UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADITIVO SIMBIÓTICO CONJUGADO AO FERRO ORAL PARA LEITÕES LACTENTES

SYMBIOTIC ADDITIVE CONJUGATED TO ORAL IRON FOR SUCKLING PIGLETS

Simara Sá Costa

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Borges Amorim

2023

SUMÁRIO

[1. INTRODUÇÃO GERAL 3](#_Toc124497642)

[2. OBJETIVOS 4](#_Toc124497643)

[2.1 OBJETIVO GERAL 4](#_Toc124497644)

[2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 5](#_Toc124497645)

[3. REVISÃO DE LITERATURA 5](#_Toc124497646)

[3.1 O QUE SÃO ADITIVOS E POR QUE USAR 5](#_Toc124497647)

[3.2 SIMBIOTICO ENZIMATICO E POR QUE USAR 5](#_Toc124497648)

[3.3 CARACTERÍSTICAS, ABSORÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DO FERRO 6](#_Toc124497649)

[3.4 DEFICIÊNCIA DE FERRO NOS LEITÕES LACTENTES 7](#_Toc124497650)

[3.5 SUPLEMENTAÇÃO DE FERRO 8](#_Toc124497651)

[3.6 SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE FERRO 9](#_Toc124497652)

[4. MATERIAL E MÉTODOS 10](#_Toc124497653)

[5. DESEMPENHO 10](#_Toc124497654)

[6. INCIDÊNCIA DE DIARREIA 11](#_Toc124497655)

[8. DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA SECA 11](#_Toc124497657)

[9. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, HISTOFISIOLÓGICA, PESAGEM DOS ÓRGÃOS E PH 11](#_Toc124497658)

[10. ANÁLISE SANGUÍNEA 13](#_Toc124497659)

[11. VIABILIDADE ECONÔMICA 14](#_Toc124497660)

[12. ANÁLISES ESTATÍSTICAS 15](#_Toc124497661)

[13. INOVAÇÃO E/OU ORIGINALIDADES DO PROJETO 15](#_Toc124497662)

[14. ASPECTOS ÉTICOS 15](#_Toc124497663)

[15. RESULTADOS ESPERADOS, PRODUTOS E AVANÇOS 15](#_Toc124497664)

[16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 16](#_Toc124497665)

[17. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES 21](#_Toc124497666)

[18. Orçamento detalhado 22](#_Toc124497667)

# INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, a suinocultura brasileira tem ganhado destaque mundial, estando atualmente em quarto lugar no ranking de produção e de exportações de carne suína (ABPA, 2021).

A cada ano os consumidores e o mercado têm cobrado dos produtores e indústria suinícolas padrão de qualidade, principalmente ligado às medidas sanitárias e segurança alimentar. Nesse contexto, as empresas suinícolas brasileiras já implementam medidas que abordam práticas que seguem alguns dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), como: Fome Zero e Agricultura Sustentável, Saúde e Bem-estar, Educação de Qualidade, Indústria, Inovação e Infraestrutura e, Ação contra a Mudança Global do Clima (ABPA, 2021).

Mesmo com a pandemia da COVID-19, que trouxe desequilíbrios entre o preço da carne e da alimentação dos animais, afetando a margem de lucro dos produtores, os números da suinocultura brasileira atingiram números positivos e recordes no mercado. Para um cenário pós-pandemia, a suinocultura terá que seguir ainda mais medidas de biossegurança e segurança alimentar nos plantéis.

Visando alinhar às tendências mundiais, busca-se investir em tecnologias na produção, sendo o uso de aditivos e suplementação de ferro algumas delas. Os aditivos são conceituados como substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios ou atenda às necessidades nutricionais (MAPA, 2015).

Sabe-se que os aditivos antimicrobianos vêm sendo substituídos mundialmente por conta da resistência microbiana, produção sustentável e pressão dos consumidores por aditivos. Dessa forma os simbióticos, que são a associação dos probióticos com os prebióticos aumenta as chances de crescimento e colonização das bactérias probióticas no organismo. Podem ser classificados como componentes dietéticos funcionais que aumentam a sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestivo, pelo fato de seu substrato estar disponível para fermentação (Food Ingredients Brasil, 2011). Além disso, os resultados da suinocultura são influenciados por fatores relacionados ao manejo, que inclui, principalmente, a nutrição.

O ferro é um mineral essencial para os leitões, pois estes nascem com uma reserva pequena de ferro e, caso não seja fornecido aos animais pode ocorrer deficiência do mineral causando anemia ferropriva levando à letargia, falta de apetite e até à morte.

Rotineiramente, os leitões recebem suplementação de ferro nos primeiros cuidados com recém-nascidos para evitar anemia ferropriva, mas estudos recentes têm demonstrado que, apesar do tratamento com ferro, muitos leitões de crescimento rápido apresentam deficiência de ferro ao desmame (Friendship et al, 2021). Isso se deve à alta dosagem na suplementação de ferro dextrano intramuscular, fazendo com que o ferro não seja metabolizado corretamente, podendo ser tóxico ao organismo dos leitões. Por esses motivos, a suplementação oral de ferro surgiu no mercado como opção eficiente, biodisponível e menos dolorosa para essa fase.

