora Dra. Cristina Mattos Veloso, Professora Dra. Melissa Izabel Hannas e Professor Dr. Dalton de Oliveira Fontes, pelas sugestões e disposição em participar como membros da banca.

Àqueles que me ajudaram durante o decorrer do experimento, aos funcionários do setor de suinocultura, em especial ao Dedeco e as estagiárias Roberta e Thamirys, pela grande ajuda.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UFV, Alessandro, Chico, Marreco, Raimundo, Tãozinho, Vítor e Valdeir, pela amizade e ajuda indispensável.

Aos amigos Ana Paula Gomide, Andressa, Bárbara, Dani (Boca), Cinthia, Érika, Humberto e Márcia pela amizade, convivência e companheirismo.

À família Tufão (Bruno, Gregório, Déborah, Fabiano, Graci, Priscila e Wilams) que me fez viver momentos inesquecíveis e acreditar que nesta vida aonde vamos podemos construir grandes amizades.

Às velhas amizades que mesmo longe sempre estiveram perto, dentro do meu coração Adriene, Mary Ana e Renata.

Às pessoas que fizeram parte de minha vida nesses anos, trazendo alegria e bons momentos juntos.

BIOGRAFIA

VALÉRIA VÂNIA RODRIGUES, filha de João Bosco Rodrigues e Neuza Borges Rodrigues, nasceu em Varginha - Minas Gerais, aos 20 dias do mês de abril de 1983.

Em agosto de 2002, iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras (UFLA), concluindo-o em setembro de 2007.

Em março de 2008, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de mestrado em Zootecnia, na área de Nutrição de Monogástrico da Universidade Federal de Lavras (UFLA), concluindo-o em 27 de julho de 2009. Ainda em 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de doutorado em Zootecnia, na área de Nutrição de Monogástrico da Universidade Federal de Viçosa (UFV), submetendo-se à defesa de tese em 22 de março de 2013.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
<i>CAPÍTULO I</i>	1
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Importância do plasma sangüíneo nas dietas de leitões após o desmame	3
2.2. Atuação do plasma sangüíneo no sistema imunológico	7
2.3. Microbiota intestinal de suínos.....	14
2.3.1 Efeito do plasma sangüíneo na microbiota intestinal de suínos	16
2.4. Sinergismo do plasma sangüíneo e antibiótico	19
2.5. Atuação do plasma sangüíneo nas microestruturas intestinais dos leitões..	22
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
<i>CAPÍTULO II.....</i>	38
Plasma sangüíneo em dietas sem antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade	38
<i>Capítulo III</i>	63
Plasma sangüíneo em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade	63
<i>CONCLUSÕES GERAIS.....</i>	88

RESUMO

RODRIGUES, Valéria Vânia, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2013. **Plasma sanguíneo com ou sem antibiótico em dietas para leitões desmamados aos 28 dias de idade.** Orientador: Aloízio Soares Ferreira.

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar diferentes sequências de níveis de plasma sanguíneo nas dietas de leitões desmamados aos 28 dias de idade. No primeiro experimento, foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições de três animais. No segundo experimento, utilizou-se delineamento em blocos ao acaso com seis tratamentos e oito repetições de três animais cada. O peso inicial foi utilizado como critério para constituição dos blocos. Na primeira semana após o desmame, os tratamentos consistiram em três níveis de plasma sanguíneo bovino (0,0; 2,5 e 5,0%). Na segunda semana, foram usados os mesmos níveis de plasma, porém, combinados de forma a constituir as sequências 0,0 - 0,0%; 2,5 - 0,0%; 2,5 - 2,5%, 5,0 - 0,0%; 5,0 - 2,5% e 5,0 - 5,0%. Os dois experimentos tiveram as mesmas sequências de níveis de plasma, sendo que no primeiro experimento, as dietas foram isentas de antibiótico. No experimento um, os leitões que receberam 2,5% de plasma na dieta, apresentaram maior peso final. O maior nível de plasma (5,0%), aumentou o ganho de peso e o consumo de ração dos animais. Houve aumento na contagem linfocitária e de hematócrito dos leitões que receberam plasma na dieta. Os animais que receberam dietas com plasma sanguíneo apresentaram maior número de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* no cólon proximal. No experimento dois, o peso final, o ganho de peso e o consumo de ração foram maiores, nos animais que receberam o maior nível de plasma na dieta. A população bacteriana foi diminuída a medida que se aumentou o nível do alimento. Conclui-se que a sequência de plasma sanguíneo a ser usada em dietas sem antibiótico para leitões, nos períodos de 28 a 35 e 36 a 42 dias de idade, é de 2,5% na primeira

semana, com retirada a partir dos 35 dias de idade e de 5,0% na primeira semana, com retirada a partir dos 35 dias, quando se usa antibiótico. Conclui-se, ainda que, existe sinergismo do plasma sangüíneo com o antibiótico.

ABSTRACT

RODRIGUES, Valéria Vânia, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2013.
Blood plasma with or without antibiotic in diets for piglets weaned at 28 days old. Adviser: Aloízio Soares Ferreira.

Two experiments were conducted to evaluate different sequences of levels of blood plasma in diets of pigs weaned at 28 days of age. In the first experiment, we used a randomized completely design with six treatments and eight replications of three animals. In the second experiment, we used a randomized block design with six treatments and eight replicates of three animals each. The initial weight was used as a criterion to form blocks. In the first week after weaning, the treatments consisted of three levels of bovine blood plasma (0.0; 2.5 and 5.0%). In the second week, we used the same plasma levels, however, combined to form sequences 0.0 to 0.0%, 2.5 - 0.0%, 2.5 - 2.5%, 5.0 - 0.0%; 5.0 - 2.5% and 5.0 - 5.0%. Both experiments had the same sequences plasma levels, whereas in the first experiment, diets were free of antibiotic. In the one experiment, the piglets received plasma diet 2.5% showed higher final weight. The highest level of plasma (5.0%), increased weight gain and feed intake of animals. In the second period, the plasma sequence 2.5 to 0.0% influenced the higher final weight of piglets. There was increase in lymphocyte count and hematocrit in piglets received plasma diet. Animals received blood plasma diet presented higher number of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the proximal colon. In the second experiment, the final weight, weight gain and feed intake were higher in animals received the highest level of plasma in the diet. The bacterial population was reduced to increased as the level of the food. It was concluded that the sequence of blood plasma to be used in diets without antibiotic for piglets in periods of 28 to 35 and 36 to 42 days of age is 2.5% in the first week, with removal after 35 days old

and 5.0% in the first week, with removal after 35 days when using antibiotics. It follows that, there is synergism of blood plasma with the antibiotic.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os leitões, na primeira semana após o desmame, têm reduzido a ingestão de alimentos o que tem resultado em perda de peso. Assim, nutricionistas e criadores de suínos têm buscado utilizar ingredientes de alto valor biológico, que possam atuar na preservação das microestruturas do trato gastrintestinal, na tentativa de aumentar a ingestão de ração pelos leitões e, conseqüentemente, melhorar a saúde dos animais.

O plasma sangüíneo tem sido associado à proteção imune através de sua fração de imunoglobulina ou através da provável ação no impedimento da adesão de bactérias patogênicas à mucosa gastrintestinal por meio da presença de glicoproteínas no alimento (Peace et al., 2011). Outro efeito, atribuído ao uso de plasma sangüíneo nas dietas, está relacionado ao aumento de colônias de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, observado na mucosa intestinal de leitões desmamados (Bhandari et al., 2008).

O desenvolvimento de bactérias acidófilas no intestino grosso dos animais, pode levar à produção de ácido láctico e ácidos graxos voláteis, por conseguinte, podem acidificar o cólon, podendo provocar a inibição do crescimento de populações de bactérias nocivas como *E. coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella* sp (Mathew et al., 1993).

Os antibióticos têm sido usados em dietas para leitões na fase de creche, independente da idade de desmame, com o intuito de melhorar a microestrutura intestinal dos animais. Aliado a isso, tem-se constatado que a mucosa intestinal dos leitões pode ser modificada em função do uso de plasma sangüíneo que pode levar à diminuição da massa intestinal (Thomson et al., 1995), à redução de inflamação da

mucosa (Jiang et al., 2000; Campbell et al., 2008), além do aumento da altura das vilosidades devido aos processos de regeneração. Estes efeitos do plasma sangüíneo, provavelmente, sejam diferentes dependendo da idade de desmame dos animais, visto que, tem-se observado, que leitões desmamados aos 21 dias de idade têm apresentado maiores problemas de consumo de ração em relação à animais desmamados aos 28 dias.

Assim, constata-se a importância de se determinar as sequências de níveis de plasma sangüíneo a ser usada nas dietas com ou sem antibiótico para leitões na creche, após o desmame aos 28 dias, por meio de análises de desempenho, perfil hematológico, bacteriano e microestrutura intestinal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância do plasma sangüíneo nas dietas de leitões pós-desmame

O plasma sangüíneo é um subproduto de frigorífico derivado do sangue animal. A fração celular do sangue é separada por centrifugação, com o uso de anticoagulante, sendo posteriormente, concentrada por evaporação a vácuo, ou filtragem por osmose reversa ou, ainda, ultrafiltração. A secagem é feita pela técnica de *spray*, após a qual, obtém-se o produto conhecido por plasma sangüíneo *spray dried*, que apresenta uma coloração amarronzada e textura em pó fino (Torrallardona, 2010).

O sangue do animal adquirido para fabricação do plasma *spray dried* tem grande importância devido à sua ação imunológica, uma vez que é coletado de diversos animais, que possuem anticorpos contra os patógenos com os quais tenham tido contato durante toda a vida, nas diferentes granjas, inclusive por vacinações. Se considerarmos que cada lote de produto acabado produzido contém o plasma proveniente de 40-50 mil animais, pode-se deduzir o amplo espectro de anticorpos contra patógenos no produto final (Polo et al., 2010).

Além disso, por originar-se de um número elevado de animais, garante, por um lado, o efeito de diluição da possível presença de animais com alguma eventual doença crônica e que a homogeneidade do perfil de anticorpos contra patógenos seja constante entre os diferentes lotes de produção, com um perfil de anticorpos dinâmico contra patógenos emergentes nas diferentes granjas.

Neste sentido, o plasma, na nutrição animal, apresenta-se como um nutriente de alto valor biológico, que possui propriedades atuantes no sistema imunológico do

animal. Na Tabela 1 encontra-se a composição nutricional do plasma sanguíneo segundo Rostagno et al. (2011).

Tabela 1 – Composição nutricional do plasma sanguíneo

Nutriente	
Proteína Bruta (%)	71,89
Energia Digestível (kcal/kg)	4050
Matéria Seca (%)	91,01
Lisina (%)	6,54
Metionina (%)	0,88
Metionina + Cistina (%)	3,03
Treonina (%)	4,41
Triptofano (%)	1,28
Arginina (%)	3,89
Glicina + Serina (%)	7,07
Valina (%)	4,90
Isoleucina(%)	2,26
Leucina (%)	6,99
Histidina (%)	2,16
Fenilalanina (%)	3,95
Fenilalanina + Tirosina (%)	7,04

Os nutrientes presentes em determinados alimentos têm papel direto na imunologia dos animais, pois atuam como substratos e co-fatores enzimáticos para multiplicação celular durante a resposta imune e para síntese de anticorpos e outras moléculas importantes no processo inflamatório, como as citocinas. Dessa maneira, é atribuído ao plasma, uma ação imunológica benéfica ao animal (Gao et al., 2011).

O plasma contém entre 82 a 92% de proteína de alta qualidade e o resto da matéria-seca é constituída de cinzas e compostos fibrosos, dos quais, a matéria fibrosa, não parece ter nenhum efeito biológico. No entanto, a fração protéica do plasma é composta por uma mistura complexa de proteína, contendo fibrinogênio, imunoglobulina e albumina. As imunoglobulinas representam 22% das proteínas plasmáticas, as quais não são desnaturadas durante o processo de *spray dried*. Dentre as globulinas (IgM, IgD, IgA e IgE), as imunoglobulinas de tipo G são as

predominantes e, de acordo com Lora Graña et al. (2010), são imunoglobulinas que podem melhorar a saúde, a sobrevivência e o desempenho dos animais.

São duas as fontes de plasma que podemos encontrar no mercado, sendo as de origem suína e bovina, não existindo variabilidade nutricional entre ambas. A proteína bruta do plasma sangüíneo é considerada relevante (Torrallardona, 2010), porém, se compararmos o conteúdo de proteína do plasma ao da caseína, verificamos menor conteúdo protéico no aditivo além de baixa digestibilidade ileal de aminoácidos. Por outro lado, no que diz respeito ao conteúdo de aminoácidos essenciais, o plasma é superior à proteína da soja. Em sua composição, podemos observar valores expressivos de lisina, triptofano e treonina, sendo deficiente em isoleucina e, principalmente, metionina. De acordo com o NRC (1998), a metionina é considerada o primeiro aminoácido limitante em dietas contendo quantidades maiores que 6% de plasma. Dietas contendo plasma sangüíneo demandam maiores quantidades de metionina para potencializar seus efeitos sobre o ganho de peso, consumo de ração e prevenção de diarreias nos leitões (Drits et al., 1993). Entretanto, poucos são os trabalhos na literatura que mostram o possível efeito da metionina no desempenho de animais recebendo plasma.

Os efeitos positivos do plasma observados no desempenho de leitões desmamados, pode estar relacionados à presença de aminoácidos como treonina, ácido glutâmico e aspártico. Segundo Lora Graña et al. (2010), as concentrações desses aminoácidos no aditivo são significativas, podendo ser a explicação para a melhora observada no ganho de peso dos animais que recebem o alimento, uma vez que, são aminoácidos envolvidos na regeneração e defesa da mucosa intestinal.

A treonina além de estar envolvida na síntese de proteína do leite e da musculatura, está envolvida na digestão e na imunidade dos suínos. Da mesma

forma, é encontrada em grande quantidade na mucina intestinal, que são glicoproteínas, que compõem o muco, secreção digestiva. Além disso, participa na produção de anticorpos, especialmente imunoglobulina G (Bisinoto et al., 2007), imunoglobulina esta, mais presente no plasma.

Jiang et al. (2000) estudando a proteína do plasma sangüíneo em relação a mucosa intestinal de leitões pós-desmame, verificaram menor concentração de uréia plasmática nos leitões que receberam plasma na dieta. Segundo os autores, houve um aumento na eficiência de utilização da proteína do plasma e isso contribuiu para o aumento da utilização do nitrogênio da dieta devido redução do catabolismo de aminoácidos.

No entanto, Torrallardona et al. (2010), relataram que os aminoácidos presentes no plasma não podem explicar por si só os efeitos positivos observados no desempenho de leitões na fase inicial, uma vez que, o valor nutritivo do plasma sangüíneo é semelhante à de outras proteínas de alta qualidade.

Além da fração protéica de alto valor biológico do plasma, o alimento, apresenta ainda, componentes funcionais como lipídeos, fatores de crescimento, peptídeos biologicamente ativos (defensinas e transferrina), enzimas e outros compostos de grande importância para o trato gastrintestinal do animal (Campbell et al., 2010).

Pierce et al. (2005) sugeriram que a insulina contida no plasma sangüíneo pode regular o desenvolvimento gastrintestinal. Além disso, e de acordo com Rodas et al. (1995), o plasma pode estimular a liberação de maior quantidade de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) na mucosa intestinal, melhorando assim, o funcionamento e o crescimento gastrintestinais. As dietas contendo plasma favorecem o desenvolvimento do intestino delgado incrementando a superfície das

vilosidades intestinais, com consequente aumento da função absorptiva e melhor utilização de nutrientes (Lora Graña et al., 2010).

Outra questão relevante do plasma, é sobre sua influência na taxa de glicose. Garriga et al. (2005) estudando plasma sanguíneo na dieta de ratos desafiados com *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico (SAE), concluíram que o alimento reduz os efeitos negativos de SAE sobre o transporte de glicose na mucosa intestinal através do aumento da expressão de transportadores de glicose (SGLT-1) no intestino delgado dos animais. A absorção de glicose foi de 8-9% maior em ratos alimentados com plasma, indicando melhor absorção dos nutrientes.

Este fato pode nos dar idéia de como o plasma pode ser um importante alimento funcional na dieta de leitões desmamados, uma vez que pode melhorar o ganho de peso, o consumo de alimento e a eficiência alimentar de 25, 21 e 4%, respectivamente (Coffey & Cromwell, 2001 e Corl et al., 2007). Além disso, mais pesquisas devem ser realizadas a fim de avaliar, principalmente, a ação do plasma sanguíneo na atuação de hormônios e sua influência na mucosa intestinal de leitões após o desmame.

2.2. Atuação do plasma sanguíneo no sistema imunológico

A função do sistema imune é a defesa do organismo contra os agentes infecciosos ou substâncias antigênicas não infecciosas, que podem despertar respostas imunes.

As respostas imunológicas compreendem mecanismos de defesa inespecíficos e específicos do organismo frente às substâncias antigênicas. Dentre as defesas inespecíficas podemos citar as enzimas digestivas, barreira epitelial, secreção gástrica de ácidos, motilidade intestinal, produção de muco e a própria microbiota autóctone, que exercem grande papel evitando respostas desnecessárias do sistema

imune específico. Já a resposta imune específica, pode ser dividida em mecanismos inatos e adaptativos de defesa, sendo que a resposta geral é iniciada através da secreção de uma ampla variedade de componentes mediadores, denominados citocinas (Souza, 2012). As citocinas, por sua vez, ativam os componentes humorais, denominados de anticorpos (células fagocíticas) da resposta imune, além de alterar diversos processos endócrinos no organismo animal como liberação de corticosteróides e tiroxina (Stahly, 1996).

Segundo Bachini et al. (2006), as citocinas podem ser divididas em citocinas pró-inflamatórias tais como a IL-1, TNF- α , IL-6 e citocinas anti-inflamatórias como a IL-10, IL-1RA (antagonista do receptor IL-1) e o IFN- γ que estimulam o fagócito para a produção de enzimas líticas e outros produtos microbicidas do macrófago que irão destruir o microorganismo.

A IL-1 atua em nível de sistema nervoso central e seus principais efeitos são anorexia, febre e letargia neuroendócrina; enquanto que a IL-6 e o TNF- α atuam em tecidos periféricos promovendo a lipólise, proteólise e aumento da proteína de fase aguda, dentre outros efeitos (Xavier et al., 2006). Neste sentido, os principais efeitos negativos das citocinas estão relacionados à diminuição do consumo de alimento, aumento da degradação muscular, redução na deposição protéica em nível de músculo esquelético, aumento da síntese hepática da proteína de fase aguda, aumento da letargia, febre e mudança no comportamento social dos animais (Pupa et al., 2004).

