

Alimentação de bezerros com extrato hidrossolúvel de soja. II. Produção de anticorpos e distúrbios intestinais

Feeding calves with soybean hydrosoluble extract. II. Antibody production and effects upon intestinal villosity

Sergio Novita ESTEVES¹; Marilene Del Vuono Camargo PENTEADO²; Enrico Lippi ORTOLANI³; Idércio Luiz SINHORINI⁴

CORRESPONDENCE TO:
Sergio Novita Esteves
Empresa Brasileira de Pesquisa
Agropecuária - EMBRAPA
Unidade de Execução de Pesquisa de
Âmbito Estadual
Caixa Postal 339
13560-000 - São Carlos - SP - Brasil
e-mail: sergio@cnpq.embrapa.br

1 - EMBRAPA - São Carlos - SP
2 - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da USP - SP
3 - Departamento de Clínica Médica
Faculdade Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP - SP
4 - Departamento de Patologia
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP - SP

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a substituição total do sucedâneo lácteo à base de proteína de leite (SL) por extrato hidrossolúvel de soja (EHS) na alimentação de bezerros Holandeses machos, com idade média inicial de cinco dias. Os bezerros alimentados com EHS a partir do 5º dia de vida apresentaram, com o desenvolver do experimento, perda de peso pronunciada, diarreia, letargia, caquexia e, nos estágios terminais, desidratação e hipoproteïnemia. Apresentaram, ainda, atrofia das vilosidades intestinais e produção de anticorpos no soro contra a proteína do EHS, indicação de que os bezerros estavam padecendo de uma reação alérgica à proteína de soja, enquanto os bezerros do grupo-controle apresentaram-se com desenvolvimento corporal normal. Os bezerros alimentados com EHS apresentaram diminuição visível das gorduras presentes no tecido subcutâneo, omento, epiplon e da gordura perirenal. No abomaso, a principal alteração verificada foi a falta de formação do coágulo do EHS ingerido.

UNITERMOS: Alimentação; Bezerros; Soja; Distúrbios.

INTRODUÇÃO

O “leite de soja” corresponde a um extrato aquoso dos grãos moídos e tratados com aquecimento, e a sua utilização em substituição ao leite de vaca tem sido recomendada nos programas de desaleitamento, devido às propriedades físico-químicas semelhantes ao leite de vaca, além de ser de fácil obtenção e preparo e ter baixo custo (Tiesenhausen¹³, 1971), apesar de algumas vezes ocorrerem transtornos digestivos juntamente com menor desenvolvimento do animal. Os sucedâneos lácteos que contêm proteína de soja apresentam alguns fatores que têm sido relatados como causadores do baixo desenvolvimento dos animais, como antienzimas inibidoras da tripsina e da quimotripsina (Gorrill; Thomas³, 1967), não formação de coágulo no abomaso (Roy *et al.*⁸, 1977), e reações imunológicas em nível intestinal (Dawson *et al.*¹, 1988). Bezerros alimentados com dietas contendo farinha de soja (Smith; Sissons¹², 1975) ou farinha de soja aquecida (Dawson *et al.*¹, 1988) produziram altos títulos séricos de anticorpos contra a proteína da soja, e foram correlacionados com o desenvolvimento de distúrbios digestivos. Alguns estudos têm revelado mudanças

morfológicas na estrutura do intestino delgado de bezerros alimentados com proteína de soja (Silva⁹, 1984), como a atrofia das vilosidades intestinais, associando-lhe também fluxo anormal da digesta e altos títulos de anticorpos contra esta proteína.

Este trabalho teve por objetivo estudar as causas dos distúrbios gastrointestinais que podem ocorrer em bezerros recém-nascidos, alimentados com proteína de soja.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido no Hospital Veterinário (Hovet) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade da São Paulo (FMVZ-USP), utilizando-se 7 bezerros Holandeses machos, de 4 a 6 dias de idade, mantidos em baias individuais e distribuídos casualmente entre os tratamentos.