A suinocultura possui diversas fases que merecem atenção, porém, a fase mais sensível do sistema de produção é a maternidade. Assim, para evitar a perdas econômicas e melhorar a sobrevivência nessa fase, estratégias nutricionais e de manejo vem sendo adotadas para fornecer condições adequadas aos leitões, principalmente no período de lactação.

# OBJETIVOS

# OBJETIVO GERAL

Os aditivos simbióticos e a suplementação de ferro são alvos recorrentes de pesquisas envolvendo suínos, especialmente em leitões, visando à utilização nas dietas em substituição aos antibióticos, que vêm sofrendo restrições nos últimos anos.

Considerando o exposto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a eficácia de um aditivo simbiótico conjugado ao ferro oral em leitões lactentes.

# OBJETIVOS ESPECÍFICOS

* Avaliar a microbiota e histofisiologia intestinal dos leitões lactentes;
* Avaliar o pH estomacal;
* Avaliar parâmetros sanguíneos;
* Determinar matéria seca de fezes de animais que apresentarem diarreia;
* Avaliar o comportamento dos animais após administração dos tratamentos;
* Avaliar a incidência de diarreia;
* Avaliar o desempenho dos leitões lactentes;
* Avaliar a viabilidade econômica do produto.

# REVISÃO DE LITERATURA

# O QUE SÃO ADITIVOS E POR QUE USAR

A produção animal é altamente exigente quanto a nutrição animal, visando a qualidade e o custo. Sendo assim adicionar compostos oriundos da biotecnologia é essencial para atingir as expectativas quanto a qualidade e até mesmo reduzir o custo da produção (Araújo et al, 2005). – DURANTE A FASE DA MATERNIDADE AO DESMAME/ESTRESSE/USO DE ANTIBIÓTICOS E SEU BANIMENTO – Diante deste cenário, os aditivos veem sendo incorporado na alimentação animal com esse propósito de melhorar a qualidade e rentabilidade do produto (Nutritime, 2005).

No Brasil, segundo a Instrução Normativa 13/04, os produtos que são destinados e adicionado intencionalmente, mas que não se utiliza normalmente na alimentação animal se torna um aditivo, podem conter ou não valor nutritivo e que melhorem as características zootécnicas do animal sadio. Esses aditivos são classificados como tecnológico, zootécnicos e outros (MAPA, 2016).

# SIMBIOTICO ENZIMATICO E POR QUE USAR

Existe uma grande variedade de aditivos voltada à nutrição animal, todos eles buscam cumprir as exigências do mercado tecnológico, nutricional, zootécnico e sensorial. Dentre essa gama de diversidade existem os simbióticos.

O aditivo simbiótico é a junção do probiótico e o prebióticos, ou seja, possui o fornecimento dos microrganismos e as substâncias que estimulam o desenvolvimento e a atividade dos mesmos, potencializando ainda mais os efeitos de ambos os produtos (Menten, 2001). E Brito et al (2014) ainda complementam que existe a possibilidade de que esses simbióticos possam atuar de forma específica em determinados locais do trato gastrointestinal.

A utilização de aditivo em dietas pré-iniciais é um grande recurso que se utiliza para prevenir problemas possíveis em leitões desmamados precocemente, pois pode atuar com eficácia, reduzindo bactérias patogênicas e modificando a flora intestinal dos animais (Alexopoulos et al., 2004). Com isso, ao visualizar a situação do período inicial de leitões após o desmame vem sendo utilizado o aditivo com ação simbiótica nas dietas (Sanches, 2005).

Com essa linha de segmento, Junqueira et al (2009) ao verificar a utilização de aditivos nas rações de suínos em terminação, constataram que essa adição proporciona resultados mais expressivos em relação ao desempenho dos animais. Já Zangeronimo et al. (2011) encontraram resultados satisfatórios na adição de simbióticos associado ao mix de ervas para leitões na fase inicial. Rondon et al. (2019) encontraram bons resultados em vitelos ao desmame quando incluiu componentes simbióticos voltados aos Lactobacillus, e esse aditivo melhorou o peso vivo, ganho médio diário e o ganho de peso dos animais.

# CARACTERÍSTICAS, ABSORÇÃO E BIODISPONIBILIDADE DO FERRO

O ferro é um mineral essencial para os leitões, pois faz parte da composição de várias enzimas e participa de vários processos biológicos, como o transporte de oxigênio, produção de hemoglobina e mioglobina, diferenciação celular e outros processos vitais no corpo (Lieu et al., 2001). Este elemento pode estar, principalmente, disponível aos animais em duas formas: ferroso (Fe2+) e férrico (Fe3+), e podem se ligar ao oxigênio, nitrogênio e enxofre (Kontoghiorghes e Kontoghiorghe, 2020). O ferro não-heme ou inorgânico da dieta está disponível como um óxido no organismo (Fe3+).

A absorção do ferro, se dá na extremidade apical do enterócito, que possui um redutor férrico como enzima (citocromo B duodenal), transformando o ferro férrico (Fe3+) em ferro ferroso solúvel (Fe2+), fazendo com que este passe pela mucosa do intestino. O ferro não heme é transportado pela proteína chamada transportador de metal divalente 1, que também transporta outros metais como zinco, cobre e cobalto, através do mecanismo de acoplamento de prótons (Barragán-Ibañez et al., 2016). O ferro ferroso é a forma mais solúvel, e mais indicada para se suplementar os animais, este oriunda da hemoglobina e mioglobina, e o ferro férrico, geralmente, é encontrado nos vegetais (Cocato, 2004).