Neste sentido, com a produção das citocinas após ocorrer ativação do sistema imunológico, o organismo do animal tende a identificar os invasores neutralizando os efeitos prejudiciais das moléculas isoladas e destruindo os microorganismos. Essa capacidade é determinada pelos linfócitos, população leucocitária mais importante da

resposta imune. De acordo com Burkey et al. (2009) a medula óssea e o timo representam os órgãos linfóides primários, onde ocorre a produção e a maturação dos linfócitos B e T, respectivamente. Já nos órgãos linfóides secundários (linfonodos, baço e tecidos linfóides associados às mucosas) ocorre, prioritariamente, a estimulação das células linfóides pelos antígenos.

Os linfócitos T estão relacionados à imunidade mediada por células e pela resposta à citocinas, a qual inclui hipersensibilidade tardia, defesa contra microrganismos intracelulares, defesa contra neoplasias, entre outros. Por outro lado, os linfócitos B estão relacionados à produção de anticorpos. Os anticorpos são a base do processo de imunidade humoral e representam, sem dúvida, um dos mecanismos mais eficientes de defesa do organismo animal, diante de um determinado antígeno.

Os anticorpos são glicoproteínas sintetizadas pelos linfócitos B já ativados (células plasmáticas secretoras). Na espécie suína, foram descritas quatro classes de imunoglobulinas - IgM, IgG, IgA e IgE - sendo as três primeiras mais conhecidas e importantes.

Vários pesquisadores constataram fortes correlações entre o sistema imune e o estado nutricional do animal (Van de Ligt et al., 2002; Montagne et al., 2004; Yi et al., 2005; Burkey et al., 2009; Fan et al., 2010).

Alguns nutrientes têm papel direto na imunologia do animal por servirem de substrato e co-fatores enzimáticos para a multiplicação celular durante a resposta imune (fagócitos, linfócitos) e para a síntese de moléculas efetoras (anticorpos, óxido nítrico, lizozimas) ou moléculas de comunicação (citocinas, mediadores inflamatórios). Eles também podem ter um efeito indireto na resposta imune ao modificarem as vias de comunicação intra e extra-celulares (citocinas) ou limitar efeitos indesejáveis de moléculas efetoras (Klasing et al., 1980).

O plasma sangüíneo tem mostrado efeitos positivos no sistema imune de leitões após o desmame (Coffey & Cromwell 1995; Grinstead et al., 2000; Barbosa et al., 2007; Gattás et al., 2008; Lora Graña et al., 2010).

Os principais efeitos do plasma estão justamente associados à proteção imune através de sua fração de imunoglobulinas ou através do impedimento da adesão de bactérias patogênicas à mucosa gastrointestinal do leitão devido à presença de glicoproteínas (Nobllet et al., 1999). De acordo com Bosi et al. (2001), a grande vantagem do plasma é ter em sua composição uma expressiva fração de IgG ativa, o que favorece alguma atividade positiva a nível de lúmen intestinal. Semelhantemente, Pierce et al. (1995) e Weaver et al. (1995) afirmaram que as imunoglobulinas presentes no plasma apresentam uma importante função biológica que influencia no desempenho do leitão devido sua ação local no intestino.

A presença de globulinas no plasma pode proporcionar proteção contra fatores de estresse intestinais, tornando o epitélio mais saudável e aumentando a secreção de enzimas digestivas, melhorando assim, a digestão, absorção e utilização dos nutrientes. O estresse oxidativo é um dos principais fatores que prejudicam a integridade da barreira gastrointestinal, causando inflamações e infecções (Kaplan et al., 2007). A adição de plasma na dieta de leitões, possui capacidade antioxidante sobre as células intestinais, indicado por meio de alterações de atividade das enzimas antioxidantes e concentração de malondialdeído no soro e mucosa intestinal dos animais, de acordo com trabalho conduzido por Gao et al. (2011).

Zanella et al. (2005) avaliaram o efeito do plasma associado à ácidos orgânicos na água de beber dos leitões sobre o perfil antioxidante do sangue dos mesmos. A análise de glutathione reduzida, mensurada através dos grupamentos tióis não protéicos, apresentou aumento significativo nos leitões que receberam plasma,

resultando em aumento na capacidade antioxidante nos eritrócitos e melhor conversão alimentar dos animais.

Neste sentido, as globulinas do plasma parece ter uma importante atuação nas células intestinais (Morés et al., 2012), através de sua ação sobre o sistema imune e sobre as características oxidativas nas células dos leitões. Assim, a explicação para tal fato, seria uma redução da super-estimulação da resposta inflamatória.

Gao et al. (2011) estudando dietas com plasma sangüíneo para leitões desmamados aos 21 dias, verificaram uma redução na expressão de citocinas (TNF- α , IL-2 e IL-6) na mucosa de leitões recebendo plasma em relação aos leitões do grupo controle.

Em trabalho semelhante, Pérez-Bosque et al. (2007) avaliaram o efeito da suplementação de plasma nas dietas para ratos desafiados com *Staphylococcus aureus* sobre a expressão de citocinas (TNF- α , IFN- γ e IL-6) nas placas de Peyer e GALT (linfócitos e mucosa da lâmina própria). Os autores concluíram que o plasma reduziu a expressão das citocinas e, conseqüentemente, ativação do sistema imunológico dos ratos. Estes resultados explicam o melhor transporte de nutrientes observados. Além disso, a suplementação com plasma diminuiu a incidência de *Staphylococcus aureus* através do aumento da secreção de IL-10 (anti-inflamatório). Da mesma maneira, Maijó et al. (2012) trabalhando com plasma na dieta de ratos desafiados com lipopolissacarídeos (LPS), verificaram redução na expressão de citocinas pró-inflamatórias e aumento na expressão da citocina anti-inflamatória IL-10. Esta citocina atua positivamente por ser uma citocina de controle.

Em contrapartida, Touchette et al. (2002) observaram um aumento na expressão de citocinas (TNF- α , IFN- γ) no soro de suínos desafiados com LPS que receberam plasma sangüíneo na dieta. Foi verificado um aumento de 150 vezes mais

TNF- α em comparação com um aumento de 60 vezes dos animais controle. Para o IFN- γ houve um aumento 110 vezes mais contra 16 vezes nos animais que não receberam plasma. Por outro lado, no baço e no timo de suínos alimentados com plasma foi observado uma redução na expressão da citocina TNF- α e de outras como IL-1 quando comparado àqueles que não receberam o alimento. Da mesma forma, a expressão da IL-6 foi reduzida na glândula adrenal e no baço dos animais alimentados com plasma. De acordo com os autores o plasma na dieta fornece uma proteção imunológica maior aos leitões desmamados em condições de desafio.

Outra importante atuação do plasma no organismo de leitões, está relacionada à redução de linfócitos intraepiteliais e da densidade de lâminas celulares no intestino grosso resultante de uma menor inflamação celular mediante (Nofrarias et al., 2006), o que permite, menor ativação do sistema imunológico do animal.

Thomaz et al. (2009), trabalhando com plasma sanguíneo e ovo inteiro na dieta de leitões pós-desmame, verificaram que a utilização de níveis crescentes de plasma, em substituição parcial à proteína bruta do leite em pó, promoveu redução linear na concentração de leucócitos no sangue dos leitões aos 27 dias de idade. Segundo os autores, a redução no número de leucócitos confirma o efeito do plasma sobre a defesa humoral do organismo, indicando menor ativação do sistema imune. Em contrapartida, Abreu et al. (2010), trabalhando com a inclusão de glutamina, nucleotídeos e plasma sanguíneo em dietas para leitões desmamados aos 21 dias, não verificaram influência do plasma sobre a contagem de leucócitos e de linfócitos, assim como a densidade da mucosa intestinal também não foi afetada pelos tratamentos.

O desmame está associado a maior inflamação intestinal, o que leva a uma resposta sistêmica pró-inflamatória e no aumento da densidade da lâmina própria da

mucosa intestinal dos leitões (Zijlstra et al., 1999). Segundo estes autores, a inclusão de plasma sangüíneo nas dietas faz com que os leitões apresentem menor densidade da mucosa, mostrando melhor defesa. Os principais mecanismos que promovem esta ação positiva do plasma na mucosa intestinal dos animais, estão relacionados à redução da interação antígeno-patógeno reduzindo a resposta inflamatória sistematicamente ou localmente. Além disso, o mecanismo de ação do plasma na dieta sobre o desempenho dos leitões envolve a modulação do sistema imunológico, disponibilizando assim, mais energia para o crescimento, integridade da mucosa intestinal e outras funções produtivas como crescimento, reprodução e gestação (Campbell et al., 2008).

Quando ocorre uma ativação do sistema imunológico, os animais são desafiados o que pode limitar a disponibilidade de energia e proteína para o crescimento além de causar alteração da integridade da mucosa intestinal. Assim, em situações desafiadoras aos animais, alguns nutrientes que seriam direcionados para o crescimento, podem ser redirecionados para auxiliar a resposta do sistema imune do hospedeiro contra o agente patogênico, principalmente na formação de moléculas e mediadores envolvidos na resposta imune. Como o mais prejudicial aspecto do estresse imunológico para o crescimento é a queda no consumo de alimento, torna-se prudente manipular a formulação da ração através da adição de ingredientes moduladores do sistema imune, como é o caso do plasma.

Tem-se observado ação positiva do plasma sangüíneo em dietas para leitões desmamados. A maioria deles, atribui a melhora no desempenho dos animais ao maior consumo de ração por meio da maior palatabilidade do alimento (Ermer et al., 1994; Hansen et al., 1993, Pierce et al., 2005), sendo observada também melhora em torno de 12,9% na conversão alimentar dos animais.

Entretanto, Torrallardona et al. (2003) e Torrallardona e Solà- Oriol (2009) sugeriram que o aumento no consumo de ração observado nas dietas contendo plasma sangüíneo não está relacionado a palatabilidade e sim a uma consequência do efeito das dietas sobre a saúde dos leitões. Os macrófagos secretam citocinas em resposta a estímulo de antígenos, e as citocinas por sua vez agem no cérebro reduzindo a ingestão de ração. Portanto, o aumento no consumo de ração em dietas contendo plasma sangüíneo poderia ser devido a redução na liberação das citocinas pró-inflamatórias visto que o plasma apresenta em sua composição imunoglobulinas ativas (Johnson, 1997; Jiang et al., 2000).

No entanto, embora as imunoglobulinas contribuam para os efeitos do plasma sangüíneo, é provável que outros compostos do plasma potencializam seu efeito benéfico sobre o sistema imunológico dos animais (Borg et al., 2002).

2.3. Microbiota intestinal de suínos

É bem conhecido que durante a primeira semana após o desmame a ingestão de alimentos pelos leitões é muito baixa, o que pode ocasionar, a perda de peso. Aliado a isso, existe também um desequilíbrio intestinal fruto das grandes alterações pelo qual o leitão é submetido, além da maturidade fisiológica, anatômica e imunológica ainda não “consolidadas” (Silva et al., 1999).

A microflora do trato intestinal do suíno é formada por grande número de microorganismos gram positivos e gram negativos e, segundo Mikellsen et al. (2003), este complexo de microorganismos benéficos e patogênicos é essencial para manter a estabilidade do sistema imunológico dos suínos.

O intestino em equilíbrio aporta uma complexa, densa, dinâmica e diversificada comunidade de microrganismos não patogênicos (Nover & Huffnagel, 2004).

Estima-se entre 500 a 1000 diferentes espécies bacterianas que colonizam o órgão de um animal adulto com aproximadamente 10¹⁴ bactérias; isto corresponde a dez vezes mais que o total de células de um animal. A composição da microbiota é regularmente constante, mas este perfil pode ser alterado pela idade, tipo de dieta, ambiente, estresse e utilização de medicamentos (Fuller, 1989).

Em um equilibrado microambiente, as espécies que predominam são: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Enterobacter*, *Bacteroides* e *Porphyromona*, enquanto os números de *E. coli* e *Clostridium sp.* são mais baixos (Budino et al., 2005; Pacsa et al., 2009). Dentre as espécies facultativas, a *Lactobacillus* e *Streptococcus* são os gêneros predominantes. Já a microbiota do ceco e colon contém quantidades similares de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, além de Bacterióides e *Eubacteriaceae*, e quantidades variáveis de *E. coli* (Johnsson & Conway, 1992).

Ao longo do trato gastrintestinal, as bactérias são distribuídas ao acaso, mas as diferentes espécies e os níveis populacionais distribuem-se de acordo com as características específicas das regiões do trato (Mackie et al., 1999). Esta especificidade resulta de diferenças no pH, da presença de enzimas digestivas e de sais biliares que podem modificar o trato intestinal criando "micro ambientes" nos quais a comunidade bacteriana será divergente.

Quanto a localização, a maior parte dos microorganismos são encontrados na parte final do sistema digestivo dos suínos (Tabela 2). Algumas famílias bacterianas podem estar localizadas no próprio lúmen, mas estas geralmente, são mortas e eliminadas. Algumas podem estar no muco; estas são a maior parte dos agentes ativos, sendo o muco o seu ambiente nutritivo. Finalmente, algumas se aderem às

células do intestino; representando alguns grupos patogênicos, apesar que, as espécies de *Lactobacillus* que são benéficas, também possuem o comportamento de se ligar à superfície do epitélio, além de serem exclusivas para determinado hospedeiro, não colonizando outra espécie animal.

Tabela 2 – Comparação da microflora presente no estômago, no intestino delgado e no intestino grosso de suínos (CFU log₁₀/g)

Microorganismos	Microflora do estômago	Microflora do intestino delgado		Microflora do intestino grosso	
		Proximal	Caudal	Ceco	Cólon
Contagem total	5,5-9,5	5,5-8,5	5,5-9,5	8,5-9,5	8,0-10,0
<i>Lactobacillus</i>	5,0-9,0	5,5-8,5	6,0-9,5	8,0-9,5	7,5-9,5
<i>Streptococcus</i>	4,0-7,0	4,0-6,5	5,0-7,5	7,5	6,0-8,0
<i>Bifidobacterium</i>	4,5-6,5	4,0-5,5	5,5-7,5	5,0-8,0	5,5-8,5

Fonte: Adaptado de Vondruskova et al. (2010)

2.3.1. Efeito do plasma sangüíneo na microbiota intestinal de suínos

A *Escherichia coli* é uma das mais importantes bactérias patogênicas que estão associadas à doenças diarréicas em leitões após o desmame e que são consideravelmente diminuídas quando o plasma sangüíneo é adicionado às dietas.

Essas bactérias possuem filamentos de polímeros de proteína, curtos e retos denominados fímbrias e aderem-se aos carboidratos da superfície da mucosa intestinal. A aderência à mucosa é considerado requisito para sua permanência e colonização no lúmen intestinal (Oyofe et al., 1989). Segundo Tsiloyiannis et al. (2001) a presença de *E. coli* no trato gastrintestinal dos leitões, está associada ao aumento da mortalidade dos animais. Esses pesquisadores, constataram a presença delas nas fezes de leitões mortos por diarreia severa, após exames bacteriológicos.

A diarreia em leitões, pode levar a perda de peso, anorexia e até a morte, principalmente, se o animal não for medicado. Idade de desmame, manejo inadequado, alimentação com alto teor de nutrientes alergênicos e estresse, são alguns dos fatores que podem levar a distúrbios gastrintestinais nos leitões. Segundo Jensen (1998), no intestino delgado de leitões, os *Lactobacillus*, que são dominantes antes do desmame, diminuem consideravelmente na primeira semana após o desmame enquanto o número total de bactérias e a proporção de coliformes, especialmente, *E. coli* aumentam. Este fato pode estar relacionado ao desmame por ser um período de grandes mudanças e estresse para os leitões.

O plasma sanguíneo tem sido utilizado em dietas para leitões na creche com a finalidade de diminuir a incidência dessas bactérias patogênicas no trato gastrintestinal dos leitões e, por conseguinte, aumentar a população de bactérias benéficas como a *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Bactérias do ácido láctico geneticamente modificadas têm sido usadas para inibir patógenos intestinais como a *E. coli*. Além disso, muitos dos seus efeitos são mediados pela regulação do sistema imune, principalmente pelo controle do balanço das citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias.

Da mesma maneira, alguns componentes celulares das bifidobactérias agem como imunomoduladores por meio do aumento de anticorpos, da atividade de macrófagos, do número de células *killer*, células T e interferon (Stefe et al., 2008).

Barbosa et al. (2012) avaliaram o efeito do plasma sanguíneo sobre as UFC g/ml de *E. coli* em leitões desmamados aos 21 dias de idade. Os autores verificaram redução no número de colônias de *E. coli* no intestino de animais que receberam dietas com plasma em relação ao grupo controle.

A presença de plasma nas dietas de leitões após o desmame, reduz enterotoxinas causadas por *E.coli* devido a redução da inflamação da mucosa, da expressão de citocinas pró-inflamatórias no intestino e da secreção de IgA salivar (Bosi et al., 2004). Estes autores concluíram que o plasma sanguíneo na dieta protege contra infecção por *E.coli* K88, mantendo a integridade da mucosa, aumentando a defesa imunológica específica e reduzindo inflamação intestinal.

Semelhantemente, Bhandari et al. (2008) ao avaliar a microbiota intestinal de leitões recebendo plasma, verificaram uma redução na expressão da citocina interferon (IFN- γ) pelos animais alimentados com o aditivo. Segundo os autores, a diminuição na concentração do IFN- γ pode estar relacionado a função protetora das glicoproteínas presentes no plasma que potencialmente inibiram a adesão da *E.coli* na mucosa intestinal dos animais, sendo eliminadas por competição aos receptores das glicoproteínas no intestino. Por este fato, verifica-se a relação entre a menor ativação do sistema imunológico dos animais e a presença de glicoproteínas no plasma favorecendo a eliminação de bactérias patogênicas. Além disso, foi observado um aumento de *Lactobacillus* no cólon de leitões que receberam plasma na dieta (Bhandari et al., 2008). Da mesma forma, Torrallardona et al. (2003) verificaram um aumento significativo no número de *Lactobacillus* no intestino de animais que receberam o aditivo.

