

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

Meta-análise:  $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias (*Oreochromis*  
spp)

Paulo Incane Ito

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação  
em Zootecnia como parte  
dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em  
Zootecnia

BOTUCATU – SP  
DEZEMBRO – 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

Meta-análise:  $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias (*Oreochromis*  
spp.)

PAULO INCANE ITO

ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Margarida Maria Barros

COORIENTADOR: Dr Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

COORIENTADOR: Prof<sup>º</sup>. Gustavo do Valle Polycarpo

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação  
em Zootecnia como parte  
dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em  
Zootecnia

BOTUCATU – SP

DEZEMBRO – 2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Ito, Paulo Incane.

Meta-análise :  $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias (*Oreochromis spp*) / Paulo Incane Ito. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Margarida Maria Barros

Coorientador: Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

Coorientador: Gustavo do Valle Polycarpo

Capes: 50603043

1. Aditivos. 2. Tilápia-do-Nilo. 3. Prebióticos.  
4. Beta-glucanas. 5. Meta-análises.

Palavras-chave: Aditivos; Desafio bacteriano; *Oreochromis*; Prebióticos.

## **BIOGRAFIA**

Paulo Incane Ito, filho de João Yuji Ito e Regina Sampaio Incane, nasceu no município de São Paulo, no dia 29 de fevereiro de 1996.

Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu em março de 2014, concluindo-se em 01 de dezembro de 2019.

Em julho de 2020, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Curso de Mestrado, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Saúde de Peixes, realizando uma meta-análise de  $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias.

Na vida, não vale tanto o que temos nem tanto importa o que somos. Vale o que realizamos com aquilo que possuímos e, acima de tudo, importa o que fazemos de nós.

Chico Xavier

## Dedicatória

Aos meus pais João Yuji Ito e Regina Sampaio Incane,

por todo apoio durante toda minha formação e que me permitiram chegar até aqui!

À meu irmão Alexandre Incane Ito,

por ter sido meu melhor amigo desde o meu nascimento, e que me incentivou nos momentos mais difíceis nessa etapa da vida.

À meu avô Akira Ito (*in memoriam*),

por cultivar todo meu amor por peixes e que hoje resulta nesse trabalho! E que mesmo não estando fisicamente entre nós, esteve sempre ao meu lado, seja em pensamento ou em inspirações.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela dádiva da vida, que me abençoou com a família que tenho e com tantas oportunidades.

À minha família, que me apoiou tanto durante os anos de pós-graduação, onde os desafios foram dobrados devido a pandemia do Covid-19. Obrigado pela chance de crescer e evoluir!

Ao meu irmão, Alexandre Incane Ito, que me incentivou sendo exemplo como pessoa e como profissional, provando sempre do que somos capazes. Obrigado pelas tantas conversas e jogatinas, aguentando sempre minhas oscilações de humor!

Ao meu pequeno irmão João Emanuel, por toda risadinha, abraço apertado e fofura. Você foi minha fonte de esperança nesses dois anos longe de casa.

À minha orientadora, Profa. Dra. Margarida Maria Barros, por toda oportunidade concedida desde a graduação até aqui e também por ser essa mulher inspiradora. Obrigado por todos os puxões de orelha!

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Gustavo do Valle Polycarpo, por toda paciência e auxílio nesse projeto totalmente novo para a equipe AquaNutri.

Ao meu segundo co-orientador, Dr. Pedro Pucci Figueiredo de Carvalho, por toda a ajuda no desenvolvimento dos projetos da pós-graduação, sendo sempre um exemplo em nosso laboratório.

Aos meus colegas e amigos do AquaNutri (Matheus Gardim, William Xavier, Edgar Damasceno e Gabriel Alighieri), por todo o conhecimento, trabalho, risada e lembranças compartilhadas. Todo o resultado só foi possível alcançar graças ao trabalho em equipe!

Aos laços de amizades que Botucatu permitiu aprofundar nesse período (Roberto Biffi, Enzo Takashi, Rebeca Mayara, Gabriela Vieira, Julia Franco e Jaine Scheffer), por tantas noites rindo, chorando ou filosofando sobre tudo possível. A alegria é muito maior quando compartilhada e graças a vocês meus dias aqui foram mais leves e melhores!

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- UNESP, Botucatu e o Programa de Pós-graduação em Zootecnia, por toda a estrutura que tornou minha formação possível.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq (Processo: 1300095/2021-4) pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## Sumário

RESUMO .....	12
CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	13
Capítulo I .....	14
1.1 O sistema imunológico dos peixes .....	15
1.2 Sistema antioxidante em peixes.....	21
2. Prebióticos.....	23
3. $\beta$ -glucanos .....	26
4. O uso de $\beta$ -glucanos na tilapicultura .....	28
5. Referências.....	29
Capítulo II .....	36
ABSTRACT.....	37
RESUMO .....	38
1. Introdução .....	39
2. Material e métodos .....	42
2.1 Busca de dados na literatura.....	42
2.2 Sistematização das informações .....	42
2.3 Análise de dados.....	44
3. Resultados .....	45
3.1 Ganho de peso .....	45
3.2 Sobrevivência pós desafio bacteriano .....	45

3.3 Parâmetros hematológicos antes e após desafio .....	46
4. Discussão .....	47
5. Agradecimentos.....	57
6. Referências .....	57
Capítulo III.....	68
Implicações .....	69

## FIGURAS

### Capítulo I

Figura 1. Conceito do sistema imune dos peixes, adaptado de Biller-Takahashi e Urbinati (2014).....	21
Figura 2. Visão geral dos benefícios de prebióticos e monossacarídeos imunoestimulantes, adaptado de Song et al. (2014).....	25

### Capítulo II

Figura 1. Fluxograma das informações em um processo de revisão sistemática de meta-análise (Moher et al., 2009).....	63
Figura 2. Efeito do $\beta$ -glucano no ganho de peso em tilápias em comparação ao tratamento controle .....	64
Figura 3. Efeito do $\beta$ -glucano na sobrevivência em tilápias submetidas a desafio bacteriano.....	64
Figura 4. Parâmetros hematológicos de tilápias que receberam $\beta$ -glucano antes e após desafio.....	65
Figura 5. Parâmetros imunológicos de tilápias que receberam $\beta$ -glucano antes e após desafio.....	66

## TABELAS

**Capítulo II**

Tabela 1. Análise descritiva de genes expressados em tilápias suplementadas com $\beta$ -glucano com ou sem desafio.....	67
--	----

## RESUMO

### **Meta-análise: $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias (*Oreochromis spp.*)**

O objetivo do presente estudo foi desenvolver uma meta-análise sobre os efeitos do uso de  $\beta$ -glucano em tilápias (*Oreochromis spp.*) no desempenho produtivo, perfil hematológico, sistema imune e expressão de genes em tilápias. Para a realização da pesquisa, foi feita a busca de artigos científicos publicados na base de dados Scopus e Web of Science com os termos “tilápia” + “beta glucan” ou sinônimos sem restrição de tempo de publicação, totalizando 31 estudos cujos dados foram sistematizados em planilhas eletrônicas para realização de análises por meio do software SAS OnDemand. Os dados foram divididos entre tratamento controle e grupo suplementado com  $\beta$ -glucano antes e após desafio (bacteriano, químico, físico ou mais de um) para então analisar o ganho de peso, sobrevivência após desafio bacteriano, parâmetros hematológicos, imunológicos e análise descritiva da expressão dos genes HSP70, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CAT e SOD. Foi observado efeito positivo na suplementação de  $\beta$ -glucano em 3,49% no ganho de peso, e nos parâmetros hematológicos e imunológicos analisados, além do aumento de 62,5% na sobrevivência dos animais quando submetidos a desafio bacteriano. Esses resultados reforçam a capacidade imunomoduladora do  $\beta$ -glucano melhorando a saúde e apresentando-se como ferramenta importante na busca por alternativas ao uso de antimicrobianos.

Palavras-chave: Aditivos, desafio bacteriano *Oreochromis*, prebióticos

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O **Capítulo I** aborda a utilização de prebióticos na piscicultura como alternativa ao uso de antimicrobianos, os quais tem seu uso cada vez mais restrito devido ao risco ambiental e sanitário. O crescimento da piscicultura tem levado a novos desafios como manejos intensos, maior exposição a patógenos e águas de pior qualidade. Com isso, prebióticos com capacidade imunomoduladora vem sendo estudado para minimizar os danos causados, possibilitando a redução no uso de fármacos de forma sustentável e rentável. Dentre a classe dos prebióticos, o  $\beta$ -glucano tem sido amplamente estudado na aquicultura, com grande capacidade de modulação tanto do sistema imunológico inato quanto do adaptativo, podendo, ainda, melhorar o desempenho produtivo.

Com base nas informações apresentadas no Capítulo I, o **Capítulo II** busca sumarizar as pesquisas até então realizadas com o  $\beta$ -glucano em tilápias por meio da meta-análise intitulada: “Meta-análise:  $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias (*Oreochromis spp.*)”, o qual foi redigido de acordo com as normas do periódico “**Aquaculture**” (fator de impacto 5,135)

## **Capítulo I**

## 1.1 O sistema imunológico dos peixes

A aquicultura é uma das produções animais com maior desenvolvimento no mundo, apresentando crescimento médio de 6,7% ao ano no período de 1990 a 2020 (FAO, 2022). No Brasil, a produção em 2020 chegou a 559,9 mil toneladas, movimentando quase seis bilhões de reais (IBGE, 2022). Este crescimento tem sido possível devido a constante intensificação na produção, com o emprego de novas tecnologias e maior conhecimento sobre a genética e nutrição. No entanto, este desenvolvimento tem gerado novos desafios, sendo a questão sanitária e ambiental de maior destaque. Neste cenário, a compreensão da imunologia dos peixes favorece o uso desta ferramenta como estratégica para a mitigação de prejuízos e para a promoção da produção sustentável.