O ferro oriundo das dietas normalmente está na forma ferro-heme, vindo da hemoglobina e da mioglobina, sendo mais biodisponível por se apresentar na valência ferrosa (Fe2+). O ferro não-heme, que inclui formas de transporte e armazenamento de ferro como a transferrina e a ferritina, ocorre na valência férrica (Fe3+), por isso menor biodisponibilidade. Este precisa ser reduzido à valência ferrosa, solúvel no pH do lúmen intestinal, tornando-o mais biodisponível (Cocato et al., 2008). O estado do ferro pode afetar tanto a absorção quanto a biodisponibilidade do ferro aos animais.

O ferro quelato, por exemplo, é um tipo de mineral orgânico ligado a um aminoácido, tem a capacidade maior de ser absorvido, com aproximadamente 90%, com vantagem de ser melhor biodisponível, além de não interferir na absorção de outros nutrientes, já mineral inorgânico tem aproximadamente 10 a 20% de absorção (Infinity Pharma, 2018).

# DEFICIÊNCIA DE FERRO NOS LEITÕES LACTENTES

Um problema muito comum nas granjas é a deficiência de ferro em leitões lactentes. Caso ocorra deficiência do mineral organismo, causa anemia, levando à letargia, falta de apetite e até à morte (Hankins, 1932).

O ferro precisa ser suplementado de alguma forma, uma vez que o colostro possui pouca quantidade de ferro, (em torno de 1 mg/dia), o que pode levar à carência de 6 mg/dia. Csapó et al. (1996), constataram que o teor de ferro do colostro foi menor no parto (1,70 mg kg-'), e no leite atingiu valores máximos (2,73-2,92 mg kg-') nos dias 2 e 3 de lactação; as concentrações de ferro (2,02-2,44 mg kg-') do dia 5 até o final da lactação foram aproximadamente o dobro do nível do leite de vaca.

Sabe-se que a necessidade diária de um leitão é de 7 a 16 mg/dia de ferro e a quantidade disponível no leite não é suficiente para suprir as necessidades do leitão (Venn et al., 1947).

Leitões recém-nascidos geralmente possuem pouca reserva de ferro, aproximadamente 50 mg, sendo a maior parte armazenada na forma de hemoglobina (Venn et al., 1947), no sistema reticuloendotelial, ferritina e a mioglobina no fígado (Wallach e Kanaan, 2003). A principal fonte de ferro nos primeiros dias de vida dos leitões são suas reservas corporais e a ingestão do leite (Szudzik et al., 2018).

Nos primeiros dias, após o nascimento, os leitões têm crescimento rápido, além do aumento do volume sanguíneo, alta atividade eritropoiética (reticulócitos na medula óssea) o que resulta no aumento do número de glóbulos vermelhos que requerem grande quantidade de ferro para manter o nível adequado de hemoglobina (Szudzik et al., 2018). Portanto, deve-se manter ótimo status de ferro no organismo, observado os níveis de hemoglobina no sangue, no qual se indica concentrações normais em níveis de 100 g/L (Dong et al., 2020), um bom desenvolvimento corporal, utilizando de uma fonte alternativa de ferro para suplementação.

# SUPLEMENTAÇÃO DE FERRO

Há fatores que podem comprometer o desempenho dos animais, como as diferenças nas concentrações corporais de Fe, consequências de diferentes práticas de manejo, como o uso de ferro injetável (intramuscular) ou aplicado via oral disponível nas rações, e o ambiente que os animais são alojados, como estruturas fechadas (confinados) ou acesso à piquetes (Mahan, e Shields., 1998).

Lipinski et al. (2010), apresentaram que a quantidade presente (100 a 200 mg) de ferro administrado em uma única dose a um leitão com apenas cerca de 40 a 50 mg de ferro em seu corpo ao nascimento seja ineficiente para ser metabolizado e desintoxicado com eficiência e, evitar a redução do nível de hemoglobina eritroide.

Quando se tem uma quantidade muito elevada de Fe disponível no organismo, pode gerar radicais hidroxila imoderados através da reação de Fenton, levando a algumas vias de morte dentro e fora das mitocôndrias, como apoptose e necrose (Qi et al., 2019). Além disso, quando os animais ingerem elevada quantidade de Fe, também, pode-se causar peroxidação lipídica nas células epiteliais da mucosa intestinal, aumentar a permeabilidade da membrana e prejudicar a função da barreira intestinal (Knutson et al., 2000; Lu et al., 2011; Tan et al., 2013).

Nos últimos anos, a principal forma de administração de ferro tem sido através da aplicação intramuscular de ferro dextrano nos primeiros dias de vida (Pissinin, 2016). E estudos recentes têm demonstrado que apesar do tratamento com ferro dextrano, muitos leitões de crescimento rápido apresentam deficiência de ferro ao desmame (Friendship et al., 2021).

Friendship et al. (2021) observaram que a alta dosagem de ferro dextrano intramuscular pode estimular um feedback negativo através da indução de hepcidina, reduzindo a disponibilidade desse mineral no organismo.

# SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE FERRO

Por se considerar que o consumo voluntário de ferro oral pelos leitões durante a primeira semana de vida será inadequado, tem-se empregado a prática de administrar uma dose oral diretamente na boca de leitões recém-nascidos (Egeli e Framstrad, 1998).

Egeli e Framstad (1998), constataram que ao administrar 52 mg de Fe quelatado com ácido glutâmico por via oral em leitões lactentes no primeiro dia de vida, houve um efeito positivo na hematologia nos dias 4 e 7 produzindo mais hemoglobina e eritrócitos em relação aos leitões que não receberam a suplementação. E pode estar relacionado à disponibilidade do ferro para a síntese de hemoglobina mais cedo após a administração do que com o Fe-dextrano injetado.

Segundo Miller e Ullrey (2017), o ferro suplementar pode ser administrado por via oral de diversas formas, como: fornecendo terra na baia de maternidade, colocando uma solução de ferro no úbere da porca, administrando pílulas de ferro, pasta ou líquidos aos leitões, fornecendo altos níveis de ferro na dieta da porca e permitir que os leitões tenham acesso à ração e fezes da porca.

Para Jakobsen et al. (2021), a aplicação intramuscular aumenta o risco de infecções, overdose, causa estresse para os animais e é demorado. E para evitar os efeitos prejudiciais desse tipo de aplicação, as preparações orais podem ser administradas.

A suplementação oral de ferro surgiu no mercado como opção eficiente, biodisponível e menos dolorosa para os leitões. Segundo Merlot (2022), uma das vantagens do fornecimento oral de ferro, é que o intestino regula a absorção de ferro, além disso, o autor indica a administração por via oral (duas doses de 100 mg de ferro).

# MATERIAL E MÉTODOS

O experimento será desenvolvido em uma granja comercial, Granja Suinobrás Alimentos LTDA., no município de Diamantino – MT. Serão utilizadas 24 leitegadas oriundas de matrizes de diferentes ordens de parto (entre terceira e quarta), alocadas em condições ambientais iguais e sujeitas aos mesmos manejos segundo protocolo da granja. O experimento terá duração de 21 dias, desde o nascimento ao desmame dos leitões, e o Líquido suíno (aditivo simbiótico) será administrado no primeiro e terceiro dia de vida dos leitões. Os animais serão alojados em um galpão de maternidade de alvenaria, com cortinas laterais, em baias metálicas suspensas, equipadas com comedouro, bebedouro tipo chupeta e escamoteadores com campânulas com resistência elétrica.

O delineamento experimental será em blocos casualizados com quatro tratamentos:

Trat. 1 – Sem aplicação de ferro (Controle negativo);

Trat. 2 – Aplicação de 200mg de ferro dextrano via injetável

(Controle positivo);

Trat. 3 – Aplicação de 200mg de ferro dextrano via injetável + Líquido suíno tradicional (Aditivo simbiótico) via oral;

Trat. 4 – Líquido suínos com ferro (Aditivo simbiótico) via oral.

# DESEMPENHO

Para a análise de desempenho dos animais, realizará a pesagem das leitegadas no 1º (nascimento), 10º e 21º dias de idade dos leitões, sendo analisados os pesos médios dos leitões, conversão alimentar e ganho de peso médio diário da leitegada (GPMD) nos seguintes períodos:

Período 1 – do 0 (nascimento) aos 10 dias de idade;

Período 2 – dos 10 dias aos 21 dias de idade;

Período 3 – do 0 (nascimento) aos 21 dias de idade (desmame).

Para o peso do leitão, será realizada a pesagem apenas de leitões com nascimento durante o dia visando a padronização com maior precisão.

No caso de morte na leitegada, o leitão será pesado no dia da morte e seu peso descontado do peso da leitegada, conforme fator de correção citado por Sakomura e Rostagno (2016).

# INCIDÊNCIA DE DIARREIA

O escore de fezes, será realizado nos 10 primeiros dias do experimento pela manhã, sendo observado por um único observador as características físicas das fezes dos animais, avaliando quanto consistência nos escores: 1: fezes normais, 2: fezes pastosas e 3: fezes líquidas. Os escores 1 e 2 serão considerados fezes não diarreicas e o 3 diarreica.

1. OBSERVAÇÃO COMPORTAMENTAL

Será realizada após a administração do simbiótico enzimático. As reações dos leitões serão observadas por cinco minutos imediatamente após a administração do suplemento. Sinais de comportamentos de rejeição serão registrados, como movimento lateral da cabeça, exposição repetida da língua, fricção da boca contra madeira ou outras superfícies, auto isolamento ou atrasos no retorno à amamentação.



# DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA SECA

Para a determinação da matéria seca das fezes com secagem em estufa a temperatura pré-determinada e ventilação forçada, serão realizadas coletas aleatórias de fezes de animais que apresentarem diarreia nos primeiros dez dias em leitões de cada leitegada e tratamentos que apresentarem diarreia, em cada período.

# AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, HISTOFISIOLÓGICA, PESAGEM DOS ÓRGÃOS E PH

Os animais de cada leitegada terão pesos similares, visando evitar diferenças de peso. Serão sacrificados 6 leitões ao nascimento (selecionados por apresentarem peso médio das leitegadas escolhidas), aos 10º e 21º dias de nascimento 24 leitões com peso médio da leitegada (de quatro leitegadas por tratamento em cada data) serão utilizados, totalizando 54 animais, sendo um animal por leitegada, caracterizando assim seis repetições. O abate será realizado por meio de insensibilização elétrica, do tipo eletronarcose, utilizando um equipamento automático de contenção com a aplicação de eletricidade em três pontos: dois à frente da orelha, nas fossas temporais (50 Hz, 1,40 A e 350 V) e um no coração (50 Hz, 0,60 A e 90 V) durante 4 segundos, segundo Marcon (2017).

Este tipo de insensibilização gera a descarga elétrica necessária para causar a profunda inconsciência do animal, o não retorno da sensibilidade e a sangria deve ser realizada rapidamente (Ludtke et al., 2010). Também reduz o dano da carcaça e aumenta a eficiência de sangramento devido à alta frequência elétrica aplicada (Sabow; Nakyinsiged; Adeyemia, 2017).

Será realizada a avaliação do peso vazio do estômago, intestino delgado, e intestino grosso, baço, fígado e pâncreas; pH do estômago; contagem da população de coliformes totais, contagem das populações das famílias Bacteroidaceae (íleo, ceco e cólon), Lactobacillaceae (estômago, intestino delgado, íleo e ceco), Bifidobacteriaceae (ceco e cólon), Eubacteriaceae (ceco e cólon), Bacillaceae (íleo), Clostridiaceae (íleo, ceco e cólon), Streptococcaceae (estômago, intestino delgado e íleo) e Enterobacteriaeae (estômago, intestino delgado, íleo, ceco e cólon) no estômago, intestino delgado e grosso e nas fezes (reto).

Para a retirada dos órgãos digestivos (estômago, intestino delgado e intestino grosso), os animais serão sacrificados através de insensibilização por eletronarcose, com posterior sangria e evisceração, sendo feita uma incisão longitudinal na cavidade abdominal. Os órgãos serão lavados para a retirada do conteúdo da digesta, colocados sobre papel toalha para remoção do excesso de umidade e em seguida pesados para a determinação do peso absoluto e, com base no peso vivo dos leitões, serão calculados os pesos relativos dos órgãos. O pH do conteúdo dos órgãos serão avaliados após o abate dos animais, com auxílio de um medidor de pH portátil e seguindo a metodologia de (AOAC, 1990).

Para a contagem de coliformes totais e *Escherichia coli,* será colhido 10g do conteúdo do ceco, sendo a seguir adicionado 90mL de solução salina 0,85% e realizada a homogeneização em “stomacher” por dois minutos, obtendo-se assim a diluição 10̄¹. A partir desta, serão preparadas diluições decimais seriadas, sendo que de cada uma delas será transferido 1mL para placas de *Petrifilm* ECTM e, em seguida, incubadas a 35ºC por 24h (AOAC, 2000). A contagem de *Lactobacillus* spp. será realizada a partir das diluições decimais seriadas, descritas para a contagem de *Escherichia coli*, transferindo-se 0,1mL para placas de Petri contendo meio Man-Rogosa-Sharpe (semeadura de superfície), sendo as mesmas incubadas a 30ºC por cinco dias em estufa com atmosfera contendo 5% de gás carbônico (Downes et al, 2001). Os dados de população microbiana serão expressos em log na base 10. Serão coletados, separadamente, os conteúdos do estômago, intestino delgado e grosso pelo método de raspagem para avaliação microbiológica das demais populações. As amostras serão mantidas refrigeradas até a realização da análise, que seguirão para um laboratório comercial especializado.

Também será realizada a avaliação microbiológica através de diagnóstico entérico, via suabe retal. Serão realizadas coletas aleatórias de 6 leitões ao nascimento (selecionados por apresentarem peso médio das leitegadas escolhidas), aos 10º e 21º dias de nascimento 24 leitões com peso médio da leitegada (de quatro leitegadas por tratamento em cada data) serão utilizados, totalizando 54 animais, sendo um animal por leitegada, caracterizando assim seis repetições, as amostras de fezes serão coletadas diretamente por swabs retais e armazenadas a 4°C, e encaminhadas ao laboratório de análises microbiológicas para realização do isolamento e identificação do agente, caso exista. O método proposto será o de Koneman et al. (2008).

As análises histológicas serão realizadas nas porções do duodeno e do jejuno, sendo realizadas medidas de altura das vilosidades (AV) e profundidade das criptas (PC), segundo metodologia proposta por Luna (1968), citado por Nabuurs et al. (1993).

# ANÁLISE SANGUÍNEA

No primeiro dia do experimento será realizada colheita de sangue por punção da veia cava, utilizando contenção física de 6 leitões ao nascimento (selecionados por apresentarem peso médio das leitegadas escolhidas), aos 10º e 21º dias de nascimento 24 leitões com peso médio da leitegada (de quatro leitegadas por tratamento em cada data) serão utilizados, totalizando 54 animais, sendo um animal por leitegada, caracterizando assim seis repetições.

As amostras serão acondicionadas em tubos contendo ou não etilenodiaminotetracetato dissódico (EDTA) para obter plasma e tubos sem anticoagulantes para obter o soro, respectivamente, aproximadamente 4mL. As amostras serão identificadas, armazenadas em caixa de isopor contendo gelo e enviadas ao laboratório de análises hematológicas. Os soros serão separados por centrifugação e armazenados para análises posteriores. Os tubos sem anticoagulante serão destinados às análises de concentração de ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro.