As bactérias do gênero láctico podem produzir compostos antimicrobianos contra bactérias patogênicas podendo ter efeito sobre as funções intestinais, mucina e interconversão de sais biliares (Guo et al., 2006). A importância do aumento de bactérias lácticas como *Bacillus* e *Lactobacillus* se deve ao fato delas usarem mecanismos similares para transportar nutrientes através da parede celular otimizando a absorção e digestão dos alimentos. Além disso, os microrganismos

benéficos competem por nutrientes e locais de ligação no epitélio do trato intestinal, produzindo metabólitos como o ácido láctico e ácido acético, capazes de reduzir seletivamente o número de patógenos, além de, aumentar a resposta imune visto que alguns gêneros de bactérias intestinais como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, estão diretamente ligadas às respostas imunológicas (Ruiz, 1992).

Dessa maneira, a adição de plasma nas dietas de leitões após o desmame, pode manter a estabilidade da microflora bacteriana e, por conseguinte, melhorar a capacidade imunológica do animal frente a possíveis desafios sanitários.

2.4. Sinergismo do plasma sangüíneo e antibiótico

Nos últimos anos, pesquisas têm sido conduzidas a fim de avaliar a utilização de alimentos que promovam o crescimento das populações benéficas no organismo do animal em detrimento, da diminuição da população de organismos patogênicos. Essa busca tem como principal objetivo a substituição ao uso dos antibióticos nas rações animais.

A utilização de antibióticos como promotores de crescimento, na alimentação de suínos, confere grande benefício ao animal por promover maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, além de reduzida mortalidade, devido o controle de microrganismos patogênicos que colonizam o trato gastrintestinal. Pesquisadores têm verificado que os efeitos positivos do antibiótico são aditivos aos obtidos com o plasma, mas não se sabe ainda ao certo se existe ou não esse efeito somatório entre eles, ou seja, um efeito sinérgico.

O plasma sangüíneo pode reduzir a ativação do sistema imune e estes efeitos são acompanhados por diminuição na produção de citocinas pró-inflamatórias. Efeitos

semelhantes são observados com a utilização de antibióticos. Um dos mecanismos de ação dos antibióticos está relacionado a espessura da mucosa intestinal. Os antimicrobianos mantêm a espessura da parede intestinal mais fina, facilitando a absorção e utilização dos nutrientes pelos suínos. Da mesma maneira, a adição de plasma sanguíneo na dieta, é capaz de reduzir a massa intestinal dos leitões (Thomson et al., 1995).

Jiang et al. (2000), estudando o crescimento e redução da parede do intestino delgado de leitões desmamados com dietas contendo plasma sanguíneo, concluíram que a suplementação com plasma reduziu a massa intestinal e a densidade entre as vilosidades nas células da lâmina própria e ainda melhorou a conversão e a eficiência da proteína da dieta, através de uma redução da concentração de uréia. Segundo os autores, esses efeitos foram independentes da ingestão de ração, o que pode sugerir um efeito biológico específico da proteína plasmática. Além disso, os pesquisadores observaram redução de inflamação local com consequente melhoria na absorção de nutrientes. Da mesma forma, Thomson et al. (1995) observaram que a utilização do plasma nas dietas diminui a parede intestinal dos leitões, entretanto, os mecanismos de ação ainda não estão bem esclarecidos.

Um dos principais mecanismos de ação dos antimicrobianos, como promotores de crescimento, está relacionado ao controle de infecções subclínicas endêmicas, reduzindo o “custo metabólico” da ativação crônica do sistema imune do animal. Novamente, similaridade entre o antibiótico e o plasma, é observado. Os dois produtos agem na mucosa intestinal do animal, diminuindo ou controlando a incidência de microorganismos patogênicos fixados no epitélio intestinal que causam patogenias e baixo desempenho. Assis Júnior et al. (2009) ao avaliar o uso de plasma sanguíneo em dietas com antibiótico para leitões, não constataram diferenças entre os

tratamentos quanto ao índice de diarreia. Esses resultados nos leva a crer que o plasma agiu de forma semelhante ao antibiótico na redução de diarreia dos leitões.

Entretanto, mesmo os dois produtos agindo de maneira semelhante, eles apresentam mecanismos de ação diferenciados (Bosi et al., 2004). Desse modo, supõe-se que a utilização combinada de ambos poderia refletir em um somatório de efeitos benéficos ao animal e como no Brasil alguns antibióticos tem sido permitidos, pesquisas tem sido desenvolvidas não somente pela busca de alternativas ao uso de antibióticos mas também com o intuito de verificar algum possível efeito sinérgico entre eles.

Coffey & Cromwell (1995) observaram que os efeitos positivos do plasma sangüíneo são aditivos aos obtidos com antibióticos, uma vez que possuem mecanismos de ação diferenciados. Torrallardona et al. (2002), Bosi et al. (2004) e Formigoni (2012), observaram os mesmos resultados. As propriedades presentes no plasma que melhoram o desempenho dos leitões são independentes e diferenciadas das propriedades presentes nos antimicrobianos. Da mesma maneira, Lora Graña et al. (2010) estudando o plasma sangüíneo como uma alternativa ao uso de antibióticos observaram que ele tem tido efeitos sobre o controle bacteriano, em especial de *E. coli* no intestino delgado de leitões, e ainda, em condições de altos desafios aos animais, é possível que haja um efeito sinérgico entre eles.

Por outro lado, alguns trabalhos mostraram significativa interação entre o plasma e o antibiótico (Torrallardona et al., 2003; Bikker et al, 2004.; Conde, 2005). Segundo Torrallardona et al. (2003) a interação entre plasma e colistina, observado para alguns parâmetros bacteriológicos do estudo, sugere que os efeitos do antibiótico não foram aditivos, e que poderia ser explicado por uma ação principal comum de ambos os produtos contra o desafio experimental com *E. coli* K99.

Independente da sinergia entre os dois produtos em questão, uma grande vantagem do aditivo em relação ao antimicrobiano, está relacionado à diminuição do número de bactérias totais que o antibiótico pode ocasionar, ou seja, o antimicrobiano diminui a incidência de bactérias patogênicas, entretanto, de bactérias benéficas também. Collier et al. (2003) estudando respostas da microbiota suína com o uso de antimicrobianos, observaram uma redução da população bacteriana do íleo de uma forma geral (*Lactobacillus*, *Bacillus* e *Streptococcus*). Os mesmos resultados foram observados por Knarreborg et al. (2002) que através de análise de Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) para contagem bacteriana, verificaram que microorganismos como *Lactobacillus* estavam no grupo de bactérias mais diminuídas da mucosa intestinal devido a administração de antibióticos.

Neste sentido, várias são as hipóteses que favorecem a utilização do plasma nas rações dos leitões pós-desmame, e com a busca de alimentos alternativos aos antibióticos, o plasma parece ser uma alternativa viável por apresentar efeitos bem semelhantes aos antimicrobianos, ao qual, até o momento, apresenta-se como um aditivo de grande resposta.

2.5. Atuação do plasma sangüíneo nas microestruturas intestinais dos leitões

O intestino delgado tem como unidade funcional as vilosidades, que são projeções da mucosa revestidas por células epiteliais colunares com função de aumentar a área da superfície para a absorção dos nutrientes, chamadas de enterócitos. Os nutrientes alimentares, provindos dos processos digestivos, são absorvidos de maneira contínua e extensa pelos enterócitos, no intestino delgado.

Durante o período em que os animais estão se alimentando basicamente do leite materno, as vilosidades intestinais são largas e bem estruturadas, pois o leitão utiliza

os carboidratos do leite como fonte energética, principalmente a lactose, que tem como função manter a integridade da mucosa ao longo do intestino delgado, assegurando, assim, eficiência na absorção dos nutrientes (Pluske et al., 1991). Durante o desmame, devido a vários fatores incomuns aos que os animais estavam adaptados no período pré-desmame, pode ocorrer desordens gastrintestinais ocasionando mudanças estruturais e funcionais no intestino delgado, encurtamento das vilosidades e alongamento de criptas. A perda na altura das vilosidades resulta em menos enterócitos nas vilosidades, e provavelmente, em menor quantidade de enzimas nas bordas em escova por vilosidade.

Neste sentido, as mudanças fisiológicas afetam a anatomia do intestino delgado do leitão, incluindo uma redução do peso de mucosa na ordem de 20-30% (Lallès, et al., 2007). Diminuição da mucosa intestinal está associada à redução na capacidade digestiva e absorptiva do intestino delgado resultando em vilosidades desgastadas.

Por sua vez, as vilosidades desgastadas e as criptas aprofundadas apresentam menor número de células absorptivas e maior número de células secretoras. Além disso, com a redução na absorção de carboidratos e aminoácidos, ocorre queda na absorção de líquidos, sódio, potássio e cloreto, podendo levar o animal a uma diarreia osmótica (Nabuurs et al., 1993). Desse modo, todos estes efeitos negativos na mucosa intestinal do animal provocam uma resposta imunológica a nível abdominal, resultando na inflamação da mucosa (Li et al., 1990 e 1991). Esta reação pode ser severa e pode reduzir o desempenho do animal por meio do aumento da incidência de diarreia.

A utilização de ingredientes de alto valor biológico, nas primeiras semanas de vida dos leitões, pode manter a integridade da mucosa intestinal através da redução ou ausência de diarreia. De acordo com King et al. (2008), as imunoglobulinas e

albuminas presentes no plasma sangüíneo podem atuar como fatores de crescimento da epiderme, contribuindo para redução da atrofia das vilosidades.

Torrallardona et al. (2003), Conde (2005) e Nofrarías et al. (2006) relataram que a inclusão de plasma sangüíneo na dieta de leitões pós-desmame aumentou a altura das vilosidades, especialmente nas duas primeiras semanas pós-desmame.

Bosi et al. (2004) estudando duas diferentes fontes protéicas (sendo uma delas plasma sangüíneo) em dietas com ou sem antibiótico para leitões desafiados, observaram que dietas com plasma mantiveram o jejuno dos animais sem ulceração, vasodilatação ou edema, quando comparado aos animais que receberam outra fonte protéica. Segundo os autores, a integridade da barreira intestinal é fundamental para o funcionamento adequado das células epiteliais e para evitar a adesão de bactérias patogênicas que poderiam levar a processos inflamatórios.

Maior altura de vilosidades no duodeno está relacionada a maior absorção de nutrientes. Formigoni (2012) comparou as vilosidades e criptas de leitões recebendo sequência de níveis de plasma sangüíneo nas dietas (0,0; 6,6; 6,3; 6,0; 3,3; 3,0%). A autora observou maior altura de vilosidade no duodeno dos animais que receberam dietas contendo 6,0% de plasma sangüíneo durante a primeira semana e 3,0% na segunda semana. Contudo, não houve diferenças das variáveis analisadas no jejuno e íleo dos animais.

Assim, vários são os trabalhos que verificaram uma relação positiva entre a inclusão de plasma sangüíneo na dieta de leitões, com melhores parâmetros absorptivos (Jiang et al., 2000; Touchette et al., 2002; Yi et al., 2005). Entretanto, comparando trabalhos na literatura, essas respostas não tem sido consistentes.

Zhao et al. (2007) verificaram somente uma tendência de maior altura de vilosidades no duodeno dos animais que receberam dieta suplementada com plasma.

Semelhantemente, Norfrárias et al. (2006) avaliando o efeito da inclusão de 6% de plasma na dieta de leitões desmamados aos 18 dias, não observaram efeito sobre a morfologia intestinal dos leitões que receberam dietas contendo plasma sangüíneo.

Variações de resultados podem estar relacionadas à fatores como desafio sanitário, nível de plasma utilizado na dieta ou até mesmo nível de substituição de uma fonte protéica pelo plasma, uma vez que o nível de plasma substituído, pode ser insuficiente para assegurar a regeneração de vilosidades no intestino dos leitões (Barbosa et al., 2012).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M.L.T., DONZELE, L.D., SARAIVA, A et al. 2010. Glutamine, nucleotides and swine plasma in diets for weaned piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia** vol.39 no.3.
- ASSIS JÚNIOR, F.I.; FERREIRA, A.S.; DONZELE, J.L.; DETMANN, E.; BARBOSA, F.F.; SOUZA JUNIOR, A.H. 2009. Níveis de plasma sangüíneo em dietas pós-desmame para leitões desmamados aos 28 dias de idade. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia** v.38: 843-849.
- BACHINI F, BASSINI-CAMERON A, CAMERON LC. 2006. Nutrition, Metabolism and Exercise in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Brazilian Journal Investigating Pathological Morphological Morphometry** v. 1(3): 7-14.
- BARBOSA, F.F.; SILVA, F.C.O.; FERREIRA, A.S. et al. 2012. Efeitos do plasma sangüíneo sobre vilosidades, desenvolvimento bacteriano desempenho de leitões criados em condições de desafio pós-desmame

aos 35 dias. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v.13: 469-479.

BARBOSA, F.F.; FERREIRA, A.S.; GATTÁS, G. et al. 2007. Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.36: 1052-1060.

BHANDARI, S.K.; XU, B.; NYACHOTI, C.M. 2008. Avaliação das alternativas aos antibióticos usando uma *Escherichia coli* K88⁺ modelo de diarreia de leitões: Efeitos sobre a ecologia microbiana do intestino. **Journal of Animal Science** v. 86: 836-847.

BIKKER, P., A. J. VAN DIJK, A. DIRKZWAGER, J. et al. 2004. The influence of diet composition and an anti-microbial growth promoter on the growth response of weaned piglets to spray dried animal plasma. **Livestock Production Science** v. 86:201–208.

BISINOTO, K. S. et al. 2007. Exigências de triptofano para leitões (6 kg a 11 kg) com base no conceito de proteína ideal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá v. 28: 197-202.

BORG, B. S.; CAMPBELL, J. M.; RUSSEL, L. E. ; Rodríguez, C. and Ródenas, J. 2002. Evaluation of the chemical and biological characteristics of spray-dried plasma protein collected from various locations around the world. **Production Animal Associaton Swine Veterinary** v. 33: 97-100.

BOSI, P., CASINI, L., FINAMORE, A., et al. 2004. Spray-dried plasma improves growth performance and reduces inflammatory status of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science** v. 82: 1764-1772.

- BOSI, P.I.K.; HAN, H.J.; JUNG, K.N. et al. 2001. Effect of different spray dried plasmas on growth, ileal digestibility, nutrient deposition, immunity and health of early-weaned pigs challenged with *E. coli* K88. **Asian-Aust. Journal of Animal Science** v.14: 1138-1143.
- BUDINO FEL, THOMAZ MC, KRONKA N, NAKAGHI LSO, TUCCI FM, FRAGA AL, SCANDOLERA AJ, HUAYNATE RAR. 2005. Effect of probiotic and prebiotic inclusion in weaned piglet diets on structure and ultra-structure of small intestine. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 6: 921–929.
- BURKEY, T. E, SKJOLAAS, K. A., MINTON. J. E. BOARD-INVITED REVIEW: Porcine mucosal immunity of the gastrointestinal tract. **Journal of Animal Science** 87:1493–1501, 2009.
- CAMPBELL, J.M., CRENSHAW, J.D., RUSSELL, L.E et al. 2008. Influence of Dietary Plasma Proteins on Supporting Animal Immunity Systems. APC Inc., **Florida Ruminant Nutrition Symposium Ankeny**, IA January 29-30.
-
- CAMPELL, J.M.; POLO, J.; RUSSELL. et al. 2010. Review of spray-dried plasma's impact on intestinal barrier function. **Livestock Production Science** v.133: 239-241.
- COFFEY R.D. & CROMWELL G.L. 2001. Use of spray-dried animal plasma in diets for weanling pigs. **Pig News and Information** v. 22: 39-48.
- COFFEY, R.D.; CROMWELL, G.L. 1995. The impact of environment and antimicrobial agents on the growth response of early-weaned pigs to spray-dried porcine plasma. **Journal of Animal Science** v.73: 2532-2539.

- COLLIER, CT, JD VAN DER KLIS, B. DEPLANCKE, DB ANDERSON, E HR GASKINS. 2003. Os efeitos da tilosina em mucolysis bacteriana, *Clostridium perfringens*, colonização e função de barreira intestinal em um modelo de pinto de enterite necrótica. **Antimicrob. Agents Chemother** v. 47 : 3311 -3317.
- CONDE, R. 2005. **SDAP in piglet nutrition. A possible alternative to antibiotics.** Ph.D. Thesis, Autonomous University of Barcelona, Bellaterra, Spain.
- CORL B.A., HARRELL R.J., MOON H.K., PHILLIPS O., WEAVER E.M., CAMPBELL J.M., ARTHINGTON J.D. & ODLE J. 2007. Effect of animal plasma proteins on intestinal damga and recovery of neonatal pigs infected with rotavirus. **Journal of Nutritional Biochemistry** v. 18: 778-784.
- DRITZ, S.S.; TOKACH, M.D.; GOODBAND, R.D. et al. 1993. Optimum level of spray dried porcine plasma for early weaned (10.5 d of age) starter pigs. **Swine day**. Kansas State University.
- ERMER, P.M.; MILLER, P.S.; LEWIS, A.J. 1994. Diet preference and meal patterns of weanling pigs offered diets containing either spray-dried porcine plasma or dried skim milk. **Journal of Animal Science** v.72: 1548-1554.
- FAN, J.; MENG, Q.; GUO, G.; XIE, Y.; LI, X.; XIU, Y.; LI, T.; MA, L.2010. Effects of early enteral nutrition supplemented with arginine on intestinal mucosal immunity in severely burned mice. **Clinical Nutrition** v. 29: 124-130.

FORMIGONI, A.S M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2012.

Níveis de plasma sanguíneo em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 21 dias.

FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. **Journal Application Bacterial.** v.66: 365-378.

GAO, Y.Y.; JIANG, Z. Y.; LIN, Y. C. et al. 2011. ChenEffects of spray-dried animal plasma on serous and intestinal redox status and cytokines of neonatal piglets. **Journal of Animal Science** v. 89: 150-157.

GARRIGA, C., A. PÉREZ-BOSQUE, C. AMAT, J.M. CAMPBELL, L. RUSSELL, J. POLO, J.M. PLANAS AND M. MORETÓ. 2005. Spray-dried porcine plasma reduces the effects of Staphylococcal Enterotoxin B on glucose transport in rat intestine. **Journal Nutrition** v. 135:1653-1658.

GATTÁS, G.; FERREIRA, A.S.; BARBOSA, F.F. et al. 2008. Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 14 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.37: 278-285.

GERSHWIN, L.J. 2003. Respostas imunes a agentes infecciosos. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**, Ed. Guanabara/Koogan, p. 7-13.

GRINSTEAD, G.S.; GOODBAND, R.D.; DRITZ, S.S. 2000. Effects of whey protein product and spray-dried animal plasma on growth performance of weanling pigs. **Journal of Animal Science** v.78: 647-657.

