

NUCLEOTÍDEOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL

NUCLEOTIDES IN ANIMAL NUTRITION

Patrícia Rossi¹; Eduardo Gonçalves Xavier²; Fernando Rutz³

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

Os nucleotídeos são compostos de uma base nitrogenada, uma pentose e um ou mais grupos fosfatos. Os nucleotídeos participam de vários processos bioquímicos que são essenciais para o funcionamento do organismo. Atuam como precursores dos ácidos desoxirribonucléico (DNA) e ácido ribonucléico (RNA), fonte de energia (adenosina trifosfato e guanosina trifosfato), coenzimas (flavina adenina dinucleotídeo, nicotinamida adenina dinucleotídeo e coenzima A) e reguladores fisiológicos (AMP-cíclico, GMP-cíclico). Nutricionalmente, os nucleotídeos não são considerados como essenciais, pois são sintetizados *via de novo* pelo organismo utilizando aminoácidos como precursores ou por *via de salvamento* a partir da degradação de aminoácidos e nucleotídeos da dieta. Porém, quando ocorre crescimento rápido, doença e consumo limitado de nutrientes ou distúrbio endógeno os nucleotídeos dietéticos são considerados de grande importância para o organismo, pois podem disponibilizar bases e nucleosídeos para ser utilizada imediatamente na síntese de nucleotídeos, *via salvamento*. Essa *via* é extremamente importante para tecidos e órgãos cuja síntese de nucleotídeos é deficiente, sendo assim, necessária à suplementação dos nucleotídeos nas dietas. Além disso, os nucleotídeos dietéticos participam da divisão celular, do crescimento celular e da modulação do sistema imunológico, e ajudam na manutenção da saúde intestinal reduzindo a incidência de doenças entéricas. O objetivo desta revisão bibliográfica é fornecer informações sobre o uso de nucleotídeos para as diferentes espécies de animais e seus efeitos sobre o sistema imunológico e trato gastrointestinal.

Palavras-chave: nucleotídeos dietéticos, nutrição animal, sistema imunológico, trato gastrointestinal.

ABSTRACT

Nucleotides are composed of a nitrogen base, a pentose sugar and one or more phosphate groups. Nucleotides participate in many essential biochemical processes within an organism. They act as nucleic acids (DNA, RNA) precursors, energy source (ATP, GTP), coenzymes (FAD, NAD, CoA), and as physiological regulators (cAMP, cGMP). Nucleotides are not considered essential. They are synthesized either *via de novo* (using amino acids as precursors) or *savaged* (using dietetic amino acids and nucleotides). However, dietetic nucleotides are extremely important for the organism, particularly during rapid growing, diseases, limited nutrient consumption or endogenous disturbances. In such cases nucleotides provide bases and nucleic acids for immediate utilization, *via salvaging*. This is an important way, particularly for tissues and organs where the synthesis of nucleotides is deficient. Additionally, dietetic nucleotides participate in cell division and growing, modulation of immunological system, and help maintaining intestinal health, reducing incidence of enteric diseases. This review aimed to provide information about nucleotides requirements for different species of animals and its effects on immunological system and gastrointestinal tract.

Key words: dietary nucleotides, animal nutrition, immunological system, gastrointestinal tract.

INTRODUÇÃO

Existe atualmente uma restrição muito forte ao uso de antibióticos na alimentação animal, uma vez que tais produtos passaram a ser visto como fatores de risco para a saúde humana, tanto pela presença de resíduos na carne, ovos ou leite que participam da alimentação humana, como por induzirem a resistência cruzada de bactérias patogênicas para humanos. Por isso, o uso desses produtos está sendo banido em países onde a pressão por parte dos organismos representantes dos anseios da população é mais forte, como, por exemplo, na Comunidade Européia.

Torna-se evidente, portanto, a necessidade de estudos de produtos que possam substituir os antibióticos na alimentação animal, sem causar perdas de produtividade e saúde dos animais. Os substitutos devem manter as ações benéficas dos antibióticos e eliminar as indesejáveis, como por exemplo, a resistência bacteriana. Um grupo de nutrientes que pode atuar como alternativo aos antibióticos são os nucleotídeos dietéticos (MATEO et al., 2004). Os nucleotídeos participam da divisão celular, do crescimento da célula e da modulação do sistema imunológico. Além disso, os nucleotídeos dietéticos podem ajudar na manutenção da saúde intestinal, reduzindo a incidência de doenças entéricas.

Em função do papel que os nucleotídeos dietéticos desempenham na manutenção da saúde intestinal, os mesmos podem atuar como uma solução ao uso de antibióticos na alimentação dos animais jovens. Além disso, a inclusão de nucleotídeos dietéticos na nutrição humana melhora a saúde intestinal e o desenvolvimento do sistema imune. Entretanto, existem poucos dados relativos à necessidade de nucleotídeos para animais existe, e as informações sobre o seu papel no desenvolvimento do sistema imune e saúde intestinal dos animais são escassas.

O presente trabalho tem por objetivo fornecer informações sobre o uso de nucleotídeos para as diferentes espécies e os seus efeitos sobre o sistema imunológico e trato gastrointestinal dos animais.

Nucleotídeos

Os nucleotídeos são compostos por uma base nitrogenada (purina ou pirimidina), uma pentose e um ou mais grupos fosfatos (LEHNINGER et al., 1995). Quando o grupo fosfato é ausente o composto é conhecido como nucleosídeo e são formados pela combinação da pentose e uma base nitrogenada através de ligações glicosídicas (RIEGEL, 2002). A pentose pode ser a ribose para o RNA ou a 2'-desoxi-ribose para o DNA. A cadeia de nucleotídeos ligados *via* fosfodiéster ao carbono-3 e carbono-5 da ribose são conhecidos como

¹ Zootecnista, MSc., Doutoranda em Nutrição Animal pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia, UFPEL, RS. Correio eletrônico: rossi_patricia@yahoo.com.br

² Eng. Agrônomo, M.Sc., Ph.D., Departamento de Zootecnia, UFPEL

³ Med. Veterinário, M.Sc., Ph.D., Departamento de Zootecnia, UFPEL.

polinucleotídeos ou ácidos nucléicos. Os ácidos nucléicos são responsáveis pelo armazenamento, transmissão e expressão genética. Os ácidos nucléicos conjugados a proteínas são chamados de nucleoproteínas.

