



**HEBERT SILVEIRA**

**NÍVEIS DE LISINA PARA LEITÕES NA FASE  
INICIAL SUBMETIDOS OU NÃO A ATIVAÇÃO  
DO SISTEMA IMUNE**

**LAVRAS – MG**

**2011**

**HEBERT SILVEIRA**

**NÍVEIS DE LISINA PARA LEITÕES NA FASE INICIAL SUBMETIDOS  
OU NÃO A ATIVAÇÃO DO SISTEMA IMUNE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Elias Tadeu Fialho

Coorientadores

Márcio Gilberto Zangeronimo

Vínicius de Souza Cantarelli

**LAVRAS - MG**

**2011**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Silveira, Hebert.

Níveis de lisina para leitões na fase inicial, submetidos ou não a  
ativação do sistema imune / Hebert Silveira. – Lavras : UFLA, 2011.  
100 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Elias Tadeu Fialho.

Bibliografia.

1. Suínos. 2. Metabolismo. 3. Proteínas de fase aguda. 4. Desafio.  
5. Vacinação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.4089239

**HEBERT SILVEIRA**

**NÍVEIS DE LISINA PARA LEITÕES NA FASE INICIAL SUBMETIDOS  
OU NÃO A ATIVAÇÃO DO SISTEMA IMUNE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de Fevereiro de 2011.

Márcio Gilberto Zangeronimo                      PROF/UFLA /DMV

Raimundo Vicente de Sousa                      PROF/UFLA/DMV

Víniccius de Souza Cantarelli                      PROF/UFLA/DZO

Elias Tadeu Fialho  
Professor orientador  
UFLA/DZO

**LAVRAS – MG**

**2011**

A Deus, por iluminar meu caminho durante esta jornada, me dando sabedoria  
saúde e muita força de vontade durante o mestrado.

Primeiro quero dizer que amo muito eles. Meus olhos se enchem de lágrimas  
quando me lembro dos momentos felizes que passamos juntos. Eles foram  
minhas pernas quando eu não podia andar, meus olhos quando não podia  
enxergar, minha boca quando não podia falar... Eles têm sido um raio de  
esperança e motivo para muitas risadas quando eu só queria chorar. Aos meus  
pais Hilario da Silveira e Catia Helena Silveira por este apoio incondicional em  
todos os momentos da minha vida.

Ao meu irmão Jefferson, que mesmo com nossas intrigas sempre me apoiou e  
me deu todo carinho necessário nesta jornada.

Ao meu grande amor Karina Ribeiro Souza e sua mãe Fatinha pela  
compreensão, exemplo, incentivo e apoio em todos os momentos da minha  
vida, sem elas nunca teria chegado até aqui.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro sem o qual não poderia ter concluído o mestrado.

Ao orientador e amigo Prof. Elias Tadeu Fialho, por ter me aceito como aluno, obrigado por tudo que me possibilitou. Agradeço pelo crescimento profissional e pessoal e espero um dia retribuí-lo de alguma maneira.

Ao coorientador Prof. Vínicius de Souza Cantarelli pela amizade, ensinamentos, sugestões e por todos os momentos que passamos juntos, que Deus continue sempre prosperando em sua vida.

Ao coorientador Prof. Marcio Gilberto Zangeronimo pela amizade e apoio incondicional no meu desenvolvimento acadêmico.

Ao Prof. Raimundo Vicente de Sousa, pelos ensinamentos e por quem tenho grande admiração. E ao Prof. Paulo Borges Rodrigues que muito acrescentou neste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Medicina Veterinária e da Zootecnia da UFLA que contribuíram para minha formação acadêmica.

Aos meus grandes amigos Cesar Augusto Pospissil Garbossa, Thiago Hiroshi Kuribayashi, Luis Gustavo dos Santos Cerqueira, Renato Philomeno e Leticia Gomes de Moraes, pelo auxílio na execução dos experimentos, pela colaboração, amizade, ensinamentos e pela convivência durante o mestrado.

A República Caruncho, Cesar, Thiago, Gustavo, Leonardo, Ricardo, Marney, Rosania e Rafael, pela amizade, incentivo e imensa colaboração neste trabalho e em minha vida.

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Suinocultura (NESUI), Cesar, Leandro, Gustavo, Renato, Daniel, Diane, Thiago, Letícia Morais, Louise, Amanda, Leonardo Rafael, Fernando, Carolina, Nikolas, Rafael Betarelli, Evandro, Rafael Sarter, Danubia, Raissa, Bruna, Letícia C., Barbara, Tila, Ítalo, Richardson, Marseile, Louise e Juliano, grandes parceiros na realização dos trabalhos.

Ao funcionário do DZO, Borginho, pelo apoio no que foi necessário.

Aos funcionários da suinocultura Hélio Rodrigues e Binha, pela amizade durante toda a minha passagem na UFLA.

Agradeço a todos que me acompanharam neste período, pois sem vocês a realização deste trabalho não seria possível.

## BIOGRAFIA

HEBERT SILVEIRA, filho de Hilario da Silveira e Catia Helena Silveira, nasceu em 23 de abril de 1986, na cidade de Belo Horizonte, no estado de Minas Gerais. Em fevereiro de 2001, matriculou-se na Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal (CEDAF –UFV), obtendo o diploma de Técnico em Agropecuária em Dezembro de 2003. Em agosto de 2004, ingressou na Universidade Federal de Lavras (UFLA), graduando-se em Agronomia em janeiro de 2009. Em março de 2009, iniciou a pós-graduação em Ciências Veterinárias na Universidade Federal de Lavras, concentrando seus estudos na área de Produção e Nutrição de Monogástricos. Em 17 de fevereiro de 2011, submeteu-se à defesa de dissertação para a obtenção do título de “Mestre”.

## RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos no Centro Experimental de Suínos da Universidade Federal de Lavras. No Experimento I, avaliou-se o desempenho e os parâmetros sanguíneos de leitões recebendo dietas com diferentes níveis de lisina, submetidos ou não a ativação do sistema imune com o uso de vacinas. Foram utilizados 168 leitões ( $6,63 \pm 0,31$  kg), machos castrados e fêmeas alojados em grupos de três com delineamento em blocos casualizados e esquema fatorial 4x2, sendo quatro níveis de lisina digestível (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) para animais vacinados e não vacinados, totalizando oito tratamentos e sete repetições. Foram utilizadas vacinas para *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. O experimento teve duração de 44 dias e as coletas de sangue foram realizadas aos 15, 23 e 44 dias de experimento. Não foi observado interação ( $P > 0,05$ ) entre os níveis de lisina e a ativação do sistema imune dos animais sobre o desempenho e os parâmetros sanguíneos. Os níveis de lisina influenciaram ( $P < 0,05$ ) o peso dos animais aos 68 dias de vida, o ganho de peso diário (GPD), a concentração de Leucócitos totais (LET) aos 46 dias de vida, a concentração de albumina (AB) aos 46 e aos 68 dias de vida e a concentração de ureia plasmática aos 46 dias de vida. Pode-se observar efeito da ativação do sistema imune ( $P < 0,05$ ) aumentando o consumo de ração diário, a conversão alimentar, as proteínas de fase aguda, e a concentração de LET aos 46 e 53 dias de vida, e reduzindo o GPD, e a concentração de AB aos 46 dias de vida. No Experimento II, avaliou-se o balanço de nitrogênio de leitões recebendo dietas com diferentes níveis de lisina, submetidos ou não a ativação do sistema imune com o uso de vacinas. Foram utilizados 48 suínos machos castrados ( $11,51 \pm 2,24$  kg) alojados individualmente em gaiolas de metabolismo. Foi adotado o mesmo delineamento do experimento I, porém com dois períodos de coleta na subparcela, o curto (quatro primeiros dias de coleta) e longo (do quarto ao oitavo dia de coleta). Houve efeito da interação entre o desafio imunológico e o período de coleta ( $P < 0,05$ ), sendo que os animais vacinados no período curto apresentaram uma maior percentagem de nitrogênio retido e percentagem de retido sobre o absorvido. Os níveis de lisina reduziram de forma linear ( $P < 0,05$ ) a percentagem de nitrogênio absorvido nos animais não vacinados em ambos os períodos de avaliação. No período curto, os níveis de lisina influenciaram de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) a percentagem de nitrogênio retido. Conclui-se que a ativação do sistema imune não influencia as exigências de lisina de leitões sobre o desempenho, entretanto, altera a retenção de nitrogênio em animais vacinados. Dietas desbalanceadas proporcionam pior resposta imune frente ao desafio.

Palavras-chave: Desafio, metabolismo, creche, proteínas de fase aguda, suínos, vacinação.

## ABSTRACT

Two experiments were conducted at the Experimental Center of Porcine at the Federal University of Lavras. In Experiment I evaluated the performance and blood parameters in piglets fed diets with different levels of lysine, subjected or not to immune system activation with the use of vaccines. One hundred sixty eight piglets were used ( $6,63 \pm 0,31$  kg), barrows and females housed in groups of three with randomized block design and factorial scheme 4x2, with four levels of digestible lysine (0,96, 1,08, 1,20 and 1,32) for vaccinated and unvaccinated animals, total of eight treatments and seven replications. Vaccines were used for *Haemophilus parasuis* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. The experiment lasted 44 days and blood samples were taken at 15, 23 and 44 days of experiment. No interaction was observed ( $P>0,05$ ) between levels of lysine and immune system activation on animal performance and blood parameters. The lysine levels affected ( $P<0,05$ ) weights of animals at 68 days of life, the average daily gain (ADG), the concentration of total leukocytes (LET) at 46 days of life, the concentration of albumin (AB) at 46 and 68 days of life and concentration of urea plasma at 46 days of life. It can be observed the effect of immune system activation ( $P<0,05$ ) increased the daily feed intake, feed conversion, the acute phase proteins, and the concentration of LET at 46 and 53 days of life, and reducing the ADG and the concentration of AB at 46 days of life. In Experiment II, was evaluated the nitrogen balance of piglets fed diets with different levels of lysine, subjected or not to immune system activation with the use of vaccines. A total of 48 barrows ( $11,51 \pm 2,24$  kg) housed individually in metabolism cages. It was adopted the same design of the experiment I, but with two collection periods in the sub-plot, the short (first four days of sampling) and long (the fourth to eighth day of collection). A significant interaction between the immune challenge and test period ( $P<0,05$ ), and the animals vaccinated in a short period had a higher percentage of nitrogen retained and retained percent on absorbed. The lysine levels decreased linearly ( $P<0,05$ ) the percentage of nitrogen absorbed in unvaccinated animals in both periods. In short periods, lysine levels influenced quadratically ( $P<0,05$ ) the percentage of nitrogen retained. It was conclude that activation of the immune system does not influence lysine requirements of piglets on performance, however, alter the nitrogen retention in vaccinated animals. Unbalanced diets provide worse immune response upon challenge.

Keywords: Challenge. Metabolism. Nursery. Acute phase proteins. Piglets.  
Vaccination.

## SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 Introdução geral.....	11
1	INTRODUÇÃO .....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
2.1	Interação nutrição com o sistema imune dos suínos.....	14
2.2	Lisina para leitões na fase inicial .....	20
2.3	Interação lisina diética e sistema imune.....	22
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	26
	REFERÊNCIAS .....	27
	CAPÍTULO 2 Desempenho de leitões dos 6 aos 20 Kg, submetidos ou não a ativação do sistema imune, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.....	33
	RESUMO.....	34
	ABSTRACT.....	35
1	INTRODUÇÃO .....	36
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	38
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	42
3.1	Desempenho.....	42
3.2	Variáveis sanguíneas .....	48
4	CONCLUSÃO .....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
	CAPÍTULO 3 Balanço de nitrogênio de leitões dos 6 aos 25 Kg, submetidos ou não a ativação do sistema imune, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.....	64
	RESUMO.....	65
	ABSTRACT.....	66
1	INTRODUÇÃO .....	67
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	69
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	73
4	CONCLUSÃO .....	79
	REFERÊNCIAS.....	80
	ANEXOS .....	83

## **CAPÍTULO 1**

### **Revisão de literatura**

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o desenvolvimento da suinocultura no Brasil vem sendo caracterizado pela intensificação dos processos de criação e pela necessidade de maximização da eficiência técnico-econômica do investimento. Com este crescimento em escala, faz-se necessário uma dinâmica frequente no desenvolvimento e aplicação de técnicas que reduzam com eficácia o crescente desafio sanitário que acompanha os modelos de produção animal intensiva.

A fase de creche é o período onde ocorre maior desafio sanitário aos animais, devido ao estresse pela separação da mãe, alteração da dieta, mistura de animais e diminuição da imunidade passiva, proporcionando maior predisposição a agentes patogênicos. Este desafio sanitário proporcionado aos leitões faz com que ocorra a ativação do sistema imune, que apresenta inúmeras desvantagens fisiológicas ao desenvolvimento dos animais, representado pela redistribuição de nutrientes e maiores gastos energéticos para finalidades que não sejam o desempenho e produção de carne.

Com isso, um correto balanço de aminoácidos nestas condições pode ser mais uma técnica para aperfeiçoar os modelos de produção, garantindo melhor desempenho e uma resposta imune adequada, pois a composição em aminoácidos difere entre as proteínas teciduais e aquelas ligadas a outras funções metabólicas. Assim, supõe-se que possam ocorrer interações entre as exigências nutricionais, principalmente em relação aos aminoácidos, onde alguns podem ter suas exigências alteradas e até se tornar condicionalmente essenciais (MACHADO; FONTES, 2005). Entretanto, ainda são poucas informações na literatura sobre o balanço aminoacídico e a ativação do sistema imune.

Um dos maiores entraves para um melhor desempenho dos leitões na fase de creche é o desafio proporcionado aos animais, dentre eles à resposta imune proporcionada pelo contato a agentes patogênicos. De maneira similar, as

vacinas têm o objetivo de ativar o sistema imune de forma controlada, intensa e rápida, para a imunização dos indivíduos contra o agente patogênico. Desta forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos dos níveis de lisina digestível sobre o desempenho, parâmetros sanguíneos e o balanço de nitrogênio de leitões dos 6 aos 20Kg submetidos ou não a ativação do sistema imune via vacinação.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Interação nutrição com o sistema imune dos suínos**

O desempenho animal resulta de uma complexa interação de processos biológicos que são regulados por diversos fatores genéticos e ambientais. Fatores ambientais, como as condições térmicas, manejo nutricional e padrão sanitário definem, por exemplo, qual a proporção do potencial genético os animais poderão efetivamente expressar (WILLIAMS, 1998).

Dentro dos fatores ambientais ainda podem ocorrer diversas interações, principalmente entre o manejo nutricional e o padrão sanitário, pois animais com o sistema imune ativado redirecionam diversos nutrientes para atender à demanda imunológica, alterando direta ou indiretamente as exigências nutricionais de suínos (SHURSON; JOHNSTON, 1998).

Quando expostos a organismos patogênicos, os suínos podem ter uma redução de 10 a 40% na eficiência do ganho muscular, correspondendo entre 5 e 20% do rendimento de carcaça (STAHLEY, 1993). Em condições sanitárias desejáveis, os nutrientes são mais bem utilizados, permitindo maior expressão do desempenho do suíno (AFFENTRANGER; GERWIG; SEEWER, 1996; KOLSTAD; VANGER, 1996).

Alguns estudos indicam que um desafio imunológico pode resultar em algumas alterações fisiológicas, talvez através da liberação de citocinas pró-inflamatórias (JOHNSON et al., 2006; WEBEL; FINCK; BAKER, 1997; YI et al., 2005). Estas citocinas podem afetar negativamente o crescimento e a eficiência alimentar. Assim, a modulação dessas citocinas pode ter efeitos benéficos para atenuar os efeitos negativos induzidos por um estresse imunológico (CARROLL et al., 2003). Segundo Williams, Stahly e Zimmerman (1997c), a exposição dos suínos a microorganismos, patogênicos ou não

desencadeia a liberação de substâncias que ativam o sistema imunológico, alterando o processo metabólico em detrimento à síntese proteica na musculatura esquelética.

Durante a resposta imune, ocorre o redirecionamento de nutrientes para atender a demanda de combate ao estímulo antigênico (DEE, 1999; SHURSON ; JOHNSTON, 1998). Vários nutrientes são mobilizados deixando de atender as funções produtivas anabólicas, como a deposição de proteína muscular para atender à demanda do sistema imune para a síntese aumentada de citocinas, imunoglobulinas, células de defesa, proteínas de fase aguda e outras demandas proteicas da resposta imune.

Dessa forma, suínos mantidos em ambiente apresentando um alto grau de estimulação imunológica apresentam alto nível plasmático de proteínas de fase aguda e  $\alpha$ -glicoproteína ácida (WILLIAMS; STAHLY; ZIMMERMAN, 1993). Em suínos, a Haptoglobina (HPT), a amilóide sérico A (SSA) e a proteína C-reativa (CRP) são as principais proteínas de fase aguda de impactos positivos, como tem sido demonstrado experimentalmente após a ativação do sistema imune (CARPINTEIRO et al., 2005; HULTEN et al., 2003).

A Haptoglobina (HPT) é uma proteína plasmática heterogênea, principalmente sintetizada pelo fígado. Os níveis séricos de haptoglobina sobem rapidamente após uma lesão aguda do tecido, em 24 a 48 H, mas também reduzem rapidamente assim que o estímulo é removido (ECKERSALL, 2000). Esta molécula exerce uma série de funções durante o estresse imunológico, incluindo efeito antioxidante, anti-inflamatório, atividades antibacterianas e modulação da resposta imune (WASSEL, 2000).

Devido a sua concentração permanecer alta por vários dias após o desafio ao sistema imune, contrária à típica resposta transitória das citocinas, a haptoglobina demonstra ser um bom indicador da inflamação crônica e infecção em suínos (MELCHIOR; SÈVE; LE FLOC'H, 2004).