Na árvore evolutiva, os peixes foram os primeiros animais a desenvolverem a imunidade adaptativa sendo que, em espécies primitivas como os peixes não mandibulados (ex. Lampreias), ainda é encontrado somente a imunidade inata. Com isso, os peixes ósseos, grupo ao qual a tilápia (*Oreochromis spp.*) pertence, contam com sistema imunológico completo, ainda que menos desenvolvido quando comparado aos mamíferos, com lenta proliferação de linfócitos e limitação na disponibilidade de anticorpos (Magnadottir, 1998; Tizard, 2014). A boa manutenção do sistema imune é fundamental para a saúde do animal e, conseqüentemente, para sua produção, visto que os animais muitas vezes são criados em ambientes com pouco ou nenhum controle de temperatura e oxigenação, sendo expostos constantemente a estes desafios, bem como poluição, estresse e infecções (Pogue et al., 2021).

A origem das células do sistema imune em peixes ósseos se dá, de maneira geral, a partir dos tecidos linfoides, rim, timo e baço (Biller-Takahashi e Urbinati, 2014). O rim

nos peixes pode ser dividido em porções anterior e posterior, sendo que ambas participam da hematopoiese, desempenhando função semelhante a medula em mamíferos. No entanto, a porção anterior tem maior importância na produção das células de defesa, participando na diferenciação e maturação dos leucócitos incluindo os granulócitos, monócitos e linfócitos B (Torroba e Zapata, 2003). Já, o timo desempenha função semelhante ao órgão dos mamíferos, sendo responsável pela produção e maturação dos linfócitos T (Bowden et al., 2005). Por fim, o baço desempenha papel fundamental no desenvolvimento da imunidade adaptativa, sendo capaz de armazenar antígenos (Solem e Stenvik, 2006).

Nos peixes, as escamas, pele e brânquias atuam como a primeira linha de defesa física por meio da secreção de muco, em associação ao sistema imune inato, que atua na constituição de muco e tecido epitelial e ambos desempenham papel essencial na manutenção da saúde e no equilíbrio osmótico do animal, conhecido como homeostase, visto que tais órgãos estão constantemente expostos a ambientes repletos de microrganismos, possíveis patógenos do ambiente aquático (Salinas et al., 2011; Firdaus-Nawi e Saad, 2016). Caso ocorra a entrada do patógeno no organismo do animal, será iniciado a resposta imune inata. Caracterizada pela ação rápida, atuando já nos primeiros minutos de contato, envolve grandes números de células de defesa para evitar a infecção no animal devido sua baixa especificidade contra os patógenos.

A resposta imune inata tem maior importância na manutenção da saúde dos peixes. Ela é subdividida em resposta celular e humoral, que funcionam como defesa primária garantindo a rápida proteção, até que ocorra a resposta adaptativa (Alberts et al., 2012). Como principal responsável pelo desencadeamento da resposta inata, estão os receptores de reconhecimento de padrões, como os receptores Toll-like (TLRs), proteínas transmembranas capazes de reconhecer patógenos por meio dos padrões moleculares

associados a agentes patogênicos (PAMPs), desencadeando a imunidade inata (Akira et al., 2006).

A resposta inata celular conta com diversos tipos de leucócitos, como os macrófagos e granulócitos, ativando processos inflamatórios ou fagocíticos e auxiliando o desencadeamento da resposta adaptativa. Os macrófagos são as principais células fagocitárias atuantes na resposta inata. Além da capacidade de ingerir corpos estranhos e restos celulares, são capazes também de liberar citocinas e radicais livre de oxigênio e nitrogênio que auxiliam no processo de eliminação dos patógenos (Secombes, 1990). Desempenha também papel importante no sistema adaptativo por meio da presença de receptores para anticorpos e complemento em sua superfície exercendo, ainda, função de apresentador de antígeno aos linfócitos T auxiliares por meio da expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal classe II (Secombes e Fletcher, 1992).

Já os granulócitos tem como característica grânulos que se diferenciam em seu citoplasma e originam três tipos de células. Os neutrófilos são as primeiras células envolvidas nos estágios iniciais de inflamação e mais abundantes nos peixes. São atraídos até o tecido lesado para fagocitar bactérias, desempenhando ainda atividade microbicida ao realizar a conversão de oxigênio molecular em compostos e metabólitos derivados do oxigênio, processo chamado de “explosão respiratória” (Plyzycz et al., 1989). A segunda célula, os eosinófilos, são promotores de resposta inflamatória alérgica e também antiparasitária, e por fim, raramente encontrado e geralmente associados a infecções parasitárias e inflamatórias, os basófilos que tem sua exata função pouco conhecida nos peixes, sendo raramente encontrado em peixes (Secombes, 1996; Biller-Takahashi e Urbinati, 2014; Firdaus-Nawi e Saad, 2016).

Por fim, as células citotóxicas não específicas denominadas “Natural Killer” têm função de lisar células tumorais ou infectadas por vírus agindo ainda em alguns protozoários (Whyte, 2007; Firdaus-Nawi e Saad, 2016). Sua ativação ocorre por meio de receptores de superfície, não havendo reconhecimento de antígenos e nem capacidade de gerar memória imunológica, características estas da resposta imune adaptativa, e por isso se diferencia das células citotóxicas atuantes na resposta adaptativa (Greenlee et al., 1991). Estudos demonstraram maior importância desse mecanismo de defesa na resposta imune quando os animais são submetidos a temperaturas abaixo do conforto térmico, sobretudo quando a resposta imune específica é fraca (LeMorvan-Rocher et al., 1995).

A resposta inata humoral é mediada por grupo de substâncias não específicas, predominantemente proteínas e glicoproteínas, que inibem o crescimento dos patógenos. Desempenham papel fundamental na defesa e manutenção da homeostase de peixes, sendo presente no muco, soro e ovos (Shoemaker et al., 2001; Saurabh e Sahoo, 2008). A lisozima é a enzima liberada principalmente por leucócitos e tem como característica a ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, promovendo a hidrólise da parede celular peptidoglicana (Uribe et al., 2011). Sua função nos peixes tem maior abrangência quando comparado em mamíferos e, por isso, é frequentemente utilizada como biomarcador de funções imunes não específicas (Firdaus-Nawi e Saad, 2016).

Outro componente essencial para a resposta imunológica em peixes é o sistema complemento, que conta com combinações de mais de 35 proteínas solúveis que auxiliam na resposta imune inata e auxiliam no desencadeamento da resposta adaptativa (Gasque, 2004; Nakao et al., 2011). Sua ativação acontece por meio de três vias: via clássica, mais importante para mamíferos quando comparado a peixes, e que ocorre por meio da ligação do anticorpo com um antígeno; via da lectina, na qual moléculas de lectina se ligam a carboidratos da membrana dos patógenos levando a aglutinação e, por fim, a via

alternativa considerada a mais importante para os peixes desencadeada pelo reconhecimento de PAMPs dos microrganismos ou complexos antígeno-anticorpo (Uribe et al., 2011; Biller-Takahashi e Urbinati, 2014; Firdaus-Nawi e Saad, 2016).

O sistema inato humoral ainda conta com outros mecanismos inibidores microbianos, como as transferrinas, que se ligam as moléculas de ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) as indisponibilizando no ambiente e, assim, impedindo a sobrevivência e multiplicação do patógeno (Chen et al., 2009; Jurecka et al., 2009). Há também inibidores de protease, responsáveis por reações agudas e pela inativação de enzimas proteolíticas necessárias para o crescimento de microrganismos patogênicos. Células do sistema imune inato também produzem peptídeos antimicrobianos que têm a capacidade de romper as paredes celulares, sendo efetivos na defesa contra vírus e bactérias (Ellis, 2001, Magnadottir, 2010).

Como última linha de defesa, mais tardia e desencadeada pela resposta inata por meio da apresentação de antígenos, a imunidade adaptativa tem como característica a ação altamente específica e adaptável capaz de criar memória imune a longo prazo (Rubio-Godog, 2010). Sua ação é mediada por dois componentes principais: os linfócitos, responsáveis pela imunidade mediada por células e os anticorpos, responsáveis pela resposta humoral (Uribe et al., 2011). Sua capacidade pode variar de acordo com a espécie e condições externas do ambiente, interferindo na sua eficácia (Lukjanenko, 1971).

Como constituintes da imunidade adaptativa mediada por células, o organismo dispõe de linfócitos T e B, que se diferenciam na sua origem e atuação. Os linfócitos T têm capacidade de reconhecer fragmentos de antígenos fagocitados por macrófagos, que após exposição e ligação, estimulam sua proliferação, auxiliando a erradicação dos organismos dentro de células infectados por meio dos linfócitos T citotóxicos e, também,

estimulando a ativação dos linfócitos B, fagócitos e outros leucócitos por meio dos linfócitos T auxiliares. Os linfócitos B podem se diferenciar em plasmócitos após sua ativação gerada pelo reconhecimento do antígeno em seus receptores específicos, sendo responsáveis pela produção e secreção de anticorpos específicos contra o patógeno. Os linfócitos B ainda são responsáveis pela formação dos linfócitos B de memória, células de vida longa capaz de gerar memória imunológica com rápida ativação em caso de contato posterior com o mesmo antígeno. (Secombes, 1996).

