

# III SEMANA DO CONHECIMENTO

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

## VALORIZAÇÃO DA $\beta$ -GLUCANA COMO IMUNOESTIMULANTE EM DIETAS E ADJUVANTES VACINAIS.

**AUTOR PRINCIPAL:** Lucas de Figueiredo Soveral

**CO-AUTORES:** Janine Di Domenico, Raíssa Canova, Cristian O. Nied, Márcio Machado Costa, Rafael Frandoloso, Luiz Carlos Kreutz.

**ORIENTADOR:** Luiz Carlos Kreutz

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo

### INTRODUÇÃO:

As doenças infecciosas causam a morte de aproximadamente 10% dos peixes cultivados, o que representa, em termos financeiros globais, perdas anuais na ordem de 13,5 bilhões de dólares (FAO, 2014). No Brasil, a septicemia hemorrágica, causada pela bactéria *Aeromonas hydrophila*, é uma das mais importantes infecções de peixes cultivados (Barcellos et al., 2008). Comumente, o controle das infecções é feito pela administração de antibióticos na água nos momentos críticos do desenvolvimento dos peixes, principalmente na fase larval e de alevinos. No entanto, antibióticos potencializam a seleção de bactérias resistentes e deixam resíduos no ambiente. Nesse contexto, torna-se necessário desenvolver alternativas ao uso de drogas antibacterianas, como vacinas e dietas imunomoduladoras, as quais constituem ferramentas de manejo importante nos sistemas de criação intensivos. O objetivo deste estudo foi avaliar a  $\beta$ -glucana como adjuvante vacinal e como imunostimulante em dietas de jundiás.

### DESENVOLVIMENTO:

Dois experimentos foram desenvolvidos para avaliar a  $\beta$ -glucana como adjuvante vacinal e imunostimulante na dieta dos peixes. No primeiro experimento foram utilizados juvenis de jundiás (50 a 80 g) alocados em tanques de 1000L, na densidade máxima de 1g peixe/L de água, com fluxo contínuo. O período de adaptação foi de sete dias. Abrigados da luz solar direta, sob foto-periodismo natural. A alimentação consistiu de ração comercial peletizada. O potencial adjuvante vacinal da  $\beta$ -glucana (beta 1,3/1,6 glucan; Sigma®) foi testado associando-a em albumina sérica bovina (BSA; 200 $\mu$ g/peixe). Os peixes foram divididos em 6 grupos com 15 a 17 indivíduos cada. Foram inoculados com 0.1 ml de salina fosfatada tamponada (PBS, pH 7,4) estéril (Grupo 1); PBS+BSA

# III SEMANA DO CONVÊNIO

37 DE OUTUBRO  
2016

(Grupo 2); BSA+Montanide (Grupo 3); BSA+  $\beta$ -glucana a 0,02% (Grupo 4); BSA+ $\beta$ -glucana a 0,06% (Grupo 5), ou BSA+ $\beta$ -glucana a 0,1% (Grupo 6). O sangue foi coletado por meio de punção da veia caudal antes da administração das concentrações e 14, 28 e 42 dias após as inoculações. As amostras foram submetidas a ensaios imunoenzimáticos de ELISA (Kreutz et al., 2016) para avaliação das imunoglobulinas séricas. Em todos os grupos inoculados com BSA+adjuvante ( $\beta$ -glucana ou Montanide) a produção de imunoglobulinas específicas foi superior ( $p < 0.01$ ) aquela observada nos peixes inoculados com BSA sem adjuvante. O grupo inoculado com BSA+ $\beta$ -glucana 0,06% (Grupo 5) foi o que obteve resultados mais parecidos com o grupo BSA+Montanide (Grupo 6) (Figura 1). Em um segundo experimento, o foco foi na capacidade de resposta ao desafio por *Aeromonas hydrophila* em animais com dieta incrementada em diferentes concentrações de  $\beta$ -glucana. Para tal, foram utilizados animais com 20 gramas de peso médio, sob condições ambientais semelhantes ao experimento anterior. 150 jundiás foram distribuídos em três grupos (50 peixes/grupo): [Grupo 1] alimentado com ração comercial sem  $\beta$ -glucana [controle]; [Grupo 2] com  $\beta$ -glucana na proporção de 0,01%; e [Grupo 3] com 0,1% de  $\beta$ -glucana na ração. Essa dieta foi mantida por 42 dias após a aclimação. No 43º dia pós-dieta, os peixes foram desafiados com a DL50% de *Aeromonas hydrophila* ( $2 \times 10^8$  UFC/peixe) inoculada via intraperitoneal. Para determinação da quantidade de bactérias na circulação dos indivíduos foram efetuadas coletas do sangue de 10 peixes por grupo, 24h depois do desafio, seguido de plaqueamento (100  $\mu$ l de sangue) e posterior contagem de colônias bacterianas. O número de peixes doentes e ou mortos foram anotados diariamente até o décimo dia pós-desafio para indicar a taxa de sobrevivência. Nos peixes alimentados com  $\beta$ -glucana adicionada a dieta a quantidade de bactéria na corrente sanguínea foi significativamente menor ( $p < 0.05$ ) em relação ao grupo controle (Figura 2). No grupo controle e naquele com 0,01% de  $\beta$ -glucana na dieta ocorreram mortes até 4 dias pós-inoculação. A taxa de sobrevivência do grupo com 0,1% de  $\beta$ -glucana na ração foi de 100% (Figura 3).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Prevenir surtos de doenças é um dos principais desafios da aquicultura. Este estudo apontou a possibilidade do uso da  $\beta$ -glucana como adjuvante para vacinas e principalmente como aditivo na dieta para a prevenção de infecções oportunistas. Essas características são suficientes para recomendar o uso da  $\beta$ -glucana como suplemento alimentar em jundiás.