GUO, X., D. LI, W. LU, X. PIAO, AND X. CHEN. 2006. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. *Antonie Leeuwenhoek Int. Jornal Genetic Application Microbiology* v. 90: 139–146.

- HANSEN, J.A.; NELSEN, J.L.; GOODBAND, R.D. 1993. Evaluation of animal protein supplements in diets of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science** v.71: 1853-1862.
- JIANG R., CHANG X., STOLL B., et al. 2000. Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early-weaned pigs. **Journal of Nutrition** v. 130: 2021-2026.
- JENSEN-WAERN, M., MELIN, L., LINGERG R. et al. 1998. Dietary zinc oxide in weaned pigs-effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions, and faecal microflora. **Research in Veterinary Science** v. 64: 225-231.
- JOHNSON, R. W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: A integrated view. **Journal of Animal Science** v.75: 1244-1255.
- JONSSON, E.; CONWAY, P. 1992. Probiotics for pigs. In Fuller, R (Ed.) Probiotics-The Scientific Basis. London, Chapman & Hall, p.259-316..
- KAPLAN, M., E. A. MUTLU, M. BENSON, J. Z. et al. FIELDS. 2007. Use of herbal preparations in the treatment of oxidant-mediated inflammatory disorders. *Complement. Ther. Med.* 15:207–216.
- KING, M.R.; MOREL, P.C.H.; PLUSKE, J.R.; HENDRIKS, W.H. 2008. A comparison of the effects of dietary spray-dried bovine colostrums and animal plasma on growth and intestinal histology in weaner pigs. **Livestock Science** n.119: 167–173.
- KLASING, K.; KNIGHT, C.D & FORSYTH, D.M. 1980. Effects of iron on the anti-coli capacity of sow's milk in vitro and in ligated intestinal segmentes. **The Journal of nutrition** v.110: 1914-1921.

- KNARREBORG, A., M.A SIMON, ENGBERG, R.M, et al. 2002. Efeitos da fonte de gordura na dieta e os níveis de subterapêuticas de antibióticos na comunidade bacteriana no íleo de frangos de corte em várias idades. **Application Environment. Microbiology** v. 68 : 5918 -5924.
- LALLE`S, J.P.; BOSI, P.; SMIDT, H. and STOKES, C.R. 2007.. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. **Proceedings of the Nutrition Society**. v. 66, 260–268.
- LI, DF, JL NELSEN, PG RIBEIRO, F. BLECHA, JD HANCOCK, GL ALLEE, RD GOODBAND E RD KLEMM. 1990. Hipersensibilidade transitória ao farelo de soja no desmame precoce porco. **Journal of Animal Science** v. 68 : 1790 -1799.
- LI, DF, JL NELSEN, PG RIBEIRO, F. BLECHA, RD KLEMM, DW GIESTING, JD HANCOCK, GL ALLEE, E RD GOODBAND. 1991. Medir a adequação de produtos de soja para suínos desmamados precocemente com critérios imunológicos. **Journal of Animal Science** 69 : 3299 -3307.
- LORA GRAÑA, G; FERREIRA, A.S; SILVA, OLIVEIRA.; F.C et al. 2010. Plasma sanguíneo em dietas sem antibióticos para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v.11: 815-826.
- MACKIE, R.I.; SGHIR, A.; GASKINS, H.R. 1999. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. **The American Journal of Clinical Nutrition** v.69: 1035S-1045S.

- MATHEW, AG.; SUTTON, A.L.; SCHEIDT, A.B. 1993. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weaning pig. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71. n 6.
- MIKKELSEN LL, BENDIXEN CH, JAKOBSEN M, JENSEN BB. 2003. Enumeration of bifidobacteria in gastrointestinal samples from piglets. **Applied and Environmental Microbiology** v. 69: 654–658.
- MONTAGNE, L.; CAVANEY, F.S.; HAMPSON, D.J.; LALLE, J.P.; PLUSKE, J.R. 2004. Effect of diet composition on postweaning colibacillosis in piglets. **Journal of Animal Science**. v. 82:2364–2374.
- MORÉS, N.; ZANELLA, J.R.C.; AMARAL, A.L., et al. 2012. Prevenção da circuvirose suína pelo uso do plasma suíno ultrafiltrado produzido por “spray dried”. Artigo técnico da **Revista Online Engormix**. Acessado em: 08-03-2013/ <http://pt.engormix.com/MA-suinocultura/saude/artigos/prevencao-circovirose-suina-pelo-t854/165-p0.htm>.
- NABUURS, M. J. A.; ZIJDERVELD, F. G.; DE LEEUW, P. W. 1993. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. **Research Veterinary Science**, London, v. 55: 78-84.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1998. **Nutrient requirement of swine** . 10.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 189p.
- NOBLET, H.; DEPREZ, P.; VAN DRIESSE, et al. 1999. Protection of just weaned pigs against infection with F18+ *Escherichia coli* by non-immune plasma powder. **Veterinary Microbiology** v.65: 37-45.

- NOFRARÍAS, M., E.G. MANZANILLA, J. PUJOLS, X. GUBERT, N MAJÓ, J. Segalés and J. Gasa. 2006. Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. **Journal of Animal Science** v. 84: 2735-2742.
- NOVERR, M.C; HUFFNAGEL, G.B. 2004. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? **Trends in Microbiology** v.12: 562-568.
- OYOFO, B.S; DELOACH, J.R; CORRIER, D.E. 1989. Prevention os Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science** v.68: 1357-1360.
- PACSA, I., MARGHITAS, L.A., GROZA, I. et al. 2009. The importance of probiotics administration to sucking pigs. **Journal of Food Agriculture and Environment** v. 7: 485–491.
- PEACE, R.M; CAMPBELL, J; POLO, J. 2011. Spray dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation, and diarrhea in weaned pigs. **Journal of Nutrition** v141: 1312-1317.
- PÉREZ-BOSQUE, A, L. MIRÓ, J. POLO, L. RUSSELL, J. CAMPBELL, E. WEAVER, J. CRENSHAW AND M. MORETÓ. 2007. Plasma protein supplements modulate the activation of gut associated immune system induced by *S. aureus* enterotoxin B in rats. **Anais...** I International Immunonutrition Workshop. October 3-5.
- PIERCE, J.L.; CROMWELL, G.L.; LINDEMANN, M.D. 1995. Assessment of three fractions of spray-dried porcine plasma of performance of early-weaning pigs. **Journal of Animal Science** v. 73: p. 81.

- PIERCE, J.L.; CROMWELL, G.L.; LINDEMANN, M.D.; et al. 2005. Effects of spray-dried animal plasma and immunoglobulins on performance of early weaned pigs. **Journal of Animal Science** v.83:2876-2885.
- PLUSKE, J.R.; WILLIAMS, I.H.; AHERNE, F.X. 1991. Maintenance of villous height and crypt depth in the small intestine of weaned pigs. En: Manipulating pig production III. Ed. Baterham. **Australian Pig Science Association**. 143 p.
- POLO, J., CAMPBELL, J., CRENSHAW, J ET AL. 2010. Spray-dried plasma used in pig feed and biosecurity. **Acta scientiae veterinariae**. 38(supl 1): 73-81.
- PUPA, J.M.R.; HANNAS, M.I.; ALVARENGA E MELO, R.C. 2004. **Nutrição, imunidade e reprodução**. Revisão apresentada no ENIPEC – Encontro Internacional dos Negócios Pecuários. Campo Grande, MS, 23p.
- RODAS, B.Z.; SOHN, K.S.; MAXWELL, C.V. 1995. Plasma protein for pigs weaned at 19 to 24 days of age: Effect on performance in plasma insuline- like growth factor I, growth hormone, insulin, and glucose concentrations. **Journal of Animal Science** v.73: 3657-3665.
- ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., DONZELE, J. L. et al. 2011. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: UFV, 3º ed. 252p.
- RUIZ, R.L. 1992. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo: Ed. Roca, 314p.
- SILVA, C.A.; BRITO, B.G.; MORES, N.; AMARAL, A.L. 1999. Ecopatologia da diarreia pós-desmame em granjas de suínos da região norte do Paraná, Brasil. **Ciência Rural** v.29: 39-43.

- STEFE, C.A.; ALVES, M.A.R.; RIBEIRO, R.L. 2008. Probióticos, prebióticos e simbióticos – artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista** v.3: 16-33.
- SOUZA, R. V. 2012. Principais nutrientes envolvidos no sistema imune. In: IV Simpósio Mineiro de Suinocultura, Lavras. **Anais...** Universidade Federal de Lavras, MG, v. 41, p.80.
- STHALY, T. 1996. Influencia de la activacion del sistema inmunitario sobre la productividad y las características nutricionales de dietas para cerdos. **Avances en nutricion e alimentación animal**. Madri: 96p.
- THOMAZ M.C., HANNAS, M.I., TUCCI, F.M. 2009. Different protein sources in rations of piglets on activity of trypsin and blood parameters. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**. v.46 n.2.
- THOMSON, JE, JONES, EE & EISEN, EJ. 1995. Efeito de spray-dried proteína plasmática de suíno sobre características de crescimento e balanço de nitrogênio e energia em camundongos. **Journal of Animal Science** v. 73 :2340 -2346.
- TORRALLARDONA, D. AND D. SOLÀ-ORIOL. 2009. **Evaluation of freechoice feedstuffs preference by pigs**. In: Voluntary feed intake in pigs .Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. pp. 215- 242.
- TORRALLARDONA, D. 2010. Spray Dried Animal Plasma as an Alternative to Antibiotics in Weanling Pigs - A Review. **Journal Animal Science** v. 23: 131 – 148.

- TORRALLARDONA, D., CONDE, M. R.;BADIOLA,I .et al. 2003. Effect of fishmeal replacement with spray-dried animal plasma and colistin on intestinal structure, intestinal microbiology, and performance of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* K99. **Journal Animal Science** v. 81:1220-1226.
- TORRALLARDONA, D.; CONDE, R.; ESTEVE-GARCIA, E. and BRUFAU, J.2002. Use of spray dried animal plasma as an alternative to antimicrobial medication in weanling pigs. **Animal Feed Science Technoly** v.99: 119-129.
- TOUCHETTE, K.J., J.A. CARROLL, G.L., ALLEE, R.L., MATTERI, C.J., DYER, L.A., BEAUSANG AND M.E. ZANNELLI. 2002. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: I. Effects on the immune axis of weaned pigs. **Journal of Animal Science** v. 80:494-501.
- TSILOYIANNIS, V.K; KYRIAKIS, S.C et al. 2001. The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhea. **Research in Veterinary Science** v. 70: 287-293.
- VAN DE LIGT, J.L.G.; LINDEMANN, M.D.; HARMON, R.J.; MONEGUE, H.J.; CROMWELL, G.L. 2002. Effect of chromium tripicolinate supplementation on porcine immune response during the post weaning period. **Journal of Animal Science** v.80: 449–455.
- VONDRUSKOVA, H., SLAMOVA, R., TRCKOVA, M. 2010. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhea in weaned piglets: a review. **Veterinarni Medicina** v. 55: 199-224.

- WEAVER, E. M.; RUSSELL, L. A.; DREW, M. D. 1995. The effects of spray dried animal plasma fractions on performance of newly weaned pigs. **Journal Animal Science.**, 73:81 (Supl 1).
- XAVIER, E.G.; RUTZ, F. E ROLL, V.F.B. IMUNONUTRIENTES NA PRODUÇÃO DE SUÍNOS. 2006. **In:** I Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína. Porto Alegre, Rs, p.174 – p.195.
- YI, G.F.; CARROLL, J.A.; ALLEE, G.L.; GAINES, A.M.; KENDALL, D.C.; USRY, J.L.;TORIDE, Y.; IZURU S. 2005. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* K88+-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science** V. 83: 634-643.
- ZANELLA, E.L., BONDAN, C., SOARES, J.C.M.et al. 2005. Efeito do plasma suíno ultrafiltrado e/ou ácido orgânico sobre o perfil antioxidante de leitões com sinais clínicos de circovirose no início da fase de crescimento e terminação. In: Anais do 12º Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos (Fortaleza, CE). pp.141.
- ZHAO, J. et al. 2007. Growth performance and intestinal morphology responses in early pigs to supplementations of antibiotic-free diets with an organic copper complex and spray-dried plasma protein in sanitary and non sanitary environments. **Journal Animal Science** v. 85: 1302-1310.
- ZIJLSTRA, R.T., MCCracken, B.A., ODLE, J., et al. 1999. D modifies pig small intestinal inflammatory responses to rotavirus. **Journal Animal Science** v. 129: 838-843.

CAPÍTULO II

Plasma sangüíneo em dietas sem antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade

O artigo foi formatado de acordo com as normas para publicação na revista Journal Animal Science – JAS e adaptado para leitura de teses da Universidade Federal de Viçosa

RESUMO: Objetivando-se avaliar a sequência de níveis de plasma sanguíneo em dietas sem antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, foram utilizados 144 animais distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso com seis tratamentos e oito repetições de três animais. Os tratamentos consistiram na inclusão de sequências de níveis de plasma bovino nas dietas dos leitões (0,0 - 0,0%; 2,5 - 0,0%; 2,5 - 2,5%, 5,0 - 0,0%; 5,0 - 2,5% e 5,0 - 5,0%) dos 28 aos 42 dias. Foram efetuadas as trocas de rações e de níveis de plasma aos 35 dias de idade. Dos 43 aos 49 dias, os animais receberam rações convencionais de creche e em todo período experimental, as dietas foram isentas de antibiótico. Os animais que receberam dietas com 2,5% de plasma apresentaram maior peso final. O nível de 5,0% de plasma influenciou o ganho de peso e o consumo de ração dos leitões. A contagem linfocitária e de hematócrito aumentou com a inclusão do plasma na dieta. A contagem leucocitária diminuiu com a sequência de plasma 5,0 - 0,0%, não diferindo do tratamento controle. Os animais que receberam dietas com plasma sanguíneo apresentaram maior número de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* no cólon proximal em relação aos animais que receberam dieta controle. A sequência de plasma sanguíneo a ser usada em dietas sem antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, é de 2,5% na primeira semana com retirada a partir dos 35 dias.

Palavras chave: *Bifidobacterium*, imunidade, *Lactobacillus*, mucosa intestinal, suíno

ABSTRACT: With the objective to evaluate the sequence of blood plasma levels in diets without antibiotic for piglets weaned at 28 days old, were used 144 animals distributed in randomized completely design with six treatments and eight replications with three animals. The treatments consisted in the inclusion of sequences bovine plasma levels in the diets of piglets (0.0 - 0.0, 2.5 - 0.0, 2.5 -2.5, 5.0 - 0.0, 5.0 - 2.5 and 5.0 - 5.0%) from 28 to 42 days. There were exchanges of rations and plasma levels at 35 days of age. From 43 to 49 days, the animals received conventional rations daycare and throughout the experimental period, the diets were free of antibiotic. The animals received diets with 2.5% plasma showed higher final weight. The level of 5.0% plasma influenced the weight gain and feed intake of piglets. The lymphocyte count and hematocrit increased with dietary inclusion of plasma. The leukocyte count decreased with the sequence of plasma from 5.0 to 0.0% and did not differ from the control treatment. Animals received diets containing blood plasma showed higher number of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the proximal colon compared to animals receiving control diet. The sequence of blood plasma to be used in diets without antibiotic for piglets weaned at 28 days old, is 2.5% in the first week with removal after 35 days.

Key words: *Bifidobacterium*, immunity, *Lactobacillus*, intestinal mucosa, pig

INTRODUÇÃO

Com o intuito de reduzir os problemas após o desmame, nutricionistas têm buscado alimentos que apresentem adequado equilíbrio entre digestibilidade, palatabilidade e principalmente que atuem no trato gastrintestinal dos leitões, diminuindo a influência de microorganismos patogênicos causadores de distúrbios intestinais e incidência de diarreias.

O plasma sangüíneo tem sido considerado fonte efetiva de proteína animal para leitões após o desmame, em especial na primeira semana (Lora Graña et al., 2010) ou ainda, nas duas primeiras semanas (Torrallardona et al., 2002). O melhor desempenho dos animais alimentados com plasma, parece estar relacionado à presença de imunoglobulinas capazes de prevenir os danos causados por patógenos à parede intestinal, mantendo as características digestivas e absorptivas do intestino (Coffey e Cromwell, 2001). Neste sentido, o plasma sangüíneo tem sido utilizado em dietas para leitões na creche por favorecer a manutenção do estado sanitário do animal, melhorar a defesa do organismo, por meio de menor ativação do sistema imunológico, e reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias (Maijó et al., 2012). Além disso, têm-se atribuído ao plasma sangüíneo, outros efeitos benéficos, tais como, proteção das vilosidades intestinais e redução de colonização bacteriana patogênica no intestino delgado dos leitões, concomitantemente, ao aumento de bactérias benéficas (Peace et al., 2011).

A ação benéfica do plasma no aumento de bactérias gram positivas como a *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* na mucosa intestinal de leitões, se traduz pelo aumento de anticorpos, da atividade de macrófagos, do número de células T e de interferon (Stefe et al., 2008).

No entanto, a maioria dos trabalhos com sequências de plasma em dietas para leitões, foram conduzidos com animais desmamados aos 21 dias de idade ou mais precoces. Além disso, existem questionamentos sobre o período de atuação do plasma, indicando que os efeitos benéficos sobre o desempenho dos leitões são, em grande parte, restritos à primeira semana após o desmame, havendo dúvidas sobre qual nível deve ser usado nas semanas seguintes, para leitões desmamados aos 28 dias de idade.

Assim, torna-se necessário verificar qual a sequência de níveis de plasma sangüíneo a ser incluída em rações sem antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, por meio de análises de desempenho, perfil hematológico e bacteriano.

1. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no período de fevereiro a março de 2011 no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, cujo município está localizado a uma latitude de 20° 45' 45" sul e longitude de 42° 52' 04" oeste, com altitude de 657 m.

O protocolo experimental foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Viçosa, no qual, os cuidados e o uso dos leitões foram realizados de acordo com as normas para uso de animais em experimentos.

Foram utilizados 144 leitões híbridos (machos castrados e fêmeas - Landrace x Large White) desmamados aos 28 dias de idade com peso $7,3 \pm 0,70$ kg, distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e oito repetições, sendo três animais por unidade experimental.