As contagens dos números de leucócitos, contagem de reticulócitos, dosagem de hemoglobina e hematócrito; os índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), distribuição de células vermelhas (RDW), contagem de células vermelhas (RBC) e a contagem de plaquetas serão realizadas por Analisador hematológico. A porcentagem de hematócrito será obtida através do cálculo derivado dos valores de VCM e hemácias por impedância, e a taxa de hemoglobina por espectrofotometria. A concentração de proteínas plasmáticas totais, após a coagulação pelo calor, será determinada por refratometria. A contagem de reticulócitos será realizada por meio de citômetro de fluxo.

O teor de ferro sérico (SI) e a capacidade total de ligação de ferro (TIBC) serão determinados usando kits de ensaio de ferro, usando método colorimétrico. A dosagem da concentração de ferro sérico será realizada em analisador bioquímico semiautomático com Kit Ferro crx® (Biotécnica Ltda, Brasil) utilizando a metodologia cromazurol B, onde a intensidade da cor produzida é diretamente proporcional à concentração de ferro na amostra. Para a capacidade total de ligação do ferro (CTLF) será utilizado reagente comercial de capacidade de ligação do ferro (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), segundo metodologia proposta por Almeida (2016).

# VIABILIDADE ECONÔMICA

A viabilidade econômica do aditivo simbiótico será realizada com base na aplicação do produto e peso ganho pelos leitões em cada tratamento nos períodos de 0 a 10 dias e 10 a 21 dias. Ao final, comparações serão feitas entre o Tratamento Controle e os Tratamentos com ferro e o aditivo e, entre todos os tratamentos.

# ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a análise de desempenho, incidência de diarreia e viabilidade econômica serão utilizadas 24 leitegadas; e para análise sanguínea e observação comportamental 54 leitões. Os dados serão submetidos à análise de variância e comparando as médias pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de possibilidade de erro (P≤0,05).

# INOVAÇÃO E/OU ORIGINALIDADES DO PROJETO

O trabalho é inédito e será realizado com o intuito de obter informações referentes ao uso do simbiótico aliado ao ferro que será testado. Com potencial de ser aplicado de forma segura rotineiramente nas granjas suinícolas nessa fase de maternidade ao desmame.

# ASPECTOS ÉTICOS

Este experimento será conduzido levando-se em consideração os princípios éticos básicos para a pesquisa envolvendo animais no contexto brasileiro, seguindo a Lei 11.794 de 08/10/2008, Resolução Normativa nº 1, de 09/07/2010 e Resolução Normativa Nº 6, de 10/07/2012 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

O projeto de pesquisa encontra-se submetido junto ao Comitê De Ética No Uso De Animais (CEUA - CUIABÁ/UFMT). A pesquisa somente será desenvolvida após a aprovação do Comitê De Ética No Uso De Animais (CEUA - CUIABÁ/UFMT, que realizará apreciação do projeto de pesquisa em concordância com o que determina a Resolução normativa Nº 38, DE 17 DE ABRIL DE 2018 do Conselho Nacional De Controle De Experimentação Animal – CONCEA, a Lei 11.794 de 08/10/2008, Resolução Normativa nº 1, de 09/07/2010, e Resolução Normativa Nº 6, de 10/07/2012 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

# RESULTADOS ESPERADOS, PRODUTOS E AVANÇOS

Com o término da execução do projeto espera-se que ocorra a determinação do efeito do aditivo simbiótico e a suplementação de ferro sobre os parâmetros a serem analisados.

Espera-se que o aditivo simbiótico proporcione a preservação da histomorfologia dos órgãos digestivos, aumentando a área de absorção intestinal, contribuindo para boa capacidade digestiva e absortiva do órgão, barreira contra microrganismos patógenos, principalmente os que levam à diarreia e melhore a microflora intestinal dos animais;

Redução da incidência de anemia ferropriva nos leitões recém-nascidos a partir da melhoria dos índices hematológicos;

Melhora do desempenho dos leitões até a fase de desmame;

Possibilidade de substituir o uso de antimicrobianos utilizados na cadeia produtiva de suínos pelo uso de aditivos simbióticos.

Possibilidade de substituir a aplicação de ferro injetável utilizado na cadeia produtiva de suínos pelo uso de aditivo simbiótico conjugado ao ferro por aplicação oral;

Possibilidade de viabilidade econômica do aditivo.

Como produtos e avanços:

Gerar dois artigos científicos para posterior submissão a revistas internacionais;

Apresentar os artigos em congressos nacionais;

Atender alunos da graduação;

Atender alunos de pós-graduação gerando treinamento para a execução do projeto.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2021**. 2021. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA\_Relatorio\_Anual\_2021\_web.pdf>. Acessado em: 19 ago. 2021.

ALEXOPOULOS, C. et al. Field Evaluation of the effect of a probiotic-containing Bacillus lincheniformis and Bacillus subtilis spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.51, n.6, p.306-312, 2004.

ALMEIDA, R.F.; LOPES, E.L.; NUNES, R.C.; MATOS, M.P.C.; et al. Diferentes fontes de ferro na prevenção da anemia ferropriva e no desempenho de leitões lactentes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, 2016.

