

# FERRO E IMUNIDADE HUMORAL EM SUÍNOS ALIMENTADOS COM FITASE E NÍVEIS REDUZIDOS DE FÓSFORO

RENZO FREIRE ALMEIDA,<sup>1</sup> EURIPEDES LAURINDO LOPES,<sup>2</sup> ROMÃO DA CUNHA NUNES,<sup>2</sup>  
MOEMA PACHECO CHEDIAK MATOS,<sup>2</sup> MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI,<sup>2</sup> JURIJ SOBESTIANSKY,<sup>2</sup>  
LUIZ AUGUSTO BATISTA BRITO<sup>2</sup> E LUCIANA MOURA RUFINO<sup>3</sup>

1. Professor da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG).

2. Professores da Escola de Veterinária da UFG.

3. Mestranda em Ciência Animal da Escola de Veterinária da UFG.

## RESUMO

A utilização de enzimas exógenas, como a fitase, permite um melhor aproveitamento de nutrientes, incrementando a utilização do fósforo, dos aminoácidos e da energia. O presente estudo foi desenvolvido com objetivo de: 1 - avaliar o sistema imune por meio da quantificação de componentes sanguíneos relacionados ao metabolismo do ferro e 2 - determinar elementos da resposta imunológica humoral, em suínos recebendo dietas contendo fitase, níveis reduzidos de fósforo inorgânico (Pi) e sem suplemento micromineral e vitamínico. Utilizaram-se 48 fêmeas suínas de linhagem comercial, com peso inicial de 60kg, distribuídas em seis tratamentos com oito animais em cada grupo. A colheita de sangue foi feita em um grupo de 24 animais com 100kg e outro grupo de 24 animais com 120kg. Tratamentos: 1. ração basal (grupo-controle); 2. ração 1, sem suplemento micromineral/vitamínico; 3. ração 2, com fitase; 4. ração 2, sem 1/3 de fósforo inorgânico (Pi) e com fitase; 5. ração 2, sem 2/3 de Pi e com fitase, 6. ração 2, sem Pi e com fitase. Não se observaram diferenças ( $p>0,05$ ) nos valores obtidos do leucograma e contagem de plaquetas para os animais nos diferentes tratamentos testados. Em relação à hemoglobina e ferro sérico também não foram observadas diferenças

( $p>0,05$ ) nos valores obtidos para os animais nos diferentes tratamentos testados. Com relação à ferritina, verificou-se que os animais até os 100 kg de peso vivo que receberam ração sem suplemento micromineral/vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase apresentaram valores superiores ( $p<0,05$ ) quando comparados aos alimentados com ração sem suplemento micromineral/vitamínico, com fósforo inorgânico contendo fitase. A enzima, mesmo na ausência de suplementação, garantiu a manutenção de estoques de ferro do organismo. Não se detectou essa diferença para os animais que foram alimentados com as mesmas rações até os 120 kg de peso vivo. Os valores médios obtidos para proteínas totais e frações, IgG e IgM de suínos em fase de terminação alimentados com as dietas experimentais não sofreram influência pela presença ou ausência da fitase, suplemento micromineral/vitamínico e níveis de fósforo inorgânico. Os resultados encontrados neste experimento mostram que a redução do fósforo inorgânico, assim como a retirada do suplemento vitamínico e mineral, além da adição da fitase, em dietas para suínos em terminação, não desencadeiam alterações significativas nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e de imunidade humoral.

PALAVRAS-CHAVES: Ferritina sérica, IgG, IgM, leucograma, sistema imune.

## ABSTRACT

### IRON AND HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN PIGS FED PHYTASE-ADDED RATIONS WITH LOWER PHOSPHORUS LEVELS

Endogenous enzymes such as phytase have been widely used in swine production to increase phosphorus,

amino acid and energy availability from feeds. This study aimed to evaluate the immune system through quantification

of blood components associated to iron metabolism and determine humoral immune response elements in pigs fed phytase-added diets without micro minerals and vitamins and partial or total deletion of inorganic phosphorus. Forty-eight crossbred females with initial weight of 60 kg were randomly sorted into six groups of eight animals each, as follows: G1 -standard (complete) ration (control group); G2 - standard ration except that micromineral and vitamin supplement was deleted; G3 - group 2 ration with phytase, G4 - group 2 ration less 1/3 of inorganic P with phytase, G5 - group 2 ration less 2/3 of inorganic P with phytase and G6 - group 2 ration without inorganic P with phytase. Statistical difference ( $p>0,05$ ) was not recorded neither in white cells and platelet counts nor hemoglobin, serum iron levels, considering all the animals in all treatments.

KEY-WORDS: Immune system seric ferritin, IgG, IgM, white cells count.