Já a proteína C-reativa (CRP), foi denominada assim por possuir a capacidade de afetar a precipitação do polissacarídeo somático C, oriundo do *Streptococcus pneumoniae*. É sintetizada no fígado e normalmente presente como um constituinte traço no soro em níveis menores do que 0,3 mg/dL. Os níveis sobem rapidamente após uma lesão tecidual e também decrescem rapidamente com a remoção do estímulo. Tem sido proposto que a função da CRP auxilie a ativação do sistema do complemento, influenciando a função da célula fagocitária e ampliando a citotóxicidade mediada por estas células (ECKERSALL, 2000).

Pesquisas nos últimos anos têm demonstrado que as quantificações de HPT e CRP no plasma ou no soro podem fornecer informações diagnósticas valiosas na detecção, prognóstico e monitoramento de patologias, não somente em humanos, mas também em animais.

Em estudo realizado para avaliar as concentrações séricas de Haptoglobina e Proteína C-reativa sobre os efeitos imunológicos de um desafio com terebintina em suínos, a Haptoglobina e a proteína C-reativa variaram positivamente (LAMPREAVE et al., 1994). Similarmente, Wrigth et al. (2000), relataram uma tendência de aumento nos níveis séricos de Haptoglobina em 24 e 72 horas após um único desafio com Lipopolissacarídeo bacteriano (LPS).

As proteínas de fase aguda são muito utilizadas na detecção da ativação do sistema imunológico, mas outras análises podem ser realizadas para verificar o estado do animal. Com isso, as principais respostas imunes associadas a nutrição são: alterações da imunidade celular e produção de anticorpos, alterações de linfócitos T, alterações na secreção de citocinas, produção e atividade funcional dos componentes do sistema do complemento (HANNAS, 2010).

Em resposta ao estímulo antigênico, uma variedade de células, incluindo os macrófagos ativados, secretam uma série de citocinas que são responsáveis

por alterar o metabolismo do hospedeiro. Três destas citocinas estão profundamente ligadas ao comportamento neuroendócrino e efeitos metabólicos: o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucina 1 (IL-1) e Interleucina 6 (IL-6) (JOHNSON, 1997).

Estas moléculas são responsáveis, em suínos desafiados com LPS, por aumento na concentração de ureia plasmática (PUN) devido ao aumento na degradação do músculo esquelético (WEBEL; FINCK; BAKER, 1997). Com isso, o metabolismo de proteínas libera amônia a qual é convertida em ureia pelo fígado. Assim elevações na concentração sérica desta substância podem ocorrer devido ao catabolismo proteico elevado, febre, septicemia, e *stress*. Já a diminuição na concentração pode estar relacionado à redução do catabolismo proteico em indivíduos saudáveis (BURTIS; ASHWOOD, 1998).

A albumina, principal componente proteico do soro sanguíneo, pode ser utilizada como indicativo do estado nutricional assim como a ureia, além de ser uma proteína de fase aguda de resposta negativa. Nos casos de desnutrição grave ocorre hipoalbuminemia. Essa redução está relacionada com a diminuição da síntese hepática ou perda excessiva renal, levando a uma diminuição da pressão coloidosmótica do plasma, provocando um aumento na reabsorção de sódio e água, e conseqüentemente, causa edema, icterícia e anemia. (BURTIS; ASHWOOD, 1998).

As citocinas IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  são responsáveis pelo estímulo e síntese de proteínas de fase aguda no fígado *in vivo* e *in vitro*. Durante estresse imunológico, a síntese de proteínas de fase aguda aumenta de forma significativa e estas são consideradas os primeiros mediadores da resposta à ativação do sistema imune (RICHARDS; GAULDIE; BAUMANN, 1991).

A IL-6 é responsável pelo aumento de aminoácidos nos hepatócitos *in vivo* e *in vitro* e a IL-1 e TNF- $\alpha$  apenas *in vivo*. Aparentemente, a IL-1 e o

TNF- $\alpha$  afetam a síntese de proteína pela ação indireta de estímulo à produção de IL-6 (ANDUS; BAUER; GEROK, 1991).

Dos aminoácidos utilizados na síntese destas proteínas, 60% são provenientes da degradação de proteína muscular. Sabe-se que a IL-1 atua inibindo os efeitos anabólicos da insulina no músculo esquelético (KLASING; JOHNSTONE, 1991), por exemplo. Esta resistência à insulina nas células da musculatura esquelética e do tecido adiposo ocorre pela ação direta das citocinas sobre os receptores de insulina e os transportadores de glicose (SHURSON; JOHNSTON, 1998).

Em animais com títulos para diversos anticorpos, as citocinas provocam alterações na síntese e degradação de proteínas musculares, inibindo também a liberação de hormônios anabólicos, como a somatotropina e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) (WILLIAMS; STHAHLY; ZIMMERMAN, 1997c). Assim, considera-se que estas citocinas fazem parte da rede inerente a degradação de proteína muscular e síntese hepática de proteínas de fase aguda. Isto representa a resposta integrada do hospedeiro ao estímulo ativador do sistema imune (JOHNSON, 1997).

Barnes et al. (2002) observaram maior direcionamento da metionina e da fenilalanina para a síntese de proteínas plasmáticas logo após a inoculação de Lipopolissacarídeos de *E. coli* em aves, representando a síntese de proteínas de fase aguda. De acordo com Reeds, Fjeld e Jahoor (1994), a necessidade de determinado aminoácido específico para proteínas do sistema imune faz com que os animais mobilizem as proteínas musculares para atender essas exigências e isto pode ser menos acentuado caso a dieta esteja adequada para essas condições.

Williams, Stahly e Zimmerman (1997a,1997c), avaliando quatro níveis de lisina (0,6, 0,9, 1,20 e 1,5%), na dieta verificaram que animais não imunoestimulados dos 6 aos 27 kg PV ganharam mais peso e tiveram uma

melhor eficiência alimentar em relação aos animais imunoestimulados. O desafio foi realizado pelo ambiente sem desinfecção, animais oriundos de porcas sem vacinação e falta de acompanhamento no parto. Além disso, verificaram redução do consumo de ração para o segundo grupo de animais. Os autores ainda relataram que é sempre esperada uma redução na eficiência de utilização de aminoácidos dietéticos em situações de dieta hiperproteica, sendo que os níveis de lisina foram aumentados concomitantemente com o aumento dos níveis proteicos da dieta, uma vez que há gastos de energia na excreção do nitrogênio em excesso, aumento na taxa metabólica e produção de calor, entre outros efeitos, prejudicando o desempenho dos animais.

Segundo Humphrey e Klasing (2004), o fornecimento de uma dieta melhor balanceada para animais submetidos a uma ativação crônica ou aguda do sistema imune pode diminuir os efeitos catabólicos promovidos pelos mediadores liberados durante essa ativação. Porém, essa prática pode ser dificultada em função do menor consumo estimulado diretamente por essas substâncias. Neste caso, a aplicação do conceito de proteína ideal com adição de aminoácidos sintéticos à ração pode possibilitar melhor aproveitamento dos nutrientes, devido ao aumento na biodisponibilidade, além de permitir o controle de uma melhor relação aminoacídica na dieta (APOLÔNIO et al., 2001; STAHLY; WILLIANS; SWENSON, 1994).

Dessa forma, as exigências nutricionais de manutenção aumentam em animais doentes, mas isto ocorre concomitantemente à redução na ingestão de alimento. Assim, os animais utilizam maior proporção de nutrientes endógenos quando comparado aos nutrientes da dieta (ESCOBAR, 2010).

A suplementação dietética com determinados nutrientes ou imunomoduladores, sistema imune dos animais, pode ser considerada um meio para melhorar o desempenho e o estado de saúde dos leitões (LI et al., 2007). Nestas situações, um determinado aminoácido não essencial pode não atingir sua

velocidade de síntese para atender as exigências de síntese de algum metabólito importante, seria interessante considerá-los como condicionalmente essenciais (OBLED, 2004). Cisteína, arginina e glutamina são os mais mencionados como condicionalmente essenciais nesta situação.

O crescimento muscular em animais é um processo complexo, regulado por sinais que integram várias células do sistema endócrino e imunológico (GABLER; SPURLOCK, 2008). Um fato generalizado que ocorre nas granjas é que os animais geralmente não atingem o seu potencial genético para o crescimento em ambientes de produção comercial. A literatura revisada por Gabler e Spurlock (2008) indica claramente que a regulação de eventos imunológicos e metabólicos são realizadas pelas mesmas proteínas, e que os fatores classicamente vistos como moduladores do sistema imune são também reguladores metabólicos. Além disso, é evidente que a produção local de citocinas nos músculos e as adipocitocinas podem regular os eventos imunológicos e metabólicos através de mecanismos autócrinos ou parácrinos que não se refletem em concentrações circulantes de citocinas ou fatores de crescimento.

Com isso, a compreensão da integração do sistema imune com regulação metabólica ainda é insuficiente, mas um melhor conhecimento dos processos imunológicos associados aos metabólicos pode melhorar a capacidade de crescimento e a máxima eficiência em produção animal por meio de dietas melhor balanceadas.

## **2.2 Lisina para leitões na fase inicial**

Nos suínos, o principal destino dos aminoácidos é a síntese de massa muscular (SCHINCKEL; LANGE, 1996), porém este processo é diretamente afetado por fatores ambientais, tais como temperatura, concentração de

aminoácidos presentes na dieta, sexo, estado imunológico e o genótipo dos animais.

A lisina é o primeiro aminoácido limitante em dietas para os suínos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NCR, 1998). Quando a lisina se encontra disponível em concentrações insuficientes a síntese de proteína muscular encontra-se limitada. Por outro lado, o excesso deste aminoácido pode comprometer a utilização dos demais aminoácidos pela competição pelos sítios de absorção ou de síntese (SUSENBETH,1995). Entre os fatores que afetam a utilização de lisina pelo suíno, segundo Susenbeth (1995), o nível de ingestão de alimento, de energia, de aminoácidos essenciais, da soma de aminoácidos não essenciais e o potencial de crescimento dos animais são influenciados pelo genótipo e pelo ambiente.

Barbosa, Pereira e Costa (1985) e Donzele et al. (1992) obtiveram melhores resultados de conversão alimentar nos níveis de 1,09 e 1,14 de Lisina total. Zangeronimo et al. (2007) em estudo realizado para avaliar a exigência de lisina digestível verdadeira para suínos dos 9 aos 25 Kg recebendo dietas com reduzido teor de proteína bruta, observaram que o nível de 1,05% de lisina digestível proporcionou melhor resultado de desempenho destes animais.

Entretanto, Nunes et al. (2008), estudando níveis de lisina digestível na dieta de leitões dos 6 aos 15 Kg de 1,06 a 1,46% , observaram um efeito linear sobre o ganho de peso e deposição de proteína na carcaça. Resultados semelhantes foram descritos por Trindade Neto et al. (2000), estudando níveis de lisina total entre 1,3 e 1,7%, em rações com 21% de PB. Os autores observaram resposta linear crescente do ganho de peso médio diário para leitões dos 5 aos 15Kg.

Moreira et al. (2005) avaliando níveis de lisina total de 0,6% a 1,7% para leitoas de 6 a 15 Kg, não observaram influência destes níveis sobre o ganho de peso dos animais, mas observou efeito quadrático sobre o consumo de ração,

o consumo de lisina diário e a conversão alimentar, que melhorou, respectivamente, até o nível de 1,56% de lisina total (1,38% LISD).

Em estudo semelhante, Jin et al. (1998), avaliaram os níveis de 1,15 a 1,65% de lisina total na dieta de leitões dos 6 aos 14 Kg. Baseando nos resultados de desempenho a exigência de lisina para os suínos aos 21 dias de idade é de 1,45% de lisina total.

Com isso, a diferença observada em diferentes experimentos podem estar relacionadas com a diferença de potencial genético assim, como a linhagem utilizada aos fatores ambientais e padrão sanitário da granja, uma vez que a ativação do sistema imune pode alterar as exigências de aminoácidos (WILLIAMS; STAHLY; ZIMMERMAN, 1997a, 1997b, 1997c). Estas diferenças também podem estar relacionadas parcialmente ao balanço ideal de aminoácidos na dieta, que pode limitar o uso dos demais aminoácidos (JIN et al., 1998). Nestas condições Owen, Kim e Kim (1996) fizeram uma revisão sobre a exigência de lisina para leitões e recomenda um nível entre 1,5 e 1,6% de lisina total para leitões desmamados entre 5 e 7 Kg do peso vivo.

Dessa forma, estudos para identificar quais fatores estão relacionados com a variação na exigência de lisina digestível se torna imprescindível para a melhoria do uso de lisina nas dietas de leitões.

### **2.3 Interação lisina dietética e sistema imune**

Atualmente, nutricionistas têm avaliado formas de reduzir as perdas de produtividade dos animais devido à doenças, identificando os benefícios de intervenções nutricionais. Uma serie de procedimentos experimentais estimulam o sistema imune dos animais através da utilização de compostos químicos purificados (Lipopolissacarídeos bacterianos e toxinas), vacinas, compostos alergênicos e até mesmo patógenos vivos.

Entretanto, a dose utilizada, a duração e a intensidade da ativação do sistema imune podem afetar diretamente os resultados, a interpretação e a aplicabilidade prática. Assim, é importante identificar os pontos fortes e fracos dos experimentos com nutrição e imunidade para entender os mecanismos da ativação do sistema imune e buscar a melhor forma de aplicar os resultados na prática (ESCOBAR, 2010).

Em estudo para avaliar os efeitos da concentração de proteína da dieta sobre o desempenho e a resposta imune de leitões com desafio inflamatório, Van Heugten, Spears e Coffey (1994) observaram que não existem diferenças nas exigências de proteína em termos de desempenho entre suínos com e sem desafio imunológico. De acordo com os autores o excesso de proteína piora a eficiência de utilização de proteína para o ganho de peso.

Como se sabe, a qualidade da proteína é muito mais importante que a sua concentração dietética. Bounous e Kongshavn (1985), pesquisando diferentes fontes de proteínas para camundongos, constataram diferenças nas respostas imunes dos animais. Sugerindo que outros aminoácidos e suas proporções relativas podem ser importantes para otimizar a função do sistema imune. Da mesma forma resultados semelhantes foram obtidos por Melchior, Sève e Le Floc'H (2004), onde, durante o desafio imunológico, observou-se redução na concentração plasmática de aminoácidos. Esta diminuição pode ser explicada por um aumento na utilização dos aminoácidos para fornecer energia e nutrientes proteicos para proliferação celular, ser utilizado como substrato para moléculas envolvidas na inflamação e defesa corporal e participar de vias metabólicas específicas de defesa celular. Entretanto, neste trabalho não foi observado variação na concentração plasmática de lisina, mas sim de outros aminoácidos, entretanto, verificaram interação na concentração plasmática de lisina e de vários outros aminoácidos relacionados a interação com o desafio, dieta e tempo após inoculação.

Klasing e Barner (1988) realizaram experimentos com poedeiras desafiadas imunologicamente com LPS de *E. coli* e *S. typhimurium* e amostras mortas de *S. aureus*. Neste estudo foi realizada uma rotação dos compostos imunogênicos de acordo com o dia de aplicação para avaliar o efeito de dietas com 0,30, 0,50 e 0,70% de metionina e dietas contendo 0,75, 0,95 ou 1,2% de lisina. Estas proporções foram formuladas com relação às recomendações sugeridas pelo NRC (1998) para frangas em crescimento. Estes autores verificaram decréscimo nas exigências de metionina e lisina para estas aves e isto está aliado a piora no desempenho dos animais desafiados imunologicamente, reduzindo sua deposição proteica e com isso a utilização de metionina e lisina. Sugerindo que a deficiência de aminoácidos possa resultar em diminuição na resposta metabólica ao desafio imunológico pois, aves com nível deficiente de metionina, apresentaram menor concentração de IL-1 comparado aquelas tratadas com dietas contendo o nível adequado deste aminoácido.

Entretanto, Klasing e Roura (1991) constataram aumento nas exigências de metionina e lisina para frangos de corte seguindo o período de desafio imunológico, indicando assim maior utilização destes aminoácidos para o ganho compensatório.

Williams, Stahly e Zimmerman (1997c), estudaram o efeito da ativação crônica do sistema imune sobre as exigências de lisina de leitões dos 6 aos 27 Kg. Os animais receberam dietas contendo diferentes níveis de lisina (0,6; 0,9; 1,2 e 1,50%). É importante ressaltar que o nível de lisina foi alterado aumentando a concentração de proteína da dieta, alterando a relação entre milho e soja das dietas. O desafio foi proporcionado por um ambiente sem desinfecção, porcas não vacinadas e com falta de acompanhamento ao parto, e no grupo com baixo desafio todos estes manejos foram utilizados.

Os autores constataram que, o grupo com baixo desafio responde melhor ao desempenho quando se aumentou o nível de lisina na dieta. Já para o grupo com alto desafio observou-se um efeito quadrático, onde o nível de 1,2% de lisina dietética e um consumo de 8,8g diárias de lisina, os animais apresentaram melhor desempenho.

Utilizando a mesma metodologia de desafio imunológico e os mesmos níveis de lisina descritos no experimento anterior, Williams, Stahly e Zimmerman (1997a), avaliaram a retenção de nitrogênio por um período de quatro dias para animais com 10, 17,5 e 25 Kg de peso vivo. Os autores identificaram uma resposta linear para a retenção de nitrogênio para leitões com 10 Kg. O nível de 1,5% de lisina foi considerado como sendo o ideal para melhorar este parâmetro no grupo de baixo desafio e o nível de 1,2% de lisina foi considerado como sendo ideal para o grupo com alto desafio.

