

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE GLICINATO DE ZINCO COMO FONTE ALTERNATIVA AO ÓXIDO DE ZINCO SOBRE A SAÚDE INTESTINAL DE LEITÕES EM FASE DE CRECHE

ANA VITORIA HORTENCES DA SILVA DE MELLO ESCALER<sup>1</sup>, CECILIA ARCHANGELO F. DE MELO<sup>1</sup>, ERICK M. PEREIRA<sup>1</sup>, FERNANDA M. DOS SANTOS<sup>1</sup>, PEDRO JOSÉ V. FIRMIANO<sup>1</sup>, LAYA KANNAN S. ALVES<sup>1</sup>, CESAR AUGUSTO P. GARBOSSA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa em Suínos, Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP

Contato: avhortences@usp.br / Apresentador: ANA VITORIA HORTENCES DA SILVA DE MELLO ESCALER

**Resumo:** Devido às preocupações com o uso de altas doses de óxido de zinco (ZnO) e às restrições que vêm sendo estabelecidas em função da seleção de microrganismos resistentes e impacto ambiental proveniente da suplementação da fonte inorgânica do mineral, alternativas para melhorar a saúde intestinal de leitões pós-desmame vêm sendo estudadas. Este estudo avaliou a suplementação de glicinato de zinco (GZ) como alternativa ao ZnO em dietas para leitões em fase de creche, com foco na saúde intestinal e respostas imunológicas. Foram utilizados 160 leitões em cinco grupos dietéticos: controle negativo (sem aditivos), controle positivo (óxido de zinco) e três níveis de suplementação com glicinato de zinco (1000, 2000 e 3000 mg/kg, respectivamente). Amostras de jejuno e íleo foram coletadas para análise histológica e de citocinas. Não foram observados valores distintos para as variáveis histológicas analisadas. O ZnO modulou a inflamação de forma mais eficaz, enquanto o GZ atuou melhor que o controle negativo. A suplementação com GZ pode ser uma alternativa viável ao ZnO na dieta de leitões, garantindo adequadas respostas imunes e saúde intestinal.

**Palavras-Chaves:** Nutrição animal, suinocultura, imunologia, histologia.

## EFFECTS OF ZINC GLYCINATE SUPPLEMENTATION AS AN ALTERNATIVE SOURCE TO ZINC OXIDE ON THE INTESTINAL HEALTH OF NURSERY PIGS

**Abstract:** Due to concerns about the use of high doses of zinc oxide (ZnO) and the restrictions that have been established due to the selection of resistant microorganisms and environmental impact from the supplementation of the inorganic source of the mineral, alternatives to improve the intestinal health of post-weaning piglets have been studied. This study evaluated the supplementation of zinc glycinate (GZ) as an alternative to ZnO in diets for nursery piglets, focusing on intestinal health and immune responses. 160 piglets were used in five dietary groups: negative control (without additives), positive control (zinc oxide), and three levels of supplementation with zinc glycinate (1000, 2000, and 3000 mg/kg, respectively). Jejunum and ileum samples were collected for histological and cytokine analysis. In the histological analysis, similar values of nutrient absorption were observed between zinc forms, indicated by the villus: crypt ratio. ZnO modulated inflammation more effectively, while GZ performed better than the negative control. Supplementation with GZ can be a viable alternative to ZnO in piglet diets, ensuring adequate immune responses and intestinal health.

**Keywords:** Animal nutrition, pig production, immunology, histology.

**Introdução:** O zinco é comumente utilizado na suinocultura como melhorador de desempenho, pois quando suplementado, o mineral oferece benefícios para a saúde dos animais em função de suas propriedades antimicrobianas, que além de melhorar o status geral de saúde dos leitões pós-desmame, também promove melhor desempenho (Liu et al., 2020). Entretanto, a suplementação de altas dosagens de óxido de zinco (ZnO) na dieta vem gerando preocupações de saúde e ambientais (SzubaTrznadel et al., 2021) e devido as atuais proibições impostas pela União Europeia sobre o uso da substância, têm-se buscado novas estratégias para reduzir a diarreia pós-desmame (Lynegaard et al., 2021), sendo o glicinato de zinco (GZ), uma fonte quelatada e de maior disponibilidade um dos potenciais substitutos ao ZnO. Assim, o estudo objetivou avaliar a utilização de glicinato de zinco em substituição ao óxido de zinco sobre a saúde intestinal e regulação das respostas imunes de leitões em fase de creche.