## INTRODUÇÃO

A alimentação de suínos representa até 70% do custo de produção. A retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico pode significar uma prática vantajosa na produção de suínos (NUNES, 2000). Essa alimentação baseia-se em ingredientes de origem vegetal, em especial milho e soja, que apresentam cerca de dois terços do seu fósforo complexado na molécula de ácido fítico, não podendo, portanto, ser utilizado pelos animais monogástricos, porque estes não sintetizam a enzima fitase, necessária para hidrolisar o referido complexo. O fitato, ou sal do ácido fítico (hexafosfato de mio-inositol), é um composto orgânico de ocorrência natural e pode influenciar nas propriedades nutricionais dos alimentos. Esse fato inclui o fitato como um fator antinutricional, pois diminui a disponibilidade de minerais (Ca, P, Fe, Mn e Mg) e também das proteínas e moléculas de glicose conjugadas (LUDKE et al., 1998; FURTUNATO, et al., 2002; COSTA et al., 2004). Em torno de 50% a 80% do fósforo (P) presente nos vegetais encontram-se na forma de fitato (OMOGBENIGUN et al., 2003).

A utilização de enzimas exógenas permite um melhor aproveitamento de nutrientes, incrementando a utilização do P, dos aminoácidos e da energia (TEJEDOR et al., 2001). A fitase atua nas ligações do grupo fosfato, liberando o P e outros minerais que fazem parte dessa molécula como o

Nevertheless, pigs up to 100 kg that consumed diet without micro minerals and vitamins, total deletion of inorganic P and phytase addition presented increased ferritin levels ( $p>0,05$ ) when compared to animals fed similar diet with inorganic phosphorus and phytase. The enzyme guaranteed maintenance of iron stocks even in the absence of supplementation. Such difference was not recorded with 120-kg animals fed similar rations. Average total protein, IgG and IgM levels were not influenced by phytase, mineral and vitamin supplementation or inorganic phosphorus levels. The results demonstrate that decrease of inorganic phosphorus, withdrawal of vitamin and mineral supplements and phytase addition in diets of finishing pigs do not lead to significant changes in hematological, biochemical and humoral immune response parameters.

magnésio, o cobre, o ferro e o zinco (MOREIRA et al., 2003). A presença de fitatos, de oxalatos e de fosfatos forma complexos com o ferro, retardando sua absorção (ZAGO et al., 2001).

O ferro é ubíquo no ambiente e na biologia. O estudo do ferro biológico envolve sua biologia e homeostase. Isso tem fornecido entendimento dentro da regulação de genes e revelando notáveis ligações com o sistema imune. DMT1 (*divalent metal transporter 1*), que é um transportador de metal localizado em fagolisossomos, media resistência macrofágica contra patógenos intracelulares. Transferrina e receptor de transferrina 1 desempenham papel essencial no desenvolvimento e ativação de linfócitos.  $\beta$ 2-microglobulina, o heterodimérico parceiro do HFE, é um componente-chave no mecanismo imune de vigilância. Lactoferrina e transferrina se ligam ao ferro para seqüestrá-lo da invasão de patógenos. Hefcidim tem atividade antimicrobiana, é secretada pelo fígado e diminui a liberação de ferro do sistema mononuclear fagocitário e enterócitos duodenal, como consequência o ferro sérico diminui. A expressão da hepcidim é regulada pelos níveis de ferro, estímulo inflamatório, demanda de ferro eritróide e hipóxia, a qual aumenta quando ferro é administrado. He-meoxigenase tem propriedade imunossupressiva e antiapoptótica. Citocinas inflamatórias possuem efeitos diretos e indiretos na expressão de proteínas do metabolismo do ferro. A mieloperoxidase, uma enzima que contém ferro, é encontrada nos

grânulos primários dos neutrófilos e contribui para a atividade antimicrobiana. O citocromo, outra enzima que contém ferro, é encontrado nos grânulos específicos dos neutrófilos e é requerido para explosão oxidativa após fagocitose (HENTZE et al., 2004; SVOBODA et al., 2004).

A falta de ferro resulta em pelo menos duas anormalidades na resposta imune: defeito na imunidade mediada por célula e prejuízo na morte bacteriana por fagocitose (atividade da mieloperoxidase reduzida). A evidência de imunidade mediada por células defeituosas inclui uma redução de até 35% do número de células T circulantes. Tanto células T auxiliares como supressoras são afetadas. Ribonucleotídeo redutase (enzima que contém ferro para síntese de DNA, para divisão celular), linfocinas, interleucina 1 e interleucina 2 estão prejudicadas na deficiência de ferro (LEE et al., 1998).

Segundo LIMA & GROTTTO (2004), o conteúdo total de ferro no organismo é dividido em três compartimentos: funcional (hemoglobina e mioglobina), de estoque (ferritina e homossiderina), transporte (transferrina).