A partir do 5º dia de vida, os animais do tratamento I receberam sucedâneo lácteo comercial (SL), e os do tratamento III receberam extrato hidrossolúvel de soja (EHS), na quantidade de 4 litros por dia, feno de “coast-cross”, ração comercial peletizada própria para bezerros e água à vontade. O

SL utilizado neste experimento continha como única fonte de proteína, a originária do leite, sendo preparado diariamente na proporção de 200 gramas de SL para 2 litros de água morna.

Para o preparo do EHS, utilizou-se 1 kg de grão de soja moído e misturado em 6 litros de água, colocado em autoclave a 120°C por 20 min. A seguir, coava-se a mistura e era adicionada água morna para se manter uma proporção de 1:10. A composição química dos sucedâneos está demonstrada na Tab. 1.

Tabela 1

Composição química dos substitutos lácteos hidratados. São Paulo, abril a novembro de 1987.

Ingredientes	SL	EHS
Extrato seco total (%)	8,38	3,11
Proteína bruta (%)	2,05	1,39
Matéria mineral (%)	0,70	0,25
Energia bruta (cal/g)	307,90	15,32
Inibidor da tripsina (U.I.T./mg)	-	1,2 a 3,3
Atividade aglutinante	-	1:5,7

No tratamento III, os animais mostraram com o desenvolver do experimento sinais de depressão e debilidade no estado corpóreo, optando-se pelo sacrifício dos mesmos por electrocução. Paralelamente, outro animal na mesma idade, ingerindo SL, foi sacrificado para fins de comparação. No exame necroscópico retirou-se imediatamente um segmento do intestino delgado, distante 50 cm do abomaso, fixado em formol a 10%, e que foi enviado ao laboratório de histopatologia do Departamento de Patologia da FMVZ-USP. Após um período mínimo de 24 horas, seguiu-se a desidratação em soluções de concentrações crescentes de álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina, de onde foram obtidos cortes de 5 micra de espessura e corados pelo método da Hematoxilina-Eosina. O estudo morfológico por microscopia com luz comum, bem como a respectiva documentação fotográfica, foi realizada com auxílio de fotomicroscópio Leitz Ortolux. As medições de altura das vilosidades intestinais foram realizadas nas fotomicrografias, para cada bezerro foram medidas vinte vilosidades. A proteína sérica total foi determinada conforme técnica descrita por Gornall *et al.*² (1949), e os anticorpos no soro contra a proteína de soja, pelo método de hemoaglutinação passiva descrito por Herbert⁴ (1967).

Os resultados foram estudados por meio de análises de variância, e as médias comparadas pelo teste de Fisher (Singer e Andrada¹⁰, 1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os bezerros que ingeriram EHS, após um ou dois dias de aleitamento, apresentaram dificuldade em aceitá-lo no balde,

sendo oferecido, então, com mamadeira, não se verificando diminuição no consumo desta dieta líquida. Smith *et al.*¹¹ (1970), em experimento semelhante, verificaram que os bezerros foram relutantes ou até rejeitaram o aleitamento com farinha de soja após duas ou três alimentações. Esses animais ainda apresentaram as fezes semilíquidas, que se tornaram progressivamente mais fétidas e diarréicas, apatia, dificuldade locomotora, desidratação, perda de peso e emaciação, concordantes com Gorril; Thomas³ (1967) e Silva⁹ (1984).

Os bezerros alimentados com SL ganharam em média 67,7 g/dia, e os bezerros alimentados com EHS perderam em média 540 g/dia, até a data do sacrifício, ocorrida 12 dias após o início do experimento. Esta perda de peso pode ser relacionada à habilidade inferior do sistema digestivo em digerir e absorver os nutrientes, à presença do fator inibidor da tripsina, ou à redução das secreções proteolíticas do trato digestivo, conforme descrito (Kakade *et al.*⁵, 1976; Roy *et al.*⁸, 1977).