Os tratamentos consistiram em três níveis de plasma sangüíneo bovino por período. No primeiro período pós-desmame (28 a 35 dias) os níveis de plasma sangüíneo usados foram de 0,0%; 2,5% e 5,0% e os mesmos níveis foram usados no segundo período (36 a 42 dias), porém, combinados de forma a constituir as seqüências de níveis de plasma sangüíneo (0,0 – 0,0%; 2,5 - 0,0%; 2,5 - 2,5%, 5,0 - 0,0%; 5,0 - 2,5% e 5,0 - 5,0%). Dos 43 aos 49 dias de idade, os leitões de todos os tratamentos receberam uma dieta convencional de creche composta por milho, farelo de soja, soro de leite em pó, leite em pó integral, açúcar, óleo, fosfato bicálcico, calcário, sal, premix de vitaminas, premix de minerais e aminoácidos. As dietas usadas em todos os períodos foram elaboradas seguindo as necessidades nutricionais de leitões nas devidas fases estabelecidas por Rostagno et al. (2005) e foram isentas de antibiótico. A composição centesimal e calculada das dietas experimentais podem ser visualizadas na Tabela 1.

Ao desmame, os leitões foram pesados e transferidos para as creches, sendo alojados em gaiolas metálicas com 1,60 m de comprimento x 1,0 m de largura, suspensas à altura de 0,56 m do chão, com piso e laterais telados, dotadas de comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta, localizadas em prédio de alvenaria com piso de concreto e teto de madeira rebaixado contendo campânulas para aquecimento dos leitões.

A temperatura no interior das creches foi verificada diariamente às 07:00h usando termômetro de máxima e mínima colocados à 1,5 metros de altura. As umidades relativas do ar foram verificadas às 07:00 e 17:00h a partir de informações de temperaturas coletadas em termômetro de bulbo seco e úmido colocado no centro da sala. Os animais foram pesados no início, aos sete, 14 e 21 dias de experimento.

As variáveis de desempenho analisadas foram consumo de ração, ganho de peso dos animais e conversão alimentar.

Tabela 1 - Composição centesimal e calculada das dietas experimentais

Ingrediente	Níveis de plasma (%)			Ração creche
	0,0	2,5	5,0	
Milho grão	56,900	56,900	56,900	56,780
Farelo de soja	20,000	20,000	20,000	27,900
Soja micronizada	4,000	4,000	4,000	0,000
Plasma sangüíneo	0,000	2,500	5,000	0,000
Leite integral pó	7,450	7,450	7,450	6,000
Soro de leite pó	3,000	3,000	3,000	2,000
Açúcar	0,000	0,000	0,000	2,000
Óleo de soja	3,108	1,990	0,871	1,384
Fosfato bicálcico	1,539	1,479	1,420	1,595
Calcário	0,683	0,708	0,733	0,675
Sal	0,407	0,210	0,014	0,438
L-lisina HCl	0,594	0,389	0,184	0,500
DL-metionina	0,231	0,207	0,182	0,193
L-triptofano	0,059	0,029	0,000	0,038
L-treonina	0,237	0,134	0,030	0,186
L-Valina	0,181	0,038	0,000	0,111
L-Isoleucina	0,033	0,000	0,000	0,000
Supl. vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Antioxidante ³	0,020	0,020	0,020	0,000
Inerte	1,359	0,746	0,000	0,000
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição calculada				
EM (kcal/kg)	3519	3518	3518	3325
Proteína bruta (%)	18,300	19,000	21,000	19,000
Lisina dig. (%)	1,330	1,330	1,330	1,330
Met.+ Cist. dig. (%)	0,745	0,745	0,745	0,745
Triptofano dig. (%)	0,246	0,246	0,246	0,246
Treonina dig. (%)	0,838	0,838	0,838	0,838
Valina dig. (%)	0,918	0,918	1,003	0,918
Isoleucina dig. (%)	0,732	0,753	0,805	0,732
Arginina dig. (%)	1,031	1,125	1,220	0,559
Leucina dig. (%)	1,475	1,643	1,811	1,330
P disponível (%)	0,450	0,450	0,450	0,450
Cálcio (%)	0,825	0,825	0,825	0,825
Sódio (%)	0,230	0,230	0,230	0,230
Lactose (%)	8,000	8,000	8,000	2,000

¹Composição por kg de ração: 12000 UI de vit. A; 2250 UI de vit. D3; 27 mg de vit. E; 3 mg de vit. K; 2,25 mg de B1; 6 mg de B2; 2,25 mg de B6; 27 mcg de B12; 400 mcg de ácido fólico; 150 mcg de biotina; 22,5 mg de ácido pantotênico; 45 mg de Niacina.

²Composição por kg de ração: 112 g de Ca; 27 g P; 1820 mg de Fe; 2126 mg de Cu; 2049 mg de Zn; 836 mg de Mn; 29,5 mg de I, 8 mg de Se e 3,6 mg de Co.

³Butylated hydroxytoluene (BHT)

Amostras de sangue foram coletadas nos dias 35 e 42 após o desmame, para análises hematológicas. A coleta foi realizada via punção da veia jugular externa, do animal mais leve de cada unidade experimental. As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo anticoagulante EDTA sódico, para realização do eritrograma: hematócrito ou volume globular, hemoglobinometria, concentração de hemoglobina globular média, volume globular médio e hematimetria.

Para realização da contagem leucocitária global e diferencial, foram realizados esfregaços sanguíneos, com utilização do corante panótico. Para análise de hemograma, foi acondicionado 1 mL de sangue em frasco de vidro contendo anti-coagulante EDTA sódico e, para avaliação de proteína total, foi acondicionado 1 mL de sangue em frasco de vidro sem anti-coagulante.

Para avaliação da mucosa intestinal dos leitões, foi utilizado um grupo adicional de animais, com 24 leitões híbridos (machos castrados e fêmeas - Landrace x Large White), desmamados aos 28 dias de idade, com peso $7,0 \pm 0,90$ kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições, sendo cada leitão considerado a unidade experimental. Os tratamentos consistiram de três níveis de plasma sanguíneo bovino 0,0%; 2,5% e 5,0% mais um tratamento no qual os animais permaneceram lactentes até o dia do abate. O período experimental teve duração de sete dias (dos 28 aos 35 dias de idade), sendo os animais abatidos ao 35 dias de idade.

Amostras do conteúdo intestinal, da região do cólon proximal, foram coletadas e armazenadas imediatamente (-20 °C) para realização da contagem bacteriana de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus ssp* pela técnica de Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR em Tempo Real). Para cada tratamento foi realizado um “pool” das amostras de conteúdo intestinal.

Para extração do DNA, foi utilizado o Kit Tissue Nucleospin (MachereyNagel, Düren, Alemanha) para extrair o DNA a partir de 30 mg de amostra de conteúdo intestinal, congelada de acordo com as instruções do fabricante. O DNA foi eluído em um volume final de 100 µl e armazenado a -20 °C até a sua utilização. O DNA extraído foi verificado por NanoVue a 260 nm e Spectrophotometer (GE Healthcare) a 280 nm e a qualidade foi determinada com uma razão de 260/280 nm ótimo entre 1,7 e 2,0, sendo posteriormente, o rendimento do DNA calculado.

Na sequência, foi realizada a quantificação bacteriana pela técnica de PCR em Tempo Real (qRT-PCR). As reações foram realizadas com 2x GoTaq® qPCR Mix Master (Promega, Madison, WI, EUA), em um sistema de detecção ABI Prism 7300 sequência (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), sob as condições apresentadas nas instruções do fabricante. Para a amplificação do 244-bp e de fragmentos 126-bp 16S rDNA, foram seguidas as condições: 10 min a 95 °C, 40 ciclos de 15 s a 95 °C e 1 min a 60 °C. Todas as misturas continham 5,0 ng de DNA molde, um conjunto de iniciadores específicos (Tabela 2), num volume total de 20 µl contendo 200 nM de cada um dos iniciadores para a frente e reverso. Posteriormente, as curvas padrão foram obtidas para verificar a especificidade do fragmento amplificado.

Tabela 2 - Informação de primers utilizados na análise de PCR (qRT-PCR) com base em sequências de rDNA 16S

Bactéria	Sequência do primer (5'-3')	Amplificação	Fonte
<i>Bifidobacterium spp.</i>	F- CGCGTCTGGTGTGAAAG	244 pb	Delroisse et al. 2008
	R- CCCCACATCCAGCATCCA		
<i>Lactobacillus spp.</i>	F- GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC	126 pb	Delroisse et al. 2008
	R- GGCCAGTTACTACCTCTATCCTTCTTC		

As curvas padrão foram construídas utilizando o DNA genômico purificado padrão de culturas puras de *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus rhamnosus*, nas quais a concentração de DNA foi conhecida. Foi realizada uma série de diluições de dez vezes de DNA padrão, variando de $4,67 \times 10^7$ - $4,67 \times 10^{13}$ cópias μl^{-1} , a fim de construir as curvas-padrão para ambos os conjuntos de DNA. Em sequência, foi determinado o valor de CT (Cycle Threshold) que gerou uma curva padrão de concentração *versus* DNA para todos os padrões e determinou, por interpolação, a concentração de DNA de amostras desconhecidas. A partir do declive da curva de cada um, a eficiência de amplificação da PCR (E) foi calculada seguindo as especificações de Rasmussen (2001). Todos os padrões e amostras de conteúdo intestinal foram analisados em triplicata. Para ambas as bactérias, que abrigam uma única cópia do gene 16S rDNA por célula, foi medido o valor de CT, que é diretamente proporcional ao log 16S rDNA número de cópias do gene e, consequentemente, log10 número de células. Os dados foram analisados usando a sequência de software Sistema de Detecção de ABI.

Os dados de desempenho e hematológicos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o PROC GLM do pacote estatístico SAS. O teste de Dunnett a 5,0% foi utilizado a fim de se comparar os resultados do tratamento controle com os demais tratamentos.

Para as amostras intestinais dos leitões, foi realizada análise descritiva, por meio de comparação dos tratamentos com o controle.

2. RESULTADOS

A temperatura no interior das salas de creche, durante o período experimental, manteve-se entre $26,5 \pm 1,21$ °C (mínima) e $28,0 \pm 1,10$ °C (máxima). A temperatura

de bulbo seco registrada foi de $29,0 \pm 1,33^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa média de $75,0 \pm 1,98\%$. O índice de temperatura e umidade (ITU) calculado foi de $80,0 \pm 1,34$.

Na primeira semana após o desmame, foi observado efeito do plasma sangüíneo no desempenho dos leitões, exceto na conversão alimentar (Tabela 3). Os animais que receberam dietas com o nível de 5,0% de plasma sangüíneo, apresentaram maior peso final ($P=0,014$), consumo de ração ($P=0,019$) e ganho de peso ($P=0,024$), quando comparados aos animais que receberam ração controle. Da mesma forma, os animais que receberam 2,5% de plasma sangüíneo na dieta, apresentaram maior peso final ($P=0,014$) em relação aos animais controle.

Tabela 3 – Peso inicial (PI), peso final (PF), consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA) de leitões desmamados aos 28 dias de idade em função das seqüências de níveis de plasma sangüíneo por período

Variáveis	Seqüências de níveis de plasma sangüíneo (%)						CV (%)
0 a 7 dias	0,0	2,5	5,0				
PI (kg)	7,3	7,3	7,3				0,85
PF(kg)	8,6a	8,9b	9,0b				3,68
CRMD (g/dia)	273a	309a	328b				13,98
GPMD (g/dia)	186a	228a	243b				21,26
CA	1,46	1,33	1,31				14,82
0 a 14 dias	0 - 0	2,5 - 0	2,5 - 2,5	5 - 0	5 - 2,5	5 - 5	
PI (kg)	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	0,89
PF (kg)	10,8a	11,8b	10,9a	11,3a	11,6a	11,3a	5,80
CRMD (g/dia)	359	419	353	402	419	391	13,60
GPMD (g/dia)	254	320	257	288	307	286	19,31
CA	1,43	1,33	1,34	1,38	1,40	1,33	11,54
0 a 21 dias							
PF (kg)	14,5	15,3	14,6	14,9	15,3	15,4	5,26
CRMD (g/dia)	476	536	466	503	535	516	11,61
GPMD (g/dia)	343	380	347	360	380	385	10,10
CA	1,37	1,39	1,37	1,40	1,37	1,37	7,78

Médias nas mesmas linhas seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste Dunnet a 5,0%

No período de 0 a 14 dias de experimento, foi verificado maior peso final ($P=0,021$) dos animais que receberam a sequência de 2,5 – 0,0% de plasma sangüíneo na dieta. Entretanto, no período total de 0 a 21 dias de experimento, não foi verificado efeito da inclusão de plasma nas dietas sobre o desempenho dos animais. Aos 35 e 42 dias de vida dos leitões, foram avaliadas as variáveis hematológicas dos animais em função dos três níveis de plasma sangüíneo na dieta (Tabela 4). Aos 35 dias, foi observado similaridade ($P>0,05$) da influência dos diferentes níveis de plasma sangüíneo utilizados na dieta, sobre os seguintes parâmetros hematológicos: proteína total, hematimetria, hemoglobinometria, volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM), contagem de plaquetas, contagem global de leucócitos, contagem de neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, monócitos, eosinófilos e basófilos. Entretanto, o hematócrito (Ht) e a contagem linfocitária (Linf.), diferenciaram-se em relação aos tratamentos. Os animais que receberam 2,5% de plasma na dieta, apresentaram maior contagem de Ht ($P=0,012$) em relação aos animais que receberam dieta controle. Além disso, a contagem linfocitária mostrou-se mais elevada ($P=0,035$) nos animais que receberam os níveis de 2,5 e 5,0% de plasma, quando comparada aos animais controle.

Aos 42 dias de vida dos leitões, observou-se efeito ($P=0,021$) da sequência de níveis de plasma nas dietas dos leitões, na contagem global de leucócitos. As sequências nutricionais 0,0 - 0,0% e 5,0 - 0,0%, proporcionaram as menores contagens de leucócitos.

Tabela 4- Proteína total (Pt), hematimetria (Hm), hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), hemoglobina globular média (HGM), plaquetas (PLAQ), leucócitos (LEU), linfócitos (LINF), neutrófilos segmentados (NEUSEG), bastonetes (BAST), monócitos (MON), eosinófilos (EOS) e basófilos (BAS) de leitões desmamados aos 28 dias de idade em função dos níveis de plasma sanguíneo

Parâmetros Hematológicos	Sequências de níveis de plasma sanguíneo (%)						CV (%)
35 dias	0,0	2,5	5,0				
Pt (g/l)	4,9	5,0	5,0				4,56
Hm(mm ³)	7,2	7,0	7,3				4,54
Ht (%)	36,3a	39,5b	37,7a				8,10
CHGM (pg)	29,2	29,9	29,2				2,02
PLAQ (mm ³)	594	554	665				9,14
LEU (mm ³)	11250	12325	13483				18,55
LINF (µl)	4400a	5498b	6408b				22,39
NEUSEG (µl)	5258	5561	5974				6,82
BAST (%)	14,8	13,2	15,8				10,56
MON (%)	10,75	12,37	12,54				8,12
EOS (%)	7,4	7,2	6,2				4,98
BAS (%)	0,99	1,0	1,0				1,15
42 dias	0 - 0	2,5 - 0	2,5 - 2,5	5 - 0	5 - 2,5	5 - 5	
Pt (g/l)	4,9	5,3	5,2	5,3	5,3	5,2	5,29
Hm(mm ³)	7,2	7,3	7,6	7,2	7,3	7,0	3,26
Ht (%)	37,2	37,2	37,1	38,2	38,0	37,0	5,41
CHGM (pg)	29,5	29,8	29,8	29,4	29,2	29,8	3,54
PLAQ (mm ³)	511	617	531	502	544	546	12,57
LEU (mm ³)	12800a	18950b	14633b	12825a	14725b	13775b	19,77
LINF (µl)	6824	7446	7051	7416	7063	7483	19,21
NEUSEG(µl)	4849	5863	5791	4781	5491	5549	10,78
BAST (%)	19,2	18,6	20,8	17,3	20,6	20,9	9,54
MON (%)	11,5	10,8	9,5	11,1	11,6	9,5	6,58
EOS (%)	6,4	7,8	7,2	7,5	7,9	7,5	4,30
BAS (%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,94

Médias nas mesmas linhas seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste Dunnet a 5,0%

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios de Cycle Threshold (CT) e o número de cópias de rDNA de acordo com os tratamentos. Os animais que receberam dietas com plasma sanguíneo apresentaram maiores quantidades de

Bifidobacterium e *Lactobacillus* no cólon proximal em relação aos animais que receberam dieta controle.

Tabela 5 – Estimativa do número de cópias de rDNA 16S por quantificação absoluta entre os diferentes tratamentos

Tratamento	<i>Bifidobacterium spp</i>		<i>Lactobacillus spp</i>	
	Avg Ct	Cópias (μL^{-1})	Avg Ct	Cópias (μL^{-1})
Leite	28,22	3,76E+13	22,58	6,25E+13
Controle	29,00	6,77E+12	26,72	1,07E+12
2,5%	26,06	3,53E+14	21,37	1,02E+14
5,0%	27,49	1,19E+14	20,53	2,32E+14

3. DISCUSSÃO

As médias das temperaturas registradas na creche mantiveram-se uniformes e dentro dos limites aceitáveis como zona de conforto para leitões desmamados mais tardiamente (entre 26 e 28 °C), preconizado por Kummer et al. (2009). A umidade relativa do ar mostrou-se dentro da faixa estabelecida por Carr et al. (1998) entre 50,0 - 75,0%, que segundo os autores, seria a faixa ideal de conforto e de ausência de riscos de enfermidades como diarreias.

Na primeira semana após o desmame, os diferentes níveis de plasma sangüíneo influenciaram o desempenho dos animais. Os leitões que receberam 5,0 e 2,5% de plasma na ração ganharam 4,6% e 3,5% mais peso, respectivamente, quando comparados aos animais que não receberam o alimento. Além disso, os animais que receberam o nível mais alto de plasma, consumiram 20% a mais de ração e ganharam 30% mais peso por dia, em relação aos animais controle.

Possivelmente, a composição do plasma com proteína de alto valor biológico e excelente digestibilidade, associada à ausência de fatores antinutricionais,

possibilitou aos leitões um estado sanitário mais efetivo refletindo positivamente no consumo de ração e, conseqüentemente, no ganho de peso.

Gattás et al. (2008), avaliando níveis de plasma sangüíneo (0,0; 4,0; 6,0 e 8,0%) em dietas para leitões desmamados aos 14 dias de idade, também verificaram diferença no consumo médio diário de ração entre os níveis de plasma sangüíneo durante o período de 0 a 14 dias após o desmame.