Os nucleotídeos participam de vários processos bioquímicos essenciais para o funcionamento do organismo (LEHNINGER et al., 1995). Atuam como precursores dos ácidos nucléicos (DNA e RNA), fonte de energia (ATP e GTP), coenzimas (FAD, NAD e CoA) e reguladores fisiológicos (AMPc, GMPc) (LERNER & SHAMIR, 2000). Nutricionalmente, os nucleotídeos não são considerados essenciais, pois são sintetizados *via de novo* pelo organismo utilizando aminoácidos como precursores ou por *via de salvamento* a partir da degradação de aminoácidos e nucleotídeos da dieta (LERNER & SHAMIR, 2000). Porém, os nucleotídeos são considerados semi ou mesmo essenciais quando o organismo necessita de quantidade maior do que são sintetizados ou obtidos *via de salvamento*, como no caso de rápido crescimento, estado de doença, consumo limitado de nutrientes ou distúrbio endógeno (LERNER & SHAMIR, 2000).

Importância dos nucleotídeos na dieta

Os nucleotídeos dietéticos são importantes para tornar disponíveis bases e nucleosídeos que podem ser utilizados imediatamente na síntese de nucleotídeos, *via de salvamento*. Essa *via* é extremamente importante para os tecidos e órgãos cuja síntese de nucleotídeos é deficiente, mas que apresentam uma rápida divisão mitótica, como cérebro, eritrócitos, medula óssea, mucosa intestinal e linfócitos. Pois, nestes tecidos há uma grande demanda de ácidos nucléicos para atender a rápida divisão mitótica (WESTWOOD, 1999). As células de rápido crescimento, como enterócitos, apresentam capacidade limitada para síntese de purinas e pirimidinas pela síntese *de novo*, portanto é necessária a suplementação exógena para manter o pool de nucleotídeos (UAUY, 1994).

Importância dos nucleotídeos para o intestino

Os nucleotídeos modificam o tipo e o crescimento da microflora intestinal (UAUY et al., 1994). Os nucleotídeos dietéticos podem favorecer o desenvolvimento da flora fecal com predominância de bifidobactérias, semelhante à observada no leite materno. As bifidobactérias tem um potencial benéfico, pois diminuem o pH intestinal devido a sua capacidade de hidrolisar açúcar para ácido lático, que por sua vez suprime a proliferação de bactérias patogênicas. As bifidobactérias também inibem o crescimento de enterobactérias responsáveis por doenças que causam diarreia. Segundo UAUY (1994), os nucleotídeos dietéticos podem estimular o crescimento de bifidobactérias *in vivo*, porém, não pode ser determinado se a porcentagem diminuída de enterobactéria é devido a um efeito direto de nucleotídeos ou é um resultado de competição de crescimento pelo bifidobactéria.

Os nucleotídeos promovem o crescimento e maturação intestinal em ratos jovens (UAUY, 1989). Esses autores observaram que a suplementação de 0,8% de nucleosídeos promoveu maior altura da vilosidade, profundidade de cripta, proteína total e conteúdo de DNA no intestino proximal, quando comparado com uma dieta purificada suplementada com nucleotídeos livres. Efeitos semelhantes no trato gastrointestinal foram demonstrados em suínos (LERNER & SHAMIR, 2000). QUAN & UAUY (1991) que utilizando microscopia eletrônica, observou aumento do densidade das vilosidades e profundidade de cripta. Estudo semelhante também observou o aumento da vilosidade e profundidade de

criptas quando foram fornecidos nucleotídeos na dieta. Da mesma forma, a suplementação de 0,5% de nucleotídeos na dieta de ratos com indução de diarreia crônica promoveu melhor restabelecimento dos mesmos (NUNEZ et al., 1990; QUAN & UAUY, 1991).

Importância dos nucleotídeos para o sistema imune

A ativação dos linfonodos é acompanhada pelo aumento da síntese dos ácidos nucléicos. Os linfócitos apresentam capacidade limitada para a síntese dos nucleotídeos, seja por *via de novo* ou por *via de salvamento* (UAUY, 1989). É necessária a suplementação de nucleotídeos na dieta para a manutenção normal do sistema imunológico, pois em linfócitos normais, há um *turnover* massivo de ácidos nucléicos para atender a rápida divisão mitótica que ocorre em resposta à estimulação pelo antígeno (WESTWOOD, 1999). Estudos demonstram que a utilização de nucleotídeos na dieta aumentam a resposta imune de crianças vacinadas com antígenos de proteína T dependente (LERNER & SHAMIR, 2000). Em outro estudo, observa-se um aumento da imunoglobulina M e A quando crianças receberam nucleotídeos na alimentação (MARTINEZ-AUGUSTIN et al., 1997). É mais econômico para o organismo usar nucleotídeos dietéticos do que sintetizá-los *via de novo*, onde os aminoácidos que seriam utilizados na síntese proteica são destinados à síntese de nucleotídeos. Além disso, para a síntese de cada DNA são necessários nada menos do que 10^9 nucleotídeos.

Fontes de nucleotídeos na alimentação animal

Nucleotídeos, em especial o IMP (ionosine 5'-monofosfato), estão presentes em alimentos protéicos (CARVER & WALKER, 1995). Geralmente, alimentos ou ingredientes contendo elementos celulares são potenciais fontes dietéticas de nucleotídeos (BARNES, 1944; KOJIMA, 1974; CLIFFORD & STORY, 1976). Fontes protéicas de levedura são também ingredientes que contém alta concentração de nucleotídeos (INGLEDEW, 1999; TIBBETS, 2002). Os ingredientes não são rotineiramente analisados com relação a sua concentração de nucleotídeos, sendo que os dados disponíveis são de ingredientes como cevada, caseína, milho, farinha de peixe, aveia, proteína plasmática, farelo de soja (44%), concentrado protéico de soja e soro desidratado (Tabela 1) (MATEO & STEIN, 2004).