Nos estágios de crescimento de 17,5 e 25 Kg, estes mesmos autores observaram efeito linear e quadrático, respectivamente para os níveis de lisina com relação a retenção de nitrogênio. Com isso, a estimativa para o grupo com baixo desafio é de 1,5 e 1,2% para os estágios 17,5 e 25 Kg respectivamente e, para o grupo com alto desafio, estes valores foram 1,2 e 0,9% de lisina, respectivamente.

A digestibilidade aparente de nitrogênio aumentou linearmente com as concentrações de lisina em todos os três estágios de crescimento analisados. A eficiência de utilização da lisina digestível varia muito com o estágio estudado e o desafio imunológico

Em um terceiro experimento, Williams, Stahly e Zimmerman (1997b) estudaram o efeito da ativação crônica do sistema imune sobre o desempenho e exigências de lisina para suínos dos 6 aos 112Kg. O modelo de desafio foi o mesmo utilizado em seus primeiros experimentos e, com isso, avaliaram os

níveis de 0,6 a 1,8% de lisina para animais de 6 a 27 Kg e os níveis de 0,45 a 1,05% de lisina dos 27 aos 112 Kg.

O consumo de ração foi influenciado pela concentração de lisina na dieta durante 27 a 112 Kg e durante 6 a 112 kg, ocorrendo menor consumo de alimento nos níveis com menos lisina (0,60/0,45%). Os animais com baixa ativação do sistema imune apresentaram maior consumo de alimento e uma parte está relacionada a seu maior crescimento do tecido muscular.

Com isso, os animais com baixo desafio imunológico parecem exigir maior ingestão de lisina diária quando comparados ao grupo com alto desafio sanitário. O baixo desafio imunológico proporciona aumento de 23% na capacidade de síntese muscular e de 13% na capacidade de retenção energética. Recomendando que a redução do nível de ativação do sistema imune resulta em melhor ganho de peso, melhor eficiência alimentar e maior deposição proteica.

Dessa forma, existem poucos estudos com níveis de lisina para leitões desafiados imunologicamente, e estes estudos ainda realizam a correção dos níveis dos demais aminoácidos, mas para identificar o efeito individual da lisina são necessários mais trabalhos nesta área.

### **3. CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Na prática, existe escassez de informações a respeito das necessidades nutricionais dos animais submetidos a diferentes condições de desafio sanitário. Atualmente, não se dispõe de tabelas relacionando tais exigências com diferentes tipos de estimulação do sistema imune. Dessa forma, o entendimento das complexas interações entre sistema imune e necessidades nutricionais dos animais se faz necessário. Assim sendo, futuros trabalhos poderão contribuir para a atualização de Tabelas de Exigências Nutricionais e proporcionar assim novos conhecimentos sobre o sistema imune e nutrição.

## REFERÊNCIAS

AFFENTRANGER, P.; GERWIG, C.; SEEWER, G. J. Growth and carcass characteristics as well as meat and fat quality of three types of pigs under different feeding regimens. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 45, n. 2/3, p. 187-196, May 1996.

ANDUS, T.; BAUER, J.; GEROK, W. Effects of cytokines on the liver. **Hepatology**, Orlando, v. 13, n. 2, p. 364-375, Feb. 1991.

APOLÔNIO, L. R. et al. Digestibilidade aparente e verdadeira de aminoácidos em alimentos utilizados em dietas pré-iniciais para leitões determinada pelo método do sacrifício. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 2001. 1 CD-ROOM.

BARBOSA, H. P.; PEREIRA, J. A. A.; COSTA, P. M. A. Exigência de lisina para leitões na fase inicial de crescimento (5 a 15 Kg de peso vivo). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 14, n. 1, p. 53-63, jan. 1985.

BARNES, D. M. et al. Protein metabolism during an acute phase response in chickens. **Amino Acids**, Wien, v. 22, n. 1, p. 15-26, Feb. 2002.

BOUNOUS, G.; KONGSHAVN, P. A. L. Differential effect of dietary protein type on the B-cell and T-cell immune responses in mice. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 115, n. 11, p. 1403-1408, Nov. 1985.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Tietz fundamentos de química clinica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 984 p.

CARPINTERO, R. et al. The concentration of apolipoprotein A-I decreases during experimentally induced acute processes in pigs. **Infection and Immunity**, Washington, v. 73, n. 12, p. 3184-3187, Dec. 2005.

CARROLL, J. A. et al. Effect of menhaden fish oil supplementation and lipopolysaccharide exposure on nursery pigs. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 24, n. 2, p. 341-351, June 2003.

DEE, S. Weaned pig immunology and stress. **Comparative Educational Veterinary**, New York, v. 21, n. 4, p. 144-147, July 1999. Supplement 4.

DONZELE, J. L. et al. Níveis de lisina para suínos de 5 a 15 Kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 21, n. 6, p. 1084-1090, nov. 1992.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins and markers of disease in animals. **Revue Medecine Veterinaire**, Glasgow, v. 151, n. 7, p. 577-584, Jan. 2000.

ESCOBAR, J. Interaction between nutrition and immunology: what nutritionists can do? In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 4., 2010, Estância de São Pedro. **Proceedings...** Estância de São Pedro: CBNA/AMENA, 2010. v. 4, p. 173-182.

GABLER, N. K.; SPURLOCK, M. E. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 14, p. 64-74, Apr. 2008. Supplement.

HANNAS, M. I. Imunomodulação em suínos: fundamentos, conceitos e imunonutrientes. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 4., 2010, Estância de São Pedro. **Proceedings...** Estância de São Pedro: CBNA/AMENA, 2010. v. 4, p. 135-148.

HEUGTEN, E. van.; SPEARS, J. W.; COFFEY, M. T. The effect of dietary protein on performance and immune response in weanling pigs subjected to an inflammatory challenge. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 10, p. 2662-2669, Oct. 1994.

HULTEN, C. et al. Interleukin 6, serum amyloid A and haptoglobin as markers of treatment efficacy in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 95, n. 1/2, p. 75-89, Aug. 2003.

HUMPHREY B. D.; KLASING K. C. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 60, n. 1, p. 90-100, Mar. 2004.

JIN, C. F. et al. Lysine requirement of piglets. **Australian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 11, n. 1, p. 89-96, Jan. 1998.

JOHNSON, I. R. et al. Glutamine supplementation influences immune development in the newly weaned piglet. **Developmental and Comparative Immunology**, New York, v. 30, n. 12, p. 1191-1202, Apr. 2006.

JOHNSON, R. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 5, p. 1244-1255, May 1997.

KLASING, K. C.; BARNES, D. M. Decrease amino acid requirements of growing chicks due to immunologic stress. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, n. 9, p. 1158-1164, Sept. 1988.

KLASING, K. C.; JOHNSTONE, B. J. Monokines in growth and development. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, n. 8, p. 1781-1789, Aug. 1991.

KLASING, K. C.; ROURA, E. Interaction between nutrition and immunity in chicks. In: PROCEEDINGS CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 53., 1991, New York. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University-Department of Animal Science, 1991. p. 94-101.

KOLSTAD, K.; VANGER, O. Breed differences in maintenance requirements of growing pigs when accounting for changes in body composition. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 23-32, Feb. 1996.

LAMPREAVE, F. et al. Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 15, n. 1, p. 672-676, Jan. 1994.

LI, P. et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 98, n. 2, p. 237-252, Aug. 2007.

MACHADO, G. S.; FONTES, D. O. Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune de suínos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 2., 2005, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 293-314.

MELCHIOR, D.; SÈVE, B.; LE FLOC'H, N. Chronic lung inflammation affects plasma amino acid concentrations in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 4, p. 1091-1099, Apr. 2004.

MOREIRA, H. F. V. et al. Níveis de lisina para leitões dos 6 aos 16 Kg com alto Potencial para deposição de carne magra na carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, n. 4, p. 1210-1216, jul./ago. 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 10<sup>th</sup> ed. Washington, 1998. 192 p.

NUNES, C. G. V. et al. Níveis de lisina digestível para leitões dos 6 aos 15 Kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 1, p. 84-88, jan. 2008.

OBLED, C. Necesidades de aminoácidos en estados inflamatorios. **Avances em Tecnologia Porcina**, Madrid, v. 1, p. 4-20, 2004.

OWEN, K. Q.; KIM, J. H.; KIM, C. S. Amino acid nutrition for the segregated early weaned pig. **Korean Journal Animal Nutrition Feedstuffs**, Seodun-Dong, v. 20, n. 4, p. 307-318, Aug. 1996.

REEDS, P. J.; FJELD, C. R.; JAHOOOR, F. Do the differences between the amino acid compositions of acute-phase and muscle proteins have a bearing on nitrogen loss in traumatic states? **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, n. 6, p. 906-910, June 1994.

RICHARDS, C.; GAULDIE, J.; BAUMANN, H. Cytokine control of acute phase protein expression. **European Cytokine Network**, Montrouge, v. 2, n. 2, p. 89-98, Mar./Apr. 1991.

SCHINCKEL, A. P.; LANGE, C. F. M. Characterization of growth parameters needed as inputs for pig growth modes. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 8, p. 2021-2036, Aug. 1996.

SHURSON, J.; JOHNSTON, L. Swine nutrition and health connections. In: ALLEN LEMAN SWINE CONFERENCE, 25., 1998, St. Paul. **Proceedings...** St. Paul: University of Minnesota, 1998. p. 77-95.

STAHLEY, T. Nutrition effects lean growth, carcass composition. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 65, n. 26, p. 12-13, June 1993.

STAHLY, T. S.; WILLIAMS, N. H.; SWENSON, S. Impact of genotype and dietary amino acid regimen on growth of pigs from 6 to 25 Kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 1, p. 165-173, Jan. 1994.

SUSENBETH, A. Factors affecting lysine utilization in growing pigs: an analysis of literature data. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 193-204, June 1995.

TRINDADE NETO, M. A. et al. Níveis de lisina para suínos na fase inicial-I do crescimento, desempenho e retenção de nitrogênio. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 57, n. 8, p. 65-74, ago. 2000.

WASSEL, J. Haptoglobin: function and polymorphism. **Clinical Laboratory**, Heidelberg, v. 46, n. 11/12, p. 547-552, 2000.

WEBEL, D. M.; FINCK, B. N.; BAKER, D. H. Time course of increased plasma cytokines and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1514-1520, June 1997.

WILLIAMS, N. H. Impact of immune system activation on pig growth and amino acid needs. In: WISEMAN, J.; VARLEY, M. A.; CHADWICK, J. P. (Ed.). **Progress in pig science**. Nottingham: University Press, 1998. p. 583-588.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization and lysine needs of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2472-2480, Sept. 1997a.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 Kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2481-2496, Sept. 1997b.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2463-2471, Sept. 1997c.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Impact of immune system activation and dietary amino acid regimen on nitrogen retention of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n 1, p. 171, Jan. 1993. Supplement

WRIGTH, K. J. et al. Integrated adrenal, somatotropic, and immune response of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 7, p. 1892-1899, July 2000.

YI, G. F. et al. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* K88<sup>+</sup>-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 634-643, Mar. 2005.

ZANGERONIMO, M. G. et al. Desempenho e excreção de nitrogênio de leitões dos 9 aos 25 Kg alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina digestível e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 1382-1387, set./out. 2007.

## **CAPÍTULO 2**

**Desempenho e parâmetros sanguíneos de leitões dos 6 aos 20 Kg,  
submetidos ou não a ativação do sistema imune, recebendo dietas com  
diferentes níveis de lisina digestível**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis de lisina digestível em rações para leitões submetidos ou não a ativação do sistema imune com o uso de vacinas, sobre o desempenho e parâmetros sanguíneos. Foram utilizados 168 animais ( $6,63 \pm 0,31$  kg), machos castrados e fêmeas alojados em grupos de três, utilizou-se delineamento com blocos casualizados em esquema fatorial 4x2, sendo quatro níveis de lisina digestível (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32%) submetidos ou não a ativação do sistema imune com a utilização de vacinas, totalizando oito tratamentos e sete repetições. Utilizou-se vacinas para *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. O experimento teve duração de 44 dias e as coletas de sangue foram realizadas aos 15, 23 e 44 dias de experimento. Não foi observado interação ( $P > 0,05$ ) entre os níveis de lisina e a ativação do sistema imune dos animais sobre o desempenho e os parâmetros sanguíneos. Os níveis de lisina influenciaram ( $P < 0,05$ ) o peso dos animais aos 68 dias de vida, o ganho de peso diário (GPD), a concentração de Leucócitos totais (LET) aos 46 dias de vida, a concentração de Albumina (AB) aos 46 e aos 68 dias de vida e a concentração de ureia plasmática para a coleta aos 46 dias de vida. Pode-se observar efeito ( $P < 0,05$ ) da ativação do sistema imune aumentando o consumo de ração diário e a conversão alimentar, os níveis de Haptoglobina, a proteína C reativa e a concentração de LET aos 46 e 53 dias de vida, e reduzindo o GPD e a concentração de AB aos 46 dias de vida. Conclui-se que a ativação do sistema imune não influencia as exigências de lisina de leitões sobre o desempenho, entretanto, dietas desbalanceadas proporcionam pior resposta imune frente ao desafio.

Palavras-chave: Suínos, proteína C-reativa, haptoglobina, parâmetros sanguíneos, desafio imunológico.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different levels of digestible lysine in diets for piglets subjected or not to immune system activation with the use of vaccines on performance and blood parameters. One hundred sixty eight piglets were used ( $6.63 \pm 0.31$  kg), barrows and females housed in groups of three with randomized block design and factorial scheme 4x2, with four levels of digestible lysine (0,96, 1,08, 1,20 and 1,32) submitted or not the activation of the immune system with the use of vaccines,, total of eight treatments and seven replications. Vaccines were used for *Haemophilus parasuis* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*.. The experiment lasted 44 days and blood samples were taken at 15, 23 and 44 days of experiment. No interaction was observed ( $P > 0.05$ ) between levels of lysine and the activation of the immune system on animal performance and blood parameters. The lysine levels affected ( $P < 0.05$ ) weights of animals at 68 days of life, the average daily gain (ADG), the concentration of total leukocytes (LET) at 46 days of life, the concentration of Albumin (AB) at 46 and 68 days of life and concentration of urea plasma to collect at 46 days of life. It can be observed effect ( $P < 0.05$ ) activation of the immune system by increasing the feed intake and feed conversion, levels of Haptoglobin, C-reactive protein and concentration of LET at 46 and 53 days of life, and reducing the ADG and the concentration of AB at 46 days of life. It was conclude that activation of the immune system does not influence lysine requirements of piglets on performance; however, unbalanced diets provide worse immune response upon challenge.

Keywords: Piglets. C-reactive protein. Haptoglobin. Blood parameters. Immunological challenge.

## 1 INTRODUÇÃO

A lisina é o primeiro aminoácido limitante em dietas para suínos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 1998). Quando a lisina encontra-se disponível em concentrações insuficientes, o crescimento muscular encontra-se limitado. Por outro lado, o excesso deste aminoácido pode comprometer a utilização dos demais aminoácidos pela competição pelos sítios de absorção ou de síntese (SUSENBETH, 1995), além de proporcionar maior gasto energético para a excreção do excesso de lisina. Dentro dos fatores que afetam a utilização de lisina pelo suíno, as condições do ambiente e o genótipo são os que influenciam o potencial de crescimento do animal (SUSENBETH, 1995; WILLIAMS, 1998).

Um dos principais fatores ambientais são as condições sanitárias, pois o sistema imune ativado redireciona nutrientes para atender à demanda imunológica, alterando direta ou indiretamente as exigências nutricionais dos animais (SHURSON; JOHNSTON, 1998). Ao mesmo tempo inúmeras pesquisas têm demonstrado que a ativação do sistema imune está diretamente correlacionada com o estado nutricional dos animais (LIGT et al., 2002; MONTAGNE et al., 2004; WILLIAMS; STAHLY; ZIMMERMAN, 1997b,1997c; YI et al., 2005).

Vários autores demonstraram que em condições sanitárias desejáveis, os nutrientes são melhor utilizados, permitindo maior expressão do desempenho suíno (AFFENTRANGER; GERWIG; SEEWER, 1996; KOLSTAD; VANGER, 1996). Entretanto, em condições de desafio, ocorre piora no desempenho destes animais, que tornam-se acentuados quando associados ao fornecimento de uma dieta desbalanceada (KLASING; BARNER, 1988; LIGT et al., 2002; WILLIAMS; STAHLY; ZIMMERMAN, 1997a, 1997b, 1997c).

Dessa forma, um correto balanço de aminoácidos em condições de alto desafio pode ser mais uma técnica para aperfeiçoar os modelos de produção, garantindo melhor desempenho e uma resposta imune adequada. Isso ocorre pois a composição em aminoácidos difere entre as proteínas estruturais dos tecidos e aquelas ligadas às funções metabólicas do sistema imune, podendo alterar as exigências nutricionais, principalmente em relação aos aminoácidos, onde alguns podem até se tornar condicionalmente essenciais (MACHADO; FONTES, 2005). Entretanto, ainda são poucas informações na literatura sobre o balanço aminoacídico e a ativação do sistema imune.

Dentro dos sistemas de produção de suínos, a fase de creche é a que apresenta maior estresse ao animal e, ao mesmo tempo, maior susceptibilidade destes à ação de patógenos. Sendo este um dos maiores entraves para um melhor desempenho dos leitões. De maneira similar, as vacinas têm o objetivo de ativar o sistema imune de forma controlada, intensa e rápida, para a imunização dos indivíduos contra o agente patogênico. Desta forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos dos níveis de lisina digestível sobre o desempenho, parâmetros sanguíneos e o balanço de nitrogênio de leitões dos 6 aos 20Kg submetidos ou não a ativação do sistema imune através vacinação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Um experimento foi conduzido no período de julho a setembro de 2010, na unidade de creche do Centro Experimental de Suínos (CES) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, região Sul de Minas Gerais.