Aos 14 dias de experimento, os animais que receberam a sequência 2,5 – 0,0% de plasma, apresentaram maior peso final. Estes resultados podem estar relacionados ao consumo de ração. O estresse causado aos leitões no pós-desmame leva, principalmente, ao baixo consumo ocasionando perda de peso e produtividade. Dessa forma, a adição de plasma sangüíneo nas dietas pode melhorar o consumo voluntário de alimento pelos leitões, nos primeiros dias após o desmame, influenciando no peso final dos animais.

Van Dijk et al. (2001) e Lora Graña et al. (2010) também verificaram efeitos positivos da adição de plasma sangüíneo sobre o consumo de ração. Pesquisas têm mostrado que a utilização do plasma nas rações, pode melhorar os parâmetros produtivos e manter a saúde dos animais. As imunoglobulinas encontradas no plasma sangüíneo são capazes de afetar a imunologia e a morfologia gastrintestinais dos leitões, de maneira positiva (Polo et al., 2010).

A contagem de linfócitos foi aumentada no soro de leitões que recebeream 2,5 e 5,0% de plasma na dieta em relação aos animais controle, entretanto, não foi observado linfocitose, visto que a contagem de linfócitos manteve-se dentro dos padrões esperados para a idade e espécie. As principais funções dos linfócitos estão relacionadas à atividade imunológica (Mesquita Júnior, 2010). Animais identificados com aumento na contagem de linfócitos potencialmente apresentam maior

capacidade de síntese de anticorpos, via linfócitos B, o que pode proporcionar maior capacidade de resposta imune a antígenos. Provavelmente, no presente estudo, os animais que receberam dietas com plasma sanguíneo tiveram melhor resposta antigênica a possíveis desafios sanitários, via linfócitos B, resultando em melhor desempenho.

Segundo Campbell et al. (2008), frente a um desafio, há ativação do sistema imunológico do animal. Assim, qualquer estresse que o leitão venha a sofrer, como desmame, problemas digestivos, de manejo ou combinado, pode afetá-lo negativamente do ponto de vista imunológico. Possivelmente, o estresse do desmame, no presente estudo, pode ter estimulado a liberação de cortisol, desencadeando produção de linfócitos. Entretanto, animais que receberam o plasma sanguíneo nas dietas tiveram, significativamente, alta produção de linfócitos como forma de proteção e defesa imune do organismo. Animais que não recebem plasma nas dietas são mais susceptíveis à menor resposta imunológica frente a um desafio (Coffey & Cromwell, 2001).

Os resultados obtidos são semelhantes aos verificados por Jiang et al. (2000), que, estudando plasma para leitões pós-desmame, observaram maior quantidade de leucócitos totais no sangue dos animais que receberam o alimento, sendo a maioria linfócitos. De acordo com os autores, a maior quantidade de leucócitos verificada no sangue dos leitões foi em resposta à inflamação da mucosa associada ao desmame.

Dessa maneira, o plasma sanguíneo pode melhorar a resposta imunológica dos leitões após o desmame (Touchette et al., 1999). Bosi et al. (2004), trabalhando com adição de plasma em dietas para leitões desafiados com cepas de *Escherichia coli* K88, observaram diminuição da expressão de IL-8 e TNF- α e menor inflamação intestinal nos leitões que receberam o alimento na dieta.

Foi observado maior contagem de hematócrito (Ht) dos animais que receberam 2,5% de plasma na dieta. O Ht é caracterizado pela percentagem ocupada pelos glóbulos vermelhos ou hemácias no volume total de sangue. Os efeitos do plasma sobre o Ht podem estar em função do consumo de água, o qual está diretamente relacionado ao grau de desidratação dos animais. A alta concentração de sódio no plasma sangüíneo pode ser considerada um fator para alteração do Ht, quando os níveis desse mineral não é corrigido nas formulações. No entanto, os níveis de sódio foram corrigidos na formulação das dietas experimentais, o que não justificaria a alteração observada no hematócrito. Resultados diferentes foram encontrados por Figueiredo et al. (2003) e Thomaz et al. (2009), que, trabalhando com diferentes fontes protéicas e plasma para leitões, não verificaram efeito do aditivo na contagem de hematócrito.

Aos 42 dias de vida dos leitões, observou-se influência dos níveis de plasma na ração sobre a contagem global de leucócitos dos leitões. O plano nutricional 5,0-0,0% apresentou a menor contagem de leucócitos, não diferindo do tratamento controle (0,0-0,0%). Possivelmente, os animais não apresentaram desafio sanitário suficiente para que os efeitos do plasma fossem significativos. De acordo com Stahly et al. (1994), os efeitos benéficos do plasma são mais pronunciados em condições de produção animal com alta exposição a patógenos.

Na primeira semana após o desmame, devido ao alto nível de estresse ao qual os leitões são submetidos, há maior demanda de células de defesa do sistema imunológico do animal a fim de manter a estabilidade humoral do organismo (Thomaz et al., 2009). O objetivo maior da resposta imune é acelerar o processo de retorno à normalidade fisiológica anterior à ativação antigênica (Machado & Fontes, 2005).

Neste sentido, na segunda semana, possivelmente, os animais apresentaram-se mais preparados imunologicamente para enfrentar os desafios sanitários. De acordo com Stein et al. (1996), o desenvolvimento do sistema imunológico dos leitões completa-se por volta do 35º dia de vida, o que explicaria a menor resposta do plasma na imunidade dos leitões após a primeira semana pós-desmame. A análise hematológica foi realizada aos 42 dias de idade do leitão e, provavelmente, os animais já estavam mais adaptados ao ambiente e as dietas.

Resultados diferentes foram encontrados por Thomaz et al. (2009), ao qual, observaram que a utilização de níveis crescentes de plasma, em substituição parcial à proteína bruta do leite em pó, promoveu redução linear da concentração de leucócitos e aumento linear do volume globular no sangue dos leitões aos 27 dias de idade. Segundo os autores, a redução no número de leucócitos confirma o efeito do plasma sobre a defesa humoral do organismo, indicando menor ativação do sistema imune dos leitões.

O plasma sangüíneo age como potente regulador da ação de processos inflamatórios que levam à ativação do sistema imunológico do animal (Bosi et al., 2004). Tal fato se dá pela redução da adesão de microorganismos patogênicos à mucosa intestinal devido à capacidade glicoprotéica do plasma em atuar como enlace nas fímbrias de *E. coli*, diminuindo, assim, sua incidência populacional (Peace et al., 2011).

Barbosa et al. (2012), estudando níveis de plasma sobre o desenvolvimento bacteriano de leitões recém-desmamados, observaram redução linear da incidência de *E.coli* no conteúdo intestinal dos animais à medida que houve aumento linear da concentração de plasma na dieta. A maior incidência de bactérias benéficas, como

Bifidobacterium e *Lactobacillus*, pode ser indício de que bactérias patogênicas, como *E. coli*, estão em menor proporção no trato gastrintestinal dos leitões.

No presente estudo, os animais que foram alimentados com 5,0% de plasma apresentaram maiores quantidades de *Lactobacillus* no cólon. Da mesma forma, foi observada maior incidência de *Bifidobacterium* no cólon de leitões recebendo 2,5% de plasma, em relação ao tratamento controle. O desenvolvimento de bactérias como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, no intestino grosso dos animais, leva à produção de ácido láctico e ácidos graxos voláteis que promovem a acidificação do cólon, que, por sua vez, provoca inibição do crescimento das populações de bactérias nocivas como *E. coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella* sp (Mathew et al., 1993).

Sabe-se que alguns componentes celulares das bifidobactérias agem como imunomoduladores. Neste sentido, a adição de plasma na dieta de leitões, tem mostrado essa capacidade imunoestimuladora, na qual, se traduz por aumento de anticorpos, da atividade de macrófagos, do número de células T e de interferon (Stefe et al., 2008). Além disso, bactérias do ácido láctico, geneticamente modificadas, têm sido comumente usadas para inibir patógenos intestinais, como *E. coli* (Martins et al., 2006).

A microflora do trato gastrintestinal do suíno é formada por grande número de microorganismos gram positivos e gram negativos e, segundo Mikelsen et al. (2003), este complexo de microorganismos benéficos e patogênicos é essencial para manter a estabilidade do sistema imunológico dos suínos. O plasma sanguíneo tem sido utilizado em dietas para leitões na creche, com a finalidade de diminuir a incidência de bactérias patogênicas no trato gastrintestinal dos leitões e, por conseguinte, aumentar a população de bactérias benéficas, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Torrallardona et al. (2003), estudando a ação da colistina e do plasma sanguíneo em substituição à farinha de peixe na ração de leitões, observaram aumento significativo no número de *Lactobacillus* nos animais que receberam plasma. Resultados semelhantes foram observados por Bhandari et al. (2008), que encontraram maior incidência de *Lactobacillus* no cólon de leitões recebendo plasma sanguíneo, quando comparados aos animais que receberam dieta controle positivo.

Dessa maneira, é observado um equilíbrio da microflora intestinal de leitões alimentados com plasma, através da redução da população patogênica, ao mesmo tempo em que ocorre aumento da incidência de colônias benéficas, favorecendo o crescimento do leitão, após o desmame.

4. CONCLUSÃO

A sequência de plasma sanguíneo a ser usada em dietas sem antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, é de 2,5% na primeira semana após o desmame, com retirada a partir dos 35 dias de idade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, F.F.; SILVA, F.C.O.; FERREIRA, A.S.; et al. 2013. Efeitos do plasma sanguíneo sobre vilosidades, desenvolvimento bacteriano desempenho de leitões criados em condições de desafio pós-desmame aos 35 dias. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v.13: 469-479.
- BHANDARI, S.K.; XU, B.; NYACHOTI, C.M. 2008. Avaliação das alternativas aos antibióticos usando uma *Escherichia coli* K88⁺ modelo de diarreia de

- leitões: Efeitos sobre a ecologia microbiana do intestino. **Journal of Animal Science** v. 86: 836-847.
- BOSI, P., CASINI, L., FINAMORE, A., et al. 2004. Spray-dried plasma improves growth performance and reduces inflammatory status of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science** v. 82: 1764-1772.
- CAMPBELL, J.M., CRENSHAW, J.D., RUSSELL, L.E et al. 2008. Influence of Dietary Plasma Proteins on Supporting Animal Immunity Systems. APC Inc., **Florida Ruminant Nutrition Symposium Ankeny, IA** January 29-30.
- CARR J., MUIRHEAD M.R., KINGSTON N.G., et al. 1998. Post-weaning respiratory and enteric syndromes of the pig. In: Wiseman J., Varley M.A. & Chadwick J.P. (Eds). **Progress in Pig Science**. Nottingham: University Press, p.141-176.
- COFFEY, R.D., CROMWELL, G.L. 2001. Use of spray-dried plasma in diets for weanling pigs. **Pig News Information** v.22: 39-48.
- DELROISSE, J.M.; BOULVIN, A.L.; PARTMENTIER, I. et al. 2008. Quantification of *Brifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. in rat fecal sample by real-time PCR. **Science Direct** v.163: 663-670.
- FIGUEIREDO, A.N.; Miyada, V.S.; Utiyama, C.E.; et al. Ovo em pó na alimentação de leitões recém desmamados. 2003. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.32: 1901-1911.
- GATTÁS, G.; FERREIRA, A.S.; BARBOSA, F.F. et al. 2008. Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 14 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.37: 278-285.

- JIANG, R., CHANG, X., STOLL, B. 2000. Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early weaned pigs. **Journal Nutrition** v.130: 21-26.
- KUMMER, R., DORNELLES, M.A., TESCHE, G.R. 2009. Factors associated with nursery pig performance. **Acta Scientiae Veterinariae**. 37(SUPL 1): S195-S209.
- LORA, G. G.; FERREIRA, A. S.; SILVA, F. C. O. et al. 2010. Plasma sanguíneo em dietas sem antibiótico para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v. 11: 815-826.
- MACHADO, G.S. & FONTES, D.O. 2005. Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune em suínos. 2005. **Anais...** II Simpósio Internacional sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos. Viçosa, Minas Gerais, 293-314.
- MAIJÓ, M.; MIRÓ, L.; POLO, J. et al. 2012. Dietary Plasma Proteins Modulate the Adaptive Immune Response in Mice with Acute Lung Inflammation^{1,2,3}. **Journal Nutrition** v.142: 264-270.
- MARTINS, A. D.O.; MENDONÇA, R.C.S.; SILVA, D.L. 2006. Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias** v.5: 53-59.
- MATHEW, AG.; SUTTON, A.L.; SCHEIDT, A.B. 1993. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weaning pig. **Journal of Animal Science** v.71. n.6.

- MESQUITA JÚNIOR, D., ARAÚJO, J.A.P., TAKAO, T.T et al. 2010. Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira Reumatologia** v. 50(5): 552-80.
- MIKKELSEN LL, BENDIXEN CH, JAKOBSEN M, JENSEN BB. 2003. Enumeration of bifidobacteria in gastrointestinal samples from piglets. **Applied and Environmental Microbiology** v. 69: 654–658.
- PEACE, R.M; CAMPBELL, J; POLO, J. 2011. Spray dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation, and diarrhea in weaned pigs. **Journal of Nutrition** v.141: 1312-1317.
- POLO, J., CAMPBELL, J., CRENSHAW, J ET AL. 2010. Spray-dried plasma used in pig feed and biosecurity. **Acta scientiae veterinariae** 38(supl 1): s73-s81.
- RASMUSSEN, R. 2001. Quantification on the LightCycler. In: Meuer S, Wittwer C, Nakagawara K (eds) Rapid cycle real-time PCR, methods and applications. **Springe Press**, Heidelberg.
- ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., DONZELE, J. L. et al. 2005. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: UFV, 186p.
- STAHLY, T.S., S.G. SWENSON, D.R. ZIMMERMAN AND N.R. WILLIAMS. 1994. Impact of porcine plasma proteins on postweaning growth of pigs with a low and high level of antigen exposure. Iowa State University **Swine Research Report** p. 3-5.
- STEFE, C.A.; ALVES, M.A.R.; RIBEIRO, R.L. 2008. Probióticos, prebióticos e simbióticos – artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista** v.3: 16-33.

- STEIN, H.H. 1996. The effects of adding spray-dried plasma protein and spray-dried blood cells to starter diets for pigs. **Journal Animal Science** v. 74: p.170.
- THOMAZ M.C., HANNAS, M.I., TUCCI, F.M. 2009. Different protein sources in rations of piglets on activity of trypsin and blood parameters. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science** v.46 n.2.
- TORRALLARDONA, D. AND D. SOLÀ-ORIOL. 2009. Evaluation of freechoice feedstuffs preference by pigs. In: Voluntary feed intake in pigs. **Wageningen Academic Publishers**, Wageningen, The Netherlands. p. 215- 242.
- TORRALLARDONA, D., CONDE, M. R.;BADIOLA,I .et al. 2003. Effect of fishmeal replacement with spray-dried animal plasma and colistin on intestinal structure, intestinal microbiology, and performance of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* K99. **Journal Animal Science** v. 81: 1220-1226.
- TORRALLARDONA, D.; CONDE, R.; ESTEVE-GARCIA, E. and BRUFAU, J. 2003. Use of spray dried animal plasma as an alternative to antimicrobial medication in weanling pigs. **Animal Feed Science Technoly** v.99: 119-129.
- TOUCHETTE, K.J.,ALLEE, G.L.; MATTERI, R.L.; DYER, C.J et al. 1999. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide (LPS) on intestinal morphology and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis ok the weaned pig. **Journal of Animal Science**, v. 80: 494-501.

VAN DIJK, A.J.; EVERTS, H.; NABUURS, M.J.A. et al. 2001. Growth performance of weanling pigs fed spray-dried animal plasma: a review. **Livestock Production Science** v.68: 263-274.

ZIJLSTRA, RT, MCCRACKEN, BA, ODLE, J., et al. 1999. D modifies pig small intestinal inflammatory responses to rotavirus. **Journal Animal Science** v. 129: 838-843.

Capítulo III

Plasma sanguíneo em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade

O artigo foi formatado de acordo com as normas para publicação na revista Livestock Science e adaptado para leitura de teses da Universidade Federal de Viçosa

RESUMO: Visando-se determinar a seqüência de níveis de plasma sangüíneo a ser usada em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, foram utilizados 144 animais distribuídos em delineamento em blocos ao acaso com seis tratamentos e oito repetições de três animais. Os tratamentos consistiram na inclusão de seqüências de níveis de plasma bovino nas dietas dos leitões (0,0 – 0,0; 2,5 – 0,0; 2,5 – 2,5; 5,0 – 0,0; 5,0 – 2,5 e 5,0 – 5,0%) dos 28 aos 42 dias. Foram efetuadas as trocas de rações e de níveis de plasma aos 35 dias de idade. Dos 43 aos 49 dias os animais receberam ração convencional de creche e durante todo o período experimental, continha antibiótico nas dietas. Os animais que receberam rações contendo níveis de 5,0% de plasma sangüíneo ganharam mais peso e tiveram maior consumo de ração quando comparados aos animais que receberam dieta controle (0,0%). A altura de vilosidades e a profundidade de cripta não foram influenciadas pelos diferentes tratamentos, entretanto, a relação entre ambas foi mais elevada no jejuno dos animais que permaneceram lactentes. A população de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* no cólon proximal dos leitões, foi diminuída com a inclusão de plasma na dieta. A seqüência de plasma sangüíneo a ser usada em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, é de 5,0% na primeira semana com retirada a partir dos 35 dias. Existe sinergismo do plasma sangüíneo com o antibiótico.

Palavras chave: Antimicrobiano, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, mucosa intestinal, suíno

ABSTRACT: In order to determine the sequence of blood plasma levels to be used in diets with antibiotic for piglets weaned at 28 days of age, were used 144 animals distributed in randomized blocks design with six treatments and eight replications with three animals per experimental unit. The treatments consisted in the inclusion of sequences bovine plasma levels in the diets of piglets (0.0 - 0.0, 2.5 - 0.0, 2.5 - 2.5, 5.0 - 0.0, 5.0 - 2.5 and 5.0 - 5.0%) from 28 to 42 days. There were exchanges of rations and plasma levels at 35 days of age. From 43 to 49 days, the animals received conventional ration daycare and during whole experimental period, contained antibiotic in the diets. The animals received rations containing 5.0% of blood plasma gained more weight and had higher feed intake when compared to animals received control diet (0.0%). The villi height and crypt depth were not affected by the different treatments, however, the relation between both was higher in the jejunum of animals that remained infants. The population of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the proximal colon of piglets was reduced with the inclusion of plasma in the diet. The sequence of blood plasma to be used in diets with antibiotic for piglets weaned at 28 days old is 5.0% in the first week with removal after 35 days. There is synergism of plasma with the antibiotic.