**Material e Métodos:** O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob protocolo CEUA N° 2242040423. Foram utilizados 160 leitões, com a de 21 dias de idade e peso médio 7,08 kg  $\pm$ 0,837, divididos em blocos casualizados (peso inicial e sexo). Os animais foram alocados em grupos de quatro, em 32 baias com machos castrados ou fêmeas. Foram utilizados cinco tratamentos dietéticos, com oito repetições: controle negativo (CN) - dieta sem aditivos; controle positivo (CP) – dieta com inclusão de óxido de zinco, e GZ1000, GZ2000 e GZ3000 – dietas com 1000, 2000 e 3000 mg/kg de glicinato de zinco (GZ), respectivamente. O programa alimentar teve quatro fases: pré-inicial 1 (0-7 dias); pré-inicial 2 (8-14 dias); inicial 1 (15-28 dias); e inicial 2 (29-42 dias). Ao final do período experimental, um animal por unidade experimental (n=32) foi abatido para coleta de amostras de jejuno visando a análise de histologia intestinal e citocinas. Para análise histológica, lâminas com no mínimo dez criptas e vilosidades foram preparadas e a altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação vilosidades:criptas foi mensurada no software ImageJ. Ademais, amostras do jejuno foram enviadas para um laboratório comercial e as citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12/EL-23p40 e a citocinas anti-inflamatórias IL-4, e IL-10 foram avaliadas. Os dados foram submetidos ao teste de variância e, quando houve diferença pelo teste de F (P<0,05), foram comparados pelo teste de Tukey, com significância de P<0,05.

**Resultado e Discussão:** Os resultados referentes à suplementação de glicinato de zinco para leitões pós-desmame pode ser observado nas tabelas 1 e 2. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos (P>0,05) em relação à histologia intestinal dos leitões. Dessa forma, pode-se inferir que todos os animais apresentam valores adequados de altura de

vilosidade e profundidade de criptas adequados, sendo um indicativo de que a absorção de nutrientes e a renovação celular foram similares entre os tratamentos (NUNES, 2017). No entanto, em relação às citocinas, observou-se uma concentração de IL-1  $\beta$  58,66% maior no grupo CN e 58,36% maior para GZ1000, quando comparados ao grupo CP. Tais dados corroboram a hipótese elaborada por Diao et al. (2021), que constatou que a suplementação utilizando glicinato de zinco poderia melhorar a barreira intestinal e aumentar a expressão gênica de IL-1 $\beta$  na mucosa jejunal de suínos em creche. Isso decorre do fato de que o zinco, quando se encontra em sua forma de mineral quelato, apresenta maior biodisponibilidade, pois o composto apresenta maior estabilidade graças ao baixo peso molecular (Jang et al., 2023). Ademais, foi encontrada uma concentração 83,84% maior de IL-4 no grupo GZ1000 em comparação ao grupo CN, sem suplementação. É possível concluir que o glicinato de zinco atuou melhor que o controle negativo, entretanto o óxido de zinco modulou mais adequadamente o processo inflamatório. Assim, o glicinato de zinco pode ser uma alternativa ao fornecimento de zinco, ao demonstrar resultados semelhantes ou pouco superiores ao uso de ZnO.