A creche é dividida em duas salas com 28 baias cada uma, equipadas com piso plástico, comedores tipo calha em material galvanizado, bebedores tipo chupeta e aquecedores elétricos individuais por baia. As baias são suspensas, com dimensão de 120 x 114 cm e separadas por grades.

Antes do alojamento dos animais, foram realizados a limpeza e desinfecção das salas, permanecendo por um período de vazio sanitário de 30 dias. A desinfecção foi realizada através da lavagem de todos os pisos removíveis, grades, cochos, aquecedores e bebedouros das instalações, utilizando detergente. Após secagem, foi realizada aplicação do desinfetante a base de compostos peroxigênicos, surfactante, ácidos orgânicos e inorgânicos<sup>1</sup>, seguindo as recomendações do fabricante.

Os animais utilizados foram da genética TOPIG'S, oriundos de uma granja classificada de excelente estado sanitário. Foram utilizados 168 leitões, machos castrados e fêmeas, com  $6,63 \pm 0,31$  kg de peso vivo, em delineamento em blocos casualizados, com esquema fatorial 4x2, quatro níveis de lisina digestível (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32%), em animais vacinados e não vacinados, totalizando oito tratamentos e sete repetições. A unidade experimental foi representada por três animais.

As dietas experimentais (Tabela 1 e 2) foram isonutritivas, com exceção da lisina digestível, de forma a atender as exigências nutricionais de leitões entre 10 e 30 Kg de peso vivo seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2005).

---

<sup>1</sup> Virkon®S

Tabela 1 – Composição percentual das dietas experimentais, contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Ingrediente	Níveis de lisina digestível (%)			
	0,96	1,08	1,20	1,32
Milho	42,00	42,00	42,00	42,00
Milho pré gelatinizado	15,00	15,00	15,00	15,00
Farelo de Soja	16,00	16,00	16,00	16,00
Soja Micronizada	9,655	9,655	9,655	9,655
Óleo de soja	0,500	0,500	0,500	0,500
Nuklospray K51 <sup>3</sup>	2,640	2,640	2,640	2,640
Sweelac <sup>4</sup>	10,00	10,00	10,00	10,00
Fosf. bicálcico	1,716	1,716	1,716	1,716
Calcário calcítico	0,750	0,750	0,750	0,750
Sal iodado	0,388	0,388	0,388	0,388
Premix vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
L-Lisina HCl 78%	0,000	0,152	0,304	0,456
DL-Metionina 98%	0,084	0,084	0,084	0,084
L-Treonina	0,163	0,163	0,163	0,163
Triptofano	0,029	0,029	0,029	0,029
Óxido de Zinco	0,250	0,250	0,250	0,250
Colistina 8%	0,125	0,125	0,125	0,125
Caulim	0,500	0,348	0,196	0,046
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico contendo por quilo do produto: vitamina A, 8.000.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 1.200.000 UI; vitamina E, 20.000 mg; vitamina K<sub>3</sub>, 2.500 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 1.000 mg; riboflavina (B<sub>2</sub>), 4.000 mg; piridoxina (B<sub>6</sub>), 2.000 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 20.000 mcg; niacina, 25.000 mg; ácido pantotênico, 10.000 mg; ácido fólico, 600 mg; biotina, 50 mg; vitamina C, 50.000 mg; antioxidante, 125 mg. <sup>2</sup> Suplemento mineral contendo, por quilo do produto: selênio, 500 mg; ferro, 70.000 mg; cobre, 20.000 mg; manganês, 40.000 mg; zinco, 80.000 mg; iodo, 800 mg; cobalto, 500 mg. <sup>3</sup> Produto comercial com 38,5% de lactose. <sup>4</sup> Produto comercial com 65% de lactose.

Tabela 2 – Composição calculada das dietas experimentais, contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Valores Calculados	Níveis de lisina digestível (%)			
	0,96	1,08	1,20	1,32
Ingrediente				
Proteína Bruta (%)	17,0	17,0	17,0	17,0
EM (Kcal/Kg)	3330	3330	3330	3330
Lactose (%)	7,5	7,5	7,5	7,5
Cálcio (%)	0,825	0,825	0,825	0,825
Fósforo disponível (%)	0,450	0,450	0,450	0,450
Sódio (%)	0,230	0,230	0,230	0,230
Lisina total (%)	1,090	1,230	1,360	1,500
Lisina digestível (%)	0,960	1,080	1,200	1,320
Treonina digestível (%)	0,840	0,840	0,840	0,840
Triptofano digestível (%)	0,226	0,226	0,226	0,226
Metionina digestível (%)	0,372	0,372	0,372	0,372

O período experimental foi de 44 dias, sendo a temperatura mínima de  $20,86 \pm 2,66$  °C e a máxima de  $24,05 \pm 3,21$  °C. A temperatura ambiente foi mantida em  $29 \pm 1,5$  °C na primeira semana e, em seguida, atendendo as recomendações de Sobestiansky et al. (1998), gradualmente, diminuiu 2 °C na segunda e terceira semanas seguintes. As rações e a água foram fornecidos à vontade.

O protocolo experimental segue conforme a figura 1.

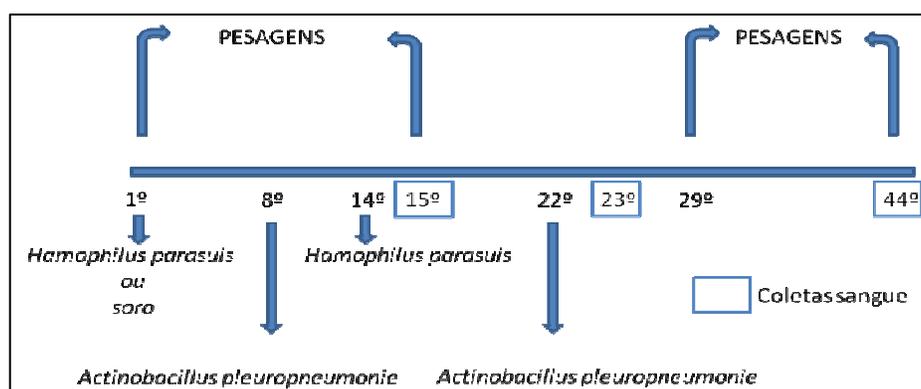


Figura 1 Protocolo experimental

No 1º e 14 º dia experimental, foi realizada a aplicação de 2,0 ml da vacina contra *Haemophilus parasuis*, sorotipo cinco, que utiliza como adjuvante o hidróxido de alumínio gel, em 50% dos animais, sendo utilizado o dobro das recomendações do fabricante. No 8º e 22º dia do experimento, foi realizada a aplicação de 4,0 ml da vacina contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, nos mesmos 50% dos animais que receberam a vacina para *Haemophilus*, seguindo o dobro das recomendações do fabricante. A vacina é composta por subunidades, ou seja, possui apenas os três toxóides (APX I, APX II e APX III) que protegem contra as toxinas produzidas e uma proteína de membrana externa comum a todas as 13 cepas do agente.

A outra metade dos animais recebeu injeção intramuscular de solução fisiológica, nas mesmas datas e volume, eliminando-se assim o efeito do estresse causado pela aplicação da vacina.

Amostras de sangue foram coletadas através de punção no sinus orbital 48 horas após a segunda dose da vacina para *Haemophilus parasuis* (15º dia), após a segunda dose da vacina para *Actinobacillus pleuropneumoniae* (23º dia) e ao final do período experimental (44º dia). Foram coletadas amostras em tubos de ensaio sem anticoagulante para a obtenção do soro e análise da proteína C reativa e haptoglobina. Outras em tubos de ensaio com anticoagulante para análise de hemograma, ureia e albumina. Em todas as datas de coleta foram realizadas as análises de hemograma, ureia e albumina, enquanto que os níveis de haptoglobina e C-reativa foram mensurados apenas no 22º dia do experimento, logo após a ativação do sistema imune via vacinação. Durante todo o período experimental, tomou-se o cuidado para que a coleta não fosse realizada no mesmo animal, para evitar excesso de manejo.

A análise para proteína C reativa e haptoglobina foram realizadas através do teste de ELISA utilizando os kits PIG CRP ELISA, como

demonstrado por Weber, Ziemer e Kerr (2008) e PIG HAPTOGLOBIN ELISA sugerido por Yueh et al. (2008) da *Immunology Consultants Laboratory, Inc*, respectivamente. Todas as amostras com anticoagulante foram remetidas ao laboratório, onde foi realizado o hemograma completo através da técnica de citometria de fluxo. A albumina foi mensurada através da técnica colorimétrica com verde de bromocresol e a ureia por método enzimático colorimétrico.

As variáveis de desempenho analisadas foram o ganho de peso diário (GPD), o consumo diário de ração (CRD) e a conversão alimentar (CA). As determinações das variáveis de desempenho foram feitas após a pesagem dos leitões, realizadas ao início e final do experimento, medindo-se, ao mesmo tempo, o fornecimento e as sobras de ração. As sobras foram coletadas, secadas ao tempo e pesadas, descontando-se do total fornecido para a determinação do consumo real. A conversão alimentar foi obtida pela relação consumo/ganho de peso no período. Previamente às pesagens foi estipulado um período de 8 horas de jejum para os leitões.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias obtidas com animais vacinados ou não analisados pelo teste F, e os níveis de lisina submetidos à análise de regressão. Para as variáveis sanguíneas utilizou-se a opção de transformação raiz quadrada, já que não atingiram a normalidade em um primeiro momento (Shapiro Wilk). As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SOFTWARE INSTITUTE - SAS, 1996).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Desempenho**

Considerando o período experimental em sua totalidade, não se observou interação ( $P > 0,05$ ) entre ativação imunológica e níveis de lisina

digestível nas dietas para as variáveis de desempenho (Tabela 3). Estes resultados diferem dos citados por Williams, Stahly e Zimmerman (1997b), os quais constataram interação entre sobre o ganho de peso diário para leitões dos 6 aos 27 Kg, onde o nível de 1,20% de lisina total (1,06% L<sub>ISD</sub>), apresentou melhor resultado para animais desafiados comparado a 1,50% de lisina total (1,32% de L<sub>ISD</sub>) para animais não desafiados. Em um outro experimento, Williams, Stahly e Zimmerman (1997a) também observaram interação sobre a conversão alimentar de leitões dos 6 aos 27 Kg, demonstrando que os animais com baixo desafio necessitam de uma maior ingestão diária de lisina. No entanto, deve-se enfatizar que nestes trabalhos houve aumento dos níveis de lisina com acréscimo de soja na ração, aumentando, conseqüentemente o nível de proteína e mantendo a relação aminoácídica da dieta, e com isso, aumenta conseqüentemente os fatores antinutricionais da soja na dieta. No presente experimento foi utilizado lisina sintética.

Tabela 3 Ganho de peso diário (Kg/dia), consumo de ração diário (Kg/dia), conversão alimentar e consumo diário de lisina (g/dia) de leitões dos 24 aos 68 dias de vida, vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Vacina	Lisina digestível (%)				Média <sup>3</sup>
	0,96	1,08	1,20	1,32	
Ganho de peso diário					
Não	0,344	0,349	0,342	0,298	0,333 A
Sim	0,323	0,321	0,308	0,285	0,309 B
Média <sup>1</sup>	0,333	0,334	0,325	0,291	
CV (%)	11,02				
P <	0,01				
Consumo de Ração Diário					
Não	0,725	0,672	0,674	0,670	0,685 B
Sim	0,756	0,729	0,735	0,680	0,725 A
Média	0,740	0,700	0,704	0,675	
CV (%)	10,32				
P <	0,05				
Conversão Alimentar					
Não	2,176	1,932	1,990	2,279	2,094 B
Sim	2,347	2,273	2,399	2,424	2,360 A
Média	2,261	2,102	2,195	2,352	
CV (%)	16,53				
P <	0,01				
Consumo diário de lisina					
Não	6,96	7,26	8,09	8,85	778 B
Sim	7,25	7,87	8,82	8,98	823 A
Média <sup>2</sup>	7,10	7,56	8,45	8,91	
CV (%)	10,11				
P <	0,0466				

<sup>1</sup> Regressão quadrática significativa (P<0,05)

<sup>2</sup> Regressão linear significativa (P<0,05)

<sup>3</sup> Diferença significativa pelo teste F (P<0,05)

Dessa forma, o aumento dos níveis de lisina da dieta estudado no presente trabalho sem a correção dos demais aminoácidos demonstra que as

exigências deste aminoácido não são alteradas para animais desafiados. Melchior, Seve e Lê Floc'h (2004) não observaram variação na concentração plasmática de lisina em animais desafiados com adjuvante de Freund's, entretanto, verificaram interação na concentração plasmática de lisina e de vários outros aminoácidos relacionados ao desafio, dieta e tempo após inoculação, demonstrando que a variação plasmática de aminoácidos depende da duração do desafio proporcionado aos animais, da relação sinergismo e antagonismo entre os aminoácidos e do tipo de desafio utilizado.

Constatou-se efeito ( $P < 0,05$ ) da ativação do sistema imune sobre o ganho de peso diário, onde os animais vacinados apresentaram redução de 7,20% nesta variável. Resultados semelhantes sobre a redução no ganho de peso diário também foram observados por Heugten, Spears e Coffey (1994), Heugten, Coffey e Spears (1996), Heugten e Spears (1997), Le Floc'h et al. (2006; 2009; 2010), Trevisi et al. (2009) e Williams, Stahly e Zimmerman (1997a, 1997b, 1997c), demonstrando a influência negativa da ativação do sistema imune sobre o desempenho dos animais.

Segundo Johnson (1997) mais de 70% na redução do ganho de peso está ligado ao consumo voluntário de ração. Webel, Finck e Baker (1997) demonstraram que o estímulo do sistema imune dos suínos com lipopolissacarídeos resultou em aumento nos níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , IL-6 e cortisol. Estas moléculas são responsáveis pela redução no consumo de ração, baixo ganho de peso e redução na deposição proteica destes animais, entretanto, os efeitos das citocinas sobre o consumo de ração dependem do grau de ativação do sistema imune (EBSUI et al., 1994).

Entretanto, no presente trabalho a vacinação aumentou ( $P = 0,04$ ) o consumo de ração pelos animais, resultado diferente dos trabalhos de Heugten, Coffey e Spears (1996), Le Floc'h et al. (2006; 2010), Le Floc'h, Melchior e Sève (2008) e Williams, Stahly e Zimmerman (1997a, 1997c), onde o consumo

diminuiu em animais desafiados. Desta forma, a vacinação não proporciona uma redução no consumo de ração diário dos animais quando se considera o período experimental total, o modelo de desafio pode ter proporcionado as diferenças dos trabalhos presentes na literatura. Entretanto, Pereira (2010) não observa alterações no consumo de ração no período experimental total em leitões desafiados ou não com vacinação, mas este autor utilizou aplicação de uma vacina para *H. Parasuis* nos dias 7 e 14, sendo diferente do desafio proporcionado no presente experimento. Heugten, Coffey e Spears (1996) desafiaram os animais com lipopolissacarídeos de *Escherichia Coli*, Williams, Stahly e Zimmerman (1997a,1997c) proporcionaram um desafio aos leitões pela falta de desinfecção das instalações, leitegadas oriundas de fêmeas sem vacinação e falta de acompanhamento ao parto, Le Floc'h et al. (2006; 2010) desafiaram os leitões com a utilização de ambientes sem limpeza e desinfecção e Le Floc'h et al. (2010) utilizaram adjuvante de Freud's como forma de desafio.

Trevisi et al. (2009) avaliando diferentes relações de triptofano: lisina em dietas para leitões desafiados com *E. coli*, também não observaram diferenças no consumo. Estes autores, sugerem que, após o período total do experimento, o efeito da inflamação pode ter finalizado e, com isso, a exigência de nutrientes não é alterada, não proporcionando alterações no consumo de alimento. Estes autores ainda sugerem que a redução de aminoácidos circulantes necessários para a síntese de proteínas envolvidas na defesa corporal podem fazer com que os animais aumentem o consumo de ração como forma de suprir a deficiência de nutrientes.

Da mesma forma, Heugten, Spears e Coffey (1994) não observaram efeito da ativação do sistema imune sobre o consumo de ração durante todo o período experimental, mas verificaram efeito logo após aplicação de lipopolissacarídeos, sugerindo que o desafio não foi capaz de proporcionar

redução do consumo durante todo período experimental. Resultados semelhantes foram também obtidos por Heugten e Spears (1997) e Spurlock et al. (1997).

Como a vacinação promove ativação do sistema imune de forma controlada o consumo de ração aumentou para os animais vacinados, provavelmente, pela deficiência de algum aminoácido específico envolvido na síntese de proteínas de defesa.

Estes efeitos podem estar relacionados à intensidade da ativação do sistema imune. Wrigth et al. (2000) descreveram que a resposta imunológica aguda é normalmente aliviada após um período de 24-48 horas. Johnson e Borell (1994) propuseram que a redução no consumo diário de ração depende da intensidade e duração da ativação imune. Isto pode ser observado em um trabalho com leitões imunoestimulados por inoculação oral de *Salmonella*, apresentando redução no consumo dez dias após desafio (DAVIS et al., 2010). Como as citocinas são moléculas que apresentam meia vida curta, seus efeitos variam de acordo com a intensidade e forma de desafio proporcionado aos leitões.