A concentração dos nucleotídeos no leite varia em função da espécie e período de lactação, sendo relativamente elevada nas primeiras duas semanas e diminuindo posteriormente (JOHKE, 1963; GIL & SANCHEZ-MEDINA, 1982; MATEO et al., 2004). Devido à diferença de concentração de nucleotídeos no leite de diferentes espécies, é possível que as exigências também sejam diferentes, entretanto não há dados disponíveis sobre as exigências dos nucleotídeos para animais (RUDOLPH, 1994; MATEO & STEIN, 2004). É sabido que a demanda por nucleotídeos aumenta rapidamente durante períodos de estresse e de crescimento rápido. Portanto, sua exigência pode ser elevada durante o período após o desmame das espécies.

Digestão, absorção e metabolismo dos nucleotídeos

A absorção, transporte e uso de nucleotídeos exógenos e nucleosídeos são processos complexos (SANDERSON & HE, 1994). Os nucleotídeos dietéticos são ingeridos como nucleoproteínas provenientes do material nuclear. Nucleoproteínas, ácidos nucléicos e nucleotídeos precisam ser hidrolisados, pois somente os nucleosídeos, bases e pequenos nucleotídeos são absorvidos (MATEO & STEIN,

2004). A digestão das nucleoproteínas é iniciada pela ação de proteases. Os ácidos nucleicos sofrem hidrólise parcial no estômago e posteriormente, ação de nucleases e fosfoesterases pancreáticas até formar os nucleotídeos e nucleosídeos.

O duodeno tem a maior capacidade absorviva (BRONK & HASTEWELL, 1987). Sob condições fisiológicas, os nucleotídeos têm limitada capacidade para passar através da membrana celular (SANDERSON & HE, 1994). Não há evidências de um transporte transcelular de nucleotídeos e nucleosídeos através das células intestinais (SANDERSON & HE, 1994). Nucleotídeos são os maiores veículos para entrada das purinas e pirimidinas nas células do tecido epitelial, sendo que mais de 90% dos nucleotídeos da dieta, nucleosídeos endógenos e bases são absorvidos no enterócito (SALATI et al., 1984; UAUY, 1989). O transporte dos nucleosídeos no enterócito pode ocorrer através de difusão facilitada ou por

mecanismos mediados por carreador dependente de sódio (UAUY et al., 1994).

Do enterócito, parte dos produtos metabólicos da dieta, nucleosídeos e nucleotídeos endógenos entram na veia portal hepática. Essas moléculas são carregadas para os hepatócitos para posterior metabolismo. Do fígado, os mesmos são liberados dentro do sistema circulatório e entram no tecido muscular. Tais produtos não são reutilizados para a produção de nucleotídeos e não são absorvidos, sendo que as bases púricas e pirimídicas são catabolizadas a ácido úrico, β -alanina ou β -aminoisobutirato (RUDOLPH, 1994; CARVER & WALKER, 1995; THORELL et al., 1996). Em mamíferos, exceto primatas, o ácido úrico é posteriormente catabolizado na via alantoína a enzima uricase. A alantoína é excretada na urina. Os produtos do catabolismo das bases pirimidina, β -alanina e β -aminoisobutirato, são posteriormente metabolizados na amônia, dióxido de carbono e acetil CoA.

Tabela 1 – Concentração de nucleotídeos de alguns dos ingredientes utilizados na alimentação animal.

Ingredientes	Nucleotídeo (mg g ⁻¹)				
	5'CMP	5'AMP	5'GMP	5'UMP	5'IMP
Cevada	0,002	0,001	0,001	-	0,001
Caseína	0,001	-	-	-	-
Milho	0,003	0,002	0,003	-	0,001
Farinha de peixe	0,026	0,011	0,002	0,001	0,035
Aveia	0,003	0,003	0,003	0,001	0,001
Proteína plasmática	0,002	0,002	0,002	-	0,001
Cel. sanguíneas vermelhas	-	0,044	0,003	0,002	0,006
Concentrado protéico de soja	-	0,001	0,002	-	0,001
Farelo de soja, 44%	0,016	0,008	0,003	0,009	0,002
Soro, desidratado	0,270	0,019	0,000	0,001	0,004

Adaptado de MATEO & STEIN (2004).

Síntese dos nucleotídeos

Os animais podem sintetizar os nucleotídeos. O processo ocorre no citosol do hepatócito onde as enzimas para a síntese das purinas e pirimidinas estão disponíveis. A síntese dos nucleotídeos, purinas e pirimidinas tem um alto custo metabólico, necessitando uma grande quantidade de energia na forma de ATP.

As purinas e pirimidinas podem ser sintetizadas via *de novo* ou por via de salvamento. O caminho para a formação das purinas consiste de 10 etapas. A etapa inicial envolve o fosforibosilpirofosfato (PRPP) e a glutamina. A primeira purina formada é a ionosina monofosfato (IMP), que é convertida para AMP ou GMP dependendo da necessidade da célula. Os monofosfatos da purina e pirimidina são convertidos para difosfato e trifosfato por várias enzimas quinases que usam o ATP como fonte de fósforo. Na biossíntese da pirimidina o PRPP não é adicionado até a formação do ácido orótico. A orotidina monofosfato (OMP) é a primeira pirimidina formada, mas sua função nas células é apenas como precursora de outras pirimidinas. A uridina monofosfato (UMP) é formada da OMP, que por sua vez origina a CTP (citosina trifosfato) e a TTP (tiamina trifosfato). A síntese de um nucleotídeo a partir de um nucleosídeo e um grupo fosfato inorgânico é realizado via salvamento. Os nucleotídeos usados nesta via podem se originar de fontes dietéticas. O ciclo de salvamento pode também ser usado para ressintetizar nucleotídeos via fosforribosilação das purinas e pirimidinas formadas durante o catabolismo dos nucleotídeos. Essa via pode poupar energia e células de leucócitos, eritrócitos, células marrom dos ossos, células da mucosa intestinal e linfócitos, que são incapazes de serem sintetizados via *de novo*, para manter o *pool* de nucleotídeos (SANDERSON & HE, 1994).