Keywords: Antimicrobial, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, intestinal mucosa, pig

1. INTRODUÇÃO

O desmame dos leitões constitui em um momento crítico dentro do sistema de produção de suínos devido a vários fatores causadores de estresse, que somados à redução do consumo voluntário de alimento, podem provocar infecção intestinal, inflamação e atrofia de vilosidades. Este fato está relacionado, principalmente, à imaturidade do aparelho digestivo, do sistema imunológico, associado ao desmame precoce do leitão.

Neste sentido, tem sido demonstrado que leitões desmamados aos 26 dias de idade ou mais, sofrem menos estresse e consomem mais ração que animais desmamados aos 21 dias ou menos (Oliveira Júnior et al., 2008). Dessa forma, o desmame aos 28 dias, associado à utilização de ingredientes de alto valor biológico, que atuem na preservação das microestruturas do trato gastrintestinal dos animais, pode resultar em maior ganho de peso e ingestão de alimento.

O plasma sangüíneo tem sido considerado um alimento de efetiva ação no desempenho dos animais, visto que possui mecanismos capazes de reduzir a incidência de bactérias patogênicas, em especial, a *E. coli* no intestino dos leitões, além de modular a função imune nos tecidos linfóides e placas de Peyer (Perez-Bosque et al., 2007). Além disso, o plasma pode ser uma alternativa viável de substituição aos antibióticos visto que é tão eficaz como medicamento quanto o antibiótico, e ainda, é mais eficiente do que os antibióticos na redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias (Bosi et al., 2004).

Os efeitos do plasma sangüíneo nas dietas de leitões, podem ser aditivos aos obtidos com os antibióticos visto que possuem mecanismos de ação diferenciados (Coffey & Cromwell, 1995). De acordo com Lora Graña et al. (2010), as propriedades presentes no plasma, que melhoram o desempenho dos leitões, são

independentes e diferenciadas das propriedades presentes nos antimicrobianos o que pode resultar em um efeito somatório ou sinérgico entre eles.

Dessa forma, torna-se necessário verificar qual a seqüência de níveis de plasma sangüíneo a ser incluída em rações com antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias de idade, por meio de análises de desempenho, perfil bacteriano e microestrutura intestinal.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no período de abril a maio de 2011 no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, cujo município está localizado a uma latitude de 20° 45' 45" sul e longitude de 42° 52' 04" oeste, com altitude de 657 m.

O protocolo experimental foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Viçosa, no qual, os cuidados e o uso dos leitões foram realizados de acordo com as normas para uso de animais em experimentos.

Foram utilizados 144 leitões híbridos (machos castrados e fêmeas - Landrace x Large White) desmamados aos 28 dias de idade com peso $8,3 \pm 0,82$ kg, distribuídos em delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos e oito repetições, sendo três animais por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em três níveis de plasma sangüíneo bovino por período. No primeiro período pós-desmame (28 a 35 dias) os níveis de plasma sangüíneo usados foram de 0,0%; 2,5% e 5,0% e os mesmos níveis foram usados no segundo período (36 a 42 dias), porém, combinados de forma a constituir as seqüências de níveis de plasma sangüíneo (0,0 – 0,0%; 2,5 - 0,0%; 2,5 - 2,5%, 5,0 - 0,0%; 5,0 - 2,5% e 5,0 - 5,0%). Dos 43 aos 49 dias de idade, os leitões de todos os tratamentos receberam uma dieta convencional de

creche composta por milho, farelo de soja, soro de leite em pó, leite em pó integral, açúcar, óleo, fosfato bicálcico, calcário, sal, premix de vitaminas, premix de minerais e aminoácidos. As dietas usadas em todos os períodos experimentais foram elaboradas seguindo as necessidades nutricionais de leitões nas devidas fases estabelecidas por Rostagno et al. (2005), e continham antibiótico à base de tilosina. A composição centesimal e calculada das dietas experimentais podem ser visualizadas na Tabela 1.

No desmame os leitões foram pesados e transferidos para as creches, sendo alojados em gaiolas metálicas com 1,60 m de comprimento x 1,0 m de largura, suspensas à altura de 0,56 m do chão, com piso e laterais telados, dotadas de comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo chupeta, localizadas em prédio de alvenaria com piso de concreto e teto de madeira rebaixado contendo campânulas para aquecimento dos leitões.

A temperatura no interior das creches foi verificada diariamente às 07:00h usando termômetro de máxima e mínima colocados à 1,5 metros de altura. As umidades relativas do ar foram verificadas às 07:00 e 17:00h a partir de informações de temperaturas coletadas em termômetro de bulbo seco e úmido colocado no centro da sala.

Os animais foram pesados no início, aos sete, 14 e 21 dias de experimento. As variáveis de desempenho analisadas foram consumo de ração, ganho de peso dos animais e conversão alimentar.

Tabela 1 - Composição centesimal e calculada das dietas experimentais

Ingrediente	Níveis de plasma (%)			Ração creche
	0,0	2,5	5,0	
Milho grão	56,900	56,900	56,780	56,660
Farelo de soja	20,000	20,000	20,000	27,900
Soja micronizada	4,000	4,000	4,000	0,000
Plasma sangüíneo	0,000	2,500	5,000	0,000
Leite integral pó	7,450	7,450	7,450	6,000
Soro de leite pó	3,000	3,000	3,000	2,000
Açúcar	0,000	0,000	0,000	2,000
Óleo de soja	3,108	1,990	0,871	1,384
Fosfato bicálcico	1,539	1,479	1,420	1,595
Calcário	0,683	0,708	0,733	0,675
Sal	0,407	0,210	0,014	0,438
L-lisina HCl	0,594	0,389	0,184	0,500
DL-metionina	0,231	0,207	0,182	0,193
L-triptofano	0,059	0,029	0,000	0,038
L-treonina	0,237	0,134	0,030	0,186
L-Valina	0,181	0,038	0,000	0,111
L-Isoleucina	0,033	0,000	0,000	0,000
Supl. vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Supl. mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Antibiótico ³	0,125	0,125	0,125	0,125
Antioxidante ⁴	0,020	0,020	0,020	0,000
Inerte	1,234	0,621	0,000	0,000
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Composição calculada				
EM (kcal/kg)	3519	3518	3518	3325
Proteína bruta (%)	18,300	19,000	21,000	19,000
Lisina dig. (%)	1,330	1,330	1,330	1,330
Met.+ Cist. dig. (%)	0,745	0,745	0,745	0,745
Triptofano dig. (%)	0,246	0,246	0,246	0,246
Treonina dig. (%)	0,838	0,838	0,838	0,838
Valina dig. (%)	0,918	0,918	1,003	0,918
Isoleucina dig. (%)	0,732	0,753	0,805	0,732
Arginina dig. (%)	1,031	1,125	1,220	0,559
Leucina dig. (%)	1,475	1,643	1,811	1,330
P disponível (%)	0,450	0,450	0,450	0,450
Cálcio (%)	0,825	0,825	0,825	0,825
Sódio (%)	0,230	0,230	0,230	0,230
Lactose (%)	8,000	8,000	8,000	2,000

¹Composição por kg de ração: 12000 UI de vit. A; 2250 UI de vit. D3; 27 mg de vit. E; 3 mg de vit. K; 2,25 mg de B1; 6 mg de B2; 2,25 mg de B6; 27 mcg de B12; 400 mcg de ácido fólico; 150 mcg de biotina; 22,5 mg de ácido pantotênico; 45 mg de Niacina.

²Composição por kg de ração: 112 g de Ca; 27 g P; 1820 mg de Fe; 2126 mg de Cu; 2049 mg de Zn; 836 mg de Mn; 29,5 mg de I, 8 mg de Se e 3,6 mg de Co.

³Tilosina

⁴Butylated hydroxytoluene (BHT)

Para avaliação da microestrutura intestinal dos leitões foi utilizado um grupo adicional de animais, com 24 leitões híbridos (machos castrados e fêmeas - Landrace x Large White), desmamados aos 28 dias de idade com peso $7,2 \pm 0,93$ kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições, sendo cada leitão considerado a unidade experimental. Os tratamentos consistiram de três níveis de plasma sanguíneo bovino 0,0%; 2,5% e 5,0% mais um tratamento no qual os animais permaneceram lactentes até o dia do abate. O período experimental teve duração de sete dias (dos 28 aos 35 dias de idade) sendo os animais abatidos ao 35 dias de idade.

Amostras de 2,0 cm de comprimento foram retiradas nas regiões correspondentes a 4,0 e 50,0% do intestino delgado, que correspondem, respectivamente, à região do duodeno e jejuno. O material coletado foi enviado ao Laboratório de Histologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Os cortes histológicos foram lavados em solução fisiológica, fixado em BOUIN por 24 horas, desidratados em álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Em cada lâmina foram colocadas duas secções com 5µm de espessura. As lâminas foram colocadas novamente em solução de xilol para retirar o excesso de parafina e novamente hidratadas. Os corantes utilizados foram a hematoxilina e a eosina. Depois de coradas, as lâminas foram novamente desidratadas. Para as leituras morfométricas, foi utilizado o microscópio óptico com ampliação de 10x acoplado ao analisador de imagem. Foram selecionadas e medidas as alturas de 30 vilosidades e suas respectivas criptas, bem orientadas e seccionadas longitudinalmente.

No dia do abate foi realizada coleta do líquido intestinal dos leitões na região do cólon proximal, que foram imediatamente armazenados (-20°C) para realização da contagem bacteriana de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus ssp* pela técnica de Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR em Tempo Real). Para cada tratamento foi realizado um “pool” das amostras de conteúdo intestinal.

Para extração do DNA foi utilizado o Kit Tissue Nucleospin (MachereyNagel, Düren, Alemanha) para extrair o DNA a partir de 30 mg de amostra de conteúdo intestinal, congelada de acordo com as instruções do fabricante. O DNA foi eluído em um volume final de 100 µl e armazenado a -20 °C até a sua utilização. O DNA extraído foi verificado por NanoVue a 260 nm e Spectrophotometer (GE Healthcare) a 280 nm e a qualidade foi determinada com uma razão de 260/280 nm ótimo entre 1,7 e 2,0, sendo posteriormente, o rendimento do DNA calculado.

Na sequência, foi realizada a quantificação bacteriana pela técnica de PCR em Tempo Real (qRT-PCR). As reações foram realizadas com 2x GoTaq® qPCR Mix Master (Promega, Madison, WI, EUA), em um sistema de detecção ABI Prism 7300 sequência (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), sob as condições apresentadas nas instruções do fabricante. Para a amplificação do 244-bp e de fragmentos 126-bp16S rDNA, foram seguidas as condições: 10 min a 95 °C, 40 ciclos de 15 s a 95 °C e 1 min a 60 °C. Todas as misturas continham 5,0 ng de DNA molde, um conjunto de iniciadores específicos (Tabela 2), num volume total de 20 µl contendo 200 nM de cada um dos iniciadores para a frente e reverso. Posteriormente, as curvas padrão foram obtidas para verificar a especificidade do fragmento amplificado.

Tabela 2 - Informação de primers utilizados na análise de PCR (qRT-PCR) com base em sequências de rDNA 16S

Bactéria	Sequência do primer (5'-3')	Amplificação	Fonte
<i>Bifidobacterium spp.</i>	F- CGCGTCTGGTGTGAAAG	244 pb	Delroisse et al. 2008
	R- CCCCACATCCAGCATCCA		
<i>Lactobacillus spp.</i>	F- GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC	126 pb	Delroisse et al. 2008
	R- GGCCAGTTACTACCTCTATCCTTCTTC		

As curvas padrão foram construídas utilizando o DNA genômico purificado padrão de culturas puras de *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus rhamnosus*, nas quais a concentração de DNA foi conhecida. Foi realizada uma série de diluições de dez vezes de DNA padrão, variando de $4,67 \times 10^7$ - $4,67 \times 10^{13}$ cópias μl^{-1} , a fim de construir as curvas-padrão para ambos os conjuntos de DNA. Em sequência, foi determinado o valor de CT (Cycle Threshold) que gerou uma curva padrão de concentração *versus* DNA para todos os padrões e determinou, por interpolação, a concentração de DNA de amostras desconhecidas. A partir do declive da curva de cada um, a eficiência de amplificação da PCR (E) foi calculada seguindo as especificações de Rasmussen (2001). Todos os padrões e amostras de conteúdo intestinal foram analisados em triplicata. Para ambas as bactérias, que abrigam uma única cópia do gene 16S rDNA por célula, foi medido o valor de CT, que é diretamente proporcional ao log 16S rDNA número de cópias do gene e, consequentemente, log10 número de células. Os dados foram analisados usando a sequência de software Sistema de Detecção de ABI.

Os parâmetros de desempenho, de altura de vilosidades e profundidade de cripta foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o PROC GLM do

pacote estatístico SAS. O teste de Dunnet a 5,0% foi utilizado a fim de se comparar os resultados do tratamento controle com os demais tratamentos.

Para as amostras intestinais dos leitões, foi realizada análise descritiva, por meio de comparação dos tratamentos com o controle.

3. RESULTADOS

Os valores das temperaturas máximas observados durante o período experimental, foram de $27,5 \pm 1,4$ °C e das temperaturas de mínimas, foram de $23,0 \pm 1,61$ °C. A temperatura de bulbo seco registrada foi de $27,4 \pm 1,23$ °C e a umidade relativa média de $71,0 \pm 1,75\%$.

Foi observado efeito do plasma sangüíneo nas variáveis de desempenho, exceto na conversão alimentar, durante a primeira semana após o desmame (Tabela 3). Os animais que receberam dietas com o nível de 5,0% de plasma sangüíneo apresentaram maior peso final ($P=0,034$), consumo de ração ($P=0,031$) e ganho de peso ($P=0,016$), quando comparados, aos animais que receberam ração controle.

Nos períodos de 0 a 14 dias e 0 a 21 dias de experimento, não foi verificado efeito do plasma sangüíneo no desempenho, entretanto, os animais que receberam níveis mais altos de plasma nas dietas consumiram, numericamente, 10,0% mais ração e ganharam 9,0% mais peso, em relação aos animais que não receberam o alimento.

Tabela 3 – Peso inicial (PI), peso final (PF), consumo de ração médio diário (CRMD), ganho de peso médio diário (GPMD) e conversão alimentar (CA) de leitões desmamados aos 28 dias de idade em função das seqüências de níveis de plasma sangüíneo por período

Variáveis	Seqüências de níveis de plasma sangüíneo (%)						CV (%)
0 a 7 dias	0,0		2,5		5,0		
PI (kg)	8,4		8,2		8,4		3,70
PF(kg)	9,8a		9,9a		10,5b		8,31
CRMD (g/dia)	280a		302a		370b		26,82
GPMD (g/dia)	205a		243a		307b		26,72
CA	1,38		1,24		1,21		21,13
0 a 14 dias	0 - 0	2,5 - 0	2,5 - 2,5	5 - 0	5 - 2,5	5 - 5	
PI (kg)	8,4	8,4	8,1	8,4	8,4	8,4	3,70
PF (kg)	13,0	12,9	13,4	13,3	13,2	13,4	5,52
CRMD (g/dia)	435	436	443	464	460	475	13,84
GPMD (g/dia)	332	327	379	350	344	360	15,80
CA	1,33	1,33	1,16	1,34	1,33	1,31	15,92
0 a 21 dias							
PF (kg)	17,1	17,2	17,2	17,8	17,8	18,1	6,80
CRMD (g/dia)	547	540	556	588	569	600	10,05
GPMD (g/dia)	418	421	434	448	443	460	11,39
CA	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	12,01

Médias nas mesmas linhas seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste Dunnet a 5,0%

Não foi observada variação entre os tratamentos na altura de vilosidades e na profundidade de cripta, entretanto, a relação entre ambas apresentou-se mais elevada ($P=0,023$) no jejuno de animais que permaneceram lactentes, quando se comparou a de animais do grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4 – Altura de vilosidades (AV) , profundidade de cripta (PC) e relação altura de vilosidades e profundidade de cripta (AV/PC) nos diferentes segmentos do intestino delgado de leitões em função dos diferentes tratamentos

Item	Nível de plasma sangüíneo (%)				
<i>Altura de vilosidades μm</i>	0,0	2,5	5,0	Leite	CV (%)
Duodeno	350	354	410	367	15,41
Jejuno	310	325	324	355	10,62
<i>Profundidade de cripta μm</i>					
Duodeno	209	220	241	227	14,51
Jejuno	208	208	227	196	12,19
<i>Relação AV/PC</i>					
Duodeno	1,79	1,71	1,79	1,73	15,16
Jejuno	1,48a	1,65a	1,55a	1,94b	12,56

Médias nas mesmas linhas seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste Dunnet a 5,0%

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios de Cycle Threshold (CT) e o número de cópias de rDNA de acordo com os tratamentos. Os animais que não receberam plasma sangüíneo nas dietas apresentaram maiores quantidades de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* no cólon proximal, quando comparado aos animais que receberam o alimento.

Tabela 5 – Estimativa do número de cópias de rDNA 16S por quantificação absoluta entre os diferentes tratamentos

Tratamento	<i>Bifidobacterium spp</i>		<i>Lactobacillus spp</i>	
	Avg Ct	Cópias (μl^{-1})	Avg Ct	Cópias (μl^{-1})
Leite	29,23	3,16E+13	27,60	2,52E+12
Controle	27,36	1,31E+14	24,51	6,04E+12
2,5%	28,72	4,73E+13	27,07	5,79E+12
5,0%	29,28	3,23E+13	27,94	8,18E+11

4. DISCUSSÃO

As temperaturas médias máximas e mínimas, bem como as umidades relativas se mantiveram dentro da faixa da termoneutralidade para animais desta fase. De acordo com Sampaio et al. (2004) a umidade relativa de 70,0% é considerada a ideal para proporcionar conforto aos leitões.

Na primeira semana após o desmame, como o peso dos animais aumentou de acordo com a elevação dos níveis de plasma sanguíneo na dieta, o ganho de peso dos animais também apresentou a mesma influência. Estes resultados são similares àqueles obtidos por Paz et al. (2011) que ao avaliarem leitões recebendo plasma nas dietas nas mesmas quantidades deste experimento, verificaram que o aumento dos níveis do aditivo, melhorou o ganho de peso e a eficiência alimentar dos animais e, além disso, àqueles que receberam 5,0% de inclusão na dieta apresentaram menores escores fecais.