O valor médio de proteína sérica total obtido no dia do sacrifício dos animais que receberam o SL foi de 6,13g% e de 4,79g% para os que receberam o EHS, e diferiu significativamente ($p < 0,05$). Esses resultados demonstram que os bezerros que receberam o EHS apresentavam um quadro de hipoproteïnemia, e estão concordantes com os resultados obtidos por Ortolani⁶ (1983). Estes animais desenvolveram também reação positiva de anticorpos contra a proteína de soja, que variou de 1:80 a 1:320, enquanto os animais que receberam SL apresentaram reação negativa. Esses resultados concordam com os obtidos por Smith; Sissons¹² (1975) e Pedersen; Sissons⁷ (1984), os quais verificaram títulos de anticorpos no soro, variando de 1:5120 e 1:160, respectivamente.

O exame histopatológico dos segmentos do intestino delgado dos bezerros alimentados com EHS revelou diminuição significativa ($p < 0,05$) no tamanho das vilosidades intestinais, em relação aos bezerros alimentados com SL (6,17 cm x 2,32 cm).

As fotomicrografias obtidas de cortes de intestinos de bezerros que ingeriram SL se apresentaram normais (Fig. 1), enquanto os animais que receberam EHS apresentaram as vilosidades intestinais atrofiadas (Fig. 2), confirmando as observações feitas por Pedersen; Sissons⁷ (1984) e Silva⁹ (1984).

A reação positiva de anticorpos no soro dos bezerros que ingeriram o EHS e a atrofia observada nas vilosidades intestinais indicam que o EHS causou reação alérgica nos bezerros, e estão concordantes com as observações obtidas por Pedersen; Sissons⁷ (1984) e Dawson *et al.*¹ (1988).

Na necropsia dos animais alimentados com proteína de soja, foi verificada diminuição visível na gordura subcutânea do omento, do epíplon, demonstrando que os animais apresentavam depleção dos depósitos de gordura. Nestes animais também se verificou diminuição significativa de gordura perirrenal, quando comparados com os bezerros do grupo-controle. No exame do rúmen, não se notou nenhuma alteração apenas as papilas ruminais estavam pouco

desenvolvidas, o que é normal em bezerros que recebem somente alimentação líquida. Os animais que ingeriram o EHS apresentaram no conteúdo ruminal maior quantidade de corpos estranhos, como pêlos e serragem, do que os animais do grupo-controle, evidenciando a parorexia. No abomaso, a principal alteração verificada foi a falta de formação do coágulo do EHS ingerido pelos bezerros. Nos intestinos, a mucosa apresentava-se normal, com poucas áreas hemorrágicas, e a digesta mais fluida nos bezerros que ingeriram EHS.

