

Quantificação de imunoglobulinas tipo Y na gema do ovo de poedeiras semipesadas alojadas em diferentes densidades e sistemas de criação

Tatiane Cristina Lagassi¹, Livia Maria Soares Queiroz², Brena Tailine de Souza Semidamore³, Keila Maria Roncato Duarte⁴, José Evandro de Moraes⁵, Carla Cachoni Pizzolante⁶, Weber Vilas Bôas Soares⁷, Ricardo de Albuquerque⁸

1 - Instituto de Zootecnia

2 - FMVZ/USP Pirassununga

3 - PIBIC/Instituto de Zootecnia

4 - Instituto de Zootecnia

5 - Instituto de Zootecnia

6 - Instituto de Zootecnia

7 - Instituto de Zootecnia

8 - FMVZ/USP Pirassununga

RESUMO - Aves de postura podem manifestar estresse de diversas formas, seja na produção de ovos, no peso do ovo ou características indiretas como produção de IgY, relacionadas ao bem-estar. Neste trabalho as IgY foram isoladas de gemas de ovos de aves criadas em dois sistemas de criação: convencional e Cage-Free, com 2 densidades: 750 cm²/ave e 375 cm²/aves. Resultados mostram que aves criadas em menor densidade (750 cm²/ave) apresentaram maior quantidade de IgY, indicando melhor bem-estar

Palavras-chave: poedeiras, IgY, bem-estar

IgY quantification in egg yolk from semiheavy hens kept at different densities and production systems

ABSTRACT - Laying hens can manifest stress from several ways, as eggs production, egg weight and in indirect characteristics as IgY production, related to welfare. In this work, IgY were purified from egg yolk in hens raised in two systems: conventional and Cage-free, at 2 densities: 750 cm²/bird and 375 cm²/bird. Results show birds at low densities (750 cm²/bird) presented higher levels of IgY, at both systems of production, indicating better welfare

Keywords: laying hens, IgY, welfare

Introdução

A intensificação do sistema de produção de poedeiras com elevadas densidades de alojamento em gaiolas são adotadas em criações de aves. A restrição do comportamento tem sido o grande alvo das críticas às baterias de gaiolas convencionais, pois estas se contrapõem a uma das cinco liberdades defendidas pela *Farm Animal Welfare Council* (FAWC, 1993), chamada de "liberdade para exercer seus padrões normais de comportamentos". Há uma orientação crescente para o banimento progressivo de práticas e modelos de produção existentes nos sistemas intensivos comerciais criando-se a necessidade da geração de indicadores sustentáveis de bem-estar animal na produção de ovos (MAZZUCO, 2008). Existem diversas formas de avaliar o bem-estar em aves, entretanto as metodologias podem ser consideradas subjetivas ou invasivas. Estudos de Mendes et al. (2012) comprovam a dificuldade em definir um método preciso e que possa ser utilizado mundialmente com exatidão e sem desvios de resultados. A redução exagerada da área de gaiola por ave e diminuição da área disponível no comedouro e de bebedouro, bem como a restrição de movimentos pode gerar um ambiente impróprio ao bem-estar das aves (Rios et al., 2009), bem como, aumentar o estresse e acarretar alterações dos parâmetros fisiológicos como aumento do metabolismo, aumento dos níveis de corticosterona circulante e consequente supressão da imunidade humoral, gerando diversos questionamentos relacionados ao bem-estar das aves (Lima et al., 2012). As aves possuem a capacidade de transferir anticorpos para a gema do ovo e sabe-se que há uma correlação significativa entre o nível de imunoglobulinas (Ig) total no soro e o nível de IgY total na gema do ovo, sugerindo que aves em bom estado imunológico são capazes de alocar uma maior capacidade de Ig também aos ovos (Sun et al., 2013). Com a crescente demanda por produtos e processos diferenciados que aliam sustentabilidade e bem-estar animal, a ciência busca por indicadores confiáveis para determinação do bem-estar de poedeiras. Em função do exposto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a quantidade de IgY na gema de ovos de poedeiras semipesadas alojadas em diferentes densidades no sistema convencional e *Cage-free*.