A resposta específica humoral é constituída principalmente por imunoglobulinas produzidas pelos plasmócitos que exercem duas funções. A primeira, as imunoglobulinas atuam como receptoras de antígeno associadas à membrana dos linfócitos B, exercendo função de reconhecimento do patógeno. A segunda, quando secretadas no sangue e fluídos, as imunoglobulinas são capazes de neutralizar toxinas bacterianas e de se ligar aos patógenos, resultando na opsonização das células invasoras (Magnadottir et al., 2005; Firdaus-Nawi e Saad, 2016). Diferentemente dos mamíferos, os peixes apresentam menor disponibilidade de tipos de imunoglobulinas, havendo diferenças entre espécies, podendo ser elas IgM, IgZ e IgT (Danilova et al. 2005; Hansen et al. 2005; Biller-Takahashi e Urbinati, 2014). Dentre as imunoglobulinas produzidas, a IgM tem maior importância na prevenção e combate a doenças em peixes, sendo parâmetro de destaque em estudos (Magnadottir, 1998)

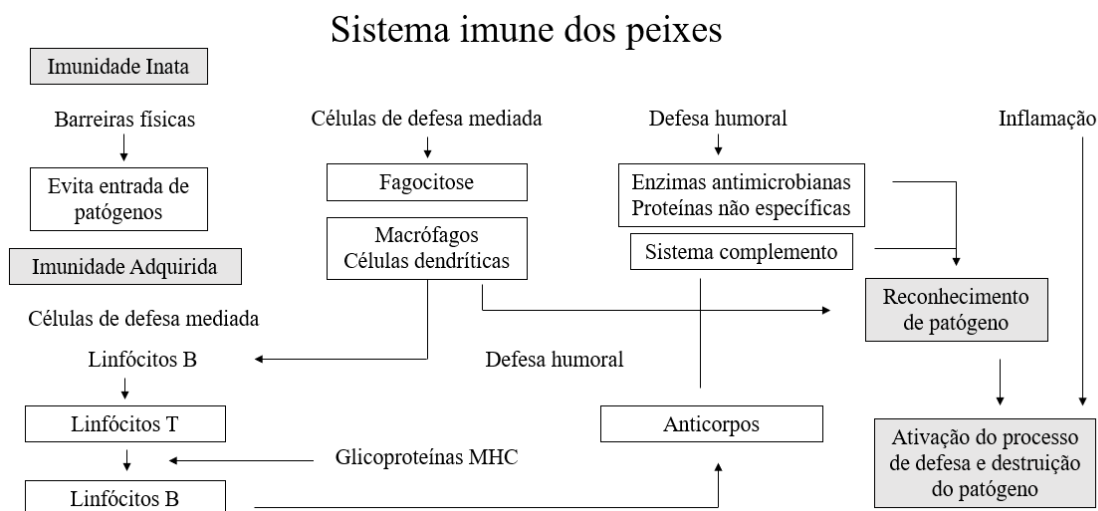


Fig.1 Conceito do sistema imune dos peixes, adaptado de Biller-Takahashi e Urbinati (2014).

A intensidade da resposta imune dos peixes é afetada por diversos fatores, sendo os principais: genética, nutrição, ambiente, estresse e patógeno (Shoemaker et al., 2001). Os animais podem ter sua capacidade de resposta imune modulada. Esta resposta pode ser suprimida em condições adversas, sendo o estresse gerado pela variação de temperatura ou manejos, uma das principais causas de imunossupressão, levando a predisposição de doenças e causando prejuízos a produção (Bly et al., 1997). Entretanto, a resposta imune pode ser melhorada por meio de estratégias nutricionais, sendo que diversos aditivos podem ser responsáveis por esta ação, dentre estes prebióticos como o  $\beta$ -glucano (Meena et al., 2012; Vetrivicka et al., 2013).

## 1.2 Sistema antioxidante em peixes

Em condições normais, as reações que dão origem aos radicais livres ocorrem de maneira fisiológica no organismo, como a própria respiração celular mitocondrial. Contudo, deve haver equilíbrio entre a formação das espécies reativas (ER) e as defesas antioxidantes. Quando há desequilíbrio nestas reações em situações patológicas e

estressantes, pode ocorrer a apoptose e morte celular e, assim, prejudicar a saúde dos animais. Nessas condições pode ocorrer o chamado estresse oxidativo (Ahmad, 1995).

O estresse oxidativo é conceituado como o desequilíbrio entre as espécies pró-oxidantes e antioxidantes. As espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido, o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio, em quantidades limitadas são necessárias para a homeostase celular e sinalização redox. No entanto, há momentos em que a produção espécies reativas oxigenadas/nitrogenadas superam os sistemas de defesa do organismo, gerando o estresse oxidativo (Cadenas, 1995). O ataque sustentado de ER endógenas e exógenas resulta em alterações conformacionais e oxidativas em biomoléculas-chave. O estresse oxidativo crônico está associado a modificações oxidativas que ocorrem nas principais biomoléculas: peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas, formação de carbonil (aldeído / cetona), nitração, sulfoxidação, comprometimento do DNA, como quebras de fita ou oxidação de nucleobase (Pisoschi e Pop, 2015). Para combater as consequências geradas pelo estresse oxidativo o animal desenvolveu diversos mecanismos de defesa, sendo substâncias e enzimas antioxidantes consideradas parte do sistema primário.

As linhas de defesa envolvem antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. A defesa enzimática é composta pela superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ); a catalase (CAT), que converte  $H_2O_2$  em oxigênio molecular e água, e a enzima selênio-dependente, glutathione peroxidase (GPx), que catalisa a degradação do  $H_2O_2$  e hidroperóxidos originados de ácidos graxos insaturados mediante glutathione reduzida. Já os antioxidantes não enzimáticos são: ácido úrico, glutathione, transferrina, ceruloplasmina, albumina e, ainda, os antioxidantes nutricionais tais como: ácido ascórbico (vitamina C), alfa-tocoferol (vitamina E), carotenoides, compostos fenólicos, minerais (cobre, zinco,

selênio, manganês), dentre outros (Birnie-Gauvin et al., 2017). Esses antioxidantes agem inibindo, capturando e/ou restaurando os potenciais danos gerados nas reações oxidativas iniciadas por ER, tornando-os indisponíveis para ataques posteriores. Os antioxidantes atuam em diferentes compartimentos celulares e em diferentes espécies reativas, portanto, desempenham suas funções de forma sinérgica na proteção celular (Halliwell e Gutteridge, 2015). Os peixes, apesar de primitivos, apresentam enzimas específicas para a proteção sendo descrita em diversas espécies a presença de catalase, glutathione peroxidase/reductase e superóxido dismutase (Atli et al., 2016).

Manter a homeostase e saúde dos animais é importante visto que a intensificação da produção aquícola submete os peixes a diferentes desafios e, sendo o sanitário o de maior foco de pesquisa. Neste sentido, alimentos alternativos e aditivos alimentares com funções imunomoduladores têm sido avaliados como potenciais alternativas para reduzir o uso inadequado de antimicrobianos, otimizando respostas do sistema imune do animal e ainda promovendo a produção sustentável com menor risco ao consumidor e ao meio ambiente.

## **2. Prebióticos**

O contínuo crescimento da aquicultura tem fomentado discussões acerca da limitação no uso de antimicrobianos, determinando proibições de utilização em alguns países (Chen et al., 2020). O uso indiscriminado de antimicrobianos traz riscos não somente pela seleção e disseminação de cepas bacterianas resistentes zoonóticas, mas também se observa queda acentuada na eficácia dos medicamentos contra bactérias habituais na aquicultura, tais como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.* e *Pseudomonas aeruginosa* (Santos e Ramos, 2016; Wee, 2022). Alternativas para reduzir o uso inadequado de antimicrobianos têm sido avaliadas, como os prebióticos, com baixo

potencial residual e que, quando utilizados estrategicamente, potencializam o desempenho produtivo e estimulam o sistema imune do animal preparando-o contra desafios sanitários sem favorecer a seleção de microrganismos resistentes.

Os prebióticos têm como definição serem componentes estruturais não digestíveis, capazes de modular o crescimento de bactérias benéficas no cólon intestinal promovendo melhora na saúde e desempenho produtivo (Ringø et al., 2010). De modo geral, os prebióticos estão presentes na composição estrutural celular de legumes, fungos e vegetais, que eventualmente são incorporados na formulação de dietas para peixes. Entretanto, podem ser administrados isoladamente ou de forma concentrada (Silva e Nörnberg, 2003).

A classificação desses aditivos é feita de acordo com o tamanho da molécula e grau de polimerização, sendo as principais categorias: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (Ringø et al., 2010). Dentre os prebióticos mais difundidos na aquicultura, estão os mananoligossacarídeos (MOS), frutooligossacarídeos (FOS) e  $\beta$ -glucanos (BG), que comumente são administrados de forma isolada ou em misturas de aditivos, em forma de simbióticos. Os efeitos desta suplementação variam de acordo com a classe do prebiótico, dose, tempo de suplementação e espécie animal. Apesar da ampla utilização nem todos os mecanismos de ação de prebióticos para peixes e outros animais foram elucidados (Mugwanya et al., 2022).

