

O LIPOPOLISSACARÍDEO ESTIMULA A ATIVIDADE RESPIRATÓRIA DE LEUCÓCITOS COMPARADO COM DESAFIO MICROBIOLÓGICO EM TILÁPIA

*Oreochromis niloticus**

Ana Paula Diogo SIDEKERSKIS¹, André Fernando Nascimento GONÇALVES², Thais Daltoso da SILVA³, Basia Schlichting MOROMIZATO¹, Ingrid Camargo dos REIS¹, Jaqueline Dalbello BILLER¹

¹Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Câmpus de Dracena. Rod. Cmte. João Ribeiro de Barros, km 651, 17900-000, Dracena-SP/Brasil

²Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias. Lages- SC/Brasil.

³Universidade Estadual Paulista (Unesp), Centro de Aquicultura, Câmpus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane/n, 14884-900, Jaboticabal-SP/Brasil.

*Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Processo nº2016/21443-6

Palavras-chave: Variáveis bioquímicas; LPS; imunomodulador; peixe.

INTRODUÇÃO

Desde a década de 80 a aquicultura brasileira vem crescendo significativamente e muitos estudos avaliam o uso de imunoestimulantes para prevenção de doenças, estimulando o mecanismo de defesa precocemente (SAHOO e MUKHERJEE, 2001; SELVARAJ *et al.*, 2005). Recentemente, o lipopolissacarídeo (LPS) tem sido utilizado como imunoestimulante, sendo uma molécula complexa localizada na parede celular de bactérias gram negativas e algumas gram positivas (HA *et al.*, 2015). Esta é liberada após o rompimento da parede celular, causando respostas imunológicas. Os efeitos desta substância são mais acentuados em mamíferos, enquanto em peixes há uma maior tolerância (WEXLER e OPPENHEIM, 1979; RODKHUM *et al.*, 2006).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie adaptada ao clima brasileiro, expressando bons índices zootécnicos e como consequência é um dos peixes mais cultivados no país. O trabalho teve como objetivo avaliar variáveis bioquímicas em tilápias desafiadas com diversas concentrações de LPS comparadas com desafio microbiológico com *Streptococcus agalatae*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de aquicultura, metabolismo animal e laboratório de química e bioquímica da faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP, campus de Dracena, SP. Foram utilizados 288 juvenis de tilápia, com peso médio 50g adquiridas em propriedades da região, divididos em 24 caixas de polietileno (100L) (12 peixes por caixa) dispostas num sistema de circulação aberto com renovação contínua e aeração forçada através de sopradores e pedras porosas com temperatura em torno de 28°C. A limpeza das caixas foi feita através de sifonação a cada três dias. Foi fornecida dieta comercial (28% PB e 3.600 Kcal EB kg⁻¹) durante 30 dias, quatro vezes ao dia até a saciedade aparente.

Após o período de aclimação, os peixes foram anestesiados em solução alcóolica de eugenol (0,1g L⁻¹), e realizou-se amostragem de 12 tilápias para colheita de sangue para análises bioquímicas, determinando dessa foram a condição basal. Em seguida os peixes foram divididos em 6 tratamentos: tampão fosfato PBS (controle), 100, 250, 500 e 600 µg/PV de LPS e *S. agalataiae*, com 4 repetições cada. Após sete dias do desafio, foram amostrados 12 peixes por tratamento, anestesiados para colheita de sangue para análises bioquímicas.

As análises englobaram a determinação do burst (atividade respiratória de leucócitos), proteína total (PT), albumina (ALB), globulina (GLB) e índice A:G. A PT foi determinada pelo método do Biureto (kit comercial), a albumina foi determinada por método colorimétrico - verde de bromocresol, a globulina foi determinada pela subtração PT-ALB, e o índice A:G pela relação de albumina por globulina. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey (5%), e o teste de Dunnett foi utilizado para comparação dos tratamentos com o basal (5%) (SAS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso dos peixes tratados diminuiu em comparação com o valor basal, indicando que as concentrações utilizadas promoveram anorexia, e perda de peso. O burst apresentou-se aumentado nos peixes desafiados com LPS, indicando que após 7 dias do desafio microbiológico não houve alteração detectada. Já o índice A:G diminuiu apenas nos tratamentos de PBS, 250 LPS µg/PV e com *S. agalataiae*, o que implica no aumento da resposta imune (Tabela 1).

Comparando-se entre os tratamentos, pode-se observar uma diminuição do peso das tilápias nos tratamentos com maior concentração de LPS, indicando que doses altas de lipopolissacarídeo prejudicam a alimentação. Já o burst apresentou-se diminuído após desafio com *S. agalataiae*, indicando que o LPS promoveu imunomodulação. Já a proteína total diminuiu

significativamente no tratamento com 100 µg/PV em comparação com o controle e desafio com *S. agalatiæ* (Tabela 2).

Tabela 1. Variáveis bioquímicas após 7 dias do desafio com LPS e *S. agalatiæ*, comparadas com coleta basal.

	Basal	Controle PBS	µg/PV de LPS				<i>S. agalatiæ</i>	CV
			100	250	500	600		
Peso	75,7±8,5	66,7±13,6	58,1±8,1*	58,6±10,4*	54,1±9,9*	50,4±8,3*	69,8±15,8	17,8
Comp	16,1±0,7	16,0±1,0	15,5±0,6	15,4±0,9	14,8±1,0*	14,8±0,9*	16,5±1,3	6,0
Burst	0,4±0,1	0,7±0,04*	0,7±0,1*	0,6±0,2*	0,6±0,1*	0,7±0,1*	0,4±0,1	21,5
PT ^{NS}	5,1±1,2	6,0±1,1	4,1±1,4	4,8±1,2	5,7±1,5	5,6±1,5	6,5±1,9	25,7
ALB ^{NS}	3,7±0,6	4,0±1,7	3,3±1,1	4,2±1,8	4,5±1,3	4,2±1,8	3,5±0,6	35,1
GLB ^{NS}	1,8±1,3	3,2±1,7	2,2±1,5	2,8±1,6	2,1±1,8	1,9±1,1	3,4±1,0	57,2
I A:G	5,3±6,04	1,1±0,6*	1,7±1,0	1,3±1,0*	2,2±1,8	1,7±0,8	1,1±0,2*	128

Valores são médias ± desvio padrão. Médias seguidas com * diferenciam do basal pelo teste de Dunnett (P>0,05). PV= peso vivo; CV=coeficiente de variação; Comp= comprimento; Burst= atividade respiratória de leucócitos; PT= proteína total; ALB= albumina; GLB= globulina; I A:G= Índice Albumina: Globulina.

Tabela 2. Variáveis bioquímicas após 7 dias do desafio com LPS e *S. agalatiæ*.

	Controle PBS	µg/PV de LPS				<i>S. agalatiæ</i>	CV
		100	250	500	600		
Peso	66,7±13,6AB	58,1±8,1ABC	58,6±10,4ABC	54,1±9,9BC	50,4±8,3C	69,8±15,8A	19,1
Comp	16,0±1,0A	15,5±0,6AB	15,4±0,9AB	14,8±1,0B	14,8±0,9B	16,5±1,3A	6,3
Burst	0,7±0,04A	0,7±0,1A	0,6±0,2 ^a	0,6±0,1A	0,7±0,1A	0,4±0,1B	21,6
PT	6,0±1,1A	4,1±1,4B	4,8±1,2AB	5,7±1,5AB	5,6±1,5AB	6,5±1,9A	25,9
ALB ^{NS}	4,0±1,7	3,3±1,1	4,2±1,8	4,5±1,3	4,2±1,8	3,5±0,6	37,0
GLB ^{NS}	3,2±1,7	2,2±1,5	2,8±1,6	2,1±1,8	1,9±1,1	3,4±1,0	55,4
I A:G ^{NS}	1,1±0,6	1,7±1,0	1,3±1,0	2,2±1,8	1,7±0,8	1,1±0,2	65,1

Valores são médias ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). PV= peso vivo; CV=coeficiente de variação; Comp= comprimento; Burst= atividade respiratória de leucócitos; PT= proteína total; ALB= albumina; GLB= globulina; I A:G= Índice Albumina: Globulina.

CONCLUSÃO

Os dados apresentados são resultados preliminares, entretanto pode-se concluir que o tratamento com LPS promoveu imunomodulação e pode ser usado como alternativa ao uso de microrganismos para desafios imunológicos.

REFERÊNCIAS

HA, N., GONÇALVES, A.F.N., SOUSA, L.C., BILLER-TAKAHASHI, J.D., TAKAHASHI, L.S. 2017 Dietary carbohydrates and protein of yeast modulate the early stages of innate immune response in tilapia (*Oreochromis niloticus*) primarily after LPS inoculation. *Aquaculture International*, 25: 755–776.

- RODKHUM, C.; HIRONO, I.; STORK, M.; DI LORENZO, M.; CROSA, J.H.; AOKI, T. 2006 Putative virulence-related genes in *Vibrio anguillarum* identified by random genome sequencing. *Journal of Fish Diseases*, 29: 157-166.
- SAHOO, P.K.; MUKHERJEE, S.C. 2001 Dietary intake of levamisole improves non-specific immunity and disease resistance of healthy and aflatoxin-induced immune compromised rohu, *Labeorohita*. *Journal of Applied Aquaculture*, 11: 15-25.
- SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. 2005 Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 19: 293-306.
- WEXLER, H.; OPPENHEIM, J.D. 1979 Isolation, characterization, and biological properties of an endotoxin-like material from the Gram-positive organism *Listeria monocytogenes*. *Infection and Immunity*, 23: 845-857.