A conversão alimentar piorou nos animais vacinados ( $P=0,0097$ ). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Heugten, Spears e Coffey (1994), Le Floc'h et al. (2006; 2009; 2010) e Williams, Stahly e Zimmerman (1997a, 1997b). Entretanto, outras pesquisas não evidenciaram efeito da ativação do sistema imune sobre a conversão alimentar (HEUGTEN; COFFEY; SPEARS, 1996; HEUGTEN; SPEARS, 1997; PEREIRA, 2010; SPURLOCK et al., 1997). Entretanto, é importante enfatizar que estas variações podem estar relacionadas aos modelos de desafio utilizados nos diferentes trabalhos citados na literatura, sendo observados diferentes resultados, dependendo do modelo utilizado.

O ganho de peso diário foi influenciado de forma quadrática pelos níveis de lisina digestível na ração ( $P = 0,0073$ ), sendo que os animais que receberam

rações com 1.06% de lisina digestível apresentaram maior ganho de peso diário ( $y=-0,6027x^2+1,2761x-0,322$ ;  $R^2=0,99$ ). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Barbosa, Pereira e Costa (1985) e Donzele et al. (1992), cujos autores obtiveram melhores resultados de conversão alimentar nos níveis de 1,09 e 1,14 de lisina total, respectivamente. Zangeronimo et al. (2007) encontraram níveis de lisina para esta variável de 1,04% de lisina digestível, estando de acordo com o NRC (1998) e Rostagno et al. (2005) para esta fase de crescimento.

Entretanto, Nunes et al. (2008), estudando níveis de lisina digestível (1,06 a 1,46%) na dieta de leitões dos 6 aos 15 Kg, observaram efeito linear sobre o ganho de peso e deposição de proteína na carcaça. Resultados semelhantes foram também obtidos por Jin et al. (1998), Moreira et al. (2005) e Trindade Neto et al. (2000).

Entre os fatores que afetam a utilização de lisina pelo suíno, o nível de ingestão de alimento, de energia, de aminoácidos essenciais, da soma de aminoácidos não essenciais e o potencial de crescimento dos animais são influenciados pelo genótipo e pelo ambiente, por exemplo as condições sanitárias (SUSENBETH, 1995). Dessa forma, fica evidenciado que as exigências de lisina pelos suínos podem variar dependendo de uma série de fatores, necessitando assim ser analisadas de acordo com o protocolo de cada experimento.

### **3.2 Parâmetros sanguíneos**

Houve interação entre os níveis de lisina digestível e o desafio ( $P=0,0189$ ), a medida que se aumentou a concentração de lisina na dieta os níveis de proteína C reativa para os animais vacinados reduziram de forma linear (Figura 2). A utilização da vacina proporcionou aumento dos níveis de

Haptoglobina ( $P=0,0094$ ) e a proteína C reativa ( $P<0,0001$ ) (Tabela 4). Com isso, confirma-se que o modelo de utilização de vacinas pode ser utilizado para avaliar a relação entre nutrição e sistema imune.

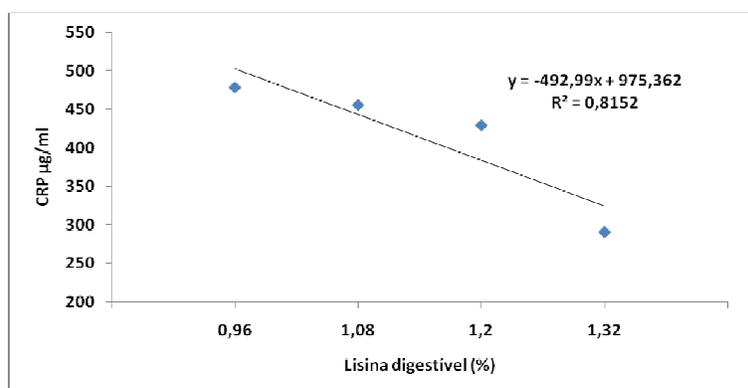


Figura 2 Valores para CRP µg/ml de leitões vacinados ou não, aos 47 dias de vida, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Tabela 4 Valores para haptoglobina e proteína C-reativa aos 47 dias de vida, de leitões vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Vacina	Lisina digestível (%)				Média <sup>1</sup>
	0,96	1,08	1,20	1,32	
- Haptoglobina mg/ml -					
Não	0,78	1,34	1,20	1,32	1,16 B
Sim	1,46	1,52	1,42	1,57	1,49 A
Média	1,12	1,43	1,31	1,45	
CV (%)	19,59				
- Proteína C Reativa µg/ml -					
Não	122,2	253,0	226,0	223,4	206,1 B
Sim <sup>2</sup>	478,5	455,6	429,2	290,1	413,4 A
Média	300,3	354,3	327,6	256,8	
CV (%)	20,54				

<sup>1</sup> Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem pelo F ( $P<0,05$ )

<sup>2</sup> Efeito linear dos níveis de lisina sobre CRP nos animais vacinados ( $P<0,05$ ).

Hiss e Sauerwein (2003) identificaram valores normais para haptoglobina em leitões lactantes (duas semanas de idade) de 0,23 mg/ml e, a partir da quarta semana, passaram a ser de 0,69 mg/ml, sendo este valor semelhante em animais de seis meses. Petersen, Nielsen e Heegaard (2004), em sua revisão, mostram que, ao misturar os animais no início da engorda pronunciavam os aumentos das proteínas PigMap e HPT foram pronunciadas, onde esta última se elevou para 1,83 mg/ml, comparado com 1,31 mg/ml antes da mistura.

Bürger, Ewald e Fennert (1998) demonstram que os glicocorticóides também aumentam os níveis de CRP. Isto pode explicar os níveis elevados de CRP em animais não vacinados em relação aos dados da literatura, proporcionado pelo manejo de aplicação da solução salina, encontrados no experimento. Madrigal e Luna (2005) sugerem que a HPT e a CRP são proteínas que podem apresentar aumento de 20 a 30 vezes dos seus valores normais, em animais que apresentam estresse crônico ou agudo proporcionado por desafio sanitário ou modificações estressantes no ambiente.

Para as demais variáveis sanguíneas não houve interação ( $P>0,05$ ). Entre ativação imunológica e os níveis de lisina digestível na dieta. Resultados semelhantes foram encontrados por Williams, Stahly e Zimmerman (1997a, 1997b), que avaliaram a porcentagem de linfócitos no sangue, mensurando as células  $CD_4^+$ ,  $CD_8^+$ , e a relação  $CD_4^+/CD_8^+$ . Estes autores também não verificaram efeito da interação dos níveis de lisina e o desafio sobre a proteína de fase aguda  $\alpha$ -1-acylglicoproteína (AGP).

Houve efeito ( $P<0,05$ ) da vacinação sobre a concentração de leucócitos totais aos 39 e 47 dias de vida (Tabela 5). Chiquieri et al. (2007), comparando dietas com diferentes promotores de crescimento e uma dieta controle, verificaram maior média nos valores para neutrófilos e monócitos. Esse aumento, possivelmente esteja relacionado a uma maior resposta leucocitária,

tendo em vista que esses são a primeira linha de defesa do organismo. Os dados obtidos neste experimento, ou seja, o aumento nos leucócitos totais está associado à resposta imediata do organismo à vacina, já que as amostras de sangue foram coletadas 24 horas após vacinação.

Tabela 5 Valores para Leucócitos totais aos 39, 47 e 68 dias de vida, de leitões vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Vacina	Lisina digestível (%)				Média
	0,96	1,08	1,20	1,32	
<i>Leucócitos totais x 10<sup>3</sup>/ mm<sup>3</sup> sangue - 39 dias</i>					
Não	27,41	21,16	18,24	17,84	21,16 B
Sim	39,03	42,19	34,13	32,16	36,87 A
Média <sup>1</sup>	33,62	31,67	26,19	25,00	
CV (%)	13,47				
P <	0,0001				
<i>Leucócitos totais x 10<sup>3</sup>/ mm<sup>3</sup> sangue - 47 dias</i>					
Não	23,29	20,94	22,94	21,09	22,06 B
Sim	41,87	34,49	38,50	40,74	38,90 A
Média	32,58	27,71	30,72	30,91	
CV (%)	12,14				
P <	0,0001				
<i>Leucócitos totais x 10<sup>3</sup>/ mm<sup>3</sup> sangue - 68 dias</i>					
Não	16,43	18,66	15,70	18,40	17,30
Sim	17,79	15,69	18,83	19,74	18,01
Média	17,11	17,17	17,26	19,07	
CV (%)	11,04				
P >	0,05				

<sup>1</sup> Regressão linear significativa (P<0.01)

A piora no desempenho dos leitões proporcionada pela ativação do sistema imune pode estar ligada a um aumento no número de leucócitos totais nos animais vacinados, tendo em vista o efeito da liberação de citocinas

proporcionada pelos leucócitos ativados (JOHNSON, 1997). Entretanto, não existe relação entre os níveis de leucócitos e parâmetros produtivos (MADRIGAL; LUNA, 2005).

Os níveis de lisina influenciaram ( $P < 0,05$ ) a concentração de leucócitos totais aos 39 dias de vida, apresentando uma resposta linear decrescente à medida que se aumentou o nível de lisina ( $Y = -26,117 + 58,893X$ ;  $R^2 = 0,938$ ). Isto pode estar relacionada à redução dos níveis de proteína C-reativa em resposta ao aumento dos níveis de LISD da dieta. A redução nos níveis de proteína C-reativa pode ter ocorrido pois o fígado estava sobrecarregado na eliminação do excesso de lisina fornecido na dieta, reduzindo com isso, a capacidade de síntese desta proteína de fase aguda.

Não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) dos níveis de lisina sobre a concentração de linfócitos em nenhuma das coletas de sangue (Tabela 6). O desmame dos leitões envolve complexas alterações sociais, ambientais e nutricionais e é um evento estressante (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997). Com isso, o desmame está associado com inflamação intestinal e uma resposta pró-inflamatória sistêmica (JIANG et al., 2000), por isso, o fato de não ter sido observado diferenças nas concentrações de linfócitos totais. Pode-se observar que aos 68 dias a concentração de linfócitos totais reduz em relação as duas primeiras coletas, e este fato pode ter ocorrido, pois os animais já estavam mais adaptados a creche e a dieta, passando o período crítico de desafio experimental.

Tabela 6 Valores para Linfócitos aos 39, 47 e 68 dias de vida, de leitões vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Vacina	Lisina digestível (%)				Média
	0,96	1,08	1,20	1,32	
<i>Linfócitos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> - 39 dias</i>					
Não	15,79	13,72	13,31	11,76	13,64
Sim	13,31	18,52	14,70	18,43	16,24
Média	14,55	16,12	14,01	15,09	
CV (%)	16,46				
P >	0,05				
<i>Linfócitos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> - 47 dias</i>					
Não	15,22	14,58	17,22	12,98	15,00
Sim	13,58	14,12	12,03	14,04	13,44
Média	14,40	14,35	14,63	13,51	
CV (%)	20,49				
P >	0,05				
<i>Linfócito x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> - 68 dias</i>					
Não	8,85	10,09	9,25	9,63	9,45
Sim	7,69	9,49	9,28	9,36	8,95
Média	8,27	9,79	9,26	9,49	
CV (%)	12,28				
P >	0,05				

Houve efeito ( $P < 0,05$ ) da vacinação sobre a concentração de albumina sérica aos 39 dias de vida (Tabela 7), sendo que os animais vacinados apresentaram menores valores desta proteína. Estes resultados foram similares aos encontrados por Toussaint, Jobert e Gruys (2002), que mensurou a concentração de diversas proteínas de fase aguda de suínos no abatedouro. Com isso, verificou que em animais com patologias ocorre diminuição das proteínas de fase aguda negativas tais como a Albumina. Madrigal e Luna (2005) demonstram que esta redução está em torno de 0,4 unidades, como demonstrado neste estudo.

Constatou-se efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) dos níveis de lisina sobre a concentração de albumina aos 39 e aos 68 dias de vida, onde os níveis de 1,15 e 1,21% de LISD apresentaram maior valor para esta proteína. Estes resultados podem estar relacionados à melhor nutrição dos leitões alimentados com dietas contendo maiores níveis de lisina.

Tabela 7 Valores para a albumina sérica aos 39, 47 e 68 dias de vida de leitões vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Vacina	Lisina digestível (%)				Média
	0,96	1,08	1,20	1,32	
	<i>Albumina g/dL - 39 dias</i>				
Não	2,16	2,17	2,33	2,11	2,19 A
Sim	1,76	1,79	2,00	1,73	1,82 B
Média <sup>1</sup>	1,96	1,98	2,16	1,92	
CV (%)	5,71				
P <	0,0001				
	<i>Albumina g/dL - 47 dias</i>				
Não	2,06	1,81	2,03	1,93	1,96
Sim	2,13	1,70	1,83	1,83	1,87
Média	2,09	1,76	1,93	1,88	
CV (%)	10,71				
P >	0,05				
	<i>Albumina g/dL - 68 dias</i>				
Não	2,19	2,54	3,06	2,69	2,62
Sim	2,29	2,66	2,41	2,59	2,49
Média <sup>2</sup>	2,24	2,60	2,74	2,64	
CV (%)	7,92				
P >	0,05				

<sup>1</sup> Regressão quadrática significativa ( $P < 0,04$ )

<sup>2</sup> Regressão quadrática significativa ( $P < 0,01$ )

Houve efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) dos níveis de lisina para a concentração de ureia plasmática aos 39 dias de vida (Tabela 8), sendo que o

menor nível ocorre com 1,17% de LISD ( $Y=202,132x^2-474,256+296,482$ ;  $R^2=0,983$ ). Estes resultados são semelhantes aos descritos por Coma, Carrion e Zimmerman (1995), estes autores observaram em uma série de experimentos resposta quadrática dos níveis de lisina na dieta sobre a concentração de ureia plasmática. Estes autores demonstraram, em seu primeiro experimento, que a ureia plasmática altera rapidamente em menos de 24 horas sobre a alteração da dieta e este efeito se mantém por um curto período (dois à três dias), onde os níveis plasmáticos se reequilibram novamente. Com isso, os estudos realizados por estes autores foram realizados em curtos espaços de tempo. No seu quinto experimento identificaram para leitões com 19 Kg, um valor de 1,05% de lisina para minimizar a ureia circulante.

Não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) dos níveis de lisina sobre a concentração de ureia plasmática aos 47 e 68 dias e efeito ( $P>0,05$ ) da vacinação sobre a concentração de ureia plasmática ( $P>0,05$ ) nas coletas do experimento. Uma possível explicação é que as coletas de sangue foram realizadas 24 horas após a vacinação, e com isso, os níveis de ureia podem ter sido normalizados.

Webel, Finck e Baker (1997) demonstrou que após a administração de LPS ocorre uma liberação de TNF- $\alpha$  e IL-6 e estas citocinas estão diretamente ligadas no catabolismo de proteína muscular, observando um aumento na concentração de ureia plasmática até doze horas após o desafio.

Tabela 8 Valores para ureia plasmática aos 39, 47 e 68 dias de vida, de leitões vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível.

Vacina	Lisina digestível (%)				Média
	0,96	1,08	1,20	1,32	
<i>Ureia mg/dL - 39 dias</i>					
Não	30,14	19,14	17,00	25,14	22,86
Sim	24,43	22,14	18,71	20,57	21,46
Média <sup>1</sup>	27,28	20,64	17,86	22,86	
CV (%)	13,96				
P >	0,05				
<i>Ureia mg/dL - 47 dias</i>					
Não	29,00	20,86	25,43	21,43	24,18
Sim	20,43	23,43	22,14	21,71	21,93
Média	24,71	22,14	23,78	21,57	
CV (%)	16,94				
P >	0,05				
<i>Ureia mg/dL - 68 dias</i>					
Não	26,14	24,71	29,71	31,43	28,00
Sim	31,71	24,14	27,57	24,57	27,00
Média	28,93	24,43	28,64	28,00	
CV (%)	11,79				
P >	0,05				

<sup>1</sup> Efeito quadrático significativo (P<0,05)

#### **4 CONCLUSÃO**

A ativação do sistema imune não altera a exigência de lisina de leitões dos 6 aos 20 Kg sobre o desempenho. Entretanto, o excesso deste aminoácido piora a resposta frente ao desafio, sendo necessário níveis adequados para não prejudicar os parâmetros sanguíneos dos animais submetidos a ativação do sistema imune.

## REFERÊNCIAS

AFFENTRANGER, P.; GERWIG, C.; SEEWER, G. J. Growth and carcass characteristics as well as meat and fat quality of three types of pigs under different feeding regimens. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 45, n. 2/3, p. 187-196, May 1996.

BARBOSA, H. P.; PEREIRA, J. A. A.; COSTA, P. M. A. Exigência de lisina para leitões na fase inicial de crescimento (5 a 15 Kg de peso vivo). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 14, n. 1, p. 53-63, jan. 1985.

BÜRGER, W.; EWALD, C.; FENNERT, E. M. Increase in C-reactive in the serum of piglets (pCRP) following ACTH or corticosteroid administration. **Journal of Veterinary Medicine B. Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, Berlin, v. 45, n. 1, p. 1-6, Feb. 1998.

CHIQUIERI, J. et al. Bioquímica sanguínea e altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com adição de probiótico, prebiótico e antibiótico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 97-104, 2007.

COMA, J.; CARRION, D.; ZIMMERMAN, D. R. Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 2, p. 472-481, Feb. 1995.

DAVIS, B. L. et al. Oral inoculation with Salmonella enterica serovars Typhimurium or Choleraesuis promotes divergent responses in the somatotropic growth axis of swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 2259-2282, Jan. 2010.

DONZELE, J. L. et al. Níveis de lisina para suínos de 5 a 15 Kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 21, n. 6, p. 1084-1090, nov. 1992.

EBSUI, O. et al. Effect of IL-1 receptor antagonist and antiserum to TNF- $\alpha$  on LPS-induced plasma ACTH and corticosterone rise in rats. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 266, n. 6, p. 986-992, June 1994.

