

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# PREPARADO DE ANTICORPOS POLICLONAIS COMO ADITIVO ALIMENTAR PARA BOVINOS

## POLYCLONAL ANTIBODY PREPARATION AS A FEED ADDITIVE FOR CATTLE

Marino, C.T.<sup>1\*</sup>, W.G. Otero<sup>2</sup>, J.P.S.T. Bastos<sup>1</sup>, M.D.B. Arrigoni<sup>1</sup>, P.H.M. Rodrigues<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Nutrição e Melhoramento Animal. FMVZ-UNESP. 18618-000 Botucatu-SP. Brasil. \*caroltobias@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Nutrição e Produção Animal. FMVZ-USP. Pirassununga-SP. Brasil.

### PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Acidose. Fermentação ruminal. Imunização passiva. Ruminante.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Acidosis. Passive immunization. Rumen fermentation. Ruminant.

### RESUMO

Nas últimas décadas tem sido notável o desenvolvimento mundial na produção de carne e leite bovina. Na área de manejo nutricional, a utilização de ionóforos tem sido imprescindível para otimizar a eficiência das dietas utilizadas e prevenir os distúrbios metabólicos que podem ser provocados pelo aumento da proporção de alimentos prontamente fermentescíveis presentes na dieta. Porém, a busca do mercado consumidor por produtos de origem animal oriundos de criações que utilizam a menor quantidade de substâncias sintéticas quanto possível, abre espaço para a pesquisa de novos aditivos alimentares. Neste contexto, surge a possibilidade da utilização do conceito de imunização passiva para manipulação da fermentação ruminal através de anticorpos policlonais produzidos contra bactérias ruminais específicas. Assim, esta revisão bibliográfica tem como objetivo apresentar os resultados com a utilização desses produtos para manipulação da fermentação ruminal.

### SUMMARY

In the last few decades, it has been remarkable the mundial development on bovine meat and milk production. In nutritional management area, the use of ionophores has been essential in increasing the efficiency of diets utilization and prevention of metabolic disturbances that can be caused by the increase in the proportion of rapidly fermentable carbohydrates in diets. However, the request

from consumers of animal products that came from livestock maintained with limited use of synthetic substances opens space for new feed additives research. In this context, there is an opportunity to use the passive immunization concept for manipulation of rumen fermentation through polyclonal antibodies produced against specific ruminal bacteria. Therefore, this review aims to present the results obtained with these products for manipulation of rumen fermentation.

### INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas vem sendo notável o crescimento da produção brasileira de carne bovina, em termos quantitativos como qualitativos. Dentro deste contexto, a indústria vem identificando constante melhora na qualidade dos animais e, conseqüentemente, no produto final produzido. Este avanço deve-se ao esforço conjunto de todos os setores da cadeia produtora, no intuito de desenvolver e implementar tecnologias que aumentem a eficiência de produção, desde a fazenda até a mesa do consumidor.

Na área de manejo nutricional, a utilização de ionóforos como aditivos alimentares para bovinos se tornou imprescindível na manipulação da fermentação ruminal, au-

mentando a eficiência no aproveitamento das dietas empregadas. Nestes confinamentos, é observado um aumento na utilização de dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis, com intuito de obter maior ganho de peso diário. Com isso, há diminuição dos dias necessários para a terminação dos animais. Neste caso, a inclusão de ionóforos garante a saúde animal por controlar microorganismos relacionados com quadros de acidose. Porém, há questões sanitárias e de segurança alimentar relacionadas ao seu uso que vem sendo discutidas mundialmente há alguns anos. O Brasil, como importante produtor e exportador de alimentos de origem animal, deve estar atento à nova realidade do mercado mundial.

A Comunidade Européia, através do Regulamento (EC) N° 1831/2003 (EUROPA, 2003), determinou a proibição da utilização de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Alguns princípios farmacêuticos já não se encontram em comercialização; outros, porém, estão sendo retirados de forma gradual. Apesar de não haver comprovação científica, esta medida foi adotada como prevenção à possível relação entre o aumento da incidência de microorganismos resistentes aos antibióticos, observado na medicina humana, e o uso destas substâncias nas rações animais. Além disso, há solicitação crescente do mercado consumidor por alimentos de origem vegetal e animal saudáveis e naturais, que provêm de criações conduzidas com a menor utilização de substâncias sintéticas, quanto possível.

Desta forma, surge a oportunidade de pesquisa e desenvolvimento de novos aditivos que desempenhem funções semelhantes aos antibióticos e ionóforos e que sejam seguros à saúde humana (Newbold, 2007).

O objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar os resultados com a utilização de um novo aditivo alimentar, o preparado de anticorpos policlonais, sobre a manipulação

da fermentação ruminal, sobre a microbiota ruminal, a digestão ruminal e total, além de respostas de desempenho em gado leiteiro e de corte.

### CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO RUMINAL

O processo digestivo das espécies ruminantes compreende uma das relações simbióticas entre seres vivos mais bem sucedidas na natureza. O principal órgão digestório dos ruminantes, o rúmen, é considerado uma câmara de fermentação que apresenta condições ambientais adequadas, tais como temperatura entre 38-41°C, pH entre 5,5-7,2, umidade entre 85-90%, osmolaridade entre 260-340 mOsm e ambiente anaeróbio. Além disso, há presença constante de substratos para fermentação oriundos da alimentação, um padrão de motilidade ruminal que permite a mistura do conteúdo e remoção periódica dos subprodutos de fermentação não utilizados pela microbiota através de absorção pelo epitélio ruminal (Carvalho *et al.*, 2003). Estes, por sua vez, degradam e fermentam os alimentos ingeridos pelo hospedeiro obtendo como produtos, nutrientes necessários para sua sobrevivência e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que não são utilizados pelos microorganismos, mas sim pelos ruminantes, como fonte de energia para os diversos processos metabólicos.

O objetivo do ruminante é manter as condições ruminais descritas acima para assegurar que o metabolismo dos microorganismos mantenha-se ativo para fermentar os nutrientes da dieta. A não manutenção destas condições poderá acarretar distúrbios metabólicos, como acidose ruminal.

O principal diferencial entre ruminantes e outras espécies de mamíferos é que, através da relação simbiótica com os microorganismos, é possível o aproveitamento dos nutrientes contidos nos carboidratos estruturais e nos compostos nitrogenados não-protéicos. Isto se deve à presença de

enzimas no metabolismo dos microorganismos que permitem degradar estes compostos (Valadares Filho e Pina, 2006).

No final do século XVIII, Tappeiner (1884) (citado por Bergman, 1990) demonstrou que os microrganismos presentes no rúmen fermentavam celulose e como produtos obtinham ácidos graxos de cadeia curta, metano e dióxido de carbono. Desde esta época, a comunidade científica busca entender os processos metabólicos que ocorrem neste órgão e suas interações, bem como desenvolver estratégias de manipulação da fermentação ruminal com intuito de melhorar a eficiência energética destas reações. Esta energia disponível pode ser utilizada para incremento dos fins produtivos do animal, como ganho de peso ou produção leiteira.

### ETIOPATOGENIA DA ACIDOSE RUMINAL

O rúmen possui um ecossistema basicamente anaeróbio que converte substratos fermentescíveis da dieta ingerida em ácidos orgânicos, que posteriormente são removidos através de absorção. Portanto, se a produção desses ácidos for estável, sua absorção também o será e, conseqüentemente, haverá manutenção do pH em níveis aceitáveis para a microbiota (5,8-6,5). Os fatores que influenciam na flutuação do pH são a quantidade de carboidratos rapidamente fermentescíveis que o animal ingere, a capacidade animal de produção de tampão (saliva) e a taxa de utilização e absorção dos ácidos produzidos. Quando algum destes fatores é alterado, ocorrerá acúmulo dos ácidos no rúmen, levando a queda do pH (abaixo de 5,5), estimulando assim bactérias produtoras de lactato e inibindo as bactérias fermentadoras deste mesmo ácido (Nagaraja e Titgemeyer, 2007).

Owens *et al.* (1998) descreveram alguns itens que ilustram bem as origens da acidose, como 1) concentração de amido e sua

conversão à glicose: a apresentação do amido na dieta e sua quantidade nesta influem na velocidade de sua fermentação, já o açúcar livre no rúmen pode aumentar a osmolaridade do conteúdo ruminal, aumentando assim o acúmulo de AGCCs no rúmen e inibindo sua absorção; 2) fornecimento de amido e açúcar: a quantidade de carboidrato altamente fermentescível na dieta influencia diretamente no surgimento da acidose; 3) produção de AGCC e produção e utilização de lactato: a disponibilidade de substrato pode alterar o balanço entre bactérias produtoras e as utilizadoras de lactato, sendo as últimas sensíveis à quedas pronunciadas de pH; 4) depressão do pH ruminal: o pH ruminal é mantido por elementos ácidos, básicos e tamponantes, um desbalanceamento destes leva a flutuação do pH ruminal; 5) osmolaridade ruminal: AGCC, lactato, minerais e glicose são solutos presentes no conteúdo ruminal e, com excesso de um destes, a osmolaridade se eleva, gerando um aumento da passagem de água para dentro do rúmen que inibe a absorção dos ácidos.

Os sintomas clínicos da maior disponibilidade de carboidratos prontamente fermentescíveis variam de acordo com o tipo e quantidade destes nutrientes consumidos, assim como a cascata de efeitos relacionados à acidose. A fermentação destes carboidratos leva a produção de ácidos fora do limite fisiologicamente suportável e o pH é reduzido. O limiar do pH não está somente relacionado com a taxa de crescimento microbiano e mudanças em suas populações, mas também com o estado metabólico sistêmico do animal e sua habilidade de catabolizar ou excretar certos metabólitos (Nocek, 1997).