Majoritariamente, os prébióticos atuam como substrato para fermentação no trato gastrintestinal, estimulando o crescimento de bactérias benéficas, aumentando a secreção de enzimas digestivas e podendo também promover mudanças na morfologia do epitélio intestinal, resultando em melhores resultados referentes ao desempenho produtivo (Song et al., 2014). Podem também promover a aglutinação de bactérias gram-negativas

(Mugwanya et al., 2022). Componentes estruturais de alguns prebióticos como o MOS, interagem com lectinas ligadoras de manose da parede celular das bactérias patogênicas, diminuindo sua capacidade de colonização no epitélio intestinal (Spring et al., 2000; Heinrichs et al., 2003). Outros prebióticos possuem capacidade imunomoduladora, capazes de interagir diretamente com receptores de reconhecimento de padrões (PPRs) presentes em macrófagos, ou indiretamente por meio de PAMPs, liberando sinais que estimulam a atividade de células imunes (Yadav, 2006; Bron et al., 2012).

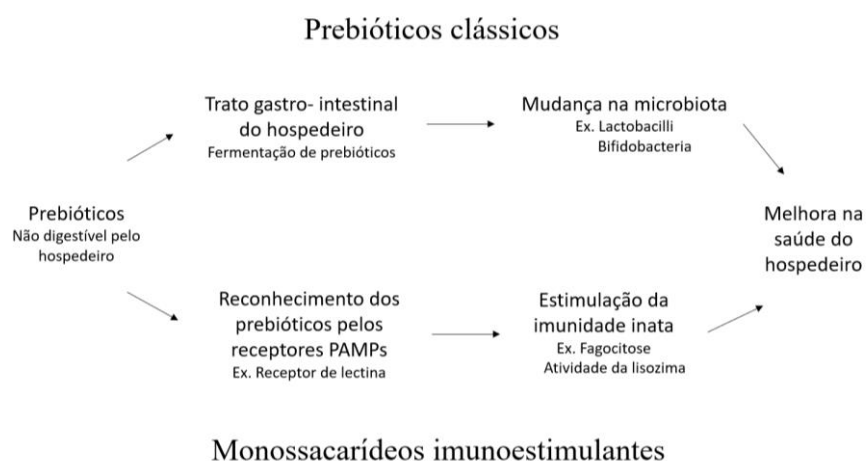


Figura 2. Visão geral dos benefícios de prebióticos e monossacarídeos imunoestimulantes, adaptado de Song et al. (2014).

Em tilápias, efeitos positivos no desempenho produtivo com a suplementação de MOS foram constatados por Azevedo et al. (2015). Os autores observaram que os peixes alimentados com rações suplementadas com  $0,2\text{g kg}^{-1}$  de MOS, extraído a partir da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, demonstraram maior ganho de peso, melhor conversão alimentar e viabilidade econômica quando comparado a dieta controle. Em outro estudo, Kishawy et al. (2020) constataram que a suplementação de MOS em sistema de bioflocos na concentração de  $61,96\text{ mg/L}$  resultou na melhora do desempenho

produtivo, e parâmetros imunológicos como IgM e atividade da lisozima sérica, tendo o efeito dessa melhora na saúde do animal comprovada por meio do aumento na sobrevivência após desafio com *A. hydrophila*.

Outro grupo de prebióticos amplamente utilizados na produção de peixes são os  $\beta$ -glucanos. Seu uso isolado ou em forma simbiótica apresenta-se como alternativa ao uso de antimicrobianos, sendo capaz de melhorar a saúde do animal e, conseqüentemente, refletir no aumento da sobrevivência frente a desafios sanitários (Wee et al., 2022).

### **3. $\beta$ -glucanos**

Os  $\beta$ -glucanos são polissacarídeos constituintes da parede celular de plantas, algas, bactérias e fungos, como por exemplo, cogumelos e leveduras. Sua estrutura é composta por um monômero de  $\beta$ -D-glicose ligados por glicosídeos no sítio 1,3 ou 1,4 que exercem função de suporte estrutural. Além disso, podem ser encontradas ramificações nos sítios 1,4 e 1,6 acarretando variações de comprimento e peso molecular (Pogue et al., 2021).

A compreensão dos diferentes tipos de  $\beta$ -glucanos torna-se fundamental para desenvolver estratégias de uso dessas moléculas como imunoestimulantes, visto que suas características estruturais influenciam na dificuldade de extração e atividade biológica (Meena, 2013). Estudos indicam que  $\beta$ -glucanos de maior peso molecular potencialmente apresentam melhor atividade biológica, sendo capaz de promover maior ativação fagocítica, citotóxica e antimicrobiana, além de estimular a produção de ERs. Por outro lado,  $\beta$ -glucanos de baixo peso molecular e de cadeias curtas, como os presentes na cevada, são considerados de baixa ou nenhuma atividade biológica, respectivamente (Akramiene et al., 2007). Diferentes fontes de obtenção resultam tipos distintos de  $\beta$ -glucanos o que influencia consideravelmente sua atividade biológica. Assim, estudos

atuais têm utilizado majoritariamente  $\beta$ -glucanos obtidos a partir da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, fonte de  $\beta$ -glucanos 1,3 e/ou 1,6, visto que estes apresentam melhores respostas imunomoduladora para diversas espécies animais (Meena, 2013).

Em vertebrados, a interação dos  $\beta$ -glucanos ocorre a partir de receptores específicos da superfície celular presentes tanto em células imunes, como macrófagos e neutrófilos, como em células não imunes, como fibroblastos e epitélio alveolar (Brown e Gordon, 2003; Brown e Gordon, 2005). Devido à capacidade de se ligar diretamente a diversas células de defesa, seu efeito desencadeia eventos, tanto na resposta imune inata quanto adaptativa e, por isso, é considerado modulador de respostas biológicas (Magnani e Castro-Gomez, 2008).

O aumento da atividade fagocítica e produção de lisozima são os principais efeitos promovidos pela suplementação de  $\beta$ -glucanos. Adicionalmente, a administração destes aditivos aumenta a síntese de citocinas associadas a processos pro-inflamatórios como por exemplo as interleucinas IL-1 e IL-6, e outras envolvidas na hematopoiese como a GM-CSF (Fator estimulador de colônias granulócitos e macrófagos). Assim, respostas de células brancas (linfócitos T e B) no sangue são otimizadas, resultando em maior produção de anticorpos. Dessa forma, o uso de  $\beta$ -glucanos pode ser associado a estratégias de vacinação para potencializar o desenvolvimento da memória imune do animal (Raa, 2000; Meena, 2013).

A suplementação de  $\beta$ -glucanos também é capaz de estimular células do intestino do animal e, ainda, interagir com a microbiota promovendo melhor desempenho produtivo e diminuição da mortalidade frente a desafios bacterianos, virais e toxicológicos (Carballo et al., 2020; Mokhbatly et al., 2020). Por fim, os  $\beta$ -glucanos também reduzem o estresse oxidativo aumentando a expressão das enzimas antioxidantes

como por exemplo: superóxido dismutase, catalase, glutathione S-transferase e glutathione peroxidase (Pogue et al., 2021), responsáveis por combater o estresse oxidativo.

#### **4. O uso de $\beta$ -glucanos na tilapicultura**

Atualmente os  $\beta$ -glucanos são os imunomoduladores mais utilizados na indústria da aquicultura, com resultados positivos em quase todas as espécies de interesse comercial (Meena, 2013). Com isso, o mercado conta com produtos comerciais que, em sua grande maioria, são extratos isolados de *Saccharomyces cerevisiae*.

Apesar do método de administração mais utilizado ser a suplementação do produto na dieta, os  $\beta$ -glucanos também podem ser injetados ou diluídos em água para banho de submersão (Sado et al., 2016). Quanto ao tempo de administração, estudos demonstraram imunossupressão do sistema imune quando utilizado o produto por períodos além de 30 dias em algumas espécies de peixes (Kumari e Sahoo, 2006; Yamamoto et al., 2018). No entanto, para tilápias, esse efeito negativo não foi observado, podendo então ser administrado com resultados satisfatórios durante períodos de 15 a 45 dias (Koch et al., 2021).

Como observado em diferentes espécies de interesse comercial, a utilização dos  $\beta$ -glucanos em tilápias resulta na melhora de parâmetros imunológicos como IgM e atividade da lisozima, assim como observado por El-Murr et al. (2019), ao alimentar os peixes com rações suplementadas por 90 dias na concentração de 0,4%. Seu efeito, ainda, pode abranger o desempenho produtivo como descrito por Pilarski et al. (2017), os quais observaram que a suplementação dietética de  $\beta$ -glucano “BG02” a 0,1% promoveu melhor ganho de peso, peso final, conversão alimentar e taxa de crescimento específico.

Sua ação no sistema imune inato abrange diversos parâmetros como o aumento na atividade da lisozima, óxido nítrico e explosão respiratória (Neamat- Allah et al., 2020; Koch et al., 2021). A suplementação também é capaz de promover melhoras no sistema antioxidante, como o aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (Dawood et al., 2020a) e, ainda, na expressão gênica de citocinas atuantes em respostas imunes como a IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-8 (Abdelhamid et al., 2020; Dawood et al., 2020b; Reis et al., 2021).

Na prática, a modulação positiva dos parâmetros imunológicos resulta em animais mais resistentes a desafios, com aumento na taxa de sobrevivência. De fato, Koch et al. (2021) verificaram melhora de até 66% na sobrevivência de tilápias-do-Nilo arraçadas com dietas suplementadas com  $\beta$ -glucano e desafiadas com *Streptococcus agalactiae* e *Aeromonas sobria*. Efeitos positivos de  $\beta$ -glucanos também são observados frente a desafios químicos. El Murr et al. (2019) verificaram que peixes arraçados com dietas contendo 0,4% de  $\beta$ G (Best Choice Pharma<sup>®</sup>) não apresentaram alterações negativas em parâmetros imunológicos quando expostos a doses tóxicas de fipronil. Assim, evidencia-se a importância dos  $\beta$ -glucanos como potencial alternativa ao uso indiscriminado de antimicrobianos, promovendo impactos positivos na sobrevivência dos animais acometidos por patógenos tornando a produção de tilápias mais sustentável e viável economicamente.

## 5. Referências

- Abdelhamid, F. M., Elshopakey, G. E., Aziza, A. E., 2020. Ameliorative effects of dietary *Chlorella vulgaris* and  $\beta$ -glucan against diazinon-induced toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. v. 96, p.213-222. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.009>
- Ahmad, S., 1995. *Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology*. Chapman & Hall, New York.

- Akramiene, D., Kondrotas, A., Didziapetriene, J., Kevelaitis, E., 2007. Effects of  $\beta$ -glucans on the immune system. *Medicina*. v.43, n.8, p.597–606. <https://doi.org/10.4110/in.2011.11.4.191>
- Akira, S., Uematsu, S., Takeuchi, O., 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, v.124(4), p.783–801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>.
- Alberts, B., Johnson, A., Walter, P., Raff, M., Roberts, K., Lewis, J., 2012. *Molecular biology of the cell*. Taylor & Francis.
- Atli, G., Canli, E. G., Eroglu, A., Canli, M., 2016. Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 126, p. 30–37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.012>.
- Azevedo, R.V., Filho, J. C. F., Cardoso, L. D., Mattos, D. C., Júnior, M. V. V., Andrade, D. R., 2015. Economic evaluation of prebiotics, probiotics and symbiotics in juvenile Nile tilapia. *Revista Ciência Agronômica*, v. 46, n. 1, p. 72-79. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902015000100009>
- Biller-Takahashi, J., D., Uurbinati, E., C., 2014. Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 86, n. 3, p. 1484-1506.
- Birnie-Gauvin, K., Constantini, D., Cooke, S. J., Willmore, W. G., 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. *Fish and Fisheries*, v. 18, n. 5, p. 928–942. <https://doi.org/10.1111/faf.12215>
- Bly J. E., Quiniou S. M, Clem L. W., 1997. Environmental effects on fish immune mechanisms. *Developments in Biological Standardization*, 90, p.33-43.
- Bowden, T. J., Cook, P., Rombout, J.H., 2005. Development and function of the thymus in teleosts. *Fish Shellfish Immunol* v.19, p.413-427. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.02.003>.
- Bron, P. A., Van Baarlen, P., Kleerebezem, M., 2012. Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa. *Nat Rev Microbiol*, v.10, p.66-78. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2690>
- Brown, G. D., Gordon, S., 2003. Fungal  $\beta$ -glucans and mammalian immunity. *Immunity*, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 311-315. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00233-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00233-4)
- Brown, G. D., Gordon, S., 2005. Immune recognition of fungal. *Cellular Microbiology*, Oxford, v. 7, n. 4, p. 471-479. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00505.x>
- Cadenas, E., 1995. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad, S. (ed.), *Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology*. Chapman & Hall, New York, p. 1–46.
- Carballo, C., Mateus, A. P., Maya, C., Mantecón, L., Power, D. M., Manchado, M., 2020. The protective role of spirulina and  $\beta$ -glucan in African catfish (*Clarias gariepinus*) against chronic toxicity of chlorpyrifos: hemato-biochemistry, histopathology, and oxidative stress traits. *Fish and Shellfish Immunology*. v.106, p.263-272. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09333-8>

- Chen, J., Wang, J., Meyers, K. R., Enns, C. A., 2009. Transferrin-directed internalization and cycling of transferrin receptor 2. *Traffic*, 10(10), 1488–1501. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00961.x>
- Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., Li, Q. X., 2020. Antibiotics and food safety in aquaculture. *J. Agric. Food Chem.* 68, 11908–11919. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03996>
- Danilova N, Bussmann J, Jekosch K, Steiner, L. A., 2005. The immunoglobulin heavy-chain locus in zebrafish: identification and expression of a previously unknown isotype, immunoglobulin. *Nature Immunology* 6: 295-302. <https://doi.org/10.1038/ni1166>
- Dawood(a), M. A. O., Moustafa, E. M., Elbially, Z. I., Farrag, F., Lolo, E. E., Abdel-Daim, H. A., Abdel-Daim, M. M., Van Doan, H., 2020. Lactobacillus plantarum L-137 and/or  $\beta$ -glucan impacted the histopathological, antioxidant, immune-related genes and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *Research in Veterinary Science.* v. 130, p.212-221. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.03.019>
- Dawood(b), M. A. O., Abdo, S. E., Gewaily, M. S., MoustafaA, E. M., Saadallah, M. S., Abdel-Kader, M. F., Hamouda, A. H., Omar, A. A., Alwakeel, R. A., 2020. The influence of dietary  $\beta$ -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology.* v. 98, p.301-311. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.035>
- Ellis, A. E., 2001. Innate host defense mechanism of fish against viruses and bacteria. *Developmental and Comparative Immunology* v.25, p.827–839. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00038-6)
- El-Murr, A. I., Hakim, Y. A. E., Neamat-Allah, A. N. F., Baeshen, M., Ali, H. A. 2019. Immune-protective, antioxidant and relative genes expression impacts of  $\beta$ -glucan against fipronil toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology.* v.94, p.427-433. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.033>
- FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Firdaus-Nawi M., Saad, M. Z., 2016. Major Components of fish immunity: A review. *Tropical Agricultural Science.* v. 39, n. 4, p. 393-420.
- Gasque, P. H., 2004. Complement: A unique innate immune sensor for danger signals. *Molecular Immunology,* v.41, n.11, p.1089–1098, <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.06.011>
- Greenlee, A.R., Brown, R.A., Ristow, S.S., 1991. Nonspecific cytotoxic cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kill YAC-1 targets by both necrotic and apoptic mechanisms. *Dev. Comp. Immunol.*, v.15, p.153-164. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(91\)90006-K](https://doi.org/10.1016/0145-305X(91)90006-K)
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5nd ed. Oxford University Press, New York, NY, 823p.
- Hansen J. D., Landis, E. D., Phillips, R. B., 2005. Discovery of a unique Ig heavy-chain isotype (IgT) in rainbow trout: implications for a distinctive B cell developmental

pathway in teleost fish. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.102, p.6919-6924. <https://doi.org/10.1073/pnas.050002710>

Heinrichs, A. J., Jones, C. M., Heinrichs, B. S., 2003. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *J. Dairy Science* v.86, n.12, p.4064–4069. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74018-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74018-1)

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produtos de origem animal, por tipo de produto. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>. Acesso em: 18 de maio, 2022.

Kishawy, A. T. Y., Sewid, A.H., Nada, H. S., Kamel, M. A., El-Mandrawy, S. A. M., Abdelhakim, T. M. N., El-Murr, A. E. I., El Nahhas, N., Hozzein, W. N., Ibrahim, D., 2020. Mannan oligosaccharides as a carbon source in biofloc boost dietary plant protein and water quality, growth, immunity and *Aeromonas hydrophila* resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals* v.10, n.10, p.1–24. <https://doi.org/10.3390/ani10101724>

Koch, J. F. A., Oliveira, C. A. F., Zanuzzo, F. S., 2021. Dietary  $\beta$ -glucan (MacroGard®) improves innate immune responses and disease resistance in Nile tilapia regardless of the administration period. *Fish and Shellfish Immunology*. v.112, p.56-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.02.014>

Kumari, J., Sahoo, P. K. 2006. Dietary beta-1, 3 glucan potentiates innate immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). *Journal of Fish diseases*. v. 29, n.2, p.95-101. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00691.x>

LeMorvan-Rocher, C., Troutaud, D., Deschaux, P., 1995. Effect of temperature on carp leukocyte mitogen-induced proliferation and nonspecific cytotoxic activity. *Dev. Comp. Immunol.*, v.19, p.87-95. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(94\)00057-M](https://doi.org/10.1016/0145-305X(94)00057-M)

Lukjanenko, V. I., 1971. *Immunobiology of fish*. Moscow: Pishchevaya Promyshlennost. p.364.

Magnadottir, B., 1998. Comparison of immunoglobulin (IgM) from four fish species. *Icelandic Agricultural Sciences*, v.12, p.47–59.

Magnadottir, B., Lange, S., Gudmundsdottir, S., Bogwald, J., Dalmo, R. A., 2005. Ontogeny of humoral immune parameters in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, v.19, n.5, p.429–439. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.010>

Magnadottir, B., 2010. Immunological control of fish diseases. *Journal of Marine Biotechnology* 12, 361–37, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9279-x>

Magnani, M., Castro-Goméz, R. J. H., 2008.  $\beta$ -glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção. *Semina: Ciências Agrárias*. v.29, n.3, p.631-650.