Na base molar, purinas e pirimidinas são sintetizadas em igual quantidade, sendo que a síntese é regulada estritamente por retroalimentação e regulação alostérica.

Armazenamento dos nucleotídeos

O metabolismo dos nucleotídeos é caracterizado por constante síntese e catabolismo. Estudos com animais indicam que 2 a 5% dos nucleotídeos dietéticos são retidos no intestino delgado, fígado e tecido muscular esquelético (SAVIANO & CLIFFORD, 1978). O aumento da retenção de nucleotídeos nos tecidos tem sido verificado em animais jovens (KOBOTA, 1969) e durante o crescimento (SAVIANO & CLIFFORD, 1978; GROSS & SAVIANO, 1991), o que pode ser a manifestação da exigência fisiológica.

Papel fisiológico dos nucleotídeos

A concentração de ribonucleotídeos é relativamente constante em todas as células, enquanto que a concentração de desoxiribonucleotídeos varia com o estágio do ciclo da célula (BARNESS, 1944). Nucleotídeos são compostos de ácidos nucleicos, DNA e RNA. Os nucleotídeos também tem papel fisiológico no organismo como fonte de energia na forma de ATP e GTP, funcionando como cofatores na reação de oxidação e redução (FAD, NAD⁺, NADP⁺), servindo como reguladores fisiológicos (cAMP e cGMP), e carregando intermediários ativos (UDP-glucose, CMP-ácido sialico e CDP-colina) e grupos acil (CoA). A rápida divisão de tecidos aumenta a replicação de DNA e a síntese de RNA (CORY, 1992), sendo que a participação dos nucleotídeos na síntese de RNA, regeneração de novos tecidos após lesão ou relativa deficiência nutricional é aumentada (IWASA et al., 1997; YAMAUCHI et al., 1998). A replicação de DNA ocorre durante

a fase S do ciclo da célula, e durante esse período a atividade enzimática é aumentada para a síntese de purina e pirimidina e interconversão dos nucleotídeos (CARVER & WALKER, 1995). Sendo assim, há um aumento na demanda por nucleotídeos durante a divisão celular e crescimento (TSUJINAKA et al., 1999).

A suplementação de nucleotídeos na dieta está associada com imunidade celular e humoral, mas o exato mecanismo ainda não foi elucidado. A deficiência de nucleotídeos causa a prisão das células T na fase G do ciclo da célula, prevenindo a resposta para vários sinais imunológicos que ocorre pela transição para a fase S (KULKARNI et al., 1994). A deficiência de nucleotídeos também causa uma diminuição na atividade fagocítica, na produção de linfócitos, e/ou inibição da maturação de linfócitos (PAUBERT-BRAQUET et al., 1992). Nucleotídeos dietéticos contribuem para estimular a produção de leucócitos (KULKARNI et al., 1994; CARVER & WALKER, 1995), sendo que a sua exigência é aumentada durante os períodos de desafio imunológico.

Fatores dietéticos têm um papel significativo na resposta de anticorpos para a imunização de crianças. Crianças alimentadas com leite fortificado com nucleotídeos têm melhor resposta de imunização, conforme evidenciado pelo aumento da resposta humoral dos anticorpos (FANSLOW et al., 1988; PICKERING et al., 1998) e aumento da produção de citocinas (CARVER et al., 1991). Estudos *in vivo* com ratos têm mostrado resultados semelhantes para a suplementação de nucleotídeos (JYONOUCHI et al., 1993; JYONOUCHI, 1994). A suplementação de nucleotídeos livres na dieta (AMP, GMP ou UMP) tem mostrado um aumento na concentração de imunoglobulina (NAVARRO et al., 1996). A suplementação de nucleotídeos purificados na dieta para substituir o leite para bovinos recém nascidos resulta em uma maior quantidade média do nível de IgG dos animais suplementados em comparação aos não suplementados (OLIVER et al., 2003). A suplementação de nucleotídeos também aumenta a estimulação para fitohematoglutina e concanavalina-A em suínos desmamados, para 50 e 30%, respectivamente (ZOMBORSKY-KOVACS et al., 1998). Resultados semelhantes foram observados em suínos alimentados com levedura (CAMERON et al., 2001). Suínos infectados com *Escherichia coli* alimentados com dietas suplementadas com um extrato de levedura natural como fonte de nucleotídeos, reduziu a diarreia e melhorou o ganho de peso e a conversão alimentar comparado com suínos alimentados com a dieta controle (MARIBO, 2003). Tais resultados mostram que a suplementação de nucleotídeos na dieta animal é importante para o desenvolvimento, manutenção e melhora do sistema imune.

Nucleotídeos dietéticos aumentam a absorção intestinal de ferro, afetam lipoproteínas e o metabolismo de ácidos graxos de cadeia longa poliinsaturada, têm efeito tóxico na mucosa intestinal e fígado, e reduzem a incidência de diarreia (COSGROVE, 1998; SCHLIMME et al., 2000). A flora fecal de crianças alimentadas com fórmula comercial de leite suplementada com nucleotídeos tem uma predominância de bifidobactérias (TANAKA & MUTAI, 1980), enquanto que há predominância de enterobactérias na flora fecal de crianças alimentadas com a fórmula comercial sem a suplementação de nucleotídeos (UAUY, 1994). Esses estudos sugerem que a suplementação de nucleotídeos pode influenciar positivamente a microflora no trato gastrointestinal, diminuindo o pH gástrico e impedindo a proliferação de espécies de bactérias patogênicas e a incidência de diarreia (YU, 1998).

A suplementação de nucleotídeos aumenta a resistência de ratos inoculados com *Candida albicans* (FANSLOW et al., 1988) e *Staphylococcus aureus* (KULKARNI et al., 1986; CARVER, 1994). A administração intraperitoneal de nucleotídeos e nucleosídeos diminui a translocação de bactérias, o número de unidades de colônias formadas e diminui a sobrevivência de ratos resistente a *S. aureus* (YAMAMOTO et al., 1997). Os nucleotídeos aumentam, portanto a resistência para uma bactéria com potencial patogênico. A suplementação de nucleotídeos dietéticos obtidos a partir de extrato de levedura em dietas para vacas de leite melhora a saúde intestinal, conforme verificado pela melhora dos escores fecais, em comparação com vacas não suplementadas (OLIVER et al., 2002). Em suínos, nucleotídeos na concentração semelhante à do leite humano exerce um efeito protetor no lúmen intestinal contra uma resposta inflamatória (BUSTAMANTE et al., 1994). Nucleotídeos dietéticos aumentam o crescimento e a maturação das células epiteliais intestinais conforme evidenciado pelo aumento da formação da proteína na mucosa, DNA, vilosidades no intestino delgado e aumento da taxa das enzimas maltase e lactase (UAUY et al., 1990; CARVER, 1994). Nucleotídeos dietéticos também estimulam a diferenciação celular (SANDERSON & HE, 1994). A suplementação com ácido nucléico estimula a proliferação das células da mucosa (KISHIBUCHI et al., 1997; TSUJINAKA et al., 1999). O desenvolvimento do trato gastrointestinal afeta diretamente o grau de absorção de nutrientes e conseqüentemente, o crescimento animal. Em função do papel que os nucleotídeos apresentam na manutenção da morfologia intestinal e maturação, sua presença na dieta parece ser necessária principalmente após o desmame para a manutenção da estrutura e o crescimento do trato intestinal.

Nucleotídeos na alimentação de suínos desmamados

As exigências dos nucleotídeos são elevadas durante os períodos de rápido crescimento, períodos de estresse e em animais com o sistema imune comprometido. Suínos desmamados apresentam todos estes fatores, o que leva a supor que os mesmos apresentam uma alta exigência de nucleotídeos durante esse período. Para a síntese de nucleotídeos é necessário principalmente energia e glutamina, sendo que suínos desmamados são deficientes nestes dois fatores, por isso não sintetizam nucleotídeos em quantidade suficiente durante o período pós-desmame. Desta forma a suplementação com, os nucleotídeos dietéticos devem ser realizada.

Em dietas iniciais de suínos desmamados a concentração de 5'CMP encontra-se próxima da concentração verificada no leite de porcas durante a última metade da lactação, mas a concentração de 5'AMP, 5'GMP, 5'IMP e 5'UMP é bastante baixa quando comparado com leite de porcas. Assumindo que a concentração de nucleotídeos no leite das porcas é representativa das exigências dos leitões, pode-se concluir que a dieta inicial de suínos jovens é deficiente para quatro dos cinco nucleotídeos, sendo, portanto, necessária a sua suplementação na dieta.

SPRING (2001) avaliou os efeitos da inclusão de uma fonte rica em nucleotídeos (Nupro[®]) sobre o desempenho e saúde de suínos desmamados. Os leitões alimentados com a dieta contendo Nupro[®] apresentaram uma tendência de maior ganho de peso, maior consumo de ração e melhor eficiência alimentar, além de apresentar menor incidência de diarreia.

As Tabelas 2 e 3 resumem algumas das principais pesquisas realizadas com nucleotídeos na alimentação animal.

Tabela 2 – Pesquisas sobre suplementação de nucleotídeos (NT) na dieta de peixes.

Autores	Nucleotídeo	Dose	Tempo de administração	Espécie	Tamanho inicial	Efeito
Ramadan & Atef (1991)	Ascogen S	2-5 g kg ⁻¹ dieta	16 semanas	Tilápia híbrida	21 dias	↑ crescimento, ↑ sobrevivência
Ramadan et al. (1996)	Ascogen S	5 g kg ⁻¹ dieta	120 dias	Tilápia híbrida	30 dias	↑ anticorpos após vacinação, ↑ resposta mitogênica dos linfócitos
Adamek et al. (1996)	Ascogen	0,62; 2,5; 5 g kg ⁻¹ dieta (1% peso corporal dia ⁻¹)	37 dias	Truta arco-íris	163,4-169,7 g peixe ⁻¹	↑ crescimento
Burrells et al. (2001a)	Optimun	2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT, 2% peso corporal dia ⁻¹	3 semanas	Truta arco-íris	217 ± 62 g	↑ sobrevivência após o desafio com <i>V. Anguillarum</i>
		2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT, 1% peso corporal dia ⁻¹	2 semanas	Truta arco-íris	53-55 g	↑ sobrevivência após desafio com vírus da anemia infecciosa de salmão
		2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT, 2% peso corporal dia ⁻¹	3 semanas	Salmão Coho	100 g	↑ sobrevivência após desafio com <i>Piscirickettsia salmonis</i> ,
		2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT, 2% peso corporal dia ⁻¹	3 semanas	Salmão do atlântico	60 g	↓ Sea lice infecção
Burrells et al. (2001b)	Optimun	2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT, 1,5% peso corporal dia ⁻¹	3 semanas antes da vacinação e 5 semanas pós-vacinação	Salmão do atlântico	34,7 ± 9,6 g	↑ titulação de anticorpos, ↓ mortalidade
		2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT, 1,5% peso corporal dia ⁻¹	8 semanas	Salmão do atlântico	43 ± 3 g	↓ plasma chloride, ↑ crescimento
		2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT	10 semanas	Salmão do atlântico	205 g	↑ pregas intestinais
Sakai et al. (2001)	Ribonuclease(levedura digerida – RNA)	15 mg peixe ⁻¹	3 dias	Carpa comum	100 g	↑ fagocitose, ↑ taxa respiratório, ↑ lisozima, ↓ infecção <i>A. hydrophila</i>
Leonardi et al. (2003)	Optimun	Concentração não disponibilizada	120 dias	Truta arco-íris	80-100 g	↑ linfócito B, ↑ resistência ao vírus IPN, ↓ cortisol plasmático
Low et al. (2003)	Optimun	2 g kg ⁻¹ dieta, contendo 0,03% NT estabelecido de acordo com exigência diária	15 semanas	Turbot <i>Scophthalmus maximus</i>	120,9 ± 5,1 g	Altera a expressão imunogenética em vários tecidos
Li et al. (2004a,b)	Ascogen P	5 g kg ⁻¹ dieta, estabelecido de acordo com exigência diária	7 semanas	Híbrida striped bass	7,1; 9,1 g	↑ produção neutrófilos radical oxidativo, ↑ sobrevivência após desafio com <i>Streptococcus iniae</i>

Adaptado de LI & GATLIN III (2005).