O bicarbonato é um dos tamponantes responsáveis pela manutenção do pH no rúmen. Metade deste bicarbonato chega ao rúmen, via saliva, durante o processo de mastigação e ruminância. A outra metade chega via corrente sanguínea, através de trocas por ácidos graxos ionizados, durante

o processo de absorção destes. Na acidose ruminal, há comprometimento do fornecimento deste tamponante via saliva e o animal deve manter o pH ruminal neutro com o bicarbonato provindo da corrente sanguínea. Porém, se o ruminante não conseguir manter a homeostase corporal, ocorrerá acidose metabólica (Owens *et al.*, 1998).

Huber (1976), em revisão sobre acidose em gado confinado, afirmou que a ingestão ruminal se torna hipertônica pela alta presença de ácido láctico, que durante todo o processo acidótico eleva sua concentração molar de 0,08 para 89,2 mM, elevando, assim, a osmolaridade ruminal de 255 para 401 mM, causando perda de água do plasma para o rúmen, o que leva à desidratação do animal. Nocek (1997) descreveu que alterações na osmolaridade sanguínea podem levar à laminite. Durante a acidose ruminal, a presença de alta concentração de lactato no rúmen leva a lesões no epitélio ruminal que possibilitam a instalação de agentes bacterianos, como *Fusobacterium necrophorum* e *Actinomyces pyogenes*, que, além de colonizarem e lesionarem o epitélio deste órgão, o que resulta em redução da superfície de absorção deste, também podem chegar ao fígado, levando ao surgimento de abscessos hepáticos (Nagaraja e Chengappa, 1998).

Ainda, pode ocorrer a acidose ruminal sub-aguda, definida por Krause e Oetzel (2006) como um período de depressão moderada do pH ruminal (5,5-5,0), que pode estar associada à laminite ou outro problema de saúde, levando à queda da produção. Goad *et al.* (1998) utilizaram animais adaptados à dieta à base de forragens para induzir acidose sub-aguda mudando subitamente para dieta exclusiva em grãos. Estes autores observaram diminuição de pH (5,0-5,5), concentração normal de ácido láctico (5 mM), além de mudanças normais na população bacteriana relacionadas a animais em adaptação à dietas com maior proporção de grãos, como maior presença de bactérias

amilolíticas, aumento da população de *Lactobacillus* spp e presença de bactérias utilizadoras de lactato. Porém, o que chamou a atenção foi a diminuição da população total de protozoários ciliados após 48 horas de desafio, o que, segundo os autores, pode ser um bom indicador de um potencial ambiente acidótico dentro do rúmen.

## MÉTODOS DE CONTROLE DA ACIDOSE

O balanço entre a produção fermentativa dos ácidos e sua remoção ou neutralização está diretamente ligada a um ótimo ambiente ruminal.

Pode-se dizer que a prevenção da acidose está relacionada com dois princípios: o primeiro seria proporcionar uma adaptação correta da mucosa e microbiota ruminal para absorção e metabolização dos altos níveis de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a segunda estaria relacionada com métodos de manutenção do pH ruminal quando o animal tem acesso a dietas com altos níveis de energia. Desta forma, procura-se atuar na prevenção das desordens da fermentação, principalmente no manejo dos animais e da alimentação destes, ou na regulação dos processos fermentativos, com manutenção da proporção de fibra ou com uso de aditivos na dieta (Kleen *et al.*, 2003).

## IMUNIZAÇÃO COMO POTENCIAL ADITIVO ALIMENTAR

Alguns autores (Hardy, 2002; Berghman e Waghela, 2004) tem citado a utilização do conceito de imunidade como potencial ferramenta na manipulação da fermentação ruminal. Lee *et al.* (2002) testaram *in vitro* anticorpos contra *Salmonella enteritidis* e *Salmonella thyphimurium* e observaram inibição de crescimento dos microrganismos em meio líquido e também a existência de uma reação cruzada entre os anticorpos das duas espécies testadas. Em análise microscópica, foi demonstrado que a IgY especifi-

## ANTICORPOS POLICLONAIS COMO ADITIVO ALIMENTAR

ca para *Salmonella* se liga ao antígeno expressado na superfície da bactéria, levando à alterações estruturais que diminuem o crescimento destas.

Shu *et al.* (1999) relataram que a imunização de novilhos contra bactérias produtoras de ácido láctico, o *Streptococcus bovis* e o *Lactobacillus*, foi eficaz em manter o consumo alimentar, diminuir a concentração ruminal de lactato e a contagem de *S. bovis* e *Lactobacillus* após desafio, com dieta composta por 90% de concentrado. Gill *et al.* (2000) observaram resultados semelhantes quando ovinos alimentados à base de forragem foram imunizados contra *Streptococcus bovis* Sb-5. Os animais foram desafiados com a introdução súbita de alta proporção de grãos na dieta. Os ovinos vacinados mantiveram o consumo alimentar e o pH ruminal, bem como tiveram menores concentrações ruminais de lactato e menores escores de diarreia severa quando comparados aos animais controle. Ainda, Shu *et al.* (2000) relataram que ovinos imunizados contra *S. bovis* mantiveram o consumo alimentar e o pH ruminal, com menores escores de diarreia severa, quando comparados aos animais controle (não-vacinados).