ANVISA – Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 241, de 25 de julho de 2018**. 2018. Disponível em: < http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/RDC\_241\_2018\_.pdf/941cda52-0657-46dd-af4b-47b4ee4335b7> Acessado em: 19 ago . 2021.

ARAUJO, D. M. **Avaliação do farelo de trigo e enzimas exógenas na alimentação de frangas e poedeiras**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, 66p, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 15. ed. 1990.

BARRAGÁN-IBAÑEZ, G.; SANTOYO-SÁNCHEZ, A.; RAMOS-PEÑAFIEL, C.O. Iron deficiency anaemia. **Revista Médica del Hospital General de México**, v. 79, n. 2, p. 88-97, 2016.

BRITO, J. M. et al. Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes – revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.11, n.1, p. 3070-3084, 2014.

CAMPESTRINI, E.; DA SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de Enzimas na Alimentação Animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n°6, p.259-272, 2005.

COCATO, M. L. **Avaliação em leitões da biodisponibilidade de ferro de diferentes fontes (ferro microencapsulado com carboximetilcelulose sódica, ferro microencapsulado com alginato, ferro quelado com metionina e ferro eletrolítico)** [dissertação]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2004. Acessado em: 17 mar 2022.

COCATO, M.L. et al. Biodisponibilidade de ferro em diferentes compostos para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 12, p. 2129-2135, 2008.

CSAPÓ, J. et al. Protein, fats, vitamin and mineral concentrations in porcine colostrum and milk from parturition to 60 days. **International Dairy Journal**, v. 6, n. 8–9, p. 881-902, 1996.

DONG, Z. et al. Effects of Iron Deficiency on Serum Metabolome, Hepatic Histology, and Function in Neonatal Piglets. **Animals**, 2020.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed., 676p., 2001.

EGELI, A. K. & FRAMSTAD, T. Effect of an Oral Starter Dose of Iron on Haematology and Weight Gain in Piglets Having Voluntary Access to Glutamic Acid-chelated Iron Solution. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 39, n. 3, 1998.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Probióticos, prebióticos e simbióticos**. Revista Food Ingredients Brasil, n. 17, 2011. Disponível em: <https://revista-fi.com.br/upload\_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf>. Acessado em: 19 ago. 2021

FRIENDSHIP. R.; SEIP. V.; AMEZCUA, R. A comparison of 4 iron supplementation protocols to protect suckling piglets from anemia. **Canadian Veterinary Journal**, v. 62. p. 55-58, 2021.

HANKINS, G. L. **Practical Methods to Control Anemia In Suckling Pigs**. Oregon State Agricultural College, 47p, 1932.

INFINITY PHARMA. **Minerais quelatos (bisglicinato) mineral de alta absorção**. 2018. Disponível Em: <https://dermomanipulacoes.vteximg.com.br/arquivos/Magnesio\_Quelado.pdf>. Acessado Em: 20 mar. 2022.

JAKOBSEN, N.; PEDERSEN, M.; AMDI, C. Peroral iron supplementation can be provided to piglets through a milk cup system with results comparable to parenteral iron administration. **Translational Animal Science**, v. 5, 2021.

JUNQUEIRA, O. et al. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, 2009.

KNUTSON, M.  D. et al. Both iron deficiency and daily iron supplements increase lipid peroxidation in rats. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 621–628, 2000.

KONEMAN, E. W. et al., **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. 6ª ed., 2008.

KONTOGHIORGHES, G. J.; KONTOGHIORGHE. C. N. Iron and Chelation in Biochemistry and Medicine: New Approaches to Controlling Iron Metabolism and Treating Related Diseases. **Cells**, 2020.

LIEU, P. T. et al. The roles of iron in health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, 2001.

LIPINSKI, P. et al. Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. **American Journal of Pathology**, 2010.

LU, J. J., et al. The anti-cancer activity of dihydroartemisinin is associated with induction of iron-dependent endoplasmic reticulum stress in colorectal carcinoma HCT116 cells. **Investigational New Drugs**, v. 29, p. 1276– 1283, 2011.

LUDTKE, C. B. et al. **Abate humanitário suínos**. WSPA, Rio de Janeiro, 2010.

MAHAN, D. & SHIELDS, R. Macro and Micromineral Composition of Pigs from Birth to 145 Kilograms of Body Weight. **Journal of animal science**, v. 76, 1998.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 44 de 15 de dezembro de 2015**. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-sda-mapa-ndeg-44-de-15-12-2015.pdf/view>. Acessado em: 02 set. 2021.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 13/04 de 30 de Novembro de 2004**. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. 2004. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Acessado em: 23 mar. 2022.

MARCON, A. V. **Qualidade da carne de suínos submetidos a diferentes métodos de insensibilização no abate**. [dissertação]. Universidade Federal Da Grande Dourados, Faculdade De Ciências Agrárias; 2017. Disponível Em: https://files.ufgd.edu.br/arquivos/arquivos/78/MESTRADO-ZOOTECNIA/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Adila%20Vasconcelos%20Marcon.pdf. Acessado Em: 24 mar. 2022.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na nutrição de aves. In: 38ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...,** p.141-157, 2001.