Embora os trabalhos presentes na literatura mostrem uma variação nos resultados a medida que os leitões atingem às semanas subsequentes ao desmame, a eficiência do plasma no desempenho dos leitões na primeira semana após o desmame, pode ser observada na maioria deles. O período de desmame está associado à presença de citocinas inflamatórias no intestino dos leitões (Ma et al., 2004 e Al Sadi e Ma, 2007). No entanto, o plasma apresenta capacidade de agir sobre a inflamação sistêmica intestinal suprimindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias (Morés et al., 2012). Assim, a menor expressão das citocinas contribui para o direcionamento dos nutrientes para produção e não para a manutenção do sistema imune ativado (Barbosa et al., 2012).

Os animais que receberam 5,0% de plasma nas dietas consumiram 24,5% a mais de ração comparado aos animais do grupo controle. Têm-se atribuído ao plasma

sanguíneo efeitos estimulantes na ingestão de dietas (Campbell et al., 2004), com consequente aumento no ganho de peso e melhora da conversão alimentar.

De acordo com Pierce et al. (2005), o ganho de peso dos animais está relacionado ao maior consumo de ração dos leitões que por sua vez está associado à palatabilidade do plasma. Entretanto, Torrallardona et al. (2003) e Torrallardona e Solà- Oriol (2009) sugeriram que o aumento no consumo de ração observado para as dietas contendo plasma sanguíneo, não está relacionado a palatabilidade, e sim, a uma consequência do efeito das dietas sobre a saúde dos leitões.

O estresse ao qual o animal é submetido ao desmame afeta os processos metabólicos e o crescimento do leitão, devido à interação entre o sistema endócrino e sistema nervoso central, mediante a liberação de corticosteróides e tiroxina, os quais, segundo Klasing et al. (1991), atuam na liberação de citocinas. As citocinas, por sua vez, agem no cérebro reduzindo a ingestão de ração. Dessa maneira, o aumento no consumo de ração em dietas contendo plasma sanguíneo está relacionado à menor carga antigênica, com melhor saúde do animal.

Em sua composição, o plasma sanguíneo possui compostos ativos, que atuam nas microestruturas intestinais dos leitões, favorecendo o desempenho. Entre eles destacam-se fatores de crescimento, imunoglobulinas, enzimas, peptídeos biologicamente ativos, dentre outros (Moreto e Pérez-Bosque, 2009, Campbell et al., 2010).

Gao et al. (2011), estudando os efeitos do plasma na morfologia intestinal e citocinas de leitões pós-desmame, observaram maiores níveis de insulina no soro dos animais que receberam o aditivo na dieta. Segundo os autores, o melhor desempenho dos animais pode estar ligado a secreção hormonal. Da mesma maneira, Pierce et al.

(2005) sugeriram que a insulina pode regular o desenvolvimento gastrointestinal melhorando o desempenho de animais alimentados com plasma sangüíneo.

Durante o período total de 0 a 21 dias de experimento, o plasma não mostrou efeito sobre o desempenho dos leitões. Segundo Tucker et al. (2011) a capacidade do plasma sangüíneo em melhorar o desempenho dos animais é mais pronunciada durante a primeira semana pós-desmame, com efeitos residuais limitados sobre o desempenho subsequente. Estes resultados estão condizentes com a literatura consultada, entretanto, se considerarmos o crescimento dos leitões a longo prazo, possivelmente, veremos maiores ganhos e melhores conversões dos animais que receberam plasma na fase inicial de produção.

Uma possível explicação para este resultado, pode ter sido em função do provável estabelecimento do sistema imunológico dos leitões, ao qual, segundo Stein (1996) atinge a maturidade com aproximadamente 35 dias de idade. Assim, a partir dos 35 dias, a proteção ativa dos leitões contra desafios estabelecidos por patógenos não parece ser mais limitante para o desempenho dos animais.

Foi possível observar efeito sinérgico do plasma sangüíneo com o antibiótico sobre o desempenho dos animais. Os animais que receberam 5% de plasma na dieta ganharam 33% mais peso e consumiram 24,5% mais ração quando se comparou aos animais do tratamento controle (0%). Este efeito somatório do plasma com o antimicrobiano foi observado devido ambos os tratamentos (0 e 5%) apresentarem antibiótico em sua composição, assim, a presença do plasma foi o diferencial na potencialização do desempenho dos animais.

O plasma e o antibiótico agem na mucosa intestinal do animal, diminuindo ou controlando a incidência de microorganismos patogênicos fixados no epitélio intestinal que causam patogenias e baixo desempenho. Entretanto, mesmo os dois

produtos agindo de maneira semelhante, eles apresentam mecanismos de ação diferenciados (Bosi et al., 2004). De acordo com Lora Graña et al. (2010), o plasma sangüíneo apresenta-se como uma alternativa ao uso de antibióticos por possuir efeitos sobre o controle bacteriano, em especial de *E. coli*, no intestino delgado de leitões, e ainda, é possível de se observar um efeito sinérgico entre eles. Desse modo, supõe-se que a utilização combinada de ambos pode refletir em um somatório de efeitos benéficos ao animal.

Apesar da microestrutura intestinal não ter sido influenciada pelos diferentes níveis de plasma sangüíneo na dieta, a altura de vilosidades se manteve, numericamente, mais elevada nos animais alimentados com 5,0% de plasma, quando se comparou aos animais do tratamento controle.

Segundo Paz et al. (2011) o desmame em suínos provoca perturbações ao longo da mucosa intestinal com inflamação local. No entanto, a função da barreira intestinal pode ser modulada através de recursos nutricionais. O intestino delgado tem como unidade funcional as vilosidades, que são projeções da mucosa revestidas por células epiteliais colunares com função de aumentar a área da superfície para a absorção dos nutrientes, chamadas de enterócitos. A perda na altura das vilosidades resulta em menos enterócitos nas vilosidades, e provavelmente, em menor quantidade de enzimas nas bordas em escova por vilosidade. Tal fato, leva a diminuição da capacidade absorptiva pelo animal.

Dalto et al. (2013), estudando plasma nas dietas de leitões pesados e leves, verificaram que em todos os segmentos do intestino delgado avaliados, os animais não suplementados com o alimento, apresentaram valores inferiores aos animais que receberam o plasma na dieta.

Uma provável explicação para os resultados deste trabalho, seria o curto período em que os animais receberam o plasma nas dietas antes de serem abatidos. Os leitões foram alimentados durante sete dias com o alimento, o que pode não ter sido suficiente para uma atuação significativa do plasma sobre a regeneração das microestruturas intestinais dos leitões. Aliado a isso, os animais foram desmamados mais tardiamente, o que também pode ter contribuído para o menor desgaste das células epiteliais neste período levando à uma menor atuação local do plasma sanguíneo.

As imunoglobulinas e albumina presentes no plasma podem atuar como fatores de crescimento epidermal e, assim, podem contribuir para a redução da atrofia das vilosidades intestinais dos animais (King et al., 2008). Neste sentido, mesmo havendo contradição de resultados, trabalhos envolvendo plasma sanguíneo nas dietas para leitões, mostram o aumento de vilosidades, concomitante, à diminuição da profundidade de criptas (Conde, 2005; Nofrarias et al., 2006). Nesta condição fisiológica, o animal apresenta maior capacidade absorptiva e consequentemente maiores ganhos.

Barbosa et al. (2012) trabalhando com leitões desmamados aos 35 dias de idade recebendo níveis de plasma na dieta semelhantes aos usados neste experimento, verificaram vilosidades mais altas em animais alimentados com 2,5 e 7,0% do aditivo. Semelhantemente, Formigoni (2012) observou maior altura de vilosidade no duodeno de animais que receberam dietas contendo 6,0% de plasma sanguíneo durante a primeira semana e 3,0% na segunda.

Os diferentes níveis de plasma não influenciaram a altura de vilosidades e a profundidade de cripta, no entanto, a relação de ambas foi maior nos animais que permaneceram lactentes, em relação ao grupo controle. Este resultado foi previsível,

uma vez que, na fase pré-desmame, as vilosidades intestinais são altas e bem estruturadas o que assegura a eficiência na absorção de nutrientes (Pluske et al. 1991).

Além de atuar sobre o desempenho, agir sobre a regeneração das estruturas intestinais e sobre a imunidade humoral do animal, pode-se inferir, de acordo com os resultados de pesquisas, que o plasma também apresenta significativa atuação sobre a população bacteriana intestinal, principalmente através da eliminação ou controle de bactérias patogênicas como a *E. coli* (Bhandari et al., 2008, Lora Graña et al., 2010, Barbosa et al., 2012).

O trato gastrintestinal dos leitões possui uma população bacteriana que é considerada “normal”, ou seja, residente no intestino, promovendo proteção contra microorganismos patogênicos. Essas bactérias apresentam-se em menor número na porção cranial do intestino delgado e vão aumentando em direção ao intestino grosso. *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e organismos estritamente anaeróbios são numerosos entre as bactérias do cólon (Zlotowski et al., 2008).

Os resultados encontrados na mensuração da população bacteriana no conteúdo intestinal dos leitões, não foram esperados, uma vez que os leitões que receberam plasma nas dietas apresentaram menores quantidades de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, quando comparados aos animais do grupo controle.

Nenhuma hipótese biológica foi encontrada para explicar por que os animais que consumiram plasma apresentaram menor incidência de bactérias benéficas quando comparado àqueles que receberam uma dieta basal, visto que, os animais de todos os tratamentos tiveram as mesmas condições experimentais. O uso de antibiótico está associado à diminuição de bactérias patogênicas no

tratogastrointestinal dos animais, entretanto, da mesma forma, pode reduzir a incidência da população benéfica (Collier et al., 2003).

Knarreborg et al. (2002), através de análise de DGGE para contagem bacteriana, verificaram que microorganismos como *Lactobacillus* estavam no grupo de bactérias mais diminuídas da mucosa intestinal devido a administração de antibióticos em dietas para suínos na fase inicial. Entretanto, no presente estudo todas as dietas continham antibiótico, o que não justifica a ação dos antimicrobianos sobre a redução de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* no intestino grosso dos leitões.

5. CONCLUSÃO

A sequência de plasma sanguíneo a ser usada em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 28 dias, é de 5,0% na primeira semana pós-desmame, com retirada a partir dos 35 dias. Existe sinergismo do plasma sanguíneo com o antibiótico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-SADI, R. M., AND T. Y. MA. 2007. IL-1beta causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. **Journal Immunology** v. 178: 4641–4649.
- BARBOSA, F.F.; SILVA, F.C.O.; FERREIRA, A.S.; et al. 2012. Efeitos do plasma sanguíneo sobre vilosidades, desenvolvimento bacteriano desempenho de leitões criados em condições de desafio pós-desmame aos 35 dias. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v. 13: 469-479.

- BHANDARI, S.K.; XU, B.; NYACHOTI, C.M. 2008. Avaliação das alternativas aos antibióticos usando uma *Escherichia coli* K88⁺ modelo de diarreia de leitões: Efeitos sobre a ecologia microbiana do intestino. **Journal of Animal Science** v.86: 836-847.
- BOSI, P., CASINI, L., FINAMORE, A., et al. 2004. Spray-dried plasma improves growth performance and reduces inflammatory status of weaned pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science**. v. 82: 1764-1772.
- CAMPBELL J.M., QUIGLEY III J.D. & RUSSELL L.E. 2004 Impact of spray-dried bovine serum and environment on turkey performance. **Poultry Science**. v.83: 1683-1687.
- CAMPELL, J.M.; POLO, J.; RUSSELL. et al. 2010. Review of spray-dried plasma's impact on intestinal barrier function. **Livestock Production Science**, v.133: 239-241.
- COFFEY, R.D.; CROMWELL, G.L. 1995. The impact of environment and antimicrobial agents on the growth response of early-weaned pigs to spray-dried porcine plasma. **Journal of Animal Science** v.73: 2532-2539.
- COLLIER, CT, JD VAN DER KLIS, B. DEPLANCKE, et al. 2003. Os efeitos da tilosina em mucolysis bacteriana, *Clostridium perfringens* , colonização e função de barreira intestinal em um modelo de pinto de enterite necrótica. **Antimicrob. Agents Chemother.** 47 : 3311 -3317.
- CONDE, R. 2005. A possible alternative to antibiotics. **SDAP in piglet nutrition**. Ph.D. Thesis, Autonomous University of Barcelona, Bellaterra, Spain.

- DALTO, D.B.; GAVIOLI, D.F.; OLIVEIRA, E.R., et al. 2013. Efeito de dietas contendo plasma sanguíneo desidratado sobre características microbiológicas, imunológicas e histológicas de leitões leves ao desmame. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v. 65: 189-197.
- DELROISSE, J.M.; BOULVIN, A.L.; PARTMENTIER, I. et al. 2008. Quantification of *Brifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. in rat fecal sample by real-time PCR. **Science Direct** v.163: 663-670.
- FORMIGONI, A.S M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2012. **Níveis de plasma sanguíneo em dietas com antibiótico para leitões desmamados aos 21 dias.**
- GAO, Y.Y.; JIANG, Z. Y.; LIN, Y. C. et al. 2011. Effects of spray-dried animal plasma on serous and intestinal redox status and cytokines of neonatal piglets. **Journal of Animal Science** v. 89: 150-157.
- KING, M.R.; MOREL, P.C.H.; PLUSKE, et al. 2008. Comparison of the effects of dietary spray-dried bovine colostrums and animal plasma on growth and intestinal histology in weaner pigs. **Livestock Science** v.119: 167–173.
- KLASING, K.C., & JOHNSTONE, B.J. 1991. Monokines in growth and development. **Poultry Science** v. 70: 1781–1789.
- KNARREBORG, A., M.A SIMON, ENGBERG, R.M, et al. 2002. Efeitos da fonte de gordura na dieta e os níveis de subterapêuticas de antibióticos na comunidade bacteriana no íleo de frangos de corte em várias idades. **Application Environment. Microbiology** v. 68 : 5918 -5924.

- KUMMER, R., DORNELLES, M.A., TESCHE, G.R. 2009. Factors associated with nursery pig performance. **Acta Scientiae Veterinariae** v. 37(SUPL 1): S195-S209.
- LORA GRAÑA, G; FERREIRA, A.S; SILVA, OLIVEIRA.; F.C et al. 2010. Plasma sanguíneo em dietas sem antibióticos para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v.11: 815-826.
- MA, T. Y., G. K., IWAMOTO, N. T., HOA, V. AKOTIA, et al. 2004. TNF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF kappa B activation. **Animal Journal Physiology** 286-G367.
- MORETO, M.; PÉREZ-BOSQUE, A. 2009. Dietary plasma proteins, the intestinal immune system, and the barrier functions of the intestinal mucosa. **Journal of Animal Science** April v. 87: E92-E100.
- MORÉS, N.; ZANELLA, J.R.C.; AMARAL, A.L., et al. 2012. Prevenção da circuvirose suína pelo uso do plasma suíno ultrafiltrado produzido por “spray dried”. Artigo técnico da **Revista Online Engormix**. Acessado em: 08-03-2013/ <http://pt.engormix.com/MA-suinocultura/saude/artigos/prevencao-circovirose-suina-pelo-t854/165-p0.htm>
- NOFRARÍAS, M., MANZANILLA E.G., PUJOLS J.,et. al. 2006. Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. **Journal of Animal Science** v. 84: 2735-2742.

- OLIVEIRA JÚNIOR, G.M., FERREIRA, A.S., GATTÁS, G., et al. 2008. Plasma sangüíneo para leitões desmamados aos 28 dias recebendo mesmas quantidades de ração. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia.
- PAZ, R.M., CAMPBELL, J., POLO, J., et al. 2011. Spray-dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation, and diarrhea in weaned pigs. **The Journal of Nutrition** v.81: 1312-1317.
- PÉREZ-BOSQUE, A, L. MIRÓ, J. POLO, L. et al. 2007. Plasma protein supplements modulate the activation of gut associated immune system induced by *S. aureus* enterotoxin B in rats. **Anais...** I International Immunonutrition Workshop. October 3-5.
- PIERCE, J.L.; CROMWELL, G.L.; LINDEMANN, M.D.; et al. 2005. Effects of spray-dried animal plasma and immunoglobulins on performance of early weaned pigs. **Journal of Animal Science** v.83: 2876-2885.
- PLUSKE, J.R.; WILLIAMS, I.H.; AHERNE, F.X. 1991. Maintenance of villous height and crypt depth in the small intestine of weaned pigs. En: Manipulating pig production III. Ed. Baterham. **Australian Pig Science Association** 143 p.
- RASMUSSEN, R. 2001. Quantification on the LightCycler. In: Meuer S, Wittwer C, Nakagawara K (eds) Rapid cycle real-time PCR, methods and applications. **Springe Press**, Heidelberg.
- ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., DONZELE, J. L. et al. 2005. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: UFV, 186p.
- SAMPAIO, C.A.P., CRISTANI, J., DUBIELA, J.A. et al. 2004. Avaliação do ambiente térmico em instalação para crescimento e terminação de suínos

utilizando os índices de conforto térmico nas condições tropicais. **Ciência Rural** v.34: 785-790.

STEIN, H.H. 1996. The effects of adding spray-dried plasma protein and spray-dried blood cells to starter diets for pigs. **Journal Animal Science** v. 74: p.170.

TORRALLARDONA, D. AND D. SOLÀ-ORIOL. 2009. Evaluation of freechoice feedstuffs preference by pigs. In: Voluntary feed intake in pigs. **Wageningen Academic Publishers**, Wageningen, The Netherlands. pp. 215- 242.

TORRALLARDONA, D., CONDE, M. R.;BADIOLA,I .et al. 2003. Effect of fishmeal replacement with spray-dried animal plasma and colistin on intestinal structure, intestinal microbiology, and performance of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* K99. **Journal Animal Science** v. 81:1220-1226.

TUCKER, J.L., NARANJO, V.D., BIDNER, T.D e SUL, L.L. Effect of salmon protein hydrolysate and spray-dried plasma protein on growth performance of weanling pigs. **Journal of Animal Science**. V.89, p.1466-1473, 2011.

ZLOTOWSKI, A.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D.E.S.N. 2008. Pathogenesis of diarrhoea in pigs: models and examples. **Acta Scientiae Veterinariae** v.36: 81-86.

CONCLUSÕES GERAIS

Conclui-se que a sequência de plasma sangüíneo a ser usada em dietas sem antibiótico para leitões, nos períodos de 28 a 35 e 36 a 42 dias de idade, é de 2,5% na primeira semana, com retirada a partir dos 35 dias de idade e de 5,0% na primeira semana, com retirada a partir dos 35 dias, quando se usa antibiótico. Conclui-se, ainda que, existe sinergismo do plasma sangüíneo com o antibiótico.