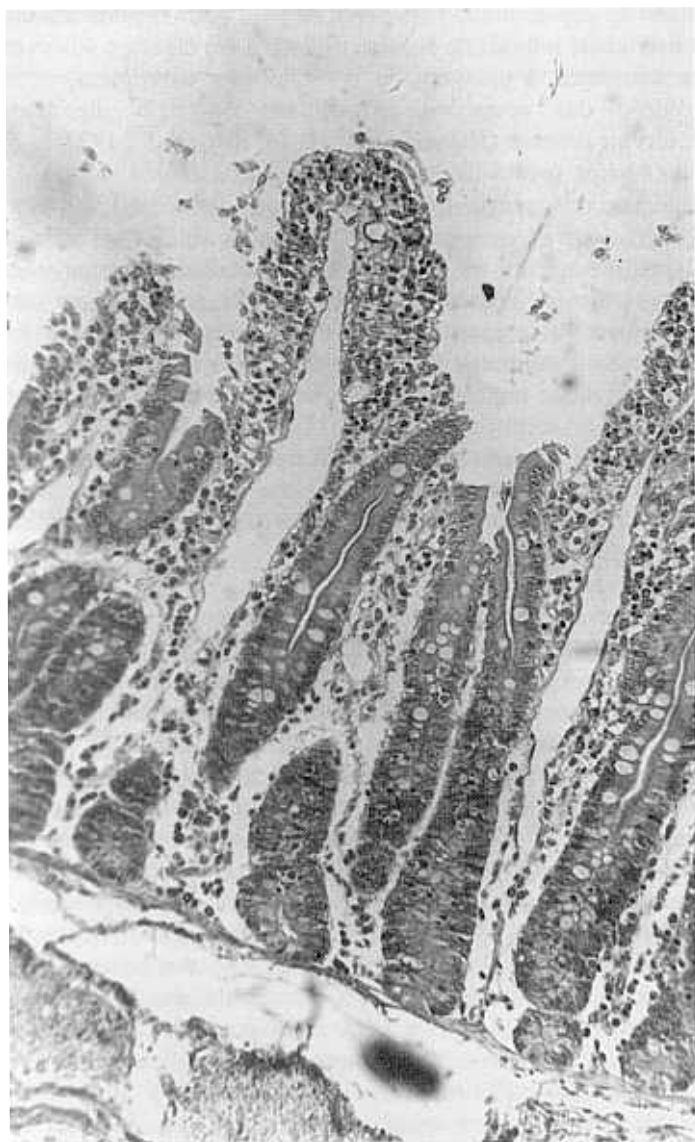


Figura 1

Fotomicrografia de corte histológico de intestino delgado de bezerro do grupo-controle, corada por meio do método Hematoxilina-Eosina (aumento 125 x).

CONCLUSÕES

EHS não deve ser fornecido a bezerros, a partir do 5º dia de idade, devido a causar diarreia, letargia, caquexia, desidratação, hipoproteinemia, atrofia das vilosidades intestinais e produção de anticorpos no soro contra a proteína da soja, indicação de que os bezerros estavam sofrendo de uma reação alérgica a esta proteína. Ao exame necroscópico destes bezerros, observou-se diminuição na gordura subcutânea, do omento e epíplon, e na gordura peri-renal, e no abomaso não houve formação de coágulo.

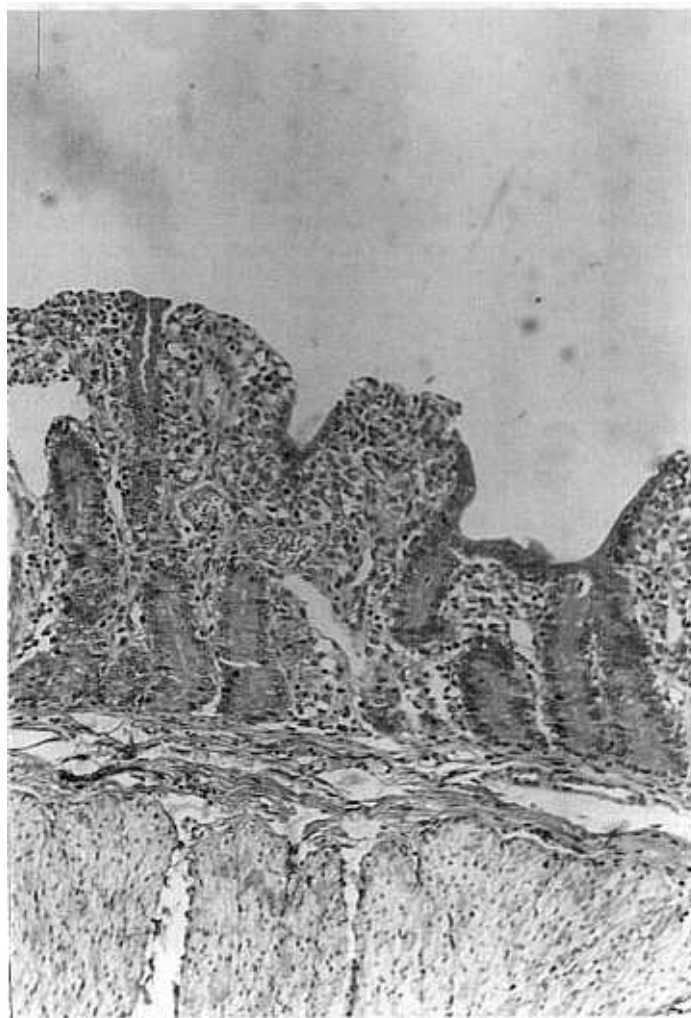


Figura 2

Fotomicrografia de corte histológico de intestino delgado de bezerro tratado com extrato hidrossolúvel de soja, corada por meio do método Hematoxilina-Eosina (aumento 125 x).

SUMMARY

The aim of this investigation was to study the total replacement of milk substitute (SL) for soybean hydrosoluble extract (EHS) in feeding 5-day-old Holstein male calves. Calves fed with EHS from the 5th day of age showed, throughout the experiment, weight loss, diarrhea, lethargy, cachexia and at the final stage, dehydration and hypoproteinemia. In addition, these calves had intestinal villosity atrophy and sera antibody production against the EHS protein, indicating they were suffering from an allergic reaction, while the control group calves showed normal development. The calves fed with EHS showed visible decrease of subcutaneous fat, omentum, epiploon and perirenal fat. The main change observed in the abomasum was absence of clot formation.

UNITERMS: Feeding; Calves; Soybeans; Disorders.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-DAWSON, D.P.; MORRILL, J.L.; REDDY, P.G.; MINOCHA, H.C. Soy protein concentrate and heated soy flours as protein sources in milk replacers for preruminant calves. *Journal of Dairy Science*, v.71, n.5, p.1301-9, 1988.
- 2-GORNALL, A.G.; BARDWILL, C.J.; DAVID, M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, v.177, p.751-66, 1949.
- 3-GORRILL, A.D.L.; THOMAS, J.W. Body weight changes, pancreas size and enzyme activity, and proteolytic enzyme activity and protein digestion in intestinal contents from calves fed soybean and milk protein diets. *Journal of Nutrition*, v.92, n.2, p.215-23, 1967.
- 4-HERBERT, W.J. Passive haemagglutination. In: WEIR, D.M., ed. *Handbook of experimental immunology*. Oxford, Blackwell, 1967, p.720-74.
- 5-KAKADE, M.L.; THOMPSON, R.M.; ENGELTAD, W.E.; BEHRENS, G.C.; YODER, R.D.; CRANE, F.M. Failure of soybean trypsin inhibitor to exert deleterious effect in calves. *Journal of Dairy Science*, v.58, n.8, p.1484-9, 1976.
- 6-ORTOLANI, E.L. Insuficiência pancreática exócrina em bezerras determinada pela ingestão prolongada de leite de soja como sucedâneo lácteo. In: SEMANA DE VETERINÁRIA, 2., São Paulo, 1983. *Anais*. São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1983. p.73.
- 7-PEDERSEN, H.E.; SISSONS, J.W. Effect of antigenic soybean protein on the physiology and morphology of the gut in the preruminant calf. *Canadian Journal of Science*, v.64, p.183-4, 1984 (Supplement 1).
- 8-ROY, J.H.B.; STOBO, I.J.F.; SHOTTON, S.M.; GANDERTON, P.; GILLIES, C.M. The nutritive value of non-milk proteins for the preruminant calf. The effect of replacement of milk protein by soybean flour or fish-protein concentrate. *British Journal of Nutrition*, v.38, p.167-87, 1977.
- 9-SILVA, A.G. *Factors affecting utilization of soybean proteins included in milk replacers for young calves*. East Lansing, 1984. 97p. PhD Thesis, Michigan State University.
- 10-SINGER, J.M.; ANDRADE, D.F. *Análise de dados longitudinais*. Campinas, IMECC-UNICAMP, 1986. 106p.
- 11-SMITH, R.H.; HILL, W.B.; SISSONS, J.W. Effect of diets containing soy products on the passage of digesta through the alimentary tract of the preruminant calf. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.29, n.1, p.2A, 1970.
- 12-SMITH, R.H.; SISSONS, J.W. The effect of different feeds, including those containing soybean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. *British Journal of Nutrition*, v.33, n.3, p.329-49, 1975.
- 13-TIESENHAUSEN, I.M.E.V. Substituição do leite de vaca integral pelo leite de soja na alimentação de bezerras. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 8., 1971. Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1971. p.166-7.

Recebido para publicação: 07/05/93
Aprovado para publicação: 18/09/96