HISS, S.; SAUERWEIN, H. Influence of dietary  $\beta$ -glucan on growth performance, lymphocyte proliferation, specific immune response and haptoglobin plasma concentrations in pigs. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 87, n. 1/2, p. 2-11, Feb. 2003.

HEUGTEN, E. van; COFFEY, M. T.; SPEARS, J. W. Effects of immune challenge, dietary energy density, and source of energy on performance and immunity in weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 2431-2440, Oct. 1996.

HEUGTEN, E. van; SPEARS, J. W.; COFFEY, M.T. The effect of dietary protein on performance and immune response in weanling pigs subjected to an inflammatory challenge. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 10, p. 2662-2669, Oct. 1994.

HEUGTEN, E. van.; SPEARS, J. W. Immune response and growth of stressed weanling pigs fed diets supplemented with organic or inorganic forms of chromium. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 2, p. 409-416, Feb. 1997.

JIANG, R. et al. Dietary plasma protein reduces small intestinal growth and lamina propria cell density in early weaned pigs. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 1, p. 21-26, Jan. 2000.

JIN, C. F. et al. Lysine requirement of piglets. **Australian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 11, n. 1, p. 89-96, Feb. 1998.

JOHNSON, R. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 5, p. 1244-1255, May 1997.

JOHNSON, R. W.; BORELL, E. von. Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 2, p. 309-311, Feb. 1994.

KLASING, K. C.; BARNES, D. M. Decrease amino acid requirements of growing chicks due to immunologic stress. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, n. 9, p. 1158-1164, Sept. 1988.

KOLSTAD, K.; VANGEN, O. Breed differences in maintenance requirements of growing pigs when accounting for changes in body composition. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 23-32, Feb. 1996.

LE FLOC'H, N. et al. A moderate inflammation caused by the deterioration of housing conditions modifies Trp metabolism but not Trp requirement for growth of post-weaned piglets. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 11, p. 1891-1898, Nov. 2010.

LE FLOC'H, N. et al. Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the post-weaning period in piglets. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 60, n. 1, p. 23-34, 2006.

LE FLOC'H, N. et al. The effect of sanitary status degradation and dietary tryptophan content on growth rate and tryptophan metabolism in weaning pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 5, p. 1686-1694, May 2009.

LE FLOC'H, N.; MELCHIOR, D.; SÈVE, B. Dietary tryptophan helps preserve tryptophan homeostasis in pigs suffering from lung inflammation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 12, p. 3473-3479, Dec. 2008.

LIGT, J. L. van de. et al. Effect of chromium tripicolinate supplementation on porcine immune response during the post weaning period. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 2, p. 449-455, Feb. 2002.

MACHADO, G. S.; FONTES, D. O. Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune de suínos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 2., 2005, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 293-314.

MADRIGAL, J. J. C.; LUNA, A. M. Proteínas de fase aguda: um nuevo marcador bioquímico para La monitorización y control higiênico-sanitario y estrés em El ganado porcino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 12., 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: ABRAVES, 2005. p. 3-27.

MELCHIOR, D.; SÈVE, B.; LE FLOC'H, N. Chronic lung inflammation affects plasma amino acid concentrations in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 4, p. 1091-1099, Apr. 2004.

MONTAGNE, L. et al. Effect of diet composition on postweaning colibacillosis in piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 8, p. 2364-2374, Aug. 2004.

MOREIRA, H. F. V. et al. Níveis de lisina para leitões dos 6 aos 16 Kg com alto Potencial para deposição de carne magra na carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, n. 4, p. 1210-1216, jul./ago. 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 10<sup>th</sup> ed. Washington, 1998. 192 p.

NUNES, C. G. V. et al. Níveis de lisina digestível para leitões dos 6 aos 15 Kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 1, p. 84-88, jan. 2008.

PEREIRA, L. M. **Energia metabolizável para leitões na fase inicial submetidos à ativação do sistema imune**. 2010. 68 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, London, v. 35, n. 2 p. 163-187, Mar./Apr. 2004.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 51, n. 1/3, p. 215-236, Nov. 1997.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa, MG: UFV-Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

SHURSON, J.; JOHNSON, L. Swine nutrition and health connections. In: ALLEN LEMAN SWINE CONFERENCE, 25., 1998, Saint Paul. **Proceedings...** Saint Paul: University of Minnesota, 1998. p. 77-95.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Suinocultura intensiva: produção, saúde e manejo do rebanho**. Concordia: EMBRAPA-SPI, 1998. 388 p.

SPURLOCK, M. E. et al. Effect of dietary energy source and immunological challenge on growth performance and immunological variables in growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 3, p. 720-726, Mar. 1997.

STATISTICAL ANALYSIS SOFTWARE INSTITUTE. **SAS System for Windows 6.12**. 4<sup>th</sup> ed. Cary, NC, 1996. v. 2, 842 p.

SUSENBETH, A. Factors affecting lysine utilization in growing pigs: an analysis of literature data. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 193-204, June 1995.

TOUSSAINT, M. J. M.; JOBERT, J. L.; GRUYS, E. Combination of values for Acute Phase Proteins (APP) in an index in a pig model with induced *Streptococcus Infection*. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON TRANSTHYRETIN IN HEALTH AND DISEASE, 5., 2002, Strasbourg. **Proceedings...** Strasbourg: ICTHD, 2002. p. 100.

TREVISI, P. et al. A tryptophan-enriched diet improves feed intake and growth performance of susceptible weanling pigs orally challenged with *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 1, p. 148-156, Jan. 2009.

TRINDADE NETO, M. A. et al. Níveis de lisina para suínos na fase inicial-I do crescimento, desempenho e retenção de nitrogênio. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 57, n. 8, p. 65-74, ago. 2000.

WEBEL, D. M.; FINCK, B. N.; BAKER, D. H. Time course of increased plasma cytokines and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1514-1520, June 1997.

WEBER, T. E.; ZIEMER, C. J.; KERR, B. J. Effects of adding fibrous feedstuffs to the diet of young pigs on growth performance, intestinal cytokines, and circulating acute-phase proteins. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 871-881, Apr. 2008.

WILLIAMS, N. H. Impact of immune system activation on pig growth and amino acid needs. In: WISEMAN, J.; VARLEY, M. A.; CHADWICK, J. P. (Ed.). **Progress in pig science**. Nottingham: University Press, 1998. p. 583-588.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization and lysine needs of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2472-2480, Sept. 1997a.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 Kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2481-2496, Sept. 1997b.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2463-2471, Sept. 1997c.

WRIGTH, K. J. et al. Integrated adrenal, somatotropic, and immune response of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 7, p. 1892-1899, July 2000.

YI, G. F. et al. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* K88<sup>+</sup>-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 634-643, Mar. 2005.

YUEH, S. C. H. et al. Low levels of haptoglobin and putative amino sequence in Taiwanese Lanyu miniature pigs. **Journal Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 70, n. 4, p. 379-387, Apr. 2008.

ZANGERONIMO, M. G. et al. Desempenho e excreção de nitrogênio de leitões dos 9 aos 25 Kg alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina digestível e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 1382-1387, set./out. 2007.

### **CAPÍTULO 3**

**Balanco de nitrogênio de leitões, submetidos ou não a ativação do sistema imune, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o balanço de nitrogênio de leitões desafiados imunologicamente ou não, com vacina recebendo dietas com diferentes concentrações de lisina digestível. Foram utilizados 48 suínos machos castrados híbridos ( $11,51 \pm 2,24$  kg), alojados individualmente em gaiolas de metabolismo. Foi adotado um delineamento em blocos casualizados, com parcelas subdivididas no tempo em esquema fatorial 4x2, sendo quatro níveis de lisina digestível (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32%) para animais submetidos ou não ao desafio imunológico com a utilização de vacinas. Avaliando-se dois períodos de coleta na subparcela, o curto (quatro primeiros dias de coleta) e longo (do quarto ao oitavo dia de coleta). Foram utilizadas vacinas para *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre o desafio imunológico e o período de coleta, sendo que os animais vacinados no período curto apresentaram uma maior percentagem de nitrogênio retido e de nitrogênio retido em relação ao absorvido. Sendo observado efeito ( $P < 0,05$ ) quadrático dos níveis de lisina para os animais vacinados no período curto para percentagem de nitrogênio retido e de nitrogênio retido em relação ao absorvido, sendo o nível de 1,10% o que proporcionou melhor relação. Os animais com baixo desafio não apresentam diferenças para a percentagem de nitrogênio retido e a percentagem de nitrogênio retido em relação ao absorvido, entretanto apresentam maior percentagem de nitrogênio absorvido com o nível de 0,96% de lisina. Os níveis de lisina influenciaram ( $P < 0,05$ ) a percentagem de nitrogênio absorvido de forma linear e a percentagem de nitrogênio retido de forma quadrática, independente do período e do desafio. Pode-se observar efeito ( $P < 0,05$ ) linear decrescente dos níveis de lisina para a percentagem de nitrogênio absorvido nos animais não vacinados. O período curto influenciou ( $P < 0,05$ ) de forma quadrática a percentagem de nitrogênio retido. Conclui-se que a ativação do sistema imune influencia o balanço de nitrogênio de leitões, onde os animais desafiados apresentam melhor percentagem de nitrogênio retido e percentagem de nitrogênio retido do absorvido para o nível de 1,09% de lisina.

Palavras-chave: Desafio, metabolismo, suínos, vacinação.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the nitrogen balance of piglets immunologically challenge or not, with vaccine and fed diets with different concentrations of digestible lysine. A total of 48 barrows hybrids ( $11,51 \pm 2,24$  kg), housed individually in metabolic cages. It was used a randomized block design with split plot factorial scheme 4x2, with four levels of digestible lysine (0,96, 1,08, 1,20 and 1,32%) for animals submitted or not immunological challenge with the use of vaccines. Evaluating the two collection periods in the sub-plot, the short (first four days of sampling) and long (the fourth to eighth day of collection). Vaccines were used for *Haemophilus parasuis* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. There was an interaction ( $P < 0,05$ ) between immune challenge and test period, and the animals vaccinated in a short period had a higher percentage of nitrogen retention and nitrogen retention in relation to absorbed. Effect was observed ( $P < 0,05$ ) quadratic in the levels of lysine for vaccinated animals in the short period for the percentage of nitrogen retention and nitrogen retention in relation to the intake and the level of 1,10% which provided best value. Animals with low-challenge show no difference for the percentage of nitrogen retained and the percentage of nitrogen retained in relation to absorbed, but a higher percentage of nitrogen absorbed with the level of 0,96% lysine. The lysine levels affected ( $P < 0,05$ ) the percentage of nitrogen absorbed linearly and the percentage of nitrogen retained quadratically, regardless of the period and challenge. It can be observed effect ( $P < 0,05$ ) linear decrease in the levels of lysine to the percentage of absorbed nitrogen in non-vaccinated animals. The short period affected ( $P < 0,05$ ) quadratically the percentage of nitrogen retained. It was conclude that activation of the immune system influence the nitrogen balance in piglets, where the challenged animals have a better percentage of nitrogen retained and percent nitrogen retained from the absorbed for the level of 1,09% lysine.

Keywords: Challenge. Metabolism. Piglets. Vaccination.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos suínos, o principal destino dos aminoácidos é a síntese de massa muscular (SCHINCKEL; LANGE, 1996). Entretanto, a síntese de tecido muscular é diretamente influenciada pelos fatores ambientais, tais como temperatura, concentração de aminoácidos presentes na dieta, sexo, estado imunológico e o genótipo dos animais (GABLER; SPURLOCK, 2008). Desta forma, o nitrogênio que ingerido pelos monogástricos, apresenta parte destinada à manutenção e o restante ao crescimento muscular, reprodução e outras necessidades vitais ao metabolismo (MOUGHAN, 1994). Pesquisas têm evidenciado, por exemplo, que o desafio imunológico pode resultar em alterações fisiológicas, através da liberação de citocinas pró-inflamatórias (JOHNSON et al., 2006; WEBEL; FINCK; BAKER, 1997; YI et al., 2005), que por sua vez podem afetar negativamente o crescimento e a eficiência alimentar (CARROLL et al., 2004).

A lisina é o primeiro aminoácido limitante em dietas para os suínos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC 1998). Quando a lisina se encontra disponível em concentrações insuficientes, o crescimento muscular torna-se limitada. Por outro lado, o excesso deste aminoácido pode comprometer a utilização dos demais aminoácidos pela competição, pelos sítios de absorção ou de síntese (SUSENBETH, 1995). Dessa forma, um correto balanço de aminoácidos em condições de desafio imunológico pode constituir mais uma técnica para aperfeiçoar os modelos de produção, garantindo melhor desempenho e uma resposta imune adequada, já que a composição em aminoácidos difere entre as proteínas teciduais e aquelas ligadas a outras funções metabólicas. Assim, supõe-se que possam ocorrer diversas interações entre as exigências nutricionais, principalmente em relação aos aminoácidos,

onde alguns podem se ter suas exigências alteradas e até se tornar condicionalmente essenciais (MACHADO; FONTES, 2005).

Desta forma, o presente trabalho foi realizado para verificar o efeito de níveis de lisina sobre o balanço de nitrogênio de leitões, desafiados ou não imunologicamente com a utilização de vacinas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Um experimento foi conduzido no período de julho a setembro de 2010, nas instalações de metabolismo do Centro Experimental de Suínos (CES) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, região Sul de Minas Gerais.

Foram utilizados 48 suínos machos castrados, com peso inicial de 11,51  $\pm$  2,24 kg, mantidos em gaiolas de metabolismo. Foi adotado um delineamento em blocos casualizados em parcelas subdivididas, com esquema fatorial 4x2, (quatro níveis de lisina 0,96, 1,08, 1,20 e 1,32% , com e sem vacinação) sendo dois períodos de coleta após a vacinação: curto e longo (Subparcela), totalizando oito tratamentos e seis repetições, sendo os blocos constituídos pelo peso inicial. Os suínos utilizados foram da genética TOPIG'S oriundos de uma granja classificada de excelente estado sanitário.

Os animais passaram por um período pré-experimental de 14 dias, recebendo água e ração *ad libitum*. Seguindo este período, os animais foram alojados, individualmente em gaiolas de metabolismo, semelhantes às descritas por Sales, Fialho e Volpato (2003), que permitiram a coleta de fezes e urina separadamente. As gaiolas permaneceram em salas equipadas com ar condicionado, permitindo o controle total da temperatura interna em torno de 23,0  $\pm$  3,0 °C.

Previamente ao alojamento, foi realizado a limpeza e desinfecção das salas, permanecendo por um período de vazio sanitário de 30 dias. A desinfecção foi realizada através da lavagem de todos os pisos, grades e cochos das instalações por meio de detergente e após secagem foi realizado aplicação do desinfetante a base de compostos peroxigênicos, surfactante, ácidos orgânicos e inorgânicos<sup>1</sup>, seguindo a recomendação do fabricante. As dietas experimentais (Tabela 1) foram isonutritivas, com exceção da lisina digestível, de forma a

---

<sup>1</sup> Virkon®S

atender as exigências nutricionais de leitões entre 10 e 30 Kg de peso vivo seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2005).

Tabela 1 – Composição percentual e bromatológica das dietas experimentais, contendo diferentes níveis de lisina digestível.

Ingrediente	Níveis de lisina digestível (%)			
	0,96	1,08	1,20	1,32
Milho	42,00	42,00	42,00	42,00
Milho pré gelatinizado	15,00	15,00	15,00	15,00
Farelo de Soja	16,00	16,00	16,00	16,00
Soja Micronizada	9,655	9,655	9,655	9,655
Óleo de soja	0,500	0,500	0,500	0,500
Nuklospray K51 <sup>3</sup>	2,640	2,640	2,640	2,640
Sweelac <sup>4</sup>	10,00	10,00	10,00	10,00
Fosf. bicálcico	1,716	1,716	1,716	1,716
Calcário calcítico	0,750	0,750	0,750	0,750
Sal iodado	0,388	0,388	0,388	0,388
Premix vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
L-Lisina HCl 78%	0,000	0,152	0,304	0,456
DL-Metionina 98%	0,084	0,084	0,084	0,084
L-Treonina	0,163	0,163	0,163	0,163
Triptofano	0,029	0,029	0,029	0,029
Óxido de Zinco	0,250	0,250	0,250	0,250
Colistina 8%	0,125	0,125	0,125	0,125
Caulim	0,500	0,348	0,196	0,046
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Valores Calculados</b>				
Proteína Bruta (%)	17,0	17,0	17,0	17,0
EM (Kcal/Kg)	3330	3330	3330	3330
Lactose (%)	7,5	7,5	7,5	7,5
Cálcio (%)	0,825	0,825	0,825	0,825
Fósforo disponível (%)	0,450	0,450	0,450	0,450
Sódio (%)	0,230	0,230	0,230	0,230
Lisina total (%)	1,090	1,230	1,360	1,500
Lisina digestível (%)	0,960	1,080	1,200	1,320
Treonina digestível (%)	0,840	0,840	0,840	0,840
Triptofano digestível (%)	0,226	0,226	0,226	0,226
Metionina digestível (%)	0,372	0,372	0,372	0,372

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico contendo por quilo do produto: vitamina A, 8.000.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 1.200.000 UI; vitamina E, 20.000 mg; vitamina K<sub>3</sub>, 2.500 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 1.000 mg; riboflavina (B<sub>2</sub>), 4.000 mg; piridoxina (B<sub>6</sub>), 2.000 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 20.000 mcg; niacina, 25.000 mg; ácido pantotênico, 10.000 mg; ácido fólico, 600 mg; biotina, 50 mg; vitamina C, 50.000 mg; antioxidante, 125 mg. <sup>2</sup> Suplemento mineral contendo, por quilo do produto: selênio, 500 mg; ferro, 70.000 mg; cobre, 20.000 mg; manganês, 40.000 mg; zinco, 80.000 mg; iodo, 800 mg; cobalto, 500 mg. <sup>3</sup> Produto comercial com 38,5% de lactose. <sup>4</sup> Produto comercial com 65% de lactose..