Em relação à imunização passiva, Sherman *et al.* (1983) observaram que a administração oral de anticorpos monoclonais de origem aviária contra o antígeno K99 da bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi eficaz em atenuar a severidade da enfermidade e o grau de desidratação dos animais acometidos por quadros de diarreia, reduzindo a taxa de mortalidade. Resultados semelhantes foram encontrados por Yokoyama *et al.* (1992), onde a imunização passiva em leitões neonatos contra a bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi alcançada com a administração oral de anticorpos de origem aviária fornecidos logo após a exposição induzida aos antígenos. Em bezerros neonatos, Ikemori *et al.* (1992) observaram

que a administração de anticorpos monoclonais de origem aviária contra a bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi capaz de proteger os animais contra o principal sintoma da infecção por este agente, a diarreia severa e conseqüente morte. Já no grupo controle, a taxa de mortalidade foi 100%.

Ikemori *et al.* (1997) avaliaram a eficácia da imunização passiva contra coronavírus bovino, utilizando gema de ovo ou colostro em pó preparados a partir de galinhas ou vacas vacinadas com o vírus inativado de coronavírus bovino. Os bezerros foram desafiados 24 a 36 h após o nascimento com uma cepa virulenta do vírus. A administração da gema de ovo ou colostro em pó por via oral foi iniciada 6 h após o desafio e estendeu-se por mais 7 dias. Os animais do grupo controle apresentaram diarreia severa e todos morreram 6 dias após a infecção. Já nos tratamentos com gema de ovo de título de 1:2560 e colostro de título de 1:10240, todos os animais sobreviveram e ganharam peso. O pó de gema de ovo foi mais eficaz que o colostro, pois foi necessária menor concentração de título de anticorpo para promover a proteção contra os antígenos.

Estes trabalhos de pesquisa mostram que o princípio da imunização tem potencial para originar novos aditivos alimentares. Dentro deste princípio, foram desenvolvidos os preparados de anticorpos policlonais (PAPs), específicos para as bactérias alvo presentes no ambiente ruminal e que podem ser adicionados à dieta animal.

### PREPARADO DE ANTICORPOS POLICLONAIS

Segundo Hau e Coenraad (2005), os princípios da resposta imune específica ao antígeno são a) ativação das células B, responsáveis pela produção de anticorpos; b) ativação das células T, responsáveis pela resposta citotóxica ao antígeno; c) ativação das células Th (T helper), responsáveis pela

estimulação das células B e T. A manutenção da resposta antígeno-anticorpo é realizada através de comunicação intercelular, pelo contato célula-célula (mediado pelas citosinas).

Para a produção de anticorpos policlonais, galinhas são imunizadas via intramuscular contra antígenos inativados. Para cada antígeno, há um calendário de reforços. O sistema imune da ave reage, produzindo anticorpos específicos (IgY) para cada antígeno. Quando o ovo ainda está no ovário, a galinha transfere suas imunoglobulinas séricas Y para a gema do ovo. À medida que o ovo passa pelo oviduto, os anticorpos IgM e IgA são adicionados à albumina (Schade *et al.*, 2001). Assim, as imunoglobulinas podem ser extraídas da gema do ovo por diversas técnicas, sendo que uma das mais utilizadas envolve a precipitação protéica com sulfato de amônia.

Este método de produção de anticorpos foi avaliado pelo Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos (Schade *et al.*, 1996), órgão que promove a aceitação científica e regulamenta métodos laboratoriais alternativos, com fins de reduzir ou substituir a utilização de animais de laboratório. O uso desta técnica foi incentivado, pois reduz a necessidade de animais de laboratório, já que uma galinha produz em média 5 - 7 ovos por semana. Além disso, causa menor estresse aos animais por não haver sangria após a imunização.

As imunoglobulinas Y, produzidas de ovos de galinhas, possuem características fundamentais para atuação no ambiente ruminal, como resistência a pH até 4,5, temperatura de 120°C, à proteólise e, mesmo após sua quebra, não perdem o sítio de ligação (Alfredo DiCostanzo, comunicação pessoal)\*. Acredita-se que esta resistência

à proteólise esteja relacionada à presença de ligações dissulfeto na composição das imunoglobulinas, mais difíceis de serem rompidas pelas enzimas proteolíticas (Santos, 2006).