Revisão Bibliográfica

A palavra imunidade está relacionada à proteção de doença. As células e moléculas que são responsáveis por essa imunidade constituem o sistema imunológico e esse por sua vez possui a função de defesa contra microrganismos infecciosos, porém até mesmo uma substância não infecciosa pode gerar uma resposta imunológica (Abbas, 2012). Com a avaliação imune humoral é possível medir a capacidade da ave em estabelecer uma resposta imunológica através de níveis de imunoglobulinas (Ferket e Qureshi, 1998). Em aves, são encontrados três tipos de imunoglobulinas: IgA que é o principal anticorpo das mucosas, IgM que é similar a IgM de mamíferos tanto em estrutura quanto a função e IgY que corresponde a 75% do total de imunoglobulinas do soro, sendo similar quanto a sua função às IgG de mamíferos (Tizard, 2010). As aves possuem a capacidade de transferir anticorpos maternos do soro para a gema do ovo, proporcionando imunidade passiva para o embrião e para o neonato (Klemperer, 1893) e essa transferência ocorre em duas etapas (Grindstaff et al., 2003; Hamal et al., 2006): a primeira etapa ocorre através de receptores localizados nos capilares de folículos ovarianos, que capturam as imunoglobulinas IgY da circulação sanguínea e depositam na gema; na segunda etapa, ocorre a transferência de IgY da gema para o embrião em formação, esse processo ocorre através de difusão do saco vitelino para a circulação embrionária. (Grindstaff et al., 2003). A concentração total de IgY no soro pode indicar a saúde e o estado nutricional das aves (Apanius, 1998). Sun et al. (2013) relatam que existe uma correlação significativa do nível de IgY total no soro e o nível de IgY total na gema do ovo, indicando que galinhas com níveis mais elevados de IgY também apresentam ovos com IgY elevado, sugerindo que galinhas em bom estado imunológico são capazes de alocar uma maior capacidade imunológica aos ovos. As aves precisam do mecanismo de defesa para resistir à proliferação de agentes infecciosos. Entretanto, Squires (2003) relata que ambientes estressantes podem atuar como imunossupressores, tornando assim os animais mais susceptíveis a doenças. A avaliação da imunidade é uma ferramenta muito importante na produção avícola, pois permite compreensão do sistema imune e avaliação do estresse.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa - São Paulo, no período de

setembro a dezembro de 2016, com a finalidade de avaliar as condições de bem-estar de poedeiras semipesadas, alojadas em diferentes densidades no sistema de criação convencional e *Cage-free* (Figura 1). A duração do experimento foi de 112 dias, com quatro ciclos produtivos de 28 cada. Foram utilizadas 216 poedeiras semipesadas de uma linhagem comercial, com 24 semanas dias de idade, em fase de postura, ao início do experimento. As gaiolas e os boxes no chão utilizados para a fase de produção de ovos tinham como dimensões: 50 x 45 x 40 cm e estavam equipados com bebedouros (tipo nipple) e comedouro (tipo calha), sendo que somente o ninho foi introduzido no sistema *Cage-free*. Água e ração foram fornecidas à vontade. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2, sendo dois sistemas de criação (convencional de gaiolas piramidais, e sistema *Cage-free* de criação sobre piso em cama de maravalha) e duas densidades de alojamento (3 aves/parcela ou 750 cm²/ave e 6 aves/parcela ou 375 cm²/aves) e seis repetições cada. Para a avaliação de IgY foram coletados 24 ovos das parcelas de aves alojadas no sistema *Cage-free*, sendo 12 da densidade 750 cm² e 12 da densidade 375 cm² e 24 ovos de aves alojadas no sistema convencional, sendo da densidade 750 cm²/ave e 12 da densidade 375 cm². Após a coleta, os 48 ovos foram identificados de acordo com os tratamentos, acondicionados em bandejas, e transportados em caixa de papelão sob temperatura ambiente, até o laboratório, onde foram pesados, e as gemas separadas, pesadas e aliquotadas em 1g, armazenadas na geladeira. As gemas foram submetidas ao protocolo de extração e quantificação de IgY, descrito em Pauly et al. (2011). Após o protocolo ser realizado, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 280 nm e a quantificação (mg/gema) baseada na fórmula de Lambert-Beer.