## REFERÊNCIAS:

- 1 BARCELLOS, L. J. G. et al. *Aeromonas hydrophila* em *Rhamdia quelen*: aspectos macro e microscópico das lesões e perfil de resistência a antimicrobianos. Boletim do Instituto de Pesca, v. 34, n. 3, p. 355–363, 2008.
- 2 FAO. FAO Fishery and Aquaculture Statistics Yearbook. 2012. ed. Rome, Italy: FAO, 2013.

# III SEMANA DO CONHECIMENTO

Universidade e comunidade em transformação

3 PAVAN, T. R. et al. Inactivated Parapoxvirus ovis as inducer of immunity in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2016.

31 DE OUTUBRO DE 2016

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): (CEUA 011/2012)

## ANEXOS:

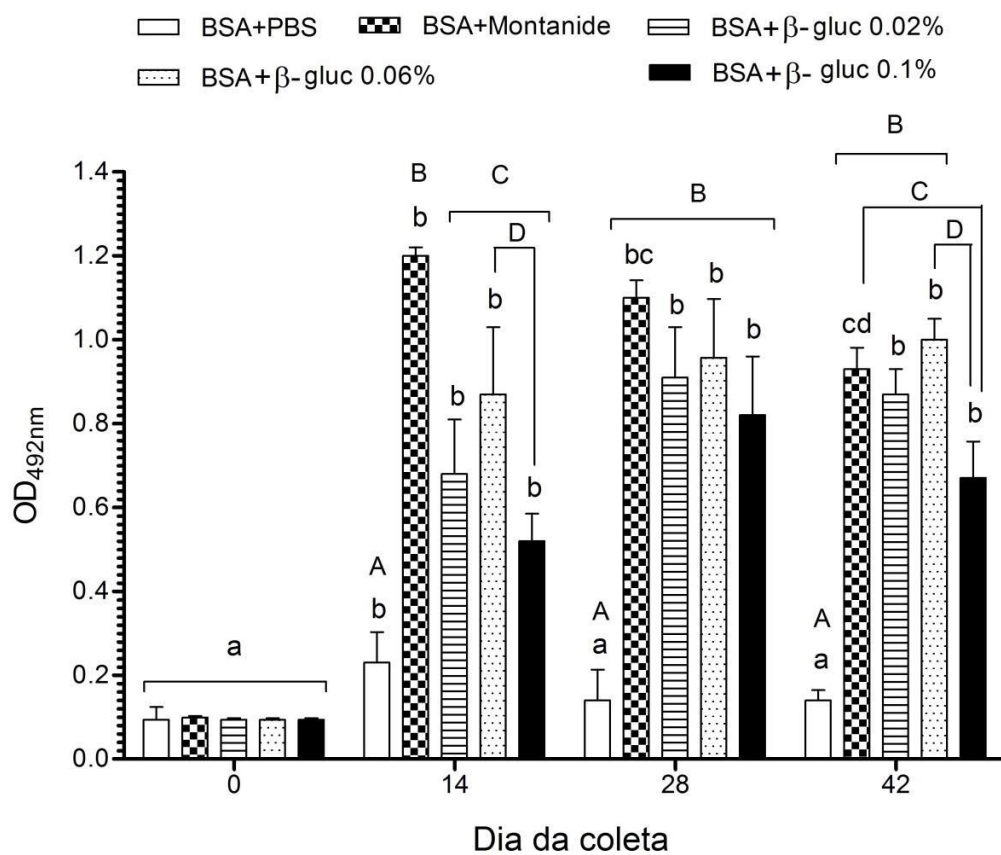


Figura 1. Resposta imune de jundiás inoculados com albumina sérica bovina (BSA) associada à β-glucana ou montanide. O soro de jundiás foi coletado anteriormente à inoculação, e nos dias 14, 28 e 42 dias pós-inoculação (p.i.) e testado para detectar a presença de anticorpos anti-BSA por ELISA. Os resultados estão representados pela média ± SEM (n=12). As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias da coleta no mesmo tratamento estão representadas por letras minúsculas, e as diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo dia da coleta estão representadas por letras maiúsculas.

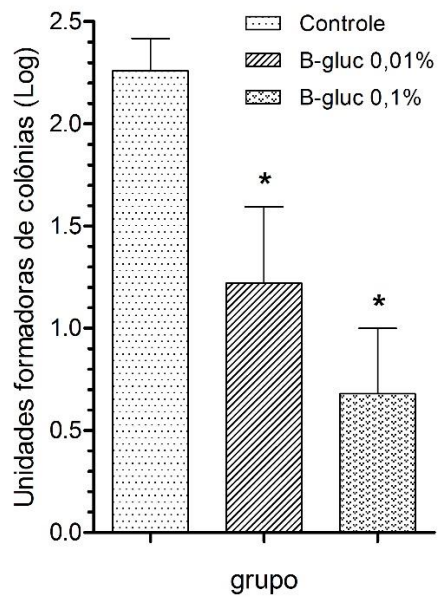


Figura 2. Determinação da quantidade de bactérias na corrente sanguínea de peixes alimentados ou não com  $\beta$ -glucana. Os peixes foram desafiados pela inoculação intraperitoneal de *A. hydrophila* ( $2 \times 10^8$  UFC/peixe). Amostras de sangue foram coletadas assepticamente 24 h após o desafio para mensurar o número de bactérias presentes em 0,1ml de sangue total. Os dados estão representados pelo logaritmo natural do número total de colônias observadas e representam a média  $\pm$  SEM ( $p < 0.05$ ) de 10 peixes de cada grupo.

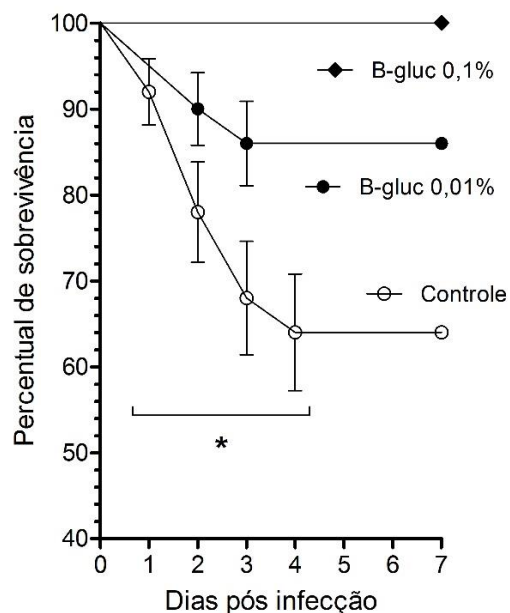


Figura 2. Taxa de sobrevivência de jundiás alimentados ou não com ração contendo  $\beta$ -glucana e desafiados com *A. hydrophila* ( $2 \times 10^8$  UFC/peixe). O número de peixes mortos foi anotado diariamente até o sétimo dia após o desafio. Todos os grupos eram compostos de 40 peixes e os dados representam a taxa de sobrevivência diária  $\pm$  SEM ( $p < 0.05$ ).