## RESPOSTAS À UTILIZAÇÃO DOS ANTICORPOS POLICLONAIS

### EFEITOS SOBRE OS MICRORGANISMOS RUMINAIS

Cada preparado de anticorpos policlonais foi desenvolvido para agir contra microrganismos ruminais específicos. DiLorenzo *et al.* (2006 e 2008) observaram que a adição de preparados de anticorpos policlonais (PAP) contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn) foi eficaz na redução das concentrações ruminais das bactérias alvo. Ainda, a concentração de *F. necrophorum* não foi alterada pelo uso de PAP-Sb e a concentração de *S. bovis* não se alterou pela utilização de PAP-Fn, demonstrando a alta especificidade dos PAPs. Já Blanch *et al.* (2009) não observaram diferenças entre o grupo tratado com PAP-Sb e o grupo controle avaliado pela técnica de PCR em tempo real. Numericamente, a concentração de DNA da bactéria produtora de lactato (*S. bovis*) foi mais elevada no grupo controle em relação a PAP-Sb ( $91,6 \pm 54$  e  $49,5 \pm 11$  ng/ml no fluido ruminal, respectivamente), mas estas diferenças não foram significativas devido a grande variação de animal para animal.

Otero (2008) descreveu que não foi possível atribuir um padrão na estrutura de amplificação das comunidades *Bacteria* ou *Archaea* do conteúdo ruminal de animais tratados com dois diferentes modificadores ruminais e 3 fontes energéticas distintas avaliado pela técnica da eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE). O mesmo foi relatado por Blanch *et al.* (2009).

Em relação aos protozoários, Otero (2008) ao trabalhar com fêmeas bovinas canuladas no rúmen que receberam dietas com alta

\*Comunicação pessoal Dr. A. DiCostanzo. Departamento de Ciência Animal. Universidade de Minnesota. St. Paul. 55108 Minnesota. EE.UU. dicos001@umn.edu

proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis, descreveu que o PAP aumentou em 93,65% a contagem relativa de *Isotricha* em relação ao grupo controle. O PAP utilizado era contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas (*Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*). O efeito do PAP no aumento de *Isotricha*, pode demonstrar a ação deste produto na diminuição do número de bactérias responsáveis pela acidificação do ambiente, tornando este favorável à proliferação de bactérias (fonte de substrato dos protozoários) e também destes protozoários. Já Blanch *et al.* (2009) não observaram diferença na contagem de protozoários entre o grupo tratado com PAP-Sb e o grupo controle.

A diversidade microbiana ruminal é determinada pelas características do rúmen (temperatura, pressão osmótica e pH), tipo de nutriente disponível, além de interações, como predação, mutualismo e antibiose, que ocorrem entre os microrganismos ruminais. O impacto da retirada de uma ou mais espécies bacterianas do ambiente ruminal não é bem conhecida (Arcuri *et al.*, 2006). As bactérias ruminais produzem produtos em culturas puras que não são observadas em culturas mistas, porque a relação sintrófica entre as espécies envolve uma dependência de metabolismo e alimentação cruzada (Van Soest, 1994).

A bactéria *Streptococcus bovis*, uma das principais bactérias-alvo do preparado de anticorpos policlonais, é classificada como fermentadora de carboidratos não-estruturais, principalmente amido e açúcares. São anaeróbias facultativas de curto tempo de geração (máximo 24 min). É uma bactéria oportunista que apenas se torna uma espécie dominante se grandes quantidades de carboidratos solúveis são adicionados à dieta (Russell, 2002). É possível pressupor que, se esta bactéria é retirada do ambiente ruminal, seu nicho será ocupado por espécies que disputem os

mesmos substratos para fermentação, como *Bacteroides ruminicola*, *Selenomonas ruminantium* ou, ainda, protozoários. Porém, os metabólitos produzidos podem ser diferentes, o que pode acarretar novas alterações no ambiente ruminal.

#### EFEITOS SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL

Os resultados de pH ruminal com a utilização dos preparados de anticorpos policlonais são variados. Em diversas condições experimentais, o pH ruminal não foi influenciado pela sua utilização (Dahlen *et al.*, 2003; DiLorenzo *et al.*, 2008; Blanch *et al.* 2009). Bastos *et al.* (2009) observaram que diferentes níveis (0; 1,5; 3,0 e 4,5 g/anim/dia) de um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas (*Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*) não alteraram o pH ruminal de vacas canuladas no rúmen alimentadas com dietas de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis. Já em um experimento com vacas leiteiras, o preparado de anticorpos policlonais foi efetivo em manter o pH ruminal em animais em início de lactação comparado ao grupo controle (DiLorenzo *et al.*, 2007). Marino (2008), ao trabalhar com vacas canuladas no rúmen e alimentadas com dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis, sendo estas compostas por três fontes energéticas (milho seco moído, grão úmido de milho e polpa cítrica), observou que o PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas foi tão eficaz quanto a monensina em manter o pH ruminal às 4 h após a alimentação. Ainda, o efeito dos modificadores foi aditivo à inclusão da polpa cítrica nas dietas em elevar o pH ruminal. Entretanto, a inclusão do PAP não alterou, ao longo do dia, o tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0.

A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta bem como a proporção molar dos ácidos acético, propiônico e butírico

não foi alterada com a inclusão dos PAPs nas dietas (Dahlen *et al.*, 2003; DiLorenzo *et al.*, 2008; Marino, 2008; Blanch *et al.*, 2009). Provavelmente, a retirada de algumas espécies bacterianas do ambiente ruminal não é suficiente para alterar a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta. O mesmo foi observado para a concentração de ácido láctico. Nos experimentos citados, as concentrações de ácido láctico observadas foram baixas ou não detectadas. Provavelmente, isto está relacionado com as variações diárias de pH ruminal observadas (5,70-6,27). Somente quando o pH ruminal diminui abaixo de 5,5, as bactérias que utilizam lactato são inibidas e este ácido começa a se acumular (Nagaraja e Titgemeyer, 2007).

Apesar de alguns PAPs agirem contra bactérias proteolíticas, a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal não foi alterada com sua utilização (Dahlen *et al.*, 2003; DiLorenzo *et al.*, 2008; Marino, 2008; Blanch *et al.*, 2009).

#### EFEITOS SOBRE A DIGESTÃO

Otero (2008), ao avaliar os efeitos da administração de um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas em vacas canuladas no rúmen, observou aumento da degradabilidade potencial da FDN da cana-de-açúcar em animais que receberam PAP em relação ao grupo tratado com monensina. Apesar do PAP ser produzido para agir contra bactérias proteolíticas (*Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*), não foi observado nenhum efeito deste produto na degradabilidade in situ da proteína bruta do farelo de soja. Em relação às fontes energéticas, o efeito do PAP foi limitado. O grupo tratado com PAP apresentou diminuição da fração solúvel ("a") do amido do milho seco moído de 45,26% e 45,37% em relação ao grupo controle e monensina, respectivamente. Não foram observados efeitos do PAP em nenhum parâmetro de degradabilidade in situ do amido do grão úmido de milho ou da

pectina da polpa cítrica.

Marino (2008) observou diminuição da digestibilidade da FDN, FDA e amido, além do NDT com a utilização do PAP. Não há outros relatos na literatura a respeito dos efeitos da administração de anticorpos policlonais na digestibilidade *in vivo*. Uma hipótese para a diminuição na digestibilidade das frações fibrosas da dieta com a utilização do PAP seria sua atuação contra as bactérias proteolíticas. Sabe-se que as bactérias celulolíticas necessitam de amônia para degradar a fibra e uma interferência na disponibilidade de nitrogênio amoniacal, poderia estar relacionada com a diminuição da digestibilidade destas frações. Di Lorenzo *et al.* (2006) observaram que houve diminuição na contagem de *S. bovis* e *F. necrophorum* com a utilização do PAP específico para estas bactérias. Porém, no estudo de Marino (2008) não foram realizados ensaios para a contagem dos microorganismos específicos aos quais este produto foi direcionado.

#### EFEITOS EM GADO DE CORTE

Espera-se que animais em engorda tenham melhor desempenho se não forem acometidos por acidose subaguda que provoca flutuações no consumo, diminuindo o ganho de peso e aumentando os dias necessários para o abate. Acredita-se que o controle da *Streptococcus bovis*, bactéria produtora de ácido láctico, pode contribuir para manter um ambiente ruminal mais estável, contribuindo assim para o desempenho animal.

Dahlen *et al.* (2004) observaram que novilhos que receberam um PAP contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn) tiveram maiores pesos finais ao abate quando comparados ao grupo controle. Os animais alimentados com a dieta PAP-Sb obtiveram melhor eficiência alimentar do que os alimentados com as dietas controle ou PAP-Sb + PAP-Fn. As carcaças dos novilhos com a dieta PAP-Sb foram mais pesadas,

## ANTICORPOS POLICLONAIS COMO ADITIVO ALIMENTAR

com maior camada de gordura subcutânea e melhores classificações ao abate, quando comparadas às carcaças dos animais recebendo as dietas com ambos PAPs (Sb e Fn) ou controle. Millen (2008) observou que bovinos jovens em confinamento alimentados com dieta de alto concentrado recebendo um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas tiveram ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar similares aos animais suplementados com monensina. Em porcentagem do peso vivo, o consumo de matéria seca foi superior nos animais do grupo PAP.

Neste experimento os animais suplementados com anticorpos apresentaram menor incidência de paraqueratose ruminal quando comparado aos animais suplementados com monensina. O incremento na saúde das papilas ruminais permite maior absorção de ácidos graxos voláteis, promovendo, assim, a saúde e o desempenho do animal com menores riscos de ocorrência de quadros de acidose e abscessos hepáticos (Millen, 2008). A severidade dos abscessos hepáticos foi diminuída com a utilização de um PAP contra *F. necrophorum*, bactéria envolvida com o desenvolvimento destes abscessos (DiLorenzo *et al.*, 2008).

DiLorenzo *et al.* (2008) observaram que um PAP contra *S. bovis* (PAP-Sb) foi efetivo em elevar a eficiência alimentar. Porém no grupo alimentado com um PAP contra *F. necrophorum* (PAP-Fn), houve diminuição no rendimento de carcaça. As prováveis razões para estas observações são desconhecidas. Pacheco (2008) observou que a utilização do preparado de anticorpos policlonais não afetou as características de carcaça e qualidade de carne, com exceção de uma diminuição do rendimento de carcaça, demonstrando que não há possíveis perdas na qualidade da carne. O pesquisador atribuiu essa diferença aos procedimentos normais sofridos pela carcaça na linha de abate, uma vez que não houve diferença estatística em nenhuma das outras

variáveis estudadas.

### EFEITOS EM GADO LEITEIRO

Quando vacas leiteiras foram alimentadas com PAP contra bactérias proteolíticas ruminais *Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*, a produção leiteira dos animais em início (<140 dias) ou estágio avançado (>140 dias) de lactação não foi afetada pela utilização dos anticorpos. Ainda, a concentração de gordura e proteína no leite, bem como a contagem de células somáticas e a quantidade de uréia no leite, não foram alteradas pela utilização deste aditivo. Já a concentração de sólidos no leite foi reduzida (Dahlen *et al.*, 2003).

### CONCLUSÕES

Os resultados acima citados demonstram o potencial dos preparados de anticorpos policlonais no controle de populações bacterianas ruminais. Ainda, sua metodologia de produção é conceituada e aprovada pela menor necessidade de animais de laboratório e exposição dos mesmos a condições de estresse. O uso da imunização passiva oral é uma tecnologia que surge como alternativa eficaz para a produção de novos aditivos alimentares. Neste contexto, novos estudos são necessários acerca deste potencial aditivo alimentar, no intuito de melhor compreender seus efeitos na manipulação da fermentação ruminal e, desta forma, inferir as condições de uso mais adequadas dentro da produção de ruminantes.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de auxílio financeiro ao projeto e bolsa de treinamento técnico e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de doutorado e mestrado.

## BIBLIOGRAFIA

- Arcuri, P.B., F.C.F. Lopes e J.C. Carneiro. 2006. Microbiologia do rúmen. In: Berchielli, T.T., A.V. Pires e S.G. Oliveira (eds.). Nutrição de ruminantes. 1ª ed. FUNEP. Jaboticabal. p. 151-179.
- Bastos, J.P.S.T., C.T. Marino, P.H.M. Rodrigues, M.D.B. Arrigoni, J.D. Magalhães, R.D.L. Pacheco, D.D. Millen e J.C.F.D. Carvalho. 2009. Efeito do preparado de anticorpos policlonais (PAP) sobre o pH ruminal de bovinos recebendo dieta de alto concentrado. II Simpósio Internacional de Nutrição de Ruminantes FMVZ-UNESP. Botucatu. CD-ROM.
- Bergman, E.N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.*, 70: 567-590.
- Berghman, L.R. and S.D. Waghela. 2004. Antibodies: an alternative for antibiotics? *J. Anim. Sci.*, 82 (Supl. 1): 82 (Res.).
- Blanch, M., S. Calsamiglia, N. DiLorenzo, A. DiCostanzo, S. Muetzel and R.J. Wallace. 2009. Physiological changes in rumen fermentation during acidosis induction and its control using a multivalent polyclonal antibody preparation in heifers. *J. Anim. Sci.*, 87: 1722-1730.
- Carvalho, F.A.N., F.A. Barbosa e L.R. McDowell. 2003. Nutrição de bovinos a pasto. Carvalho, F.A.N. e F.A. Barbosa (eds.). 2ª ed. Belo Horizonte. 428 p.
- Dahlen, C.R., A. DiCostanzo, B.M. Mitteness, P. Nash, J.E. Larson, N. DiLorenzo and G.D. Marx. 2003. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. *J. Anim. Sci.*, 81 (Supl.1): 58 (Abs.).
- Dahlen, C.R., N. DiLorenzo, A. DiCostanzo, G.C. Lamb and L.J. Smith. 2004. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* or *Fusobacterium necrophorum* on performance and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.*, 82 (Supl.1): 270 (Abs.).
- DiLorenzo, N., F. Diez-Gonzalez and A. DiCostanzo. 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. *J. Anim. Sci.*, 84: 2178-2185.
- DiLorenzo, N., C.R. Dahlen, J.E. Larson, R.K. Gill and A. DiCostanzo. 2007. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 85 (Supl.2): 135 (Abs.).
- DiLorenzo, N., C.R. Dahlen, F. Diez-Gonzalez, G.C. Lamb, J.E. Larson and A. DiCostanzo. 2008. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. *J. Anim. Sci.*, 86: 3023-3032.
- EUROPA. 2003. Regulation EC, Nº 1831/2003 of the European Parliament and Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. Disponível em: <[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2003/l\\_268/l\\_26820031018en00290043.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2003/l_268/l_26820031018en00290043.pdf)> Acesso em 05 de fevereiro 2006.
- Gill, H.S., Q. Shu and A. Leng. 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine*, 18: 2541-2558.
- Goad, D.W., C.L. Goad and T.G. Nagaraja. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *J. Anim. Sci.*, 76: 234-241.
- Hardy, B. 2002. The issue of antibiotic use in the livestock industry: What have we learned? *Anim. Biotechnol.*, 13: 129-147.
- Hau, J. and F.M.H. Coenraad. 2005. Refinement of polyclonal antibody production by combining oral immunization of chickens with harvest of antibodies from the egg yolk. *ILAR J.*, 46: 294-299.
- Huber, T.L. 1976. Physiological effects of acidosis on feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 43: 902-909.
- Ikemori, Y., M. Kuroki, R.C. Peralta, H. Yokoyama and Y. Kodama. 1992. Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.*, 53: 2005-2008.
- Ikemori, Y., M. Ohita, K. Umeda, F.C. Icatlo Jr., M. Kuroki, H. Yokoyama and Y. Kodama. 1997. Passive preparation of neonatal calves against bovine coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody

## ANTICORPOS POLICLONAIS COMO ADITIVO ALIMENTAR

- powder. *Vet. Microbiol.*, 58: 105-110.
- Kleen, J.L., G.A. Hooijer, J. Rehage and P.T.M. Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J. Vet. Med.*, 50: 406-414.
- Krause, K.M. and G.R. Oetzel. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A Review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 126: 215-236.
- Lee, E.N., H.H. Sunwoo, K. Menninen and J.S. Sim. 2002. *In vitro* studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.*, 81: 632-641.
- Marino, C.T. 2008. Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas. 2008. Tese (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 121 p.
- Millen, D.D. 2008. Desempenho, avaliação ruminal e perfil metabólico sanguíneo de bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais. 2008. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 131 p.
- Nagaraja, T.G. and M.M. Chengappa. 1998. Liver abscess in feedlot cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, 76: 287-298.
- Nagaraja, T.G. and E.C. Titgemeyer. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci.*, 90: E17-E38.
- Newbold, C.J. 2007. New products for rumen manipulation. *Br. J. Nutr.*, 98: 15-16.
- Nocek, J.E. 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci.*, 80: 1005-1028.
- Otero, W.G. 2008. Avaliação da diversidade microbiana e degradabilidade *in situ* em animais tratados com preparado de anticorpos policlonais contra bactérias produtoras de lactato e bactérias proteolíticas. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Universidade da São Paulo, USP. Pirassununga. 85 p.
- Owens, F.N., D.S. Secrist, W.J. Will and D.R. Gill. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, 76: 275-286.
- Pacheco, R.D.L. 2008. Características físicas e químicas da carcaça de bovinos jovens suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais aviários. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP. Botucatu. 82 p.
- Russell, J.B. 2002. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. Publisher: James B. Russell. Ithaca. 119 p.
- Santos, F.A.P. 2006. Metabolismo de proteínas. In: Berchielli, T.T., A.V. Pires e S.G. Oliveira. Nutrição de ruminantes. FUNEP. Jaboticabal. p. 151-179.
- Schade, R., C. Staak, C. Hendriksen, M. Erhard, H. Hugi, G. Koch, A. Larsson, W. Pollmann, M.V. Regenmortel, E. Rijki, H. Spielmann, H. Steinbusch and D. Straughan. 1996. The production of avian (Egg Yolk) antibodies: IgY. Disponível em: <<http://altweb.jhsph.edu/publications/ECVAM/ecvam.21.htm>> Acesso em: 5 fevereiro, 2006.
- Schade, R., I. Behn and M. Erhard. 2001. Chicken egg yolk antibodies production and application IgY-Technology. 1ª ed. Springer. Alemanha. 255 p.
- Sherman, D.M., S.D. Acres, P.L. Sadowski, J.A. Springer, B. Bray, T.J.G. Raybould, and C.C. Muscoplat. 1983. Protection of calves against fatal enteric colibacillosis by orally administered *Escherichia coli* K99-specific monoclonal antibody. *Infect. Immun.*, 42: 653-658.
- Shu, Q., H.S. Gill, D.W. Hennessy, R.A. Leng, S.H. Bird and J.B. Rowe. 1999. Immunisation against lactic acidosis in cattle. *Res. Vet. Sci.*, 67:65-71.
- Shu, Q., H.S. Gill, R.A. Leng and B. Rowe. 2000. Immunisation with a *Streptococcus bovis* vaccine administered by different routes against lactic acidosis in sheep. *Vet. J.*, 159: 262-269.
- Valadares Filho, S.C. e D.S. Pina. 2006. Fermentação ruminal. In: Berchielli, T.T., A.V. Pires e S.G. Oliveira. Nutrição de ruminantes. FUNEP. Jaboticabal. p. 151-179.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2ª ed. Cornell University Press. Ithaca. 476 p.
- Yokoyama, H., R.C. Peralta, R. Diaz, S. Sendo, Y. Ikemori and Y. Kodama. 1992. Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Infect. Immun.*, 60: 998-1007.