**Tabela 1:** Histologia do jejuno de leitões suplementados com diferentes fontes de zinco na dieta.

Variáveis	Tratamentos					EPM	CV, %	Valor de P
	CN	GZ1000	GZ2000	GZ3000	CP			
Altura de vilosidade, $\mu\text{m}$	432,37	440,12	504,62	425,87	500,38	32,90	20,58	0,239
Profundidade de cripta, $\mu\text{m}$	175,00	201,88	172,75	161,88	161,00	12,31	20,76	0,156
Relação vilosidade cripta	2,81	2,51	3,44	3,06	3,74	0,34	32,52	0,118

**Tabela 2:** Citocinas da mucosa intestinal de leitões na fase de creche.

Variáveis	Tratamento										EPM	CV, %	Valor de P
	CN	GZ1000	GZ2000	GZ3000	CP								
IFN- $\alpha$	0,77	1,03	1,02	0,86	0,74						0,38	115,82	0,543
IFN- $\gamma$	4,88	36,44	5,41	4,97	7,21						8,04	211,46	0,283
IL-10	456,36	521,18	367,87	542,29	228,28						131,66	87,77	0,356
IL-1 $\beta$	162,76	a 161,58	a 93,85	ab 101,94	ab 67,28	b					24,03	63,97	0,010
IL-4	1,01	b 6,25	a 1,01	b 1,01	b 1,70	ab					1,83	242,20	0,047
IL-6	7,35	5,34	7,95	4,34	3,96						2,10	101,12	0,703
IL-8 (CXCL8)	7554,52	7901,70	3606,51	4202,45	326,69						3593,80	212,70	0,502
TNF- $\alpha$	13,89	43,71	11,29	12,54	9,86						8,82	147,60	0,074
IL-12/EL-23 p40	155,66	334,25	165,26	207,10	131,83						56,88	84,97	0,100

CN - Controle negativo (dieta sem aditivos); GZ1000 - dieta com inclusão de 1000 mg/kg de glicinato de zinco; GZ2000 - dieta com inclusão de 2000 mg/kg de glicinato de zinco; GZ3000 - dieta com inclusão de 3000 mg/kg de glicinato de zinco; CP - Controle positivo (dieta com inclusão óxido de zinco).

**Conclusão:** Dietas suplementadas com glicinato de zinco podem ser uma alternativa ao fornecimento de óxido de zinco aos leitões em fase de creche, pois tal tratamento garantiu valores adequados referentes à citocinas e histologia intestinal.

**Agradecimentos:** À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processos número 2023/08227-6, 2023/07961-8 e 2021/08217-5), à Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**Referências Bibliográficas:** CAVALIERE, G. A. Parâmetros histomorfométricos do intestino delgado em frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes fontes de sorgo e concentrações de tanino. 2012. DIAO, Hui et al. Effects of dietary zinc sources on growth performance and gut health of weaned piglets. *Frontiers in microbiology*, v. 12, p. 771617, 2021. JANG, Ki Beom et al. Efficacy of zinc glycinate reducing zinc oxide on intestinal health and growth of nursery pigs challenged with F18+ *Escherichia coli*. *Journal of Animal Science*, p. skad035, 2023. LUO, Chengzeng et al. Early-life nutrition interventions improved growth performance and intestinal health via the gut microbiota in piglets. *Frontiers in Nutrition*, v. 8, p. 783688, 2022. MODINA, Silvia Clotilde et al. Nutritional regulation of gut barrier integrity in weaning piglets. *Animals*, v. 9, n. 12, p. 1045, 2019. MODINA, Silvia Clotilde et al. Stages of gut development as a useful tool to prevent gut alterations in piglets. *Animals*, v. 11, n. 5, p. 1412, 2021. TANG, Xiaopeng et al. Weaning stress and intestinal health of piglets: A review. *Frontiers in immunology*, v. 13, p. 1042778, 2022. NUNES, Andressa Nathalie. Valor nutritivo, energia líquida de dietas e morfometria intestinal de suínos alimentados com níveis crescentes de casca de soja. 2017. 181 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2017. Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am J Clin Nutr*. 1998.