MERLOT, M. Improved health, welfare, and viability in young pigs: oral iron supply in neonatal piglets to avoid anaemia. In: Früh et al.: **Welfare and environmental impact of organic pig production, A collection of factsheets**, Research Institute of Organic Agriculture FiBL. Available at shop.fibl.org, publication. n. 1300, 2022.

MILLER, E. R. & ULLREY, D. E. Baby pig anemia. **Pullman**, 2017. Disponível Em: <https://rex.libraries.wsu.edu/view/delivery/01ALLIANCE\_WSU/12332552390001842>.

MORENO, A.M.; SOBESTIANSKY, J.; LOPEZ, A.C.; SOBESTIANSKY, A.A.B. **Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 30p, 1997.

NABUURS, M. J. A. et al. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in the Netherlands. **Research in veterinary science**, v. 55, n. 1, p. 78-84,1993.

PISSININ, D. Ferro para leitões: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Nutritime,** v.13, n.6, p.4874- 4882, 2016.

QI, X. et al. Mechanism and intervention measures of iron side effects on the intestine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–13, 2019.

RONDÓN, A. et al. Obtención de un biopreparado simbiótico (mezcla de pulpa de Agave fourcroydes Lem. y PROBIOLACTIL®) para su aplicación en terneros. **Agrisost**, v. 25, n. 2, p. 1-9, 2019. Disponível Em: < https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/agrisost/article/view/e2737>. Acessado Em: 22 mar. 2022.

SABOW, A. B.; NAKYINSIGED, K., ADEYEMIA, K. D. High frequency pre-slaughter electrical stunning in ruminants and poultry for halal meat production: A review. **Livestock Science**, v. 202, p. 124-134, 2017.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2 ed., 2016.

SANCHES, A. et al. Utilização de probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, 2006.

SZUDZIK, M. et al. Iron Supplementation in Suckling Piglets: An Ostensibly Easy Therapy of Neonatal Iron Deficiency Anemia. **Pharmaceuticals**, 2018.

TAN, T. C. H. et al. Excess iron modulates endoplasmic reticulum stress-associated pathways in a mouse model of alcohol and high-fat diet induced liver injury. **Laboratory Investigation**. v. 93, p. 1295–1312, 2018.

VENN, J. A. J. et al. Iron metabolism in piglet anemia. **Journal of Comparative Pathology**, v. 5, 1947.

WALLACH, J.; KANAAN, S. **Interpretação de exames laboratoriais**, 2003. 1250p.

WAN, D. et al. Maternal dietary supplementation with ferrous N-carbamylglycinate chelate affects sow reproductive performance and iron status of neonatal piglets, **Animal**, v. 12, n. 7, p. 1372-1379, 2018.

ZANGERONIMO, M. G. et al. Herbal extracts and symbiotic mixture replacing antibiotics in piglets at the initial phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.5, p.1045-1051, 2011.

ZHUO, Z. et al. Heme and Non-heme Iron on Growth Performances, Blood Parameters, Tissue Mineral Concentration, and Intestinal Morphology of Weanling Pigs. **Biological Trace Element Research**, v. 187, 2019.

# CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 2022 | | | | | | | | | | | | |
| Atividade/mês de desenvolvimento | JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | DEZ |
| Revisão de Literatura | x | x | x | x | x | x | x | x | x | x | x | x |
| Planejamento e preparação do ensaio |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | x | x |
| Condução do ensaio (\*) |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise Laboratorial |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tabulação dos dados |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Elaboração do relatório final |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2023 | | | | | | | | | | | | |
| Revisão de Literatura |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Planejamento e preparação do ensaio. |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Condução do ensaio (\*) | x | x |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Análise Laboratorial |  |  | x |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Tabulação dos dados |  |  |  | x |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Elaboração do relatório final |  |  |  |  | x | x |  |  |  |  |  |  |

\* Pesagem, marcação, administração do aditivo, avaliação sanguínea, determinação de matéria seca, observação de diarreia e comportamental.

# Orçamento detalhado

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Itens | Valor (un) | Quantidade  (un) | Valor Total (R$) |
| Transporte 1 | 600,00 | 2 | 1200,00 |
| Hospedagem 2 | 200,00 | 6 | 1200,00 |
| Ajuda de custo3 | 200,00 | 6 | 1200,00 |
| Leitões 4 | 136,00 | - | ? |
| Outros 5 |  |  | 1000,00 |
| Análises | | | |
| Ferro sérico | 45,00 | 60 | 2700,00 |
| Capacidade ligação | 35,00 | 60 | 2100,00 |
| Hemograma | 55,00 | 48 | 2640,00 |
| Total | | | 12040,00 |



Obs.: Todos os itens solicitados se aprovados permitirão complementar nossos recursos e propiciará a execução na íntegra dos ensaios, possibilitando a realização e acompanhamento de todos os ensaios pelos estudantes da UFR, bem como a maior divulgação dos resultados para empresa e eventos científicos e nas Instituições parceiras envolvidas nesta pesquisa (UFMT, FCAV/Unesp e FMVZ/Unesp).

A UFR não tem recursos para aquisição dos suínos e não possuí setor de suinocultura para disponibilização dos animais, fazendo assim há necessidade da aquisição destes, uma vez que representam grande parcela do valor total do projeto.