O protocolo experimental segue conforme a figura 1.

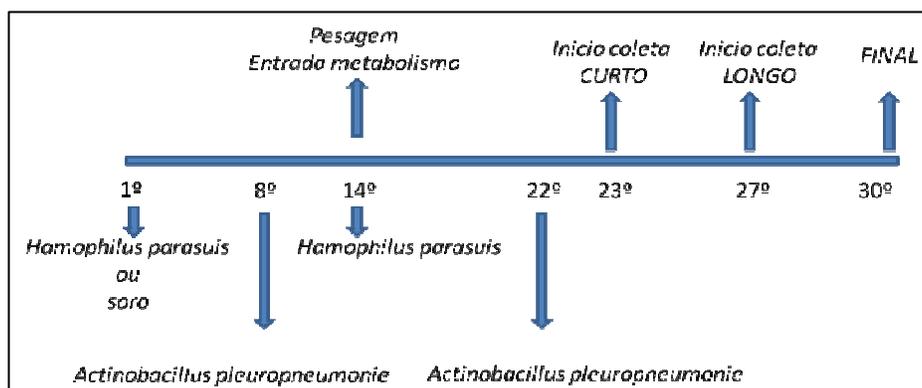


Figura 1 Protocolo experimental

No 1º e 14º dia experimental, foi realizada a aplicação de 2,0 ml da vacina contra *Haemophilus parasuis*, sorotipo cinco, que utiliza como adjuvante o hidróxido de alumínio gel, em 50% dos animais, sendo utilizado o dobro das recomendações do fabricante. No 8º dia do experimento, foi realizada a aplicação de 4,0 ml da vacina contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, nos mesmos 50% dos animais que receberam a vacina para *Haemophilus*, seguindo o dobro das recomendações do fabricante. A vacina é composta por subunidades, ou seja, possui apenas os três toxóides (APX I, APX II e APX III) que protegem contra as toxinas produzidas e uma proteína de membrana externa comum a todas as 13 cepas do agente.

A outra metade dos animais recebeu injeção intramuscular de solução fisiológica, nas mesmas datas e volume, eliminando-se assim o efeito do estresse causado pela aplicação da vacina.

Após tomar a última dose para *Haemophilus parasuis* (14º dia), os animais foram pesados, de acordo com o peso inicial e, subsequentemente, alojados nas gaiolas. Passando o período de sete dias de adaptação a gaiola e as dietas, os animais receberam a segunda dose da vacina para *Actinobacillus*

*pleuropneumoniae* (22º dia). Com isso, dividiu-se o período de coleta em dois, para avaliar os primeiros quatro dias após vacinação e do quinto ao oitavo dia.

O período experimental teve duração de quinze dias, sendo sete dias destinados à adaptação dos animais às gaiolas, rações experimentais e ajuste do consumo voluntário e os oito dias restantes utilizados para a coleta de fezes e urina.

As rações foram fornecidas às 7 e às 17 h, sendo a quantidade total diária estabelecida com base no peso metabólico ( $PV^{0,75}$ ). A quantidade de ração foi ajustada pelo consumo do animal de menor ingestão, observado durante o período de adaptação, permitindo a todos os animais o consumo de quantidades iguais de nutrientes, em relação ao peso metabólico. A ração foi umedecida com água na proporção de 2:1 (água:ração). Após o consumo do alimento, todos os animais receberam água à vontade. O óxido de cromo ( $Cr_2O_3$ ) foi utilizado como indicador de digestibilidade fecal, sendo adicionado à ração (0,25%) seguindo a metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2007).

As fezes foram coletadas diariamente pela manhã, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em congelador (-20 °C). Posteriormente, no final do experimento, as fezes foram descongeladas em temperatura ambiente, seguindo-se a de pesagem e homogeneização, a partir da qual foi retirada uma amostra de aproximadamente 400 g. As amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C e exposta ao ar por uma hora para equilíbrio do teor de umidade à temperatura ambiente sendo, em seguida, novamente pesada para a determinação da matéria pré-seca. Após esse período, foram retirados todos os materiais estranhos (por exemplo, pêlos), sendo posteriormente moída para a realização das análises laboratoriais de quantificação de nitrogênio.

A urina foi coletada diariamente com auxílio de um balde plástico com filtro, contendo 20 ml de ácido clorídrico (HCl) 1:1 para evitar a proliferação bacteriana e possíveis perdas de nitrogênio. Do total coletado de cada animal, foi

adicionada água destilada, objetivando a padronização do volume coletado. Desse total diário, uma alíquota de 10% do volume padronizado foi retirada e congelada a -20 °C para análise de nitrogênio.

O óxido cromo das fezes e das dietas foram analisados por espectrofotometria após digestão ácida como descrito por Udén, Colucci e Soest (1980), e o nitrogênio das rações, fezes e urina foi determinado usando-se o método Kjeldahl (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1990). Foram analisados o teor de matéria seca (com exceção da urina) e nitrogênio total, segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002), a fim de se determinar os teores de nitrogênio ingerido (NI), nitrogênio absorvido (NA), nitrogênio retido (NR) e relação NR/NA (%) pelo animal. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal da Universidade Federal de Lavras.

Os dados foram submetidos à análise de variância sendo as médias obtidas com animais vacinados ou não analisados pelo teste F. Os níveis de lisina foram submetidos à análise de regressão. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SOFTWARE INSTITUTE - SAS, 1996).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Pode-se observar ( $P < 0,05$ ) interação dos níveis de LISD e o desafio imunológico (Tabela 2). Onde verificou-se efeito linear decrescente dos níveis de lisina para a percentagem de nitrogênio absorvido (%NABS) nos animais não vacinados ( $Y = -13,909x + 96,296$ ;  $R^2 = 0,747$ ). Para os animais vacinados, não foi observado interação ( $P > 0,05$ ) com os níveis de lisina para percentagem de nitrogênio absorvido.

Tabela 2 Valores para percentagem de nitrogênio absorvido (%NABS), percentagem de nitrogênio retido (%NRET) e a %NRET em relação ao %NABS (%NRET/NABS) de leitões vacinados ou não vacinados, recebendo dietas com diferentes níveis de lisina digestível, avaliados nos períodos curto e longo.

Dias	Vacina	Lisina digestível (%)				Média <sup>5</sup>
		0,96	1,08	1,20	1,32	
%NABS						
1 ao 4 <sup>o</sup>	Não <sup>2</sup>	81,34	82,44	80,17	77,41	80,34
	Sim	82,38	78,86	79,66	78,31	79,80
5 ao 8 <sup>o</sup>	Não <sup>2</sup>	82,18	83,37	79,65	76,97	80,54
	Sim	80,61	79,09	81,29	80,68	80,42
Média <sup>1</sup>		81,63	80,94	80,19	78,34	
	CV (%)	2,51				
%NRET						
1 ao 4 <sup>o 4</sup>	Não	58,97	63,98	57,18	56,84	59,24 B
	Sim <sup>6</sup>	68,13	70,10	72,19	52,00	65,60 A
5 ao 8 <sup>o</sup>	Não	65,70	65,69	62,63	59,89	63,48
	Sim	54,84	62,56	60,53	64,84	60,69
Média <sup>3</sup>		61,91	65,58	63,13	58,39	
	CV (%)	12,78				
%NRET/NABS						
1 ao 4 <sup>o 4</sup>	Não	72,94	77,94	71,75	73,91	74,14 B
	Sim <sup>6</sup>	82,86	87,31	90,42	66,09	81,67 A
5 ao 8 <sup>o</sup>	Não	79,75	78,63	78,49	77,46	78,58
	Sim	67,85	79,02	73,93	80,29	75,27
Média		75,85	80,72	78,65	74,44	
	CV (%)	12,27				

<sup>1</sup> Regressão linear significativa (P<0,05)

<sup>2</sup> Regressão linear significativa para animais não vacinados (P<0,05)

<sup>3</sup> Regressão quadrática significativa para níveis de lisina (P<0,05).

<sup>4</sup> Regressão quadrática da lisina para período curto (P<0,05).

<sup>5</sup> Efeito da vacina no período curto pelo teste F (P<0,05)

<sup>6</sup> Regressão quadrática dos níveis de lisina para animais vacinados no período curto (P<0,05).

Williams, Stahly Zimmerman (1997a), avaliaram o efeito da ativação do sistema imune e dos níveis de lisina sobre a utilização de nitrogênio de animais aos 10, 17,5 e 25 Kg e não observaram interação entre a ativação do sistema imune e os níveis de lisina, encontraram apenas efeito dos níveis de lisina e

efeito do desafio sobre a %NABS. Esta diferença pode estar relacionada a forma como os autores aumentaram o nível de lisina da dieta, pois estes alteraram a concentração de proteína bruta e realizaram a correção da relação aminoácídica na dieta. Como as dietas foram formuladas sem correção dos demais aminoácidos, a diferença apresentada neste experimento pode estar relacionada ao comprometimento dos sítios de absorção e pela competição entre os aminoácidos (SUSENBETH, 1995), pois, a medida que se aumentou o nível de lisina na dieta, os animais apresentaram menor absorção de nitrogênio.

Os níveis de lisina reduziram ( $P < 0,05$ ) de forma decrescente a percentagem de nitrogênio absorvido, onde o nível de 0,96% de LISD apresentou maior absorção ( $Y = -8,827x + 90,338$ ;  $R^2 = 0,934$ ). Estes resultados estão diferentes dos obtidos por Zangeronimo et al. (2007) que avaliando níveis de 0,7 a 1,3% de lisina em dietas com 16 e 18% de proteína bruta para leitões com 25 Kg, não observaram aumento do nitrogênio das fezes a medida que aumentaram o nível de lisina na dieta. Da mesma forma, Trindade Neto et al. (2010) não observaram diferenças na %NABS em leitões recebendo dietas de 1,22 a 1,49% de lisina. É importante enfatizar que, nestes trabalhos, os autores realizaram a correção dos demais aminoácidos da dieta à medida que se aumentou o nível de lisina, o que não foi realizado no presente experimento, onde se aumentou apenas os níveis de lisina da dieta.

Keer, McKeith e Easter (1995) não observaram diferenças na excreção de N fecal comparando duas dietas com 12% de proteína suplementada ou não com lisina, treonina e triptofano. Quando compararam estas duas dietas com uma de 16% de proteína e uma com 12% de proteína e correção de todos aminoácidos da dieta ao mesmo padrão da dieta de 16%, estes autores constataram aumento na percentagem de nitrogênio absorvido nas duas últimas dietas.

Da mesma forma, a diferença apresentada neste experimento pode estar relacionada ao comprometimento dos sítios de absorção e pela competição entre os aminoácidos (SUSENBETH, 1995), pois, à medida que se aumentou o nível de lisina na dieta, os animais apresentaram menor valor de absorção de nitrogênio.

Pode-se observar interação ( $P < 0,05$ ) entre o nível de lisina, o efeito do desafio e o período de coleta. Sendo que os níveis de lisina influenciaram de forma quadrática o nitrogênio retido de animais vacinados no período curto de coleta ( $Y = -384,81x^2 + 838,777x - 383,576$ ;  $R^2 = 0,90$ ), sendo o nível de 1,09% de lisina que apresentou maior valor.

Pode-se verificar interação ( $P < 0,05$ ) entre os níveis de lisina e o período de coleta, onde os níveis de lisina apresentaram comportamento quadrático no período curto para a percentagem de nitrogênio retido. Como observado acima, este efeito é influenciado pelos animais vacinados neste período.

Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre o desafio imunológico e o período de coleta, sendo que os animais vacinados no período curto (quatro primeiros dias de coleta) apresentaram maior retenção de nitrogênio. Entretanto, Williams, Stahly e Zimmerman (1997a) encontraram maiores valores para nitrogênio retido em animais com baixo desafio imunológico. Estas diferenças podem estar relacionadas a correção de aminoácidos da dieta. Como neste experimento não houve correção, os animais desafiados apresentaram maior retenção de nitrogênio para suprir adequadamente a síntese de proteínas de fase aguda e outros mediadores do sistema imune, pois como demonstrado por Williams, Stahly e Zimmerman (1997a), apresentam uma menor deposição proteica comparado ao grupo com baixo desafio.

Ainda são poucos os trabalhos existentes na literatura que demonstram os efeitos dos níveis de lisina sobre a retenção de nitrogênio em animais desafiados imunologicamente. Williams, Stahly e Zimmerman (1997a) não

observaram interação entre ativação do sistema imune e os níveis de lisina da dieta.

Os níveis de lisina influenciaram de forma quadrática ( $P < 0,05$ ) a percentagem de nitrogênio retido sendo a melhor com 1,10% de LISD ( $Y = -146,188x^2 + 322,47x - 112,745$ ;  $R^2 = 0,973$ ). Entretanto, Zangeronimo et al. (2007), verificaram efeito quadrático dos níveis de lisina digestível variando de 0,7 a 1,3% para o nitrogênio excretado na urina, apresentando maior retenção de nitrogênio com o nível de 1,03%.

Chiaradia et al. (2009) não observaram diferenças entre níveis de lisina sobre a percentagem de nitrogênio retido de suínos em crescimento, sendo este resultado explicado pelo melhor balanço de aminoácidos nos sítios de síntese de proteína.

Contatou-se interação ( $P < 0,05$ ) dos níveis de lisina e o período de coleta, verificando que o período de quatro dias após a vacinação influenciou de forma quadrática a relação de nitrogênio retido sobre absorvido, sendo o nível de 1,10% de lisina apresentou melhores resultados. Observando a interação entre os três fatores (lisina, desafio e período) pode-se verificar que este efeito foi verificado nos animais vacinados neste período.

Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre o desafio imunológico e o tempo de coleta, verificando que os animais vacinados apresentaram maior nitrogênio retido em relação ao absorvido durante os quatro primeiros dias de coleta. Este efeito está relacionado a maior percentagem de nitrogênio retido observado para este grupo de animais, possivelmente pelo melhor nível de lisina em relação aos demais aminoácidos e pela maior exigência destes para a síntese de proteínas de fase aguda.

Pode-se observar interação ( $P < 0,05$ ) entre o nível de lisina, o efeito do desafio e o período de coleta, ocorrendo efeito quadrático dos níveis de lisina

para os animais vacinados no período curto, sendo que o nível de 1,10% de LISD proporcionou melhor resultado ( $Y=-499,47x^2+10099,46x-513,6$ ;  $R^2=0,90$ ).

O efeito destas interações demonstrou que os animais desafiados em um curto espaço de tempo apresentam maior retenção de N e, com isso, uma melhor relação de nitrogênio retido em relação ao absorvido comparado aos animais não vacinados. Williams, Stahly e Zimmerman (1997a), não observaram efeito da interação entre os níveis de lisina na dieta e o desafio para esta relação.

A diversidade de resultados encontrados na literatura, possivelmente está relacionada à linhagem dos animais, idade, modelo de desafio utilizado e outras variáveis ambientais, sendo necessário mais estudos para determinar a resposta de animais desafiados ao nível de lisina da dieta.

Estes resultados são semelhantes aos demonstrados por Williams, Stahly e Zimmerman (1997b) que, por meio de análises de inflexões, determinou o melhor nível pelo balanço de nitrogênio de leitões desafiados em 1,06% de lisina digestível.

#### **4 CONCLUSÃO**

O desafio imunológico influencia diretamente o balanço de nitrogênio de leitões na fase de creche. Dessa forma, o nível de 1,09% de lisina demonstrou melhor resultado no balanço de nitrogênio para os animais desafiados via vacinação. Para animais com baixo desafio, os níveis de lisina não influenciam o balanço de nitrogênio.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official methods of analysis**. 15<sup>th</sup> ed. Arlington, 1990. 1230 p.

CARROLL, J. A. et al. The acute response in pigs experimentally infected with *Escherichia coli* and treated with systemic bactericidal antibiotics. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 85, n. 1, p. 35-44, Jan. 2004.

CHIARADIA, R. C. F. et al. Levels of true digestible lysine and metabolizable energy for growing pigs: effect on nitrogen and energy balance. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 6, p. 1655-1662, nov./dez. 2009.

GABLER, N. K.; SPURLOCK, M. E. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 14, p. 64-74, Apr. 2008. Supplement.

JOHNSON, I. R. et al. Glutamine supplementation influences immune development in the newly weaned piglet. **Developmental and Comparative Immunology**, New York, v. 30, n. 12, p. 1191-1202, Apr. 2006.

KEER, B. J.; MCKEITH, F. K.; EASTER, R. A. Effect of feeding reduced protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 10, p. 3000-3008, Oct. 1995.

MACHADO, G. S.; FONTES, D. O. Relação entre as exigências nutricionais e o sistema imune de suínos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 2., 2005, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 293-314.

MOUGHAN, P. J. Modelling amino acid absorption and metabolism in the growing pigs. In: D'MELLO, J. P. F. **Amino acids in farm animal nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994. chap. 7, p. 133-154.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa, MG: UFV-Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283 p.

SALES, G. T.; FIALHO, E. T.; VOLPATO, C. E. S. Modificação nas gaiolas metabólicas para experimentos com suínos. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS, 26., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2003. p. 249-251.

SCHINCKEL, A. P.; LANGE, C. F. M. Characterization of growth parameters needed as inputs for pig growth modes. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 8, p. 2021-2036, Aug. 1996.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235 p.