Resultados e Discussão

Poedeiras semipesadas alojadas em densidades 750cm²/ave apresentaram maiores valores de IgY, diferenciando-se das aves alojadas nas densidades 375cm²/ave (Figura 2.). Comparando-se os dois sistemas, o convencional apresentou maiores valores de imunoglobulinas Y, comparativamente ao sistema *Cage-free*. Baixos valores de IgY estão relacionados ao estresse, neste caso pelo grande número de aves por cm². Em resposta ao estresse ocorre o aumento de glicocorticoides, causando diversas alterações no sistema imunológico, o que, segundo Gray (1988), pode inibir a resistência a infecções, uma vez que grandes doses de corticosterona, no caso de aves ocasiona atrofia do tecido linfóide, gerando diminuição de células T e de anticorpos (Rosa, 2003). Foi Selye (1936) que relacionou pela primeira vez fatores de estresse, como frio, drogas tóxicas ou lesões cirúrgicas, com atrofia de timo, linfonodos e baço e, subsequente a isso, inúmeros trabalhos científicos foram feitos relacionando o estresse e a supressão da resposta imune celular e humoral, traçando uma linha direta entre o bem-estar e a imunidade, e concluindo que animais expostos a condições de estresse, como frio, calor, transporte, mistura de lotes e outros, podem ser mais susceptíveis a doenças infecciosas (HICKS et al., 1998; SALAK-JOHNSON e MCGLONE, 2007).

Conclusões

Conclui-se que a metodologia de mensuração de IgY na gema de ovos, pode ser utilizada como indicador do estado imunológico, visto que o maior espaço disponibilizado no alojamento promoveu aumento dos valores de IgY, tanto no sistema convencional como no *Cage-free*, mostrando que nestes estudos preliminares, a densidade tem influencia direta no bem-estar das aves.

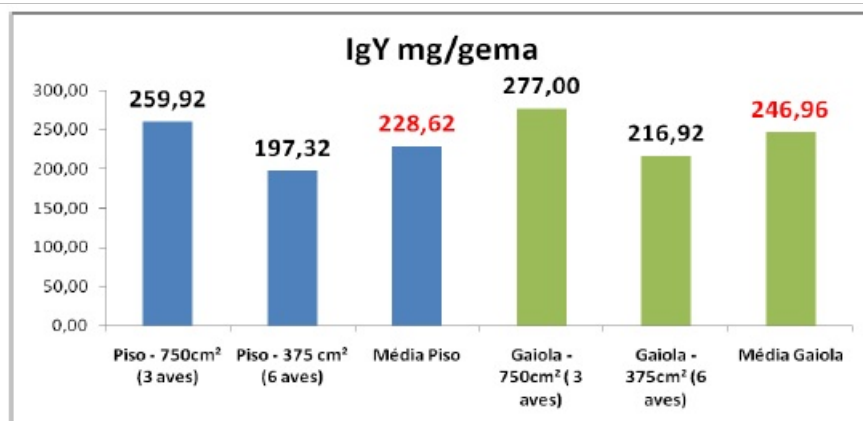
Gráficos e Tabelas



(<http://cdn5.abz.org.br/wp->

Figura 1. Sistema de criação convencional e *Cage-free*

content/uploads/2017/03/figura-1-zootec-2017.png)



(<http://cdn5.abz.org.br/wp->

Figura 2. Produção de IgY na gema do ovo de poedeiras semipesadas alojadas em diferentes densidades em dois sistemas de criação

content/uploads/2017/03/figura-2-zootec-2017.png)

Referências

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S.H.I.V. **Imunologia celular e molecular**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. APANIUS, V. **Ontogeny of immune function**. New York: Oxford University Press. 1988 FERKET, P.R.; QURESHI, M.A. Função imune em aves e interações nutricionais. In: SEMINÁRIO TÉCNICO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL E SEU EFEITO NA IMUNIDADE DAS AVES, 1., 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: Nutron Alimentos Ltda. e Zinpro Animal Nutrition, 1998 FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciê. E Agrotec.**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011. GRAY, J.A. **The Psychology of Fear and Stress**. Cambridge University Press, New York; 2 ed. 1988. GRINDSTAFF, J.L.; BRODIE III, E.D.; ELLEN, D.K. Immunefunction across generations: interating mechanism and evolutionary process in maternal antibody transmission. **Proceedings Biological Sciences**, v.298, p.951-955, 2003. HAMAL, K.R.; BURGESS, C.; PEVZNER, I.Y.; ERF, G.F. Maternal antibody transfer from dams to their eggs yolk, eggs white, and chicks in meat lines of chickens. **Poultry Science**, v.22, p.1364-1372, 2006 HICKS, T.A.; MCGLONE, J.J.; WHISNANT, C.S.; KATTESH, H.G.; NORMAN, R.L. Behavioral, endocrine, immune, and performance measures for pigs exposed to acute stress. **J Anim Sci** 1998. 76:474-483. KLEMPERER, F. U"ber natu"rlliche immunita"t und ihre verwerthung fu"r die immunisierungstherapie. **Arch. Exp. Path. Pharmak**, v.31, p.356-382, 1983 LIMA, H.J.D.; BARRETO, S.L.T.; VALERIANO, M.H.; VIEIRA, D.V.G.; COSTA, S.L. Densidade Inicial de Alojamento de codornas japonesas na fase de postura. **Global Sci. and Tech**. v. 5, n. 2, p.186 - 193,2012. MAZZUCO, H. Ações sustentáveis na produção de ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia** 2008; 37,

suplemento especial p.230-238. MENDES, A.S.; REFATTI, R.; PAIXÃO, S. J. Mensuração de bem-estar em aves. Disponível em: <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/mensuracao-bem-estar-aves-t38297.htm> Acesso em: 30 março 2017. PAULY, D. CHACANA, P.A., CALZADO, E.G., BREMBS, B., SCHADE, R. IgY technology: extraction of chicken antibodies from egg yolk by Polyethylene Glycol (PEG) precipitation. *Journal of Visualized Experiments*, 51, e3084, 1-6, 2011. ROSA, J. P. Endocrinologia do estresse e importância no bem-estar animal. **Seminário disciplina Bioquímica do Tecido Animal**, 2003. SALAK-JOHNSON, J. L.; MCGLONE, J. J.. Making sense of apparently conflicting data: stress and immunity in swine and cattle. *J Anim Sci*, 2007. SELYE, H.. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, 1936. SQUIRES, J.E. **Applied Animal Endocrinology**. Cambridger: GABI publishing, 2003, 250P. SUN, H.; CHEN, S.; CAI, X.; XU, G.; QU, L. Correlation analysis of the total IgY level in hen serum, egg yolk and offspring serum. **J. Ani. Sci. and Biotech.**, v. 4, n. 1, p. 1, 2013. FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL – FAWC 1993. Second Report on Priorities for Research and Development in Farm Animal Welfare. Farm Animal Welfare Council. MAFF Tolworth, U.K. Five Freedoms. Disponível em: <http://www.fawc.org.uk/freedoms.htm>. Acesso em: 20 de março de 2017. TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6.ed. São Paulo: Roca, 2002. 532p.