Meena, D. K., Das, P., Kumar, S., Mandal, S. C., Prusty, A. K., Singh, S. K., Aaktar, M. S., Behera, B. K., Kumar, K., Pal, A. K., Mukherjee, S. C., 2013. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.39, n.3, p.431-57. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9710-5>

Mokhbatly, A. A., Assar, D. H., Ghazy, E. W., Elbially, Z., Rizk, S. A., Omar, A. A., Gaafar, A. Y., Dawood, M. A. O., 2020. The protective role of spirulina and  $\beta$ -glucan in African catfish (*Clarias gariepinus*) against chronic toxicity of chlorpyrifos: hemato-

- biochemistry, histopathology, and oxidative stress traits. *Environmental Science and Pollution Research*. v.27, p.31636-31651. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09333-8>
- Mugwanya, M., Dawood, M. A. O., Kimera, F., Sewilam, H., 2022. Updating the Role of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics for Tilapia Aquaculture as Leading Candidates for Food Sustainability: A Review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v.14, p.130-157. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09852-x>
- Nakao, M., Tsujikura, M., Ichiki, S., Vo, T. K., Somamoto, T., 2011. The complement system in teleost fish: Progress of post-homolog-hunting researches. *Developmental & Comparative Immunology*, v.35, n.12, p.1296–1308. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.03.003>
- Neamat-Allah, A. N. F., Hakim, Y. A. E., Mahmoud, E. A., 2020. Alleviating effects of  $\beta$ -glucan in *Oreochromis niloticus* on growth performance, immune reactions, antioxidant, transcriptomics disorders and resistance to *Aeromonas sobria* caused by atrazine. *Aquaculture Research*. v. 00, p.1-12. <https://doi.org/10.1111/are.14529>
- Pilarski, F., Oliveira, C. A. F., Souza, F. P. B. D., Zanuzzo, F. S., 2017. Different  $\beta$ -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*. v. 70, p.25-29. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.059>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 97, p. 55–74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Plyzycz, B.; Flory, C.M., Galvan, I., Bayne, C.J., 1989. Leucocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pronephros: cell types producing superoxide anion. *Dev. Comp. Immunol.*, v.13, p.217-224. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(89\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0145-305X(89)90002-5)
- Pogue, R., Murphy, E. J., Fehrenbach, G. W., Rezoagli, E., Rowan, N. J. 2021. Exploiting immunomodulatory properties of  $\beta$ -glucans derived from natural products for improving health and sustainability in aquaculture-farmed organisms: Concise review of existing knowledge, innovation and future opportunities. *Environmental Science & Health*. v. 21, n. 100248. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100248>
- Raa, J., 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: Cruz-Suarez LE, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Olvera-Novoa MA, Civera-Cerecedo R (eds) *Advance en Nutricion Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrcion Acouicola*, vol Memorias. Merida, Yucatan, p. 47–56.
- Reis, I. C., Fierro-Castro, C., Gonçalves, G. S., Moroizato, B. S., Tort, L., Biller, J. D., 2021.  $\beta$ -glucan mimics tissue damage signaling and generates a trade-off between head kidney and spleen to activate acquired immunity in vaccinated tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. v.117, p.179-187. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.08.003>
- Ringø, E., Olsen, R. E., Gifstad, T. O., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G.-I., Bakke, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*. v.16, p. 117-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>
- Rubio-Godog, M., 2010. Teleost fish immunology: Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. v.1, n.1, p. 47 –57.

- Sado, R. Y., Gimbo, R. Y., Salles, F. B., 2016. Routes of  $\beta$ -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. *Archivos de Zootecnia*, v. 65, n. 252, p. 519-524.
- Salinas, I., Zhang, Y. A., Sunyer, J. O., 2011. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish. *Developmental and Comparative Immunology*, v.35, n.12, p.1346–1365. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.11.009>
- Santos, L., Ramos, F., 2016. Analytical strategies for the detection and quantification of antibiotic residues in aquaculture fishes: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 52, p. 16-30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.015>
- Saurabh, S., Sahoo, T. K., 2008. Lysozyme: An important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, v.39, n.3, p.223–239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x>
- Secombes, C. J., 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. *Techniques in Fish Immunology*, v.1, p.134–154.
- Secombes, C. J., 1996. The nonspecific immune system: Cellular defenses. In the fish immune system: Organism, pathogen and environment. (G. Iwama & T. Nakanishi Eds.). San Diego: Academic Press.
- Secombes, C.J., Flecher, T.C. 1992. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. *Annu. Rev. Fish Dis.*, v.2, p.53-71. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90056-4](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90056-4)
- Silva, L. P., Nörnberg, J. L., 2003. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. *Cienc. Rural*, v.33, n.5. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000500029>
- Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., Lim, C., 2001. Immunity and Disease Resistance in Fish. In: LIM, C., WEBSTER, C.D. *Nutrition and Fish Health*. New York: Food Products Press, p.149-162.
- Solem, S. T., Stenvik, J., 2006. Antibody repertoire development in teleosts—a review with emphasis on salmonids and *Gadus morhua* L. *Dev Comp Immunol* v.30, p.57-76. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.06.007>
- Song, K. S., Beck, B. R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H. D., Ringo, E., 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. *Fish and Shellfish Immunology*, v.40, p.40-48. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.06.016>
- Spring, P, Wenk, C, Dawson, K. A., Newman, K. E., 2000. The Effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science* v.79, n.2, p.205–211. <https://doi.org/10.1093/ps/79.2.205>
- Tizard, I. R., 2014. *Imunologia Veterinária*. 9.ed. Elsevier.
- Torroba M., Zapata A. G., 2003. Aging of the vertebrate immune system. *Microsc Res Technol*, v.62, p.477-481. <https://doi.org/10.1002/jemt.10409>
- Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R., Moran, G., 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: A review. *Veterinarni Medicina*, v.56, n.10, p.486–503. <https://doi.org/10.17221/3294-VETMED>

- Vetvicka, V., Vanucci, L., Sima, P., 2013. The Effects of  $\beta$ -Glucan on Fish Immunity. North American Journal of Medical Sciences. v. 5, n. 10, p. 580-588.
- Wee, W., Hamid, N. K. A., Mat, K. Khalif, R. I. A. R., Rusli, N. D., Rahman, M. M., Kabir, M. A., Wei, L. S., 2022. The Effects of mixed prebiotics in aquaculture: A review. Aquaculture and Fisheries. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.02.005>
- Whittington, R., Lim, C., Klesius, P. H., 2005. Effect of dietary  $\beta$ -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. v.248, p.217-225. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.013>
- Whyte, S. K., 2007. The innate immune response of finfish – A review of current knowledge. Fish and Shellfish Immunology, v.23, n.6, p.1127–1151. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.06.005>
- Yadav, M, Schorey. J. S., 2006. The  $\beta$ -glucan receptor dectin-1 functions together with TLR2 to mediate macrophage activation by mycobacteria. Blood ,108: 3168e75. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-024406>
- Yamamoto, F. Y., Sutili, F. J., Hume, M., Gatlin, D. M., 2018. The effect of  $\beta$ -1,3-glucan derived from *Euglena gracilis* (Algamune™) on the innate immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Journal of Fish Diseases. v. 41, p.1579-1588. <https://doi.org/10.1111/jfd.12871>

## Capítulo II

Meta-análise:  $\beta$ -glucanos no desempenho produtivo e saúde de tilápias (*Oreochromis* spp.)

ABSTRACT

The intensification of aquacultural practices has led to a higher risk of pathogen-associated problems and economic losses resulting from disease outbreaks. As an alternative to the commonly used and increasingly prohibited chemotherapeutics, the use of feed additives that boost fish immune response has emerged as a prophylactic tool to minimize the negative effects of infectious diseases and avoid the drawbacks of antimicrobial utilization. As the most prominent immunostimulant in aquaculture,  $\beta$ -glucan can modulate both the innate and adaptive immune systems, presenting positive effects on health and growth of several species of commercial interest, such as tilapias. Therefore, a systematic review and meta-analysis was conducted to evaluate the effects of  $\beta$ -glucan on weight gain, hematological profile, immune response, and the expression of genes associated to the health status of tilapia (*Oreochromis spp.*). To obtain the data, a search was made for papers published in Scopus and Web of Science databases using the terms “tilapia” + “ $\beta$  glucan” or synonyms, with no publication time restriction, totaling 31 studies whose data were systematized in electronic spreadsheets to perform analyzes using SAS OnDemand software. Data were divided into control treatment and supplemented with  $\beta$ -glucan before and after challenge to allow the analyzes of weight gain, survival after bacterial challenge, hematological and immunological parameters, and also the descriptive analysis of HSP70, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CAT and SOD gene expression. A positive effect of  $\beta$ -glucan supplementation was observed on weight gain, as well as on hematological and immunological parameters. Additionally,  $\beta$ -glucan supplementation resulted in an increase of 62.5% on fish survival rate when submitted to

a bacterial challenge. These findings clearly highlight the immunomodulatory capacity of  $\beta$ -glucan and its potential as a nutritional strategy to minimize antimicrobials utilization.

Keywords: bacterial challenge, Feed additives, *Oreochromis*, prebiotics

## RESUMO

A intensificação da aquicultura levou a um maior risco de problemas associados a patógenos e perdas econômicas resultantes de surtos de doenças. Como alternativa aos quimioterápicos comumente usados e cada vez mais proibidos, o uso de aditivos alimentares que aumentam a resposta imune dos peixes surgiu como uma ferramenta profilática para minimizar os efeitos negativos de doenças infecciosas e evitar as desvantagens da utilização de antimicrobianos. Como o imunoestimulante mais proeminente na aquicultura, o  $\beta$ -glucano pode modular tanto o sistema imune inato quanto o adaptativo, apresentando efeitos positivos na saúde e no crescimento de várias espécies de interesse comercial, como as tilápias. Portanto, uma revisão sistemática e meta-análise foi realizada para avaliar os efeitos do  $\beta$ -glucano no ganho de peso, perfil hematológico, resposta imune e expressão de genes associados ao estado de saúde da tilápia (*Oreochromis spp.*). Para obtenção dos dados, foi realizada uma busca de artigos publicados nas bases de dados Scopus e Web of Science utilizando os termos “tilápia” + “ $\beta$  glucan” ou sinônimos, sem restrição de tempo de publicação, totalizando 31 estudos cujos dados foram sistematizados em planilhas eletrônicas para realizar análises usando o software SAS OnDemand. Os dados foram divididos em tratamento controle e suplementados com  $\beta$ -glucano antes e após o desafio para permitir as análises de ganho de peso, sobrevivência após desafio bacteriano, parâmetros hematológicos e

imunológicos, e também a análise descritiva de HSP70, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , Expressão dos genes CAT e SOD. Observou-se efeito positivo da suplementação de  $\beta$ -glucano no ganho de peso, bem como nos parâmetros hematológicos e imunológicos.

Adicionalmente, a suplementação com  $\beta$ -glucano resultou em um aumento de 62,5% na taxa de sobrevivência dos peixes quando submetidos a um desafio bacteriano. Esses achados destacam claramente a capacidade imunomoduladora do  $\beta$ -glucano e seu potencial como estratégia nutricional para minimizar a utilização de antimicrobianos.

Palavras-chave: desafio bacteriano, aditivos alimentares, *Oreochromis*, prebióticos

## 1. Introdução

O pescado é a proteína de origem animal mais consumida no mundo, tendo a produção estimada em 178 milhões de toneladas no ano de 2020. Desta, a aquicultura contribuiu com 87,5 milhões, sendo que a produção vem crescendo em média de 6,7% no período de 1990 a 2020 (FAO 2022). O Brasil figura como o 13º maior produtor mundial, com produção de 559,9 mil toneladas em 2020, sendo tilápia a principal espécie criada, representando 62,9% do total (IBGE 2020).

O aumento na produção se deve a profissionalização e consequente intensificação da piscicultura. Em função a esta intensificação, os peixes são submetidos a altas densidades de estocagem, pior qualidade de água e práticas de manejo intensivas (Mugwanya et al., 2022). O estresse gerado por essas condições pode comprometer a produção, piorando os índices zootécnicos, aumentando mortalidade e susceptibilidade a microrganismos patogênicos oportunistas (Segner et al., 2012; Sneddon et al., 2016).

Atualmente, os antimicrobianos ainda são muito utilizados no tratamento de doenças na piscicultura. Estima-se que até 75% dos antimicrobianos administrados na piscicultura são eliminados para a água (Burrige et al., 2010), sendo que em casos de tanque-rede, a água é utilizada para fins além da aquicultura e compartilhada com humanos. Além do risco de seleção de cepas bacterianas resistentes, os resíduos de antimicrobianos presentes na água podem, ainda, causar alergias e efeitos tóxicos ao ser humano, ainda que em doses permitidas por lei (Limbu et al., 2018; Chen et al., 2020). Com isso, o uso indiscriminado de antimicrobianos na produção animal tem sido altamente criticado e restringido em função da pressão do mercado consumidor, risco ambiental e sanitário visto a notável queda na efetividade dos antimicrobianos contra bactérias comuns na aquicultura (Santos e Ramos, 2016).

Aditivos funcionais têm sido avaliados como alternativas sustentáveis para reduzir o uso de antimicrobianos devido à capacidade de potencializar respostas imunológicas, antioxidantes e aumentar índices produtivos (Citarasu, 2010). Dentre os aditivos de interesse, os prebióticos como mananoligossacarídeos (MOS), frutooligossacarídeos (FOS) e  $\beta$ -glucanos (BG), se destacam por apresentarem capacidade imunomoduladora e, ainda, promover melhora no desempenho produtivo.

Os  $\beta$ -glucanos são polímeros naturais amplamente encontrados na natureza e que constituem paredes celulares de plantas como aveia, cevada, trigo e equináceas, além de fungos como leveduras e cogumelos (Meena et al., 2013). A estrutura dos polímeros varia de acordo com sua fonte, sendo os glucanos com ligações 1,3/1,6 comumente encontrados em leveduras de *Saccharomyces cerevisiae*, com maior capacidade imunomoduladora, sendo amplamente utilizados na suplementação alimentar animal (Magnani e Castro-Gomez, 2008).

Estudos com  $\beta$ -glucanos em tilápias demonstraram o potencial de substituição a terapêutica convencional de antimicrobianos em função da sua capacidade de estimular, tanto o sistema imune inato quanto o adaptativo, desenvolvendo maior resistência a patógenos e auxiliando, ainda, a resposta imune gerada pela vacinação (Vetvicka et al., 2013). Sua interação ocorre por meio de receptores específicos de  $\beta$ -glucanos presentes na superfície celular de células do sistema imune, como neutrófilos e macrófagos, mas também em células como fibroblastos e epitélio alveolar (Brown e Gordon, 2003; Brown e Gordon, 2005). De fato, Dawood et al. (2020b) observaram que a suplementação de BG em tilápias-do-Nilo aumentou a atividade da lisozima e a atividade fagocítica protegendo, ainda, os órgãos dos animais contra a intoxicação de clorpirifós, inseticida organofosforado utilizado para controle de pragas. Em alguns casos, tem sido constatado melhora no desempenho produtivo conforme descrito por Pilarski et al. (2017) e El Murr et al. (2019).

Apesar da ampla utilização e efeitos benéficos, ainda são encontradas divergências nos resultados dos parâmetros imunológicos associados à dose, tempo de administração e origem do BG (Koch et al., 2021). Assim, a presente meta-análise visa sistematizar e relacionar estudos realizados no período de 2005 até 2021 com a suplementação de  $\beta$ -glucanos para tilápias apresentando dados mais sólidos, com discussões sobre dosagem, tempo de administração e resultados esperados, além de apresentar novas hipóteses e sugestões para estudos futuros com o aditivo.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Busca de dados na literatura**

A busca de artigos foi realizada de forma digital no mês de outubro de 2021 por meio dos bases de dados informatizados Scopus e Web of Science. Para isso, combinações de palavras-chave como tilápia ou *Oreochromis* + beta glucan ou  $\beta$ -glucan foram utilizadas para busca em títulos, resumos e palavras-chaves na base de dados sem restringir ano de publicação. No total, foram obtidos 133 artigos pelo método descrito, somando ainda seis publicações adicionais por meio da ferramenta Google Acadêmico. Para o processamento e organização dos artigos obtidos, foram aplicados os critérios propostos por Moher et al. (2009) (Figura 1). Por fim, 31 artigos publicados entre o período de 2005-2021 entraram na base de dados do projeto, os atenderam os seguintes critérios: (1) estudo desenvolvido in vivo com tilápia (*Oreochromis spp.*), (2) apresentar ao menos um tratamento contendo exclusivamente  $\beta$ -glucano na forma extraída bruta ou purificada, independentemente do método de suplementação (excluídos simbióticos e blends comerciais contendo qualquer potencial aditivo), (3) apresentar ao menos uma análise de desempenho produtivo, parâmetro hematológico, imunológicos ou desafio (bacteriano, estresse, químico), (4) apresentar o erro padrão disponível dos dados, com exceção as análises de expressão gênica.

### **2.2 Sistematização das informações**

Após a seleção dos artigos, os dados obtidos nos estudos foram sistematizados em planilhas eletrônicas, tendo uma pasta específica para os dados obtidos após desafio (bacteriano, químico ou físico). Além dos resultados das análises, foram também compilados fatores intrínsecos que poderiam interagir com o efeito do  $\beta$ -glucano, sendo

eles: origem e dose do  $\beta$ -glucano, número de repetições, instalações utilizadas, tipo de dieta (extrudada, peletizada), modo de administração do aditivo, país de origem, medidas de dispersão e linhagem de tilápia.

Também foram coletadas informações pertinentes a meta-análise como dose, origem do  $\beta$ -glucano, tempo de administração, tipo de desafio realizado, além dos resultados das análises. Os valores obtidos das análises foram padronizados na mesma unidade de medida, sendo necessário invalidar quando não fosse possível, como por exemplo resultados expressos em densidade ótica.

### **2.3 Descrição da base de dados**

A base de dados foi organizada em planilha de 113 linhas e 216 colunas com 31 artigos publicados entre 2005 a maio de 2021 (moda = 2020). Os experimentos incluídos na base de dados totalizaram 11533 peixes, com média de 445 peixes por experimento (moda = 240) e 37 peixes por tratamento (moda = 15). Em média, o período de avaliação foi de 44 dias com tempo mínimo de 1 dia e máximo de 90 dias. O peso médio inicial foi de 46,25g com variação de 1,28g a 225,3g. No geral, os experimentos foram conduzidos em aquários, tendo apenas um estudo realizado em tanques-rede em represa. Dos estudos inclusos na meta-análise, 20 realizaram algum tipo de desafio, sendo 11 bacterianos e nove químicos, físicos ou químico e bacteriano simultaneamente. A frequência relativa das espécies de tilápias foi: 90,3% tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*), 6,4% tilápia vermelha (*O. niloticus x O. mossambicus*) e 3,3% tilápia-de-Moçambique (*O. mossambicus*). Os estudos foram conduzidos em nove países, sendo a frequência relativa: 45,2% Egito, 19,4% Brasil, 9,6% Tailândia, 6,5% Estado Unidos e China, e 3,2% Índia, Malásia, Turquia e Taiwan. A administração do  $\beta$ -glucano via oral ocorreu em 26 estudos, três

estudos via injeção, um estudo via imersão e um estudo com os três métodos de administração simultaneamente. A frequência da utilização de produtos comerciais de  $\beta$ -glucano ocorreu em 87,1% dos estudos, sendo que 9,7% utilizaram extratos feitos pelos pesquisadores e 3,2% analisaram  $\beta$ -glucano extraídos de ambas as maneiras.

### 2.3 Análise de dados

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAS OnDemand com critério de 5% de probabilidade de erro. Devido a heterogeneidade nas condições experimentais em que os estudos foram realizados, como por exemplo, diferença de peso inicial, diferenças ambientais e nutricionais, foi utilizado o procedimento “MIXED” a fim de executar modelos misto, considerando o efeito de cada estudo como uma variável classificatória de efeito aleatório. A suplementação de  $\beta$ -glucano foi considerada uma variável classificatória de efeito fixo. Além disso, o erro padrão foi utilizado para balancear, dando pesos diferentes aos experimentos por meio do comando “WEIGHT” do SAS. Espera-se que estudos com menor variação no erro padrão tenham resultados mais confiáveis. Por isso foi calculado e considerado o inverso do erro padrão ( $SEI=1/SE$ ), priorizando estudos com menor erro padrão, dando maior peso nos cálculos das análises realizadas. Para as análises de Imunoglobulina M (IgM), atividade fagocitária e lisozima, foi feito uma análise de regressão polinomial com o tempo de suplementação, considerando estudos com administração do  $\beta$ -glucano via dieta.

Na análise do ganho de peso, foi gerado um Forest Plot no software R<sup>®</sup> utilizando a função “Forest” do pacote Metafor. Para o cálculo do modelo e construção do gráfico, foi utilizado o tamanho de efeito calculado a partir da diferença nos resultados entre a

suplementação de  $\beta$ -glucano e o grupo controle dividida pelo erro padrão. Desse modo, estudos com menor variância foram favorecidos.

Para a análise da sobrevivência pós desafio, foram excluídos estudos que realizaram desafio químico ou físico devido à baixa mortalidade observada nos grupos controle e suplementados. Por tanto, foram considerados somente estudos que realizaram desafio bacteriano podendo o método de administração ser por injeção intraperitoneal ou imersão. Posteriormente também foi realizado uma análise de regressão linear da dose de  $\beta$ -glucano na sobrevivência.

Em razão do método de apresentação dos dados nos artigos, que impossibilitam a análise estatística, foi realizado análise descritiva da expressão gênica. Além disso, devido à escassez de pesquisas e diferentes origens do tecido coletado, foi necessário o agrupamento da análise do mesmo gene expresso em diferentes locais de coleta, sendo obrigatoriamente: rim, baço, fígado ou intestino.

### **3. Resultados**

#### **3.1 Ganho de peso**

No geral, a administração de BG promoveu aumento de 3,49% no ganho de peso dos peixes quando comparado a dieta controle ( $P < 0,05$ ) sendo que somente um estudo não houve efeito de tratamento (Figura 2).

#### **3.2 Sobrevivência pós desafio bacteriano**

Para a sobrevivência após desafio bacteriano, os animais que receberam BG apresentaram taxa de sobrevivência 63,35% maior que o grupo controle, sendo que na

análise de regressão linear não foi observado interferência da dose na taxa de sobrevivência (Figura 3).

### **3.3 Parâmetros hematológicos antes e após desafio**

Em análises sem desafio, a utilização de BG promoveu melhora de índices hematológicos como: porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb) e contagem de eritrócitos (CE) ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, não foi observado efeito significativo da administração de BG para os parâmetros globulina (Gb) e proteína plasmática total (PPT) ( $P > 0,05$ ). Nas análises posteriores aos desafios, observou-se efeito positivo do BG na Gb e PPT ( $P < 0,05$ ), não havendo alteração no Htc, Hb e CE ( $P > 0,05$ ) (Figura 3).

### **3.4 Parâmetros imunológicos antes e após desafio**

Foi observado aumento na lisozima sérica dos animais que receberam BG antes e após desafio ( $P = 0,005$  e  $0,009$ , respectivamente). Na análise de regressão para tempo de suplementação, foi observado efeito quadrático ( $R^2 = 1$ ) do período de administração na atividade da lisozima, na qual a partir do dia 65 sem desafio (SD) e 63 desafiado (D) houve diminuição no efeito (Figura 5.1).

Comparado à dieta controle não suplementada, a suplementação de BG não alterou estatisticamente a atividade fagocitária antes e após desafio ( $P > 0,05$ ). No entanto, a regressão demonstrou efeito quadrático ( $R^2 = 1$ ) do período de suplementação sobre a atividade fagocitária (Figura 5.2), sendo o ponto crítico para efeito do parâmetro observado aos 63 dias em ambos os cenários.

Por fim, a suplementação de BG promoveu a melhora no IgM sérico, tanto antes quanto após desafio ( $P = 0,003$  e  $0,028$ , respectivamente), tendo efeito quadrático ( $R^2 =$

1) do tempo de suplementação na concentração de IgM sérica (Figura 5.3), na qual a suplementação de BG atingiria efeito máximo aos 114 (D) e 106 (SD) dias.

### 3.5 Análises de expressão gênica

Em estudos sem desafio, observou-se que a administração de BG, no geral, não alterou a expressão dos genes Heat Protein Shock (HSP70), Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD), tendo frequência de 60%, 75% e 75%, respectivamente. Entretanto, a expressão dos genes Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e Fator tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) foram aumentadas após utilização de BG em 83,33% e 62,5%, respectivamente (Tabela 1.1).

Em relação aos estudos em que animais foram submetidos a desafio, foi observado que a expressão dos genes HSP70 se manteve igual ou aumentou na mesma frequência (Fr=40%), enquanto IL-1 $\beta$  demonstrou aumento em 62,5% dos experimentos observados. Por outro lado, a frequência no aumento da expressão dos genes TNF- $\alpha$ , CAT e SOD prevaleceu em animais que receberam BG submetidos a desafio (Fr = 62,5%, 80% e 75%, respectivamente) (Tabela 1.2).

## 4. Discussão

O presente estudo visou sumarizar os efeitos do  $\beta$ -glucano por meio da meta-análise, ferramenta que permite trabalhar com N amostral grande advindo de diversas pesquisas publicadas. Durante este trabalho foram considerados somente estudos com tilápias (*Oreochromis spp.*) a fim de obter resultados mais precisos quanto a efetividade da suplementação devido a grande diferença nos efeitos e doses entre espécies (Wee et al., 2022). O  $\beta$ -glucano figura entre os imunoestimulantes mais estudados na aquicultura, capaz de estimular respostas inatas e adaptativas, sendo importante alternativa ao uso indiscriminado de antibióticos (Ching et al., 2020). De fato, os resultados obtidos

na meta-análise suportam a efetividade deste aditivo na melhora dos parâmetros imunológicos e na saúde geral, resultando na maior sobrevivência frente a desafios sanitários.

Apesar dos efeitos dos BG serem mais focados e pronunciados em respostas imunológicas, alguns estudos sugerem que a suplementação deste composto seja capaz de melhorar o ganho de peso. O resultado obtido nesse trabalho corrobora a relação do BG com ganho de peso para tilápias, assim como demonstrado por Pilarski et al. (2017) e El Murr et al. (2019). Os mecanismos dessa relação ainda não estão completamente elucidados. Sugere-se que os benefícios da suplementação de BG no desempenho estão associados a melhora de respostas imunológicas como atividade de lisozima e concentração de imunoglobulinas. Conseqüentemente, aumentaria a capacidade do animal de prevenir doenças e infecções, permitindo direcionar maior aporte de nutrientes e energia para o crescimento (Itami et al., 1989; Sung et al., 1994).

Outra hipótese explicativa para a influência positiva em índices produtivos é a modulação da microbiota intestinal promovida pela suplementação de BG. Tal efeito já foi observado em outras espécies como *Acipenser persicus* (Aramli et al., 2015) e *Pseudosciaena crocea* (Ai et al., 2007). Souza et al. (2020) investigaram os efeitos da incorporação de BG a 0,1 mg L<sup>-1</sup> e 0,3 mg L<sup>-1</sup> na água, analisando o desempenho produtivo e microbiota intestinal de tilápias-do-Nilo. Não foram observadas diferenças estatísticas nos resultados do referido estudo; entretanