

PROTEASE EXÓGENA: EFEITOS NA SAÚDE INTESTINAL E DESEMPENHO EM AVES E LEITÕES DESMAMADOS

(Exogenous protease: effects on intestinal health and performance of poultry and weaned piglets)

Idael Matheus Góes LOPES^{1*}; Marcelo Dourado de LIMA¹; Naiara Cristina dos Santos SILVEIRA²; César Andrés Guato GUAMÁN¹; Liliana Kwong Kwai LING¹

¹Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG-EV). Rua José Ribeiro Filho, 396, Belo Horizonte/MG. CEP: 31.330-500; ²Cusro de Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia. *E-mail: idael.matheus@gmail.com

RESUMO

O uso de enzimas exógenas é uma das estratégias alimentares utilizadas na nutrição de animais não ruminantes. A protease exógena é fundamental para garantir maior e melhor aproveitamento de fontes vegetais proteicas utilizadas em dietas para aves e suínos. Associado a isto, a menor presença de nitrogênio nas excretas e fezes dos animais também deve ser levada em consideração, em função do aumento na eficiência do processo de digestão e de absorção dos nutrientes proteicos. Além disso, a manutenção da saúde intestinal tornou-se uma estratégia essencial para garantir melhor desempenho animal. Neste contexto, o melhor aproveitamento das proteínas no intestino delgado seguido de redução da proteína fermentável no intestino grosso é considerado um efeito benéfico promovido pela ação da protease, pois reduz o teor de substrato para ação de bactérias patogênicas, garantindo uma microbiota saudável e eficiente. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi apresentar as principais ações da protease exógena utilizada na nutrição de aves e leitões desmamados, bem como seus efeitos na saúde intestinal e desempenho animal.

Palavras-chave: Avicultura, digestibilidade de nutrientes, microbiota, nutrição, suinocultura.

ABSTRACT

The use of exogenous enzymes is one of the feeding strategies used in the nutrition of non-ruminant animals. The exogenous protease is essential to ensure higher and better use of plant protein sources used in diets for poultry and swine. Associated with this, the lower presence of nitrogen in the excreta and feces of the animals should also be considered, due to the increase in the efficiency of the digestion process and absorption of protein nutrients. Moreover, the maintenance of intestinal health has become an essential strategy to ensure better animal performance. In this context, the better use of proteins in the small intestine followed by the reduction of fermentable protein in the large intestine is considered a beneficial effect promoted by the action of protease, as it reduces the substrate content for pathogenic bacteria action, ensuring a healthy and efficient microbiota. Given the above, this study aimed to present the main exogenous protease actions used in the nutrition of poultry and weaned piglets, as well as its effects on intestinal health and animal performance.

Keywords: Poultry farming, nutrient digestibility, microbiota, nutrition, pig farming.

INTRODUÇÃO

Na criação de aves e suínos, a ração representa grande parte do custo de produção. Com isso, a busca por alternativas que possam melhorar a disponibilidade dos nutrientes nas rações é fundamental em ambos os sistemas de produção. Logo, o uso de enzimas exógenas como as fitases, proteases e carboidrases tornaram-se opções viáveis, para garantir maior eficiência de aproveitamento dos ingredientes e alternativa para a diminuição do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho. Também se sabe que enzimas endógenas como a protease, em pintinhos na fase inicial e suínos em fase de transição, possuem atividade

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

enzimática reduzida, limitando a digestão da proteína ingerida. Sendo assim, a suplementação de protease exógena (PE) seria uma estratégia como fonte extra e de auxílio às enzimas endógenas, aumentando a taxa de degradação intestinal de proteínas (DAL PONT *et al.*, 2022).

A soja é a principal fonte proteica utilizada em rações de aves e suínos, porém, para ser introduzida na dieta desses animais, necessita de passar por tratamento térmico, o qual será responsável por inativar fatores antinutricionais como inibidores de proteases (tripsina e quimiotripsina), lectinas ou hemaglutininas, saponinas, além de proteínas alergênicas (conglícinina e β -conglícinina), que, quando não inativados, são responsáveis por limitar o aproveitamento da fonte proteica da dieta, e com isso promover queda no desempenho dos animais. Também, estes fatores estão associados à redução da integridade intestinal, sobretudo quando se pensa em capacidade de integridade da morfologia e barreira intestinal (SOUZA *et al.*, 2019).

A morfologia e barreira intestinal devem funcionar de forma sincrônica e eficiente para que haja absorção de nutrientes, e conseqüentemente melhor desempenho animal. Logo, a utilização da protease exógena pode ser benéfica no que concerne ao melhor aproveitamento dos ingredientes, sobretudo proteicos, como é o caso da soja, além de reduzir a presença de proteína no intestino grosso (IG) em decorrência do melhor aproveitamento da proteína no intestino delgado, pois a fermentação de proteína no IG promove a síntese de compostos que interferem na saúde e microbiota intestinal dos animais (SOUZA *et al.*, 2022; ZHANG e PIÃO, 2022). Com isso, objetivou-se através desta revisão de literatura expor os efeitos da protease exógena sobre a saúde intestinal e desempenho de aves e suínos.

DESENVOLVIMENTO

Protease exógena e seu efeito na saúde intestinal e desempenho de aves

As enzimas exógenas são consideradas e classificadas, de acordo com a Instrução Normativa (IN nº 13, de 30/11/2004), como aditivos funcionais, pois se enquadram no grupo dos aditivos zootécnicos digestivos, promovendo melhora no processo de digestão e absorção de nutrientes. Adicionalmente, atuam como catalizadores, sendo proteínas complexas dependentes de temperatura, ou seja, determinadas temperaturas aumentam a velocidade de reação e ação das enzimas. Além do que, a condição do pH pode interferir na ação das enzimas, neste caso, a concentração de H⁺ intervém na velocidade das reações químicas, no entanto, quando há extremos de pH ocorre a desnaturação proteica, a qual não é favorável para as enzimas. Outra característica específica das enzimas é a relação com substratos específicos, atuando em função de um determinado substrato, presente no trato gastrointestinal (ALAGAWANY *et al.*, 2018).

A utilização de enzimas exógenas visa maior digestibilidade da dieta como um todo, além de atuar reduzindo efeitos de fatores antinutricionais, disponibilizando maior quantidade de nutrientes (COWIESON *et al.*, 2018). Em animais monogástricos, o farelo de soja é considerado a principal fonte de proteína, porém possui em sua composição fatores antinutricionais, como é o caso dos inibidores de proteases como a tripsina e quimiotripsina, as hemaglutininas (lectinas), o ácido fítico e as saponinas, os quais limitam o aproveitamento dessa fonte proteica. Portanto, a utilização de enzimas exógenas, como a protease pode conferir capacidade de melhorar o aproveitamento de alimentos como a soja em dietas para aves. Além

disso, pode contribuir para menor excreção de nitrogênio nas excretas em função do aumento na eficiência do processo de digestão e absorção dos nutrientes proteicos (MCCAFFERTY *et al.*, 2022).

Assim como outros animais, a integridade intestinal nas aves está diretamente relacionada à melhor capacidade produtiva dos animais. É de interesse de pesquisadores e produtores a realização de ajustes nutricionais nas dietas visando maior colonização de microorganismos benéficos ao trato gastrointestinal (BEDFORD e APAJALAHTI, 2022). Tal condição pode ser obtida com a inclusão de aditivos nutricionais como as proteases, que promovem a manutenção da saúde intestinal e, desse modo, contornam desafios que limitam o potencial genético animal (ZHANG e PIAO, 2022). Sendo assim, a análise de citocinas inflamatórias e proteínas de fase aguda se enquadram como sinalizadores das interações entre células imunes e organismo animal, contribuindo para elucidar o estado imunológico intestinal. Adicionalmente, ensaios de fagocitose, anticorpos, permeabilidade intestinal e situação do sistema redox, auxiliam na determinação do estado da integridade intestinal (WANG *et al.*, 2020; BURDICK SANCHEZ *et al.*, 2022).

Em estudo utilizando patos de Pequim, Wang *et al.* (2020) avaliaram três níveis de proteína na dieta (13,5%, 15,5% e 17,5%), com e sem a inclusão de PE e relataram que dietas com baixo teor de proteína (13,5%), mesmo com a inclusão da protease, promoveram pior desempenho animal. Ao analisar-se a concentração plasmática de IL-6 e TNF- α (mediadores-chave de inflamação e respostas inflamatórias), descobriu-se que a suplementação de protease na dieta contendo 17,5% de PB diminuiu a concentração sérica de IL-6 quando comparada com dieta sem protease. Porém, a PE suplementada em dieta contendo 13,5% de proteína bruta (PB) aumentou a concentração sérica de TNF- α , em comparação com dieta sem protease. No estudo em questão foi possível observar que independentemente dos níveis de PB da dieta, a suplementação de protease reduziu, significativamente, os níveis plasmáticos de endotoxinas e IL-6, enquanto aumentou a concentração plasmática de TNF- α .

Adicionalmente, a PE suplementada na dieta contendo 13,5% de PB, no trabalho supracitado, diminuiu, significativamente, a altura de vilosidade e a profundidade de cripta do íleo, em comparação com a mesma dieta sem protease; reduzindo assim a absorção dos nutrientes nesta porção do intestino, provocando queda no desempenho dos animais. A relação com a barreira intestinal também foi afetada, onde as dietas com baixa proteína reduziram a expressão de ocludina, a qual está associada à permeabilidade intestinal, na mucosa ileal em comparação a dieta com alta proteína. Esses resultados corroboram com os encontrados por Berekatain *et al.* (2019), que relataramo fato de que aves alimentadas com baixos níveis de proteína na dieta podem apresentar maior permeabilidade intestinal.

A barreira intestinal atua como defesa epitelial, protegendo o intestino de translocações indesejáveis como as de patógenos e fatores alergênicos, favorecendo assim o desempenho. Entretanto, essa barreira pode sofrer alterações em decorrência de situações como estresse, desafio microbiano, presença de micotoxinas ou desafio nutricional, os quais afetam a integridade do epitélio (YAKOUT e ECKHARDT, 2022). Uma das possíveis alterações é a pior atuação das proteínas que compõem as junções de oclusão o que pode contribuir para aumento da permeabilidade intestinal, elevando assim os níveis de endotoxinas (LI *et al.*, 2018). As endotoxinas na corrente sanguínea atuam ativando o receptor Toll Like 4, o qual se encontra em células imunes, favorecendo a liberação das citocinas proinflamatórias (IL-6, TNF- α).

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

Alguns estudos demonstram que a inclusão de PE pode atenuar a lesão da mucosa intestinal, através do aumento do metabolismo dos aminoácidos no trato gastrointestinal (WANG *et al.*, 2020).

Lourenço *et al.* (2020) avaliaram a dieta adequada vs. baixa proteína (níveis) e adição de PE (0 vs. 200g/1000kg de ração) e relataram pior desempenho em animais alimentados com dieta de baixa proteína, além de ausência para efeito da PE. Na avaliação da concentração de ácidos graxos de cadeia curta, os quais são produtos da fermentação bacteriana, observou-se maior concentração de acetato e, posteriormente, butirato, demonstrando maior disponibilidade energética a ser absorvida pelos enterócitos, melhorando a eficiência de absorção das células absorptivas e, conseqüentemente, promovendo melhor desempenho animal.

No estudo citado anteriormente em relação à microbiota intestinal, a inclusão de protease não afetou nenhum gênero bacteriano em particular nas excretas, mas houve aumento na diversidade microbiana, número de Unidade Taxonômica Operacional, bem como diversidade filogenética de Faith. Durante o período experimental a dieta e a protease não alteraram significativamente a presença maior do filo *Firmicutes*, o qual está associado à maior absorção de nutrientes.

Em estudo, Silva *et al.* (2021) avaliaram a suplementação de PE sobre a digestibilidade de aminoácidos em dietas de frangos de corte, contendo farinhas de origem animal. As dietas experimentais continham farinha de vísceras de aves, farinha de vísceras de suínos e farinha de carne e ossos de bovinos. Ao término do estudo, os autores relataram que a suplementação com protease elevou a digestibilidade de aminoácidos; permitindo, assim, usar de forma mais eficiente as farinhas de origem animal, como fonte proteica em dietas para frangos de corte.

Outros benefícios de utilização das proteases exógenas são a maior disponibilidade de aminoácidos da dieta, contribuindo para melhor desempenho animal, em virtude da potencialização de ação das enzimas endógenas. Aliado a isso, há também o efeito positivo relacionado à redução na contaminação ambiental, através da redução de nutrientes excretados via fezes e excretas (MCCAFFERTY *et al.*, 2022). Ainda, o limite da presença de proteínas no IG em decorrência do melhor aproveitamento, através da adição de protease exógena é também considerado benéfico. Logo, haverá redução no impacto da fermentação indesejada, a qual promove produção de compostos como as amins biogênicas, compostos indólicos e fenólicos e sulfeto de hidrogênio. Esses compostos impactam negativamente na saúde intestinal, além de favorecer a disbiose da microbiota intestinal, pois o nitrogênio em excesso torna-se substrato para bactérias patogênicas, como *Clostridium perfringens* (DAL PONT *et al.*, 2022).

As dietas para aves são formuladas a custo mínimo e conseqüentemente vão conter proteína de diferentes fontes, o que pode variar a sua disponibilidade de aminoácidos (CARDINAL *et al.*, 2019). Com isto, apesar da produção e secreção de proteases endógenas no trato gastrointestinal e da digestão de grande parte da proteína recebida em frangos de corte, há relatos de que quantidades valiosas de proteína passa pelo trato gastrointestinal sem serem completamente digeridas (AMIRI *et al.*, 2021).

Uma digestão incompleta de proteínas fornece uma fonte de nitrogênio para a microbiota intestinal, que, se não for equilibrada com carboidratos fermentáveis, ocorre putrefação e, conseqüentemente, danos intestinais e perda de função (BEDFORD e APAJALAHITI, 2022). Portanto, a suplementação de protease exógena pode melhorar a utilização de aminoácidos dos ingredientes, ou de dietas completas (WALK *et al.*, 2019),

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

permitindo a formulação com baixos teores de proteína e mantendo o desempenho geral; além de promover uma produção avícola sustentável.

Ndazigaruye *et al.* (2019) suplementaram uma nova protease produzida pela espécie de bactéria *Bacillus clausii* adicionada em dietas para frango de corte por 8 a 35 dias para avaliar o desempenho de crescimento e a resposta fisiológica. Os autores concluíram que a adição da protease é mais benéfica para aves mais jovens (21 dias) independente dos níveis de proteína, sendo esse efeito restrito ao peso corporal e conversão alimentar.

Em outro estudo, Walk *et al.* (2019) realizaram dois experimentos, para avaliar três novas proteases, duas serina proteases neutras e uma protease aspártica ácida, adicionadas em dietas de frango de corte. Porém, a suplementação destas proteases não melhorou o desempenho de crescimento de frangos ou a digestibilidade do nitrogênio, com relação ao grupo controle.

Maqsood *et al.* (2022) avaliaram, também, o efeito da suplementação de protease exógena com níveis reduzidos de proteína bruta e aminoácidos balanceados em uma proporção específica de lisina (100 e 110%), em dietas de frangos de corte. Os autores encontraram uma interação significativa ($p < 0,05$) para a razão lisina:protease, sobre o ganho de peso corporal, conversão alimentar, características de carcaça e morfologia intestinal ao longo do período experimental, concluindo que a redução de 20% de proteína com relação aos requerimentos nutricionais, balanceada para aminoácidos na proporção de lisina de 110% e suplementada com protease exógena, pode ser utilizada para melhorar o desempenho de crescimento, saúde intestinal e características de carcaça, com impacto negativo zero.

Já no estudo realizado por Borda-Molina *et al.* (2019), foram avaliados os efeitos da origem e a dosagem da protease, a digestibilidade de aminoácidos e sua influência na composição da comunidade microbiana no intestino delgado. Os autores concluíram que a suplementação enzimática teve efeitos na composição da microbiota terminal do intestino delgado e, em menor grau, na digestibilidade dos aminoácidos pre-cecais. Porém, nenhuma relação clara entre estes dois efeitos foi detectada, indicando ausência de relação causal.

Por outro lado, Lourenço *et al.* (2020) mencionaram, no seu estudo, que a dieta de frangos de corte tem um efeito maior do que a adição de protease no desempenho, esses dois fatores produziram algumas alterações na microbiota intestinal, mudanças, tanto na riqueza como na diversidade; por exemplo, aumentando a abundância de *Bacteroidetes sp.* No caso da proteína, além do benefício sobre o desempenho, o aumento do nível deste nutriente resultou em maior abundância de *Acinetobacter* e *Proteus*, este último correlacionado significativamente, com a eficiência alimentar nos pintos jovens.

Devido à grande variedade de resultados inconclusivos, a realização de mais pesquisas ajudará a compreender os efeitos da suplementação de novas proteases desenvolvidas que, além dos efeitos diretos de digestibilidade, podem melhorar a energia metabolizável aparente e energia líquida. Portanto, é importante conhecer esses efeitos extraproteínicos destas enzimas, já que podem aumentar o valor comercial, ou aumentar a flexibilidade, na formulação da dieta (McCAFFERTY *et al.*, 2022).

Protease exógena e seus efeitos na saúde intestinal e desempenho de leitões

O uso de PE em dietas para leitões recém desmamados está associado à ineficiência fisiológica do trato gastrointestinal, principalmente quando se pensa na ação de enzimas como as proteases, as quais possuem baixa atividade, limitando o aproveitamento da fração proteica

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

da dieta sólida (LIMA *et al.*, 2020). O período pós-desmame é caracterizado por estresse, em função de fatores como mudança na dieta (líquida para sólida), a qual é seguida de redução de consumo nos primeiros dias (METZLER-ZEBELI, 2022). Isso contribui para disbiose intestinal, e conseqüentemente maior permeabilidade de membrana, inflamações e lesões nas vilosidades, alterações essas que impactam diretamente no aumento do índice de diarreia e diminuição do desempenho dos animais (BURDICK SANCHEZ *et al.*, 2022).

Zhang *et al.* (2014) avaliaram a inclusão de um complexo enzimático (amilase, xilanase e protease) na dieta de leitões recém-desmamados e observaram que no período dos 35 a 50 dias de idade e durante todo o período experimental, os animais que consumiram dietas contendo o complexo enzimático apresentaram melhor conversão alimentar, quando comparados ao grupo controle (ausência do complexo enzimático). Além disso, animais alimentados com o complexo enzimático apresentaram aumento das contagens de *Lactobacillus* spp. e *Bacillus subtilis*, seguido de redução nas populações de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* nas fezes, contribuindo para diminuição do índice de diarreia em leitões, ao longo do período experimental. Outro resultado satisfatório, decorrente da utilização do complexo enzimático, foi o aumento da atividade enzimática endógena das enzimas amilase, lipase e protease, em todas as seções do intestino delgado.

Os resultados do estudo de Zhang *et al.* (2014) demonstraram a eficácia da utilização dos níveis de enzimas exógenas, principalmente sobre a ocorrência de diarreia nessa fase de produção, a qual causa impacto na taxa de crescimento e consumo de ração dos animais, resultando em menor ganho de peso e queda no desempenho. Com isso, os resultados encontrados no estudo como o aumento de microorganismos benéficos, como *Lactobacillus* spp. e *Bacillus subtilis*, que atuam como probióticos, contribuem para confirmar os efeitos desses aditivos sobre a saúde intestinal; visto que esses garantem redução nos efeitos negativos sobre as vilosidades intestinais, aumentando a superfície de absorção e melhorando o aproveitamento dos ingredientes utilizados (KNECHT *et al.*, 2020). Os resultados do estudo de Zhang *et al.* (2014) demonstraram a eficácia da utilização dos níveis enzimas exógenas, principalmente sobre a ocorrência de diarreia nessa fase de produção, a qual causa impacto na taxa de crescimento e consumo de ração dos animais, resultando em menor ganho de peso e queda no desempenho. Com isso, os resultados encontrados no estudo como o aumento de micro-organismos benéficos como *Lactobacillus* spp. e *Bacillus subtilis* spp. que atuam como probióticos, contribuem para confirmar os efeitos desses aditivos sobre a saúde intestinal, visto que esses garantem redução nos efeitos negativos que as bactérias patogênicas podem causar sobre as vilosidades intestinais, aumentando a superfície de absorção, e melhorando o aproveitamento dos ingredientes utilizados. Os probióticos são opções naturais que não colocam em risco o meio ambiente, além disso influenciam positivamente no aumento da superfície de absorção, favorecendo o crescimento das vilosidades intestinais, além de melhorarem a digestibilidade da matéria seca e reduzir a incidência de diarreia em leitões (ROSS *et al.*, 2010; KNECHT *et al.*, 2020).

Em pesquisa realizada por Zuo *et al.* (2015), avaliando os efeitos da suplementação de PE via dieta sobre o desempenho, morfologia intestinal e atividade de enzimas digestivas, em leitões desmamados, foi observado melhor desempenho e aumento na atividade enzimática da pepsina estomacal, amilase pancreática e tripsina, com o uso da enzima; havendo, também, aumento na concentração de proteína total plasmática, altura das vilosidades intestinais e razão

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

entre a altura de vilosidades e profundidade de cripta, em leitões que receberam dietas contendo PE. Dessa forma, fica evidente a importância da protease quando se pensa em melhora de aproveitamento dos ingredientes, eficiência enzimática e desenvolvimento e saúde intestinal em leitões desmamados. Entretanto a ausência de resultados utilizando-se a protease exógena para leitões foi evidenciado por Park *et al.* (2020a).

Já Duarte *et al.* (2019) analisaram os efeitos da suplementação com xilanase e protease em dietas para leitões e evidenciaram que a suplementação enzimática promoveu aumento no ganho médio diário, melhora na conversão alimentar, redução na profundidade de cripta e aumento na altura de vilosidades. Porém, não houve melhora nos índices de estresse oxidativo intestinal e imunológico, com a inclusão de protease nem alteração das concentrações séricas e mucosas de TNF- α , IgG e IgA. Entretanto, a combinação de xilanase e protease foi capaz de melhorar a saúde e integridade intestinal e, como consequência, houve melhor desempenho dos animais.

O bom funcionamento do sistema imune é essencial para a saúde em leitões, sobretudo desmamados. Sendo assim, a suplementação exógena de protease foi avaliada, visando elucidar seus efeitos sobre a resposta imune, em leitões, no pós-desmame. Na ocasião, leitões que receberam 0,02% de protease dietética durante 6 semanas apresentaram redução no número de leucócitos, os quais são utilizados como indicadores de inflamação sistêmica, além de reduzir também o TNF- α , o qual é considerado uma das importantes citocinas pró-inflamatórias e, deste modo, contribuindo para reduzir a inflamação sistêmica em leitões desmamados (LEE *et al.*, 2020).

Dietas suplementadas com protease apresentam maior altura de vilosidade e aumento na relação da altura de vilosidade e profundidade de cripta, os quais refletem melhorias na digestibilidade dos nutrientes. Apesar disso, alguns estudos não apuram melhorias no desempenho do crescimento de leitões desmamados, tal fator pode estar correlacionado ao tipo de protease utilizada e as doses, assim como a composição da dieta, duração da pesquisa, além de fatores ambientais e sanitários (PENG *et al.*, 2022).

Ainda que algumas pesquisas não evidenciem um melhor desempenho na utilização de proteases para a suinocultura, trabalhos como de Kim *et al.*, (2021) apresentaram melhores resultados em dietas suplementadas com protease em comparação ao controle (sem protease). Os autores verificaram aumentos significativos no crescimento de leitões durante o período experimental (0 a 20 semanas); todavia, a suplementação não foi significativa sobre a digestibilidade de matéria seca e proteína bruta.

Estudos demonstram que dietas com menor quantidade de proteína associadas a protease apresentam melhores resultados em comparação aquelas com maiores níveis proteicos em razão de serem utilizadas eficientemente ao longo da digestão, evitando possíveis sobras e ainda diminuir os impactos ambientais causados pela excreção de nitrogênio (KIM *et al.*, 2021). Outro ganho da suplementação com protease é a melhoria na resposta do sistema imune anti-imune, de extrema importância para leitões desmamados, visto que estes sofrem impactos negativos na capacidade de respostas imunológicas em decorrências de fatores estressores provocados pelo desmame. Li *et al.* (2021) evidenciaram aumento de imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) e melhorias nos níveis séricos de IgA e IgG, demonstrando que a suplementação (composta de celulase, α -amilase, β -glucanase e protease neutra) podem auxiliar na resistência a doenças em suínos.

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

A diminuição de dietas com farelo de soja aliada a adição de proteases viabiliza melhorias da saúde intestinal e no desempenho, além de aumentar a presença de bactérias benéficas, como *Firmicutes*, *Bacillus* e *Lactobacillus*, no trato intestinal acarretando melhorias na capacidade antioxidante dos leitões. Estudos também evidenciam relativos aumentos nas concentrações de ácido acético, propiônico e AGV total no ceco e cólon, os quais também estão ligados a saúde intestinal, pois possuem capacidade de inibir a colonização de bactérias nocivas ao intestino e conseqüentemente aumentar a absorção de nutrientes pelo intestino, refletindo em melhor desempenho no crescimento desses animais (LI *et al.*, 2021).

Yu *et al.* (2020) verificaram resultados satisfatórios no uso de protease (0, 150 e 300mg/kg) na dieta suína a base de farelo de soja, ressaltando aumentos na digestibilidade total aparente da matéria seca, da proteína bruta, das cinzas brutas, da matéria orgânica e da energia bruta. Os pesquisadores ainda notaram o aumento na digestibilidade de alguns aminoácidos presentes, todavia no estudo a dieta com protease e baixo teor de farelo de soja não apresentaram resultados acima daquelas com quantidades normais de farelo de soja, demonstrando que os aminoácidos liberados pela protease atendem as exigências apenas parcialmente.

Em estudo utilizando dois tratamentos: i) controle (ração contendo milho, farelo de soja e cevada) e; ii) dieta suplementada (ração com o incremento de enzimas compostas com amilase, protease, xilanase e β -glucanase) verificaram aumento no ganho médio diário (GMD) no segundo tratamento durante a segunda fase (15 a 35 dias) e no geral, e também que o estresse causado pelo desmame pode ser aliviado pela dieta suplementada. Tais resultados são justificados pela composição da dieta com xilanase e β -glucanase, que podem melhorar a eficiência dos compostos da ração controle, e da protease somada com a xilanase, que podem, respectivamente, aumentar o GMD em vista de atuarem na morfologia intestinal por meio da elevação da altura das vilosidade e diminuição da profundidade da cripta e proliferação de células da cripta, assim como atuar na viscosidade da digesta diminuindo o seu efeito na difusão de nutrientes e também de enzimas digestivas, podendo assim melhorar a digestibilidade e eficiência de absorção dos nutrientes (DUARTE *et al.*, 2019; LONG *et al.*, 2020).

O estresse provocado pela etapa do desmame reduz a capacidade dos leitões em digerir e conseqüentemente aproveitar com eficiência proteínas da dieta. Assim sendo, Tactacan *et al.* (2016) analisaram a ação da protease sobre a digestibilidade de nutrientes e desempenho em leitões desmamados. Os animais foram divididos em dois grupos, dieta controle à base de milho e farelo de soja sem protease (controle) e controle + 200g de PE/ton de ração, durante 42 dias. Ao término da pesquisa, animais alimentados com a dieta contendo protease exógena obtiveram resultados significativos para aumento no peso corporal e GMD, além de ter melhorado a digestibilidade de nutrientes.

A capacidade de atuação da protease sobre a saúde intestinal de suínos contribui para um melhor desempenho destes. A inclusão de protease exógena (0,0125%) na dieta para leitões desmamados promoveu a redução da diarreia pós-desmame; atestando, desse modo, os benefícios que este aditivo pode promover, para melhorar a saúde entérica dos animais (PEREZ-PALENCIA *et al.*, 2021). Resultados similares também foram observados por Park *et al.* (2020b), que, ao suplementarem protease exógena (0,02%) na dieta de leitões desmamados encontraram melhores resultados para maior relação entre altura de vilosidades e profundidade de cripta e número de células calciformes, além de diminuir a incidência de diarreia,

caracterizando, assim, o estabelecimento de um intestino saudável. Ainda, houve maior peso corporal final, GMD e melhora na conversão alimentar.

A utilização da protease aliada a outros aditivos também tem sido alvo de pesquisadores, uma vez que Min *et al.* (2019) avaliaram a mistura dietética de protease e probióticos (0,01%) sobre o desempenho de crescimento em leitões. Entretanto, ao término do estudo, não se observaram resultados significativos para ganho de peso médio diário e ganho de peso final, desse modo, não influenciando o desempenho animal. Os autores relataram que a ausência de efeito se dá, em função da dieta fornecida aos animais conter nutrientes suficientes para manutenção e crescimento, uma vez que estudos com teor de nutrientes reduzido ou baixo teor de proteína bruta apresentaram significância (LEI *et al.*, 2017).

A adição da protease em dietas para leitões desmamados visa a contornar a ação de fatores antinutricionais, tais como, inibidores de proteases, como a tripsina e quimiotripsina, as hemaglutininas (lecitinas), o ácido fítico e as saponinas, presentes em alimentos como a soja, melhorando a digestibilidade da dieta e com isso alavancar o desempenho animal. Sendo assim, Song *et al.* (2022) analisaram os efeitos da protease (0,02%) em uma dieta com menor teor de proteína bruta sobre o desempenho de crescimento, digestibilidade de nutrientes e morfologia intestinal de suínos desmamados. Ao fim, observou-se que a suplementação com protease favoreceu o aumento no peso final dos animais e GMD. Ademais, houve maior digestibilidade ileal aparente da matéria seca, PB e energia, e modulação da morfologia intestinal de leitões desmamados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A protease exógena apresenta efeitos benéficos na nutrição de aves e suínos, tendo como exemplo o maior aproveitamento de proteína e modulação do ambiente intestinal, além de reduzir o excesso de proteína fermentável disponível para bactérias indesejáveis no intestino grosso. Além disso, atua promovendo maior aproveitamento da proteína da dieta e, conseqüentemente, melhor desempenho e saúde intestinal.

REFERÊNCIAS

ALAGAWANY, M.; ELNESR, S.S.; FARAG, M.R. The role of exogenous enzymes in promoting growth and improving nutrient digestibility in poultry. *Iranian Journal of Veterinary Research*, v.19, n.3, p.157–164, 2018.

AMIRI, M.Y.A.; JAFARI, M.A.; IRANI, M. Growth performance, internal organ traits, intestinal morphology, and microbial population of broiler chickens fed quinoa seed-based diets with phytase or protease supplements and their combination. *Tropical Animal Health and Production*. v.53, n.6, p.535, 2021.

BAREKATAIN, R.; NATTRASS, G.G.; TILBROOK, A.J.; CHOUSALKAR, K.; GILANI, S. Reduced protein diet and amino acid concentration alter intestinal barrier function and performance of broiler chickens with or without synthetic glucocorticoid. *Poultry Science*. v.98, n.9, p.3662–3675, 2019.

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

BEDFORD, M.R.; APAJALAHTI, J.H. The role of feed enzymes in maintaining poultry intestinal health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.102, n.5, p.1759-1770, 2022.

BURDICK SANCHEZ, N.C.; BROADWAY P.R.; CARROLL, J.A. Pre-and probiotic effects on innate immunity and metabolism in cattle and swine. In: KOGUT, M.H., ZHANG, G. (eds) *Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals. The Microbiomes of Humans, Animals, Plants, and the Environment*. Springer, Cham, v.4, p.277-297, 2022.

BORDA-MOLINA, D.; ZUBER, T.; SIEGERT, W.; CAMARINHA-SILVA, A.; FEUERSTEIN, D.; RODEHUTSCORD, M. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*. v.98, n.7, p.2906–2918, 2019.

CARDINAL, K.M.; MORAES, M.L.; ANDRETTA, I.; SCHIRMANN, G.D.; BELOTE, B.L.; BARRIOS, M.A.; SANTIN, E.; RIBEIRO, A.M.L. Growth performance and intestinal health of broilers fed a standard or low-protein diet with the addition of a protease. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.48, n.10, p.1-11, 2019.

COWIESON, A.J.; ABDOLLAHI, M.R.F.; ZAEFARIAN, F.; PAPPENBERGER, G.; RAVINDRAN, V. The effect of a mono-component exogenous protease and graded concentrations of ascorbic acid on the performance, nutrient digestibility, and intestinal architecture of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. v.235, n.1, p.128–137, 2018.

DAL PONT, G.C.; EYNG, C.; BORTOLUZZI, C.; KOGUT, M.H. Enzymes and gut health in monogastric animals: effects beyond digestibility. In: KOGUT, M.H., ZHANG, G. (eds) *Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals. The Microbiomes of Humans, Animals, Plants, and the Environment*, Springer, Cham, v.4, p.33–55, 2022.

DUARTE, M.E.; ZHOU, F.X.; DUTRA JR, W.M.; KIM, S.W. Dietary supplementation of xylanase and protease on growth performance, digesta viscosity, nutrient digestibility, immune and oxidative stress status, and gut health of newly weaned pigs. *Animal Nutrition*. v.5, n.4, p.351-358, 2019.

KIM, Y.J.; LEE, J.H.; KIM, T.H.; SONG, M.H.; YUN, W.; OH, H.J.; LEE, J.S.; KIM, H.B.; CHO, J.H. Effect of low protein diets added with protease on growth performance, nutrient digestibility of weaned piglets and growing finishing pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, v.63, n.3, p.491–500, 2021.

KNECHT, D.; CHOLEWINSKA, P.; MAKOSA, A.J.; CZYZ, K. Development of swine's digestive tract microbiota and its relation to production indices - A Review. *Animal*. v.10, n.3, p.1-13, 2020.

LEE, J.J.; KANG, J.; PARK, S.; CHO, J.H.; OH, S.; PARK, D-J.; PEREZ-MALDONADO, R.; CHO, J.Y.; PARK, PARK, I-H.; KIM, H.B.; SONG, M. Effects of dietary protease on immune responses of weaned pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, v.62, n.2, p.174-179, 2020.

LEI, X.J.; CHEONG, J.Y.; PARK, J.H.; KIM, I.H. Supplementation of protease, alone and in combination with fructooligosaccharide to low protein diet for finishing pigs. *Journal of Animal Science*, v.88, n.2, p.1987-1993, 2017.

LI, Y.; LEI, X.; GUO, W.; WU, S.; DUAN, Y.; YANG, X.; YANG, X. Transgenerational ET tolerance-like effect caused by paternal dietary astragalus polysaccharides in broilers' jejunum. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.111, n.5 p.769-779, 2018.

LI, Z.; TANG, L.; LIU, N.; ZHANG, F.; LIU, X.; JIANG, Q.; CHEN, J.; MA, X. Comparative Effects of Compound Enzyme and Antibiotics on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Biochemical Index, and Intestinal Health in Weaned Pigs. *Frontiers in Microbiology*, v.12, n.9, p.1-11, 2021.

LIMA, M.D.; LOPES, I.M.G.; SILVA, K.F.; MIRANDA, H.A.F.; ALMEIDA, A.C.; DUARTE, E.R. Uso de aditivos em dietas para leitões em fase de creche: uma revisão. *Research, Society and Development*, v.9, n.12, p.1-31, 2020.

LONG, S.; XU, J.; MA, H.; PIAO, X. Effects of dietary supplementation of compound enzymes on performance, nutrient digestibility, serum antioxidant status, immunoglobulins, intestinal morphology and microbiota community in weaned pigs. *Archives of Animal Nutrition*, v.75, n.1, p.31-47, 2020.

LOURENÇO, J.M.; NUNN, S.C.; LEE, E.J.; ROBERT DOVE, C.; CALLAWAAY, T.R.; AZAIN, M.J. Effect of supplemental protease on growth performance and excreta microbiome of broiler chicks. *Microorganisms*, v.8, n.4, p.1-15, 2020.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aditivo para produtos destinados à alimentação animal. Instrução Normativa nº 13 de 30, de novembro de 2004. Disponível em: <encurtador.com.br/aBDLX>, Acesso em: 7 set 2022.

MAQSOOD, M.A.; KHAN, E.U.; QAISRANI, S.N.; RASHID, M.A.; SHAHEEN, M.S.; NAZIR, A.; TALIB, H.; AHMAD, S. Interactive effect of amino acids balanced at ideal lysine ratio and exogenous protease supplemented to low CP diet on growth performance, carcass traits, gut morphology, and serum metabolites in broiler chicken. *Tropical Animal Health and Production*, v.54, n.3, p.186, 2022.

McCAFFERTY, K.W.; CHOCT, M.; MUSIGWA, S.; MORGAN, N.K.; COWIESON A.J.; MOSS, A.F. Protease supplementation reduced the heat increment of feed and improved energy and nitrogen partitioning in broilers fed maize-based diets with supplemental phytase and xylanase. *Animal Nutrition*, v.10, n.9, p.19-25, 2022.

METZLER-ZEBELI, B.U. Porcine gut microbiota and host interactions during the transition from the suckling to postweaning phase. In: KOGUT, M.H., ZHANG, G. (eds) *Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals. The Microbiomes of Humans, Animals, Plants, and the Environment*, Springer, Cham, v.4, p.147-178, 2022.

MIN, Y.; CHOI, Y.; CHOE, J.; KIM, J.; JEONG, Y.; KIM, D.; KIM, J.; JUNG, H.; SONG, M. Effects of dietary mixture of protease and probiotics on growth performance, blood constituents, and carcass characteristics of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, v.61, n.5, p.272-277, 2019.

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

MOESER, A.J.; POHL, C.S.; RAJPUT, M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs. *Animal Nutrition*. v.3, n.4, p.313-321, 2017.

NDAZIGARUYE, G.; KIM, D.H.; KANG, C.W.; KANG, K.R.; JOO, Y.J.; LEE, S.R.; LEE, K.W. Effects of Low-Protein Diets and Exogenous Protease on Growth Performance, Carcass Traits, Intestinal Morphology, Cecal Volatile Fatty Acids and Serum Parameters in Broilers. *Animals*, v.9, n.5, p.226, 2019.

PARK, S.; LEE, J.J.; YANG, B.M.; CHO, J.H.; KIM, S.; KANG, J.; OH, S.; PARK, D.J.; PEREZ-MALDONADO, R.; CHO, J.Y.; PARK, I-H.; KIM, H.B.; SONG, M. Dietary protease improves growth performance, nutrient digestibility, and intestinal morphology of weaned pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, v.62, n.1, p.21-30, 2020a.

PARK, S.; LEE, J.W.; COWIESON, A.J.; PAPPENBERGER G.; WOYENGO, T.A. Soybean meal allergenic protein degradation and gut health of piglets fed protease-supplemented diets. *Journal of Animal Science*, v.98, n.10, p.1-35, 2020b.

PENG, X.; ZHOU, Q.; WU, C.; ZHAO, J.; TAN, Q.; HE, Y.; HU, L.; FANG, Z.; LIN, Y.; XU, S.; FENG, B.; LI, J.; ZHUO, Y.; VAN GINNEKEN, C.; JIANG, X.; WU, D.; CHE, L. Effects of dietary supplementation with essential oils and protease on growth performance, antioxidation, inflammation and intestinal function of weaned pigs. *Animal Nutrition*, v.9, n.7, p.39-48, 2022.

PEREZ-PALENCIA, J.Y.; SAMUEL, R.S.; LEVESQUE, C.L. Supplementation of protease to low amino acids diets containing superdose level of phytase for wean-to-finish pigs: effects on performance, postweaning intestinal health and carcass characteristics. *Translational Animal Science*, v.5, n.2, p.1-14, 2021.

ROSS, G.R.; GUSILS, C.; OLISZEWSKI, R.; HOLGADO, S.C.; GONZÁLEZ, S.N. Effects of probiotic administration in swine. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v.109, n.6, p.545-549, 2010.

SILVA, J.M.S.; OLIVEIRA, N.R.; GOUVEIA, A.B.V.; VIEIRA, S.R.A.; SANTOS, R.O.; MINAFRA, F.C.S.; SANTOS, F.R. Effect of protease supplementation on the digestibility of amino acids in animal-origin meals for broiler diets. *Czech Journal of Animal Science*, v.66, n.1, p-29-37, 2021.

SONG, M.; KIM, B.; CHO, J.H.; KYOUNG, H.; PARK, S.; CHO, J.Y.; PARK, K.; KIM, H.B., LEE, J.J. Effects of dietary protease supplementation on growth rate, nutrient digestibility, and intestinal morphology of weaned pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, v.64, n.3, p.462-470, 2022.

SOUZA, C.G.; MOURA, A.K.B.; SILVA, J.N.P.; SOARES, K.O.; SILVA, J.V.C.; VASCONCELOS, P.C. Fatores anti-nutricionais de importância na nutrição animal: Composição e função dos compostos secundários. *Pubvet*, v.13, n.5, p.1-19, 2019.

SOUZA, J.P.P.; LIMA, M.D.; LOPES, I.M.G. Enzimas exógenas na dieta de leitões desmamados. *Ciência Animal*, v.32, n.2, p.68-84, 2022.

Recebido: set./2022.

Publicado: dez./2022.

TACTACAN, G.B.; CHO, S.Y.; CHO, J.H.; KIM, I.H. Performance responses, nutrient digestibility, blood characteristics, and measures of gastrointestinal health in weanling pigs fed protease enzymes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, v.29, n.7, p.998-1003, 2016.

WALK, C.L.; JUNTUNEN, K.; PALOHEIMO, M.; LEDOUX, D.R. Evaluation of novel protease enzymes on growth performance and nutrient digestibility of poultry: Enzyme dose response. *Poultry Science*, v.98, n.11, p.5525–5532, 2019.

WANG, Q.D.; LI, S.; ZHANG, K.Y.; BAI, Y.; BAI, S.P.; DING, X.M.; WANG, J.P.; PENG, H.W.; TIAN, G.; XUAN, Y.; SU, Z.W.; ZENG, Q.F. Protease supplementation attenuates the intestinal health damage caused by low-protein diets in Pekin ducks. *Poultry Science*, v.99, n.12, p.6630-6642, 2020.

YAKOUT, H.M.; ECKHARDT, E. Gastrointestinal tract barrier efficiency: function and threats. In: KOGUT, M.H., ZHANG, G. (eds) *Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals. The Microbiomes of Humans, Animals, Plants, and the Environment*, 4, Springer, Cham, v.4, p.13-32, 2022.

YU, J.; YU, G.; YU, B.; ZHANG, Y.; HE, J.; ZHENG, P.; MAO, X.; LUO, J.; HUANG, Z.; LUO, Y.; YAN, H.; WANG, Q.; WANG, H.; CHEN, D. Dietary protease improves growth performance and nutrient digestibility in weaned piglets fed diets with different levels of soybean meal. *Livestock Science*, v.241, n.11, p.1-7 2020.

ZHANG, G.G.; YANG, Z.B.; WANG, Y.; YANG, R.W.; ZHOU, H.J. Effects of dietary supplementation of multi-enzyme on growth performance, nutrient digestibility, small intestinal digestive enzyme activities and large intestinal selected microbiota in weanling pigs. *Journal of Animal Science*, v.92, n.5, p.2063–2069, 2014.

ZHANG, L.; PIAO, X. Different dietary protein sources influence growth performance, antioxidant capacity, immunity, fecal microbiota, and metabolites in weaned piglets. *Animal Nutrition*, v.8, n.1, p.71-81, 2022.

ZUO, J.; LING, L.; LONG, T.; LI, L.; LAHAYE, C.; YANG, FENG, D. Effect of dietary supplementation with protease on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes, and gene expression of weaned piglets. *Animal Nutrition*, v.1, n.4, p.276-286, 2015.