A concentração ferro sérico reflete o ferro que é transportado no plasma ligado à transferrina (WALLACH & KANAAN, 2003; LEWIS et al., 2005). A ferritina sérica se relaciona com os estoques corpóreos totais de ferro. É a principal proteína para a estocagem de ferro no corpo (WALLACH & KANAAN, 2003).

Para compreender melhor a influência do ferro (balanço de ferro) no organismo e na imunologia do animal é importante analisar os parâmetros relacionados ao leucograma, hemoglobina, contagem de plaquetas, ferro sérico, ferritina, proteínas totais e frações, IgG e IgM.

O leucograma é a seção do hemograma em que os leucócitos são identificados, contados e avaliados morfológicamente. Os leucócitos podem ser divididos em dois grandes grupos – fagócitos e imunócitos. Os granulócitos, que incluem três tipos de células – neutrófilos, eosinófilos e basófilos –, juntamente com os monócitos, compreendem os fagócitos. Os linfócitos, suas células precursoras e plasmócitos formam a população imunocítica (HOFFBRAND et al., 2004).

As plaquetas atuam na hemostasia primária e na coagulação sanguínea (LORENZI et al., 2003). Estão aumentadas em número nas anemias ferroprivas (WALLACH & KANAAN, 2003). Os complexos imunológicos podem interagir com plaquetas por meio de seus receptores Fc, levando à agregação e formação de microtrombos, daí um aumento adicional na permeabilidade vascular por liberação de aminas vasoativas. As plaquetas são fonte importante de fatores de crescimento e a liberação desses fatores contribui para a proliferação celular (ROITT et al., 1993).

A eletroforese de proteínas é um método laboratorial para obter o fracionamento das proteínas séricas em zonas classificadas por albumina, alfa, beta e gama-globulina. Duas proteínas compõem o traçado eletroforético da zona beta-globulina, que são a transferrina e o componente C-3 do sistema complemento. A zona gama que compreende todas as classes imunoglobulínicas é a expressão da IgG (NAOUM, 1999).

A dosagem de IgG e IgM é importante no diagnóstico de imunodeficiências hereditárias e adquiridas (WALLACH & KANAAN, 2003).

Os objetivos deste trabalho foram: 1 – avaliar o sistema imune por meio da quantificação de componentes sanguíneos relacionados ao metabolismo do ferro e 2 – determinar elementos da resposta imunológica humoral, em suínos recebendo dietas contendo fitase, níveis reduzidos de fósforo inorgânico (Pi) e sem suplemento micromineral e vitamínico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Desenvolveu-se o trabalho no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás – UFG (EV/UFG). Empregou-se um galpão de terminação edificado no sentido leste-oeste, contendo 24 baias. Utilizaram-se 48 fêmeas suínas de linhagem comercial, com peso inicial de 60kg. As dietas experimentais foram formuladas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo, adotando-se as exigências sugeridas pelas tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2000). O Quadro 1 mostra a composição percentual e

os valores nutricionais calculados das rações experimentais. Desenvolveram-se seis tratamentos com oito animais em cada grupo: 1. ração basal (grupo-controle), 2. ração 1, sem suplemento

micromineral/vitamínico, 3. ração 2, com fitase, 4. ração 2, sem 1/3 de fósforo inorgânico (Pi) e com fitase, 5. ração 2, sem 2/3 de Pi e com fitase, 6. ração 2, sem Pi e com fitase.

**QUADRO 1.** Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações experimentais

Alimento	Composição alimentar					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Milho	72,370	71,680	71,680	71,516	71,343	71,190
F. Soja-46	16,772	16,352	16,352	16,252	16,147	16,043
F. Trigo	7,215	8,827	8,827	9,211	9,615	10,000
Calcário	1,196	1,207	1,207	1,458	1,722	1,984
Foscálcio	1,172	1,153	1,153	0,781	0,390	0,000
<sup>2</sup> Premix vit suíno	0,400	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Sal	0,383	0,383	0,383	0,383	0,383	0,382
L-Lisina-HCL	0,230	0,235	0,235	0,236	0,237	0,238
Inerte	0,100	0,100	0,090	0,090	0,090	0,090
<sup>1</sup> Premix min suíno	0,100	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Fitase	0,000	0,000	0,010	0,010	0,010	0,010
DL-MET 99	0,062	0,063	0,063	0,063	0,064	0,064
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes						
Cálcio (%)	0,820	0,820	0,820	0,820	0,820	0,820
Energia Met (kcal/kg)	3,270	3,270	3,270	3,270	3,270	3,270
P – Disp (%)	0,320	0,320	0,320	0,254	0,184	0,115
P – Total (%)	0,513	0,520	0,520	0,455	0,387	0,320
Proteína (%)	16,700	16,700	16,700	16,700	16,700	16,700

1= Suplemento micromineral, suprimindo as seguintes quantidades por kg do produto: 30.000mg de Mn, 90.000mg de Fe, 16.000mg de Cu, 140.000mg de Zn, 850mg de I e Co, 200mg.

2= Suplemento vitamínico, suprimindo as seguintes quantidades por kg do produto: 550.000 UI de vit. A, 50.000 UI de vit. D3, 2500mg de vit. E, 550mg de vit. K3, 175mg de vit. B1, 750mg de vit. B6, 3.000 mcg de vit. B12, 3750mg de pantotenato de cálcio, 5.500mg de niacina, 2,25g de antioxidante, 6,25g de promotor de crescimento, 75g de cloreto de colina e 75,0mg de selênio.

Tratamentos: 1. ração basal (grupo-controle), 2. ração 1, sem suplemento micromineral/vitamínico, 3. ração 2, com fitase, 4. ração 2, sem 1/3 de fósforo inorgânico (Pi) e com fitase, 5. ração 2, sem 2/3 de Pi e com fitase, 6. ração 2, sem Pi e com fitase.

Utilizou-se a enzima NATUPHOS 5000<sup>®</sup>, fornecida pela Basf Nutrição Animal, na quantidade de 500UF (unidades de fitase)/kg. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo cada animal considerado uma unidade experimental.

Procedeu-se à coleta de sangue em um grupo de 24 animais com 100kg e outro grupo de 24 animais com 120kg. De cada animal foram colhidos 10 mL de sangue por meio de punção da veia cava cranial, utilizando-se agulhas metálicas (20x100mm). Parte do sangue (2 ml) foi colocada

em tubo de vidro com etilenodiaminotetracetato de sódio (EDTA – 1mg/ml de sangue) para a realização do leucograma, quantificação da hemoglobina e contagem de plaquetas (ROSENFELD, 1955). Transferiu-se o restante do sangue (8 mL) para tubos de vidro para obtenção do soro para a quantificação de ferro sérico, ferritina sérica, sérica, IgG, IgM e proteínas totais e frações. Para isso, os animais foram contidos em estação, por um auxiliar, por meio de uma corda de seis milímetros inserida em um laço por detrás dos dentes caninos e em torno do maxilar superior, segundo metodologia proposta por MORENO et al. (1997).

Após a colheita, acondicionaram-se as amostras de sangue com anticoagulante em isopor contendo gelo biológico. Mantiveram-se as outras, sem anticoagulante, à temperatura ambiente. Ao término das colheitas, encaminhou-se, imediatamente, todo o material ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da EV/UFG e Laboratório Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da UFG (FF/UFG), onde foram processadas no mesmo dia da colheita.

Para a obtenção do soro, as amostras foram mantidas em banho-maria a 37°C por 20 minutos, sendo em seguida centrifugadas a 3.000 rpm por dez minutos. Congelaram-se os soros, após a separação, a -20°C, até o momento da realização dos exames.

Para a obtenção dos parâmetros hematólogicos, utilizou-se contador eletrônico, modelo COULTER Micro Diff II, 18 parâmetros. Para a dosagem de ferro sérico e ferritina sérica, IgG e IgM, empregou-se o equipamento Shiron Diagnostics – Express-Plus.

Distensões de sangue foram feitas sem anticoagulante em lâminas de vidro e coradas pela técnica de Rosenfeld (RIBEIRO, 1971).

A dosagem de ferro sérico verificou-se pela metodologia colorimétrico fotométrico com LCF – fator clareante de lípidos (Kit Ferro Cab – In Vitro Diagnóstica - Human). A temperatura da reação foi de 20-25°C e a leitura feita em comprimento de onda de 623 nm.

Para quantificação da ferritina sérica, fez-se uso do teste turbidimétrico para determinação quantitativa de ferritina humana (Kit Ebram). A temperatura da reação foi de 37°C e o comprimento de onda de 600 nm.

Para a quantificação de IgG e IgM séricas, também empregou-se o método de turbidimetria (Kit Ebram). A temperatura da reação foi de 37°C e o comprimento de onda de 340 nm.

Para a determinação da concentração sérica de proteínas totais, utilizou-se o método do biureto. E para a leitura das amostras de proteínas totais, fez-se uso do analisador bioquímico, Bioplus-2000 a 37°C, em comprimento de onda de 555 nm. A separação das frações da proteína sérica foi realizada por meio da migração eletro-

forética em acetato de celulose pH 8,6.

Registraram-se os resultados em planilha específica para posterior análise estatística, sendo utilizado o teste de Duncan, com nível de significância  $p < 0,05$ , para evidenciar eventuais diferenças entre os grupos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados resultados do leucograma e a contagem de plaquetas de suínos em fase de terminação, alimentados com as seis dietas experimentais. Não se observaram diferenças ( $p > 0,05$ ) nos valores obtidos do leucograma e da contagem de plaquetas para os animais nos diferentes tratamentos testados.

Aumento nos valores médios para leucócitos totais e diminuição do número de neutrófilos bastonetes foram relatados por NUNES (2000), que avaliou o hemograma de suínos na fase de terminação (até 100kg de peso vivo) diante da retirada dos suplementos micromineral/vitaminico. SVOBODA et al. (2004) demonstram que a contagem total de leucócitos, a contagem relativa e absoluta de neutrófilos e a contagem absoluta de linfócitos mostraram-se menores no grupo de leitões deficientes não suplementados com ferro, na comparação com os suplementados. Não se observaram alterações neste trabalho; portanto, todas as dietas administradas foram suficientes para manter o leucograma dentro dos limites de normalidade.

Segundo WALLACH & KANAAN (2003), as plaquetas estão aumentadas em número nas anemias por deficiência de ferro. Neste estudo não foi observada diferença significativa nos diferentes tratamentos e os animais não apresentaram anemia durante o experimento.

Diante da deficiência de ferro, a evidência de imunidade mediada por células defeituosas inclui uma redução de até 35% do número de células T circulantes e uma diminuição significativa nos linfócitos B circulantes (LEE et al., 1998; SVOBODA et al., 2004). No trabalho aqui desenvolvido, o número de linfócitos totais esteve dentro dos valores de referência e não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos.

**TABELA 1.** Avaliação do leucograma e contagem de plaquetas de suínos em fase de terminação alimentados com dietas contendo fitase, sem suplemento micromineral/vitamínico e redução dos níveis de fósforo inorgânico

TRAT	LEUC	BAST	SEG	EOS	BASF	LINF	MON	PLAQ
	10 <sup>3</sup> /l	10 <sup>3</sup> /μl	10 <sup>3</sup> / μl	10 <sup>3</sup> / μl	10 <sup>3</sup> / μl	10 <sup>3</sup> /μl	10 <sup>3</sup> /μl	10 <sup>3</sup> /mL
100kg								
T1	13,48	0,18	3,12	0,32	0,00	9,27	0,58	208,25
T2	17,78	0,22	3,14	0,29	0,05	13,35	0,72	203,75
T3	14,15	0,16	2,35	0,18	0,00	10,64	0,82	279,50
T4	15,38	0,12	3,04	0,27	0,00	11,37	0,58	187,25
T5	17,78	0,19	4,36	0,32	0,00	12,08	0,83	259,75
T6	14,70	0,15	3,06	0,49	0,00	10,06	0,94	220,25
120kg								
T1	17,78	0,16	3,18	0,35	0,00	13,13	0,96	240,00
T2	22,83	0,29	2,81	0,55	0,00	17,96	1,21	277,50
T3	18,70	0,29	3,14	0,18	0,00	14,22	0,88	229,00
T4	20,80	0,23	3,55	0,30	0,00	15,72	1,00	317,75
T5	17,78	0,31	3,45	0,29	0,00	12,92	0,81	301,25
T6	23,38	0,30	3,64	0,44	0,00	18,05	0,95	253,75
Valores de referência*	11,0	0,0	3,08	0,0	0,0	4,3	0,2	325,00
	22,0	0,8	10,34	2,4	0,4	13,64	2,2	715,00

TRAT = tratamento; LEUC = leucócitos; BAST = neutrófilos bastões; SEG = neutrófilos segmentados; EOS = eosinófilos; BASF = basófilos; LINF = linfócitos; MON = monócitos; PLAQ=contagem de plaquetas. Médias com letras distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significativas (Teste Duncan), ao nível de 5% de probabilidade. \* JAIN & SCHALM'S (1986).

Tratamentos: 1. ração basal (grupo-controle), 2. ração 1, sem suplemento micromineral/vitamínico, 3. ração 2, com fitase, 4. ração 2, sem 1/3 de fósforo inorgânico (Pi) e com fitase, 5. ração 2, sem 2/3 de Pi e com fitase, 6. ração 2, sem Pi e com fitase.

Na Tabela 2 são mostrados os parâmetros de hemoglobina, ferro sérico, ferritina sérica de suínos em fase de terminação, alimentados com as dietas experimentais.

Em relação à hemoglobina e ferro sérico não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) nos valores obtidos para os animais nos diferentes tratamentos testados. Considerando a ferritina sérica, verificou-se que os animais até os 100kg de peso vivo que receberam ração sem suplemento micromineral/vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase apresentaram valores superiores ( $p<0,05$ ) quando comparados aos alimentados com ração sem suplemento micromineral/vitamínico, com fósforo inorgânico contendo fitase. A ingestão da enzima, mesmo na ausência de suplementação, garantiu a manutenção de estoques de ferro do organismo. Não se detectou essa diferença para os animais que foram alimentados com as mesmas rações até os 120kg de peso vivo. STAHL et al. (1999) demonstraram que a fitase

melhorou a disponibilidade do ferro para a síntese de hemoglobina em leitões anêmicos.

A preocupação com a homeostase do ferro no organismo é demonstrada por vários autores, como também a influência do ferro no sistema imune. Segundo BRUININX et al. (2000), o ferro é um nutriente relacionado com a saúde e a imunidade. O desmame provoca redução na produção de imunoglobulina, provavelmente em virtude do estresse associado com essa fase. Desse modo, a injeção de ferro resulta em aumento de crescimento pós-desmame de leitões. SZABO & BIKEI (2002) verificaram que aqueles leitões criados ao ar livre, suplementados com ferro, apresentaram maior peso, maior concentração de hemoglobina, menores morbidade e mortalidade. SVOBODA et al. (2004), trabalhando com leitões deficientes de ferro suplementados e não-suplementados com ferro dextran, verificam uma diminuição estatisticamente significativa na circulação de linfócitos B em animais não suplementados, e concluem que a

deficiência de ferro aparentemente influencia negativamente a imunocompetência em leitões.

**TABELA 2.** Avaliação da hemoglobina, ferro sérico e ferritina sérica de suínos em fase de terminação alimentados com dietas contendo fitase, sem suplemento micromineral/vitamínico e redução dos níveis de fósforo inorgânico.

TRAT	HB	FE	FT
	g/dl	µg/dl	ng/dl
100kg			
T1	11,53	251,65	99,70 <sup>a</sup>
T2	11,10	192,50	107,23 <sup>a</sup>
T3	11,35	177,80	92,98 <sup>a</sup>
T4	11,90	165,55	168,73 <sup>ab</sup>
T5	11,75	167,13	176,13 <sup>ab</sup>
T6	11,90	264,08	219,90 <sup>b</sup>
120kg			
T1	11,65	149,45	121,73 <sup>a</sup>
T2	11,10	161,35	149,68 <sup>a</sup>
T3	12,28	133,35	135,48 <sup>a</sup>
T4	11,18	185,50	141,28 <sup>a</sup>
T5	11,95	205,63	197,65 <sup>a</sup>
T6	11,90	210,88	166,23 <sup>a</sup>
Valores de	10,00*	50**	-
Referência	16,00	190	

TRAT=tratamento; HB=dosagem de hemoglobina; FE= ferro sérico; FT=ferritina sérica; fl= fentolito; pc=pícoogramas; g= grama; l= litro. Médias com letras distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significantes (Teste Duncan), ao nível de 5% de probabilidade. \* JAIN & SHALM'S (1986); \*\* MORENO et al. (1997).

Tratamentos: 1. ração basal (grupo-controle), 2. ração 1, sem suplemento micromineral/vitamínico, 3. ração 2, com fitase, 4. ração 2, sem 1/3 de fósforo inorgânico (Pi) e com fitase, 5. ração 2, sem 2/3 de Pi e com fitase, 6. ração 2, sem Pi e com fitase.

O ferro é vital para todas as células, em particular para atividade metabólica e proliferação de células, tais como tímócitos e células T. Na deficiência de ferro, como citado por LEE et al. (1998), há decréscimo no número de linfócitos T circulantes e também diminuição na sua resposta blastogênica para mitoses. A má-nutrição protéico-energética, a deficiência de zinco e o estresse ocasionam a redução de linfócitos como consequência da atrofia tímica. A atrofia é resultado do aumento da apoptose induzida, pelo alto nível de cortisol e provável diminuição dos níveis de leptina (BOWLUS, 2003). No entanto, BRUININX et al. (2000) mostraram que quantidades

adicionais de ferro não afetam o desempenho e a imunidade humoral em leitões sem anemia. Neste estudo as variáveis relativas à homeostasia do ferro mantiveram-se dentro da normalidade, mostrando que as reduções dos nutrientes não afetaram a homeostasia do ferro e conseqüente não apresentaram efeito negativo na imunidade dos suínos.

Apesar de os estoques de ferro terem aumentado nos animais até 100kg, a homeostase foi mantida, como é demonstrado pela dosagem de hemoglobina, de ferro sérico e de ferritina.

Na Tabela 3 mostram-se os resultados das proteínas totais e frações, IgG e IgM de suínos em fase de terminação alimentados com as dietas experimentais.

Os valores médios obtidos para proteínas totais e frações, IgG e IgM de suínos em fase de terminação alimentados com as dietas experimentais não foram influenciados pela presença ou ausência da fitase, do suplemento micromineral/vitamínico e dos níveis de fósforo inorgânico. NUNES (2000) também não observou efeito nos valores médios para o quadro seroprotéico de suínos na fase de terminação, até 100kg de peso vivo, diante da retirada dos suplementos micromineral/vitamínico.

Neste estudo houve diferença quando se compararam os valores de referência para proteínas totais de KANEKO et al. (1997) e MORENO et al. (1997), sugerindo que sejam estabelecidos parâmetros específicos para a região. Mesmo sob as melhores circunstâncias, nenhum exame é perfeito, ou seja, consegue cem por cento de sensibilidade, de especificidade e de valor preditivo. Os valores de referência são baseados em definições estatísticas que determinam o intervalo de 95% como sendo normal, enquanto que 5% dos exames estarão fora dessa variação normal quando da ausência de doença. Os índices de referência variam de um laboratório para o outro. Também quando os exames são processados com tecnologias diferentes há variação. Se o animal é jovem ou adulto, o estado prandial, os procedimentos de colheita do sangue, as condições de abrigo e ambientais, além da raça da espécie podem influenciar nos parâmetros de referência (LEE et al., 1998; WALLACH & KANAAN, 2003).

**TABELA 3.** Avaliação das proteínas totais e frações, IgG e IgM de suínos em fase de terminação alimentados com dietas contendo fitase, sem suplemento micromineral/vitaminico e redução dos níveis de fósforo inorgânico.

TRAT	PT	ALB	GLOB	Globulinas			A/G	IgG	IgM
				Alfa	Beta	Gama			
	g/dl	g/dl	g/dl	g/dl	g/dl	g/dl		mg/dl	mg/dl
<b>100kg</b>									
T1	6,73	2,91	3,81	1,37	1,11	1,33	0,77	466,33	90,90
T2	6,70	2,90	3,80	1,17	1,20	1,43	0,76	564,48	73,70
T3	7,10	2,94	4,16	1,52	1,40	1,25	0,71	488,75	77,45
T4	6,90	2,75	4,15	1,44	1,29	1,41	0,67	501,40	53,90
T5	7,43	3,10	4,33	1,53	1,31	1,49	0,72	529,25	82,98
T6	7,33	3,09	4,23	1,51	1,43	1,29	0,74	452,20	90,65
<b>120kg</b>									
T1	8,65	4,22	4,43	1,74	1,22	1,48	0,97	495,75	78,43
T2	9,05	4,33	4,72	1,56	1,24	1,92	0,93	597,73	96,68
T3	8,43	3,88	4,54	1,62	1,34	1,58	0,86	492,73	80,60
T4	8,48	4,20	4,28	1,49	1,32	1,46	1,00	501,48	87,28
T5	9,15	4,57	4,58	1,59	1,29	1,69	1,01	539,13	94,75
T6	8,68	4,22	4,45	1,71	1,29	1,45	0,95	420,28	73,08
Valores de referência	*7,90-90 **6,50-9,00	1,90-3,90	5,29-6,43	1,28-1,54	1,26-1,68	2,24-2,46	0,37-0,51	-	-

TRAT = tratamento; PT = proteínas totais; ALB = albumina; GLOB = globulina sérica; A/G=relação albumina e globulina; IgG = imunoglobulina G; IgM = imunoglobulina M. Médias com letras distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significantes (Teste Ducan), ao nível de 5% de probabilidade. \* KANEKO et al. (1997), \*\*MORENO et al. (1997).

Tratamentos: 1. ração basal (grupo-controle), 2. ração 1, sem suplemento micromineral/vitaminico, 3. ração 2, com fitase, 4. ração 2, sem 1/3 de fósforo inorgânico (Pi) e com fitase, 5. ração 2, sem 2/3 de Pi e com fitase, 6. ração 2, sem Pi e com fitase.

## CONCLUSÃO

Os resultados encontrados neste experimento mostram que tanto a redução do fósforo inorgânico quanto a retirada do suplemento vitaminico e mineral, além da adição da fitase, em dietas para suínos em terminação, não desencadeiam alterações significativas nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e de imunidade humoral.

## AGRADECIMENTOS

À FUNAPE/UFG, pelo apoio financeiro, e ao CNPq, pela doação da enzima pela Basf Nutrição Animal.

## REFERÊNCIAS

BOWLUS, C. L. The role of iron in T cell development and autoimmunity. **Autoimmu-**

**nity Reviews**, Amsterdam, v. 2, n. 2, p.73-78, 2003.

BRUININX, E. M. A. M.; SWINKELS, J.; W. G. M.; PARMENTIER, H. K.; JETTEN, C. W. J.; GENTRY, J. L.; SCHRAMA, J. W. Effects of an additional iron injection on growth and humoral immunity of weanling pigs. **Livestock Production Science**, Lexington, v. 67, p.31-39, 2000.

COSTA, F. G. P.; JÁCOME, I. M. T. S.; SILVA, J. H. V.; ARAÚJO, M. J.; CAMPOS, K. M. F.; BARBOSA, J. G.; PEIXOTO, J. P. N.; SILVA, J. C. A.; NASCIMENTO, G. A. J.; CLEMENTINO, R. H. Níveis de fósforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marrom. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 5, n. 2, p.73-81, 2004.

- FURTUNATO, D. M. N.; TRIGUEIRO, I. N. S.; GÓES, J. A. W. Fitatos na alimentação humana: uma visão abrangente. **Pharmacia Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 63-65. 2002.
- HENTZE, W. M.; MUCHENTHALER, M. U.; ANDREWS, N. C. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. **Cell**, Heidelberg, v.117, p. 285-297, 2004.
- HOFFBRAND A. V.; PETTIT, J. E.; MOSS, P. A. H. **Fundamentos em hematologia**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2004. 358 p.
- JAIN, N. C.; SCHALMS, O. W. **Schalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p. 240-252.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. California: Academic Press, 1997. 902p.
- LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FORESTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N. **Wintrobe: hematologia clínica**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1998. 2559 p.
- LEWIS, S. M.; BAIN, B. J.; BATES, I. **Hematologia prática de Dacie e Lewis**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 572 p.
- LIMA, G. A. F. M.; GROTO, H. Z. W. Avaliação das medidas de ferro sérico e capacidade de ligação do ferro à transferina (TIBIC) usando o método Synermed. **NewsLab**, São Paulo, v. 65, 2004.
- LORENZI, F. T.; D'AMICO, E.; DANIEL, M. M.; SILVEIRA, P. A. A.; BUCCHERI, V. **Manual de hematologia propedêutica e clínica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. 665 p.
- LUDKE, J.V.; BERTOL, T.M.; SCHEUERMANN, G. N. Manejo da alimentação. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S.; SESTI, L.A. **Suinocultura intensiva: produção e saúde do rebanho**. Brasília: EMBRAPA, Sistema de Produção de Informação (SPI), 1998. p. 65-90.
- MOREIRA, J. A.; VITTI, D. M. S. S.; LOPES, J. B.; TRINDADE, M. A. N. Biodisponibilidade e perdas endógenas mínimas de P em dietas com níveis crescentes de fitase para suínos em crescimento pela técnica de diluição isotópica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 3, p. 350-356, 2003.
- MORENO, A.M.; SOBESTIANSKY, J.; LOPES, A.C.; SOBESTIANSKY, A.A.B. **Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico**. Concórdia: EMBRAPA – CNPSA, 1997. 30 p.
- NAOUM, P. C. **Eletroforese: técnicas e diagnóstico**. São Paulo: Santos, 1999. 154 p.
- NUNES, R. C. **Retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico da ração de suínos em fase de terminação: parâmetros eritroleucométricos e bioquímico-séricos**. 2000. 67 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP.
- OMOGBENIGUN, F. O.; NYACHOTI, C. M.; SLOMINSKI, B. A. The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet feed to early weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p.1806-1813, 2003.
- RIBEIRO, W. R. **Apontamentos de hematologia prática**. Goiânia: UFG, 1971. 80 p.
- ROITT, I; BROSTOFF, J.; MALE, DAVID. **Imunologia**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1993. 1954 p.
- ROSENFELD, G. Etilenodiamina tetracética disódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. **Revista Clínica de São Paulo**, São Paulo, v. 31, p. 65-71, 1955.
- ROSTAGNO, H. S.; SILVA, D. J.; COSTA, P.M.A.; FONSECA, J.B.; SOARES, P.R.; PEREIRA, J.A.A.; SILVA, M. A. **Composição de**

**alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos:** tabelas brasileiras. Viçosa: UFV, 2000. 61 p.

STAHL, C. H.; HAN, Y. M.; RONEKER, K. R.; HOUSE, W. A.; Lei, X. G. Phytase improves iron bioavailability for hemoglobin synthesis in young pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 2135-42, 1999.

SVOBODA, M.; DRABEK, J.; KREJCI, J.; REJAKOVA, Z.; FALDYNA, M. Impairment of the peripheral lymphoid compartment in iron-deficient piglets. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 5, n. 1, p. 231-237, 2004.

SZABO, P.; BIKEI, G. Iron deficiency in outdoor

pig production. **Journal of Veterinary Medicine**, Series A, Berlin, v. 49, n.7, p. 390-391, 2002.

TEJEDOR, A.A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H.S.; VIEITES, F. M. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p.802-808, 2001.

WALLACH, J.; KANAAN, S. **Interpretação de exames laboratoriais**. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. 1067 p.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia:** fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2001. 1081 p.

---

Protocolado em: 16 nov. 2006. Aprovado em: 18 set. 2007.