Tabela 3 – Pesquisas sobre suplementação de nucleotídeos (NT) na dieta de diferentes espécies.

Referência	Nucleotídeo	Dose	Tempo de administração	Espécie	Tamanho inicial	Efeito
NUNEZ et al. (1990)	AMP, GMP, CMP, UMP, IMP	50 mg 100 g ⁻¹ dieta de cada nucleotídeo	4 semanas	Ratos	21 dias	↑ DNA e atividade da lactase, maltase e sucrase
BUENO et al. (1994)	AMP, GMP, CMP, UMP, IMP	50 mg 100 g ⁻¹ dieta de cada nucleotídeo	14 dias	Ratos	21 dias	Histologia intestinal normal
KULKARNI et al. (1986)	RNA, adenina, uracila	0,25%, 0,06%, 0,06%	8 semanas	Ratos BALB/c		↑ sobrevivência após desafio com <i>Sataphylococcus sepsis</i> ↑ resistência a desafios bacterianos
NOVAK et al. (1994)	AMP, GMP, CMP, UMP, IMP	0,21% w w ⁻¹ , 0,0425% AMP w w ⁻¹	5 semanas	Ratos	21 dias	Afeta o crescimento do fígado e a concentração de AMP
BOZA et al. (1996)	AMP, GMP, CMP, UMP, IMP	250 mg 100 g ⁻¹ dieta de cada nucleotídeo	4 semanas	Ratos	21 dias	↑ Ácido graxo no plasma, monoinsaturados, PUFA
HIROOMI et al. (2004)	Nucleosídeos	0%, 0,5%, 2,5%		Ratos	5 semanas	Inibe o desenvolvimento de lesões não-neoplásticas (amiloidosis)
ADJEI & YAMAMOTO (1995)	Nucleosídeo-nucleotídeo	0,5%	4 semanas	Ratos	8 semanas e 29 ± 2 g	Inibe ou ↓ incidência de translocação, ↓ lesão intestinal, ↑ sobrevivência
CARVER et al. (2002)	CMP, UMP, AMP, GMP	80,6 mg L ⁻¹		Crianças	< 31 dias de idade gestacional	Efeitos na vasculatura intestinal
DOMENE-GHINI et al. (2004)	Nucleotídeos	0,05%	28 dias	Suínos		↑ Altura vilos (V), profundidade cripta (C), ↓ V:C, ↓ cel. apoptóticas da mucosa (A), ↑ cel. mitóticas da mucosa (M), ↓ A:M, ↑ macrófagos na mucosa, efeito positivo sobre a morfologia da mucosa ileal de suínos
Carlson et al. (2005) citado por RUTZ et al. (2006)	Nupro [®]	5%, 2,5%	1-14 dias 15-28 dias	Suínos		↑ Ganho de peso diário e consumo de ração
Carlson et al. (2005) citado por RUTZ et al. (2006)	Nupro [®]		Creche	Suínos		↑ Peso no abate
RUTZ et al. (2004)	Nupro [®]	2%	1-7 dias 38-42 dias	Frangos de corte		↑ Consumo de ração e ganho de peso ↑ Ganho de peso
QURESHI(2002)	Nupro [®]	2,5 %, 5 %, 10%		Frangos de corte		↑ leucócitos e atividade de macrófago

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os nucleotídeos são cruciais para a manutenção do estado de saúde dos animais, sendo que durante períodos de crescimento rápido, desafio sanitário, lesão e estresse, as exigências de nucleotídeos são maiores. Adicionalmente, o seu uso aumenta a presença de bifidobactérias no intestino e reduz a presença de bactérias patogênicas. Os nucleotídeos podem ser sintetizados via de novo ou pela via salvamento. A

via de novo requer maior quantidade de energia, em comparação à via salvamento.

Por desempenhar papel importante na função intestinal e no sistema imunológico, os nucleotídeos representam uma excelente fonte de inclusão na dieta dos animais.

REFERÊNCIAS

- ADJEI, A. A.; YAMAMOTO, S. A dietary nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-free diet. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 125, n.1, p.42-48, 1995.
- BARNES, L. Dietary source of nucleotides - from breast milk to weaning. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, n.1, p.128-130, 1994.
- BOZA, J. J.; JAHOR, F.; REEDS, P. J. Ribonucleic acid nucleotides in maternal and fetal tissues derive almost exclusively from synthesis de novo in pregnant mice. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.126, n.7, p.1749-1758, 1996.
- BRONK, J. R.; HASTEWELL, J. G. The transport of pyrimidines into tissue rings cut from rat small intestine. **Journal of Physiology**, Paris, v.382, n.1, p.475-488, 1987.
- BUENO, J.; TORRES, M.; ALMENDROS, A. et al. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. Histological and ultrastructural changes. **Gut**, London, v.35, n.7, p.926-933, 1994.
- BUSTAMANTE, S. A.; SANCHEZ, N.; CROSIER, J. et al. Dietary nucleotides: effects on gastrointestinal system in swine. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, n.1, p.149-156, 1994.
- CAMERON, B. F.; WONG, C. W.; HINCH, G. N. et al. Effects of nucleotides on the immune function of early-weaned pigs. In: DIGESTIVE PHYSIOLOGY OF PIGS, 8., 2001, New York, **Anais...** New York: Cabi Publishing, 2001. v.1. p.66-68.
- CARVER, J. D. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, n.1, p. 144-148, 1994.
- CARVER, J. D.; PIMENTEL, B.; COX, W. I. et al. Dietary nucleotide effects upon immune function in infants. **Pediatrics**, New York, v. 88, n. 2, p. 359-363, 1991.
- CARVER, J. D.; SASTE, M.; SOSA, R. et al. The effects of dietary nucleotides on intestinal blood flow in preterm infants. **Pediatric Research**, Baltimore, v. 52, n. 3, p. 425-429, 2002.
- CARVER, J. D.; WALKER, W. A. The role of nucleotides in human nutrition. **Nutrition. Biochemistry**, Stoneham, v.6, n.2, p. 58-72, 1995.
- CLIFFORD, A. J.; STORY, D. L. Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.106, n. 3, p. 435-442, 1976.
- COSGROVE, M. Perinatal and infant nutrition. Nucleotides. **Nutrition**, New York, v.14, n. 10, p.748-751, 1998.
- DOMENEGHINI, C.; GIANCAMILLO, A.; SAVOINI, G. et al. Structural patterns of swine ileal mucosa following L-glutamine and nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrial study. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 19, n. 1, p. 49-58, 2004.
- FANSLAW, W. C.; KULKARNI, A. D.; VAN BUREN, C. T. et al. Effect of nucleotide restriction and supplementation on resistance to experimental murine candidiasis. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v.12, n.1, p.49-52, 1988.
- GIL, A.; SANCHEZ-MEDINA, F. Acid soluble nucleotides of cow's, goat's and sheep's milks at different stages of lactation. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.48, p.35-44, 1982.
- GROSS, C. J.; SAVIANO, D. A. The effect of nutritional state and allopurinol on nucleotide formation in enterocytes from guinea pig small intestine. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1073, n.1, p.260-267, 1991.
- HIROOMI, Y.; FUJIWARA, H.; WATANABE, H. Dietary nucleosides and nucleotides do not affect tumor incidence but reduce amyloidosis incidence in B6CF1 mice irradiated with californium-252. **Nutrition**, New York, v.20, n.4, p.383-389, 2004.
- INGLEDEW, W. M. Yeast - could you base a business on this bug? In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 9, 1999, Lexington, **Anais...** Lexington: Nottingham University Press, 1999. v.1. p. 27-47.
- IWASA, Y.; IWASA, M.; OMORI, Y. et al. The well-balanced nucleoside-nucleotide mixture 'OG-VI' for special medical purposes. **Nutrition**, New York, v.13, n.7-8, p.361-364, 1997.
- JOHKE, T. Acid soluble nucleotides of colostrum, milk and mammary gland. **Journal of Biochemistry**, New York, v.54, n.7-8, p.388-397, 1963.
- JYONOUCHI, H. Nucleotides actions on humoral immune responses. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, n.1, p.138-143, 1994.
- JYONOUCHI, H.; ZHANG, L.; TOMITA, Y. Immunomodulating actions of RNA and nucleotides on murine lymphocytes in vitro. Augmentation of antibody production to T-dependent antigens and expansion of T-helper cells. **Journal of Nutritional Immunology**, Minneapolis, v.2, p.5-24, 1993.
- KISHIBUCHI, M.; TSUJINAKA, T.; YANO, M. et al. Effects of nucleoside and nucleotide mixture on gut mucosal barrier function on parenteral nutrition in rats. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v.21, n.2, p.104-111, 1997.
- KOBOTA, A. Nutritional study of nucleotide components in the milk. **Acta Paediatric Japanese**, Tokyo, v.73, n.2, p.197-209, 1969.
- KOJIMA, K. Safety evaluation of disodium 5'-inosinate, disodium 5'-guanylate and disodium 5'-ribonucleate. **Toxicology**, Limerick, v.2, p.185-206, 1974.
- KULKARNI, A. D.; RUDOLPH, F. B.; VAN BUREN, C. T. The role of dietary sources of nucleotides in immune function: a review. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, n.8, p.1442S-1446S, 1994.
- KULKARNI, A. D.; FANSLAW, W. C.; RUDOLPH, F. B. et al. Effect of dietary nucleotides on response to bacterial infections. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v.10, n.2, p.169-171, 1986.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Nucleotídeos e ácidos nucleicos. In: LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. (Eds.) **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. cap. 12. p. 242-268.
- LERNER, A.; SHAMIR, R. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. **IMAJ**, Haifa, v.2, n.10, p.772-774, 2000.
- LI, P.; GATLIN III, D. M. Nucleotide nutrition in fish: current knowledge and future applications. **Aquaculture**, Amsterdam, v.251, n.24, p. 1-12, 2005.
- MARIBO, H. Weaning pigs without antibiotic growth promoters: strategies to improve health and performance. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 19., 2003, Lexington, **Anais...** Lexington: Nottingham University Press, 2003. v.1. p.179-184.
- MATEO, C. D.; PETERS, D. N.; STEIN, H. H. Nucleotides in sow colostrum and milk at different stages of lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, p.1339-1342, 2004.
- MATEO, C. D.; STEIN, H. H. Nucleotides and young animal health: can we enhance intestinal tract development and immune function? In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 20., 2004, Lexington, **Anais...** Lexington: Nottingham University Press, 2004. v.1. p.159-170.
- MARTINEZ-AUGUSTIN, O.; BOZA, J.; NAVARRO, J. et al. A. Dietary nucleotides may influence the humoral immunity in immunocompromised children. **Nutrition**, New York, v.13, n.5, p.465-469, 1997.

- NAVARRO, J.; BARVO, A. R.; VALERA, M. J. et al. Modulation of antibody-forming cell and mitogen-driven lymphoproliferative responses by dietary nucleotides in mice. **Immunology Letters**, Amsterdam, v.53, n.2-3, p.141-145, 1996.
- NOVAK, D. A.; CARVER, J. D.; BARNES, L. A. Dietary nucleotides affect hepatic growth and composition in the weanling mouse. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v.18, n.1, p.62-66, 1994.
- NUNEZ, M. C.; AYUDARTE, M. V.; MORALES, D. et al. Effect of dietary nucleotides on intestinal repair in rats with experimental chronic diarrhea. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v.14, n.6, p.598-604, 1990.
- OLIVER, C. E.; BAUER, M. L.; SCHROEDER, J. W. et al. Dietary nucleotides enhance calf immune function. **The FASEB Journal**, Bethesda, v.16, Suppl. A985, p.726, 2002.
- OLIVER, C.E.; BAUER, M. L.; ARIAS, C. M. D. J. et al. Influence of dietary nucleotides on calf healf. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, Suppl.1, p.136, 2003.
- PAUBERT-BRAQUET, M.; DUPONT, C.; HEDEF, N. et al. Quantification of nucleotides in human milk and their effects on cytokine production by murine fibroblasts, J77A1 macrophages and human monocytes. **Foods, Nutrition and Immunity**, Paris, v.1, p.22-34, 1992.
- PICKERING, L. K.; GRANOFF, D. M.; ERICKSON, J. R. et al. Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. **Pediatrics**, New York, v.101, n.2, p.242-249, 1998.
- QUAN, R.; UAUY, R. Nucleotides and gastrointestinal development. **Acta Paediatrica**, Dallas, v.8, Suppl.430, p.83-88, 1991.
- QURESHI, M. A. Differential expression of inducible nitric oxide synthase is associated with differential Toll-like receptor-4 expression in chicken macrophages from different genetic backgrounds. **Veterinary Immunology & Immunopathology**, Amsterdam, v.84, n.3-4, p.191-207, 2002.
- RIEGEL, R. E. Mecanismo da síntese das proteínas. In: RIEGEL, R. E. (Ed.) **Bioquímica**. São Leopoldo: Unisinos, 2002. cap. 10. p. 321-350.
- RUDOLPH, F. B. The biochemistry and physiology of nucleotides. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, n.1, p. 124S-127S, 1994.
- RUTZ, F. ; XAVIER, E. G. ; RECH, J. L. et al. Os nucleotídeos são nutrientes essenciais ? Níveis de inclusão e efeitos sobre o desempenho animal. In : RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 16., 2006, Maringá, **Anais...** Maringá: Alltech São Pedro, 2006. v.1. 52 p.
- RUTZ, F. ; ANCIUTI, M. A. ; RECH, J. L. et al. Performance and carcass traits of broilers fed diets containing yeast extract (Nupro®). In : RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 20, 2004, Lexington, **Abstracts...** Lexington: Alltech Inc. Nicholasville, 2004. v.1. 52 p.
- SALATI, L. M.; GROSS, C. J.; HENDERSON, L. M. et al. Absorption and metabolism of adenine, adenosine-5-monophosphate, adenosine and hypoxanthine by the isolated vascularly perfused rat small intestine. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.114, n.4, p.753-760, 1984.
- SANDERSON, I. R.; HE, Y. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, Suppl.1, p.131-137, 1994.
- SAVIANO, D. A.; CLIFFORD, A. J. Absorption, tissue incorporation and excretion of free purine bases in the rat. **Nutrition Reports International**, Italy, v.17, p.551-556, 1978.
- SCHLIMME, E.; MARTIN, D.; MEISEL, H. Nucleosides and nucleotides: natural bioactive substances in milk and colostrum. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.84, Suppl.1, p.S59-S68, 2000.
- SPRING, P. Effect of Nupro® 2000 on commercial pig performance in Switzerland. Zurich: 2001.
- TANAKA, R.; MUTAI, M. Improved medium for selective isolation and enumeration of Bifidobacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.40, n.5, p.866-869, 1980.
- THORELL, L.; SJOBERG, L. B.; HERNELL, O. Nucleotides in human milk: sources and metabolism by the newborn infant. **Pediatric Research**, Baltimore, v.40, n.6, p.845-852, 1996.
- TIBBETS, G. W. Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 18, 2002, Lexington, **Anais...** Lexington: Nottingham University Press, 2002. v.1. p. 435-443.
- TSUJINAKA, T.; KISHIBUCHI, M.; IJIMA, S. et al. Nucleotides and intestine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v.23, p.74-77, 1999.
- UAUY, R. **Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infance**. New York: Raven Press, Ltda, 1989. 1383p.
- UAUY, R. Nonimmune system responses to dietary nucleotides. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, Suppl.1, p. 157S-159S, 1994.
- UAUY, R.; QUAN, R.; GIL, A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, n.8, p. 1436-1441, 1994.
- UAUY, R.; STRIGEL, G.; THOMAS, R. et al. Effect of dietary nucleosides of growth and maturation of the developing gut in rat. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v.10, n.4, p.497-503, 1990.
- YAMAMOTO, S.; WANG, M. F.; ADJEI, A. A. et al. Role of nucleotides and nucleosides in immune system, gut reparation after injury and brain function. **Nutrition**, New York, v.13, n.4, p.372-374, 1997.
- YAMAUCHI, K.; ADJEI, A. A.; AMEHO, C. K. et al. Nucleoside-nucleotide mixture increases bone marrow cell number and small intestine RNA content in protein deficient mice after an acute bacterial infection. **Nutrition**, New York, v.14, n.3, p.270-275, 1998.
- YU, V. Y. The role of dietary nucleotides in neonatal and infant nutrition. **Singapore Medical Journal**, Miaoli, v.39, n.4, p.145-150, 1998.
- ZOMBORSKY-KOVACS, M.; TUBOLY, S.; BIRO, H. et al. The effect of β -carotene and nucleotide base supplementation on haematological, biochemical and certain immunological parameters in weaned pigs. **Journal Animal and Feed Science**, Göttingen, v.7, n.3, p.242-251, 1998.
- WESTWOOD, O.M.R. The scientific basics for health care. London: Yimes Mirror Internacional Publishers, 1999.616p. Amazon.co.uk.