STATISTICAL ANALYSIS SOFTWARE INSTITUTE. **SAS System for Windows 6.12**. 4<sup>th</sup> ed. Cary, NC, 1996. v. 2, 842 p.

SUSENBETH, A. Factors affecting lysine utilization in growing pigs: an analysis of literature data. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 193-204, June 1995.

TRINDADE NETO, M. A. et al. Apparent digestibility of diets with different concentrations of lysine and energy in piglets with different body weights and post-weaning age. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 8, p.1784-1790, ago. 2010.

UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; SOEST, P. J. van. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 31, n. 7, p. 625-632, July 1980.

WEBEL, D. M.; FINCK, B. N.; BAKER, D. H. Time course of increased plasma cytokines and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1514-1520, June 1997.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization and lysine needs of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2472-2480, Sept. 1997a.

WILLIAMS, N.H.; STAHLY, T.S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 Kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2481-2496, Sept. 1997b.

YI, G. F. et al. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* K88<sup>+</sup>-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 634-643, Mar. 2005.

ZANGERONIMO, M. G. et al. Desempenho e excreção de nitrogênio de leitões dos 9 aos 25 Kg alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina digestível e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 1382-1387, set./out. 2007.

## ANEXOS

### ANEXO A – Tabelas

Tabela 1A Análise de covariância para peso aos 39 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	88
Tabela 2A Análise de covariância para peso aos 53 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina. ....	88
Tabela 3A Análise de covariância para peso aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina. ....	89
Tabela 4A Análise de covariância para GPMD dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina. ....	89
Tabela 5A Análise de covariância para CRMD dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	90
Tabela 6A Análise de covariância para CA dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina. ....	90
Tabela 7A Análise de covariância para Consumo médio diário de LISD dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina. ....	91
Tabela 8A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para níveis de Haptoglobina, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20	

e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	91
Tabela 9A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para níveis de proteína C-reativa, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	92
Tabela 10A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	92
Tabela 11A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	93
Tabela 12A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	93
Tabela 13A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	93
Tabela 14A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	94
Tabela 15A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	94

- Tabela 16A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais/Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 95
- Tabela 17A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais/Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 95
- Tabela 18A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais/Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 96
- Tabela 19A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Albumina, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 96
- Tabela 20A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Albumina, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 97
- Tabela 21A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Albumina, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 97
- Tabela 22A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Ureia plasmática, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina..... 98
- Tabela 23A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Ureia plasmática, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96,

	1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	98
Tabela 24A	Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Ureia plasmática, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	99
Tabela 25A	Análise de covariância para % de NABS, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	99
Tabela 26A	Análise de covariância para % de NRET, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	100
Tabela 27A	Análise de covariância para % NRET/ABS, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.....	101

Tabela 1 A Análise de covariância para peso aos 39 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	3,646864	1.215621	6,364	0,0012
Linear	1	0,504051	0,504051	2,639	0,112
Quadrática	1	2,597207	2,597207	13,596	0,001
Desvio	1	0,545606	0,545606	2,856	0,098
Vacina	1	1.125779	1.125779	5,893	0,0196
Lisina*Vacina	3	0.307407	0.102469	0,536	0,6599
Bloco	6	8.540343	1.423390	7,451	0,0000
Erro	42	8.023200	0.191029		

Tabela 2 A Análise de covariância para peso aos 53 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	7,986857	2,662286	3,457	0,0247
Linear	1	3,693806	3,693806	4,797	0,034
Quadrática	1	3,341829	3,341829	4,339	0,043
Desvio	1	0,951223	0,951223	1,235	0,273
Vacina	1	7,358750	7,358750	9,556	0,0035
Lisina*Vacina	3	1,990936	0,663645	0,862	0,4684
Bloco	6	22,297321	3,716220	4,826	0,0008
Erro	42	32,344107	0,770098		

Tabela 3 A Análise de covariância para peso aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	33,801221	11,267074	4,691	0,0065

Linear	1	25,140036	25,140036	10,467	0,002
Quadrática	1	8,470864	8,470864	3,527	0,067
Desvio	1	0,190321	0,190321	0,079	0,780
Vacina	1	15,017857	15,017857	6,253	0,0164
Lisina*Vacina	3	1,395600	0,465200	0,194	0,9003
Bloco	6	42,829561	7,138260	2,972	0,0165
Erro	42	100,875896	2,401807		

Tabela 4 A Análise de covariância para GPMD dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,017194	0,005731	4,573	0,0073
Linear	1	0,012866	0,012866	10,265	0,003
Quadrática	1	0,004218	0,004218	3,365	0,074
Desvio	1	0,000111	0,000111	0,088	0,768
Vacina	1	0,007873	0,007873	6,281	0,0162
Lisina*Vacina	3	0,000778	0,000259	0,207	0,8912
Bloco	6	0,010507	0,001751	1,397	0,2384
Erro	42	0,052644	0,001253		

Tabela 5 A Análise de covariância para CRMD dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,030002	0,010001	1,890	0,1460

Vacina	1	0,022041	0,022041	4,165	0,0476
Lisina*Vacina	3	0,005962	0,001987	0,376	0,7710
Bloco	6	0,099388	0,016565	3,130	0,0126
Erro	42	0,222288	0,005293		

Tabela 6 A Análise de covariância para CA dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,466105	0,155368	1,146	0,3417
Vacina	1	0,994578	0,994578	7,336	0,0097
Lisina*Vacina	3	0,174580	0,058193	0,429	0,7331
Bloco	6	0,372460	0,062077	0,458	0,8353
Erro	42	5,694076	0,135573		

Tabela 7 A Análise de covariância para Consumo médio diário de LISD dos 24 aos 68 dias, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,284048	0,094683	14,428	0,0000
Linear	1	0,278776	0,278776	42,482	0,000

Quadrática	1	0,000000	0,000000	0,000	0,996
Desvio	1	0,005272	0,005272	0,803	0,375
Vacina	1	0,027590	0,027590	4,204	0,0466
Lisina*Vacina	3	0,008099	0,002700	0,411	0,7456
Bloco	6	0,124637	0,020773	3,165	0,0118
Erro	42	0,275615	0,006562		

Tabela 8 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para níveis de Haptoglobina, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,257517	0,085839	1,768	0,1680
Vacina	1	0,360125	0,360125	7,417	0,0094
Lisina*Vacina	3	0,172076	0,057359	1,181	0,3283
Bloco	6	0,596798	0,099466	2,049	0,0802
Erro	42	2,039270	0,048554		

Tabela 9 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para níveis de proteína C-reativa, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	56,7218,95	18,907298	1,568	0,2114
Vacina	1	544,157327	544,157327	45,115	0,0000

Lisina*Vacina	3	133,759350	44,586450	3,697	0,0189
Lisina/ NV	3	79.522522	26.507507	2.198	0.1015
Lisina/ V	3	110.958723	36.986241	3.066	0.0377
Linear	1	88.9889058	88.9058	7.378	0.010
Quadrática	1	19.231629	19.231629	1.594	0.214
Resíduo	1	2.738037	2.738037	0.227	0.636
Bloco	6	99,384999	16,564167	1,373	0,2477
Erro	42	506.588879	12.061640		

Tabela 10 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	6,141269	2,047090	4,044	0,0130
Linear	1	5,742959	5,742959	11,345	0,002
Quadrática	1	0,001723	0,001723	0,003	0,954
Desvio	1	0,396587	0,396587	0,783	0,381
Vacina	1	30,852189	30,852189	60,949	0,0000
Lisina*Vacina	3	1,323002	0,441001	0,871	0,4636
Bloco	6	3,677970	0,612995	1,211	0,3198
Erro	42	21,260415	0,506200		

Tabela 11 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	1,481139	0,493713	1,139	0,3443

Vacina	1	32,225838	32,225838	74,355	0,0000
Lisina*Vacina	3	0,473151	0,157717	0,364	0,7793
Bloco	6	6,748206	1,12471	2,595	0,0314
Erro	42	18n203056	0,433406		

Tabela 12 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Leucócitos totais, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,471711	0,157237	0,740	0,5340
Vacina	1	0,098592	0,098592	0,464	0,4994
Lisina*Vacina	3	1,019358	0,339786	1,600	0,2038
Bloco	6	1,360327	0,226721	1,067	0,3972
Erro	42	8,921723	0,212422		

Tabela 13 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,600747	0,200249	0,510	0,6775
Vacina	1	1,406263	1,406263	3,582	0,0653
Lisina*Vacina	3	2,773443	0,924481	2,355	0,0856
Bloco	6	3,665077	0,610846	1,556	0,1840
Erro	42	16,488322	0,392579		

Tabela 14 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
----	----	----	----	---	-----

Lisina	3	0,233913	0,77971	0,136	0,9385
Vacina	1	0,450356	0,450356	0,783	0,3813
Lisina*Vacina	3	1,052923	0,350974	0,610	0,6122
Bloco	6	2,938547	0,489758	0,851	0,5382
Erro	42	24,165756	0,575375		

Tabela 15 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,574793	0,191598	1,401	0,2559
Vacina	1	0,111345	0,111345	0,814	0,3721
Lisina*Vacina	3	0,079360	0,026453	0,193	0,9004
Bloco	6	0,927367	0,154561	1,130	0,3618
Erro	42	5,744239	0,136768		

Tabela 16 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para relação Leucócitos totais/Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
----	----	----	----	---	-----

Lisina	3	0,088883	0,029628	3,738	0,0181
Linear	1	0,085535	0,085535	10,791	0,002
Quadrática	1	0,001130	0,001130	0,143	0,708
Desvio	1	0,002218	0,002218	0,280	0,600
Vacina	1	0,280566	0,280566	35,395	0,0000
Lisina*Vacina	3	0,045181	0,015060	1,900	0,1443
Bloco	6	0,064957	0,010826	1,366	0,2507
Erro	42	0,332924	0,007927		

Tabela 17 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para relação Leucócitos totais/Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,069102	0,023034	1,197	0,3227
Vacina	1	0,652321	0,652321	33,887	0,0000
Lisina*Vacina	3	0,028731	0,009577	0,498	0,6860
Bloco	6	0,085554	0,014259	0,741	0,6199
Erro	42	0,808486	0,019250		

Tabela 18 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para relação Leucócitos totais/Linfócitos, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
----	----	----	----	---	-----

Lisina	3	0,028852	0,009617	0,998	0,4033
Vacina	1	0,015942	0,015942	1,654	0,2055
Lisina*Vacina	3	0,030136	0,010045	1,042	0,3838
Bloco	6	0,041877	0,006979	0,724	0,6326
Erro	42	0,404818	0,009639		

Tabela 19 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Albumina, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,059025	0,019675	3,022	0,0401
Linear	1	0,000442	0,000442	0,068	0,796
Quadrática	1	0,028770	0,028770	4,420	0,042
Desvio	1	0,029813	0,029813	4,580	0,038
Vacina	1	0,246185	0,246185	37,819	0,0000
Lisina*Vacina	3	0,002420	0,000807	0,124	0,9457
Bloco	6	0,056340	0,009390	1,442	0,2216
Erro	42	0,273405	0,006510		

Tabela 20 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Albumina, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,099185	0,033062	1,526	0,2216
Vacina	1	0,016629	0,016629	0,768	0,3859

Lisina*Vacina	3	0,017167	0,005722	0,264	0,8509
Bloco	6	0,430070	0,071678	3,309	0,0093
Erro	42	0,909680	0,021659		

Tabela 21 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Albumina, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,199002	0,066334	4,181	0,0112
Linear	1	0,126246	0,126246	7,956	0,007
Quadrática	1	0,072756	0,072756	4,585	0,038
Desvio	1	0,000000	0,000000	0,000	0,996
Vacina	1	0,018081	0,018081	1,139	0,2919
Lisina*Vacina	3	0,130143	0,043381	2,734	0,0555
Bloco	6	0,083124	0,013854	0,873	0,5227
Erro	42	0,666421	0,015867		

Tabela 22 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Ureia plasmática, de suínos em fase de creche aos 46 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	7,642606	2,547535	6,042	0,0016
Linear	1	2,144950	2,144950	5,088	0,029

Quadrática	1	5,312167	5,312167	12,600	0,001
Desvio	1	0,185489	0,185489	0,440	0,511
Vacina	1	0,161501	0,161501	0,383	0,5393
Lisina*Vacina	3	2,050266	0,683422	1,621	0,1988
Bloco	6	2,164607	0,360768	0,856	0,5350
Erro	42	17,707456	0,421606		

Tabela 23 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Ureia plasmática, de suínos em fase de creche aos 53 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	0,800858	0,266953	0,415	0,7429
Vacina	1	0,591619	0,591619	0,920	0,3429
Lisina*Vacina	3	2,357664	0,785888	1,222	0,3134
Bloco	6	6,320893	1,053482	1,639	0,1604
Erro	42	27,000089	0,642859		

Tabela 24 A Análise de covariância (opção transformação raiz quadrada), para Ureia plasmática, de suínos em fase de creche aos 68 dias de vida, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Lisina	3	1,867494	0,622498	1,656	0,1910
Vacina	1	0,078847	0,078847	0,210	0,6493

Lisina*Vacina	3	2,652299	0,884100	2,352	0,0858
Bloco	6	5,060383	0,843397	2,244	0,0574
Erro	42	15,785717	0,375850		

Tabela 25 A Análise de covariância para % de NABS, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Bloco	5	1003,995093	200,799019	13,969	0,0000
Lisina	3	144,052045	48,017348	3,240	0,0302
Linear	1	134,630675	134,630675	9,366	0,004
Quadrática	1	8,091009	8,091009	0,563	0,458
Desvio	1	1,330360	1,330360	0,093	0,763
Vacina	1	2,603709	2,603709	0,181	0,6730
Lisina*Vacina	3	124,497378	41,499126	2,887	0,0493
Lisina/NV	3	223,752623	74,584208	5,189	0,0044
Linear	1	167,150350	167,150350	11,628	0,002
Quadrático	1	44,911352	44,911352	3,124	0,086
Desvio	1	11,690920	11,690920	0,813	0,373
Lisina/V	3	44,796800	14,932267	1,039	0,3858
Erro 1	35	503,112599	14,374646		
Período	1	4,038501	4,038501	0,993	0,3249
Lisina*Período	3	6,792286	2,264095	0,557	0,6465
Vacina*Período	1	1,006551	1,006551	0,248	0,6215
Lisina*Vacina*Período	3	28,639453	9,546484	2,348	0,0870
Erro 2	40	162,615958	4,065399		

Tabela 26 A Análise de covariância para % de NRET, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Bloco	5	2394,805418	478,961084	7,303	0,0001
Lisina	3	646,019036	215,339679	3,284	0,0321

Linear	1	202,969035	202,969035	3,095	0,087
Quadrático	1	425,420501	425,420501	6,487	0,015
Desvio	1	17,629500	17,629500	0,269	0,607
Vacina	1	76,808926	76,808926	1,171	0,2866
Lisina*Vacina	3	191,251261	63,750420	0,972	0,4169
Erro 1	35	2295,340857	65,581167		
Período	1	2,750651	2,750651	0,043	0,8359
Lisina*Período	3	549,342103	183,114034	2,893	0,0470
Lisina/Curto	3	1101,680990	367,226997	5,699	0,0014
Lisina/Longo	3	93,680150	93680150	0,485	0,6932
Vacina*Período	1	501,923334	501,923334	7,930	0,0075
Vacina / Curto	1	485,713252	485,713252	7,538	0,0076
Vacina / Longo	1	93,019008	93,019008	1,444	0,2334
Lisina*Vacina*Período	3	810,327153	270,109051	4,268	0,0105
Lisina / NV / Curto	3	195,471817	65,157272	1,011	0,3913
Lisina / NV / Longo	3	140,732646	46,910882	0,728	0,5373
Lisina / V / Curto	3	1530,951246	510,317082	7,920	0,0001
Linear	1	643,245908	643,245908	9,983	0,002
Quadrático	1	736,930838	736,930838	11,437	0,001
Desvio	1	150,774501	150,774501	2,340	0,130
Lisina / V / Longo	3	329,783846	109,927949	1,706	0,1720
Erro 2	40	2531,691408	63,292285		

Tabela 27 A Análise de covariância para % NRET/ABS, de suínos em fase de creche, suplementados com diferentes níveis de LISD (0,96, 1,08, 1,20 e 1,32) desafiados ou não imunologicamente com aplicação de vacina.

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Bloco	5	1488,806443	297,761289	2,907	0,0269

Lisina	3	570,360111	190,120037	1,856	0,1551
Vacina	1	107,167134	107,167134	1,046	0,3134
Lisina*Vacina	3	377,727778	125,909259	1,229	0,3137
Erro 1	35	3585,238982	102,435399		
Período	1	22,863776	22,863776	0,253	0,6175
Lisina*Período	3	780,277703	260,092568	2,881	0,0477
Lisina/Curto	3	1138,272575	379,424192	3,938	0,0114
Lisina/Longo	3	212,365240	70,788413	0,735	0,5334
Vacina*Período	1	704,871009	704,871009	7,808	0,0079
Vacina / Curto	1	680,862675	680,862675	7,066	0,0096
Vacina / Longo	1	131,175469	131,175469	1,361	0,2470
Lisina*Vacina*Período	3	1108,673036	369,557679	4,094	0,0126
Lisina / NV / Curto	3	129,793300	43,264433	0,449	0,7180
Lisina / NV / Longo	3	15,737900	5,245967	0,054	0,9832
Lisina / V / Curto	3	2114,893117	704,964372	7,316	0,0002
Linear	1	669,012963	669,012963	6,943	0,010
Quadrático	1	1241,569350	1241,569350	12,886	0,001
Desvio	1	204,310803	204,310803	2,120	0,150
Lisina / V / Longo	3	576,614312	192,204771	1,995	0,1212
Erro 2	40	3610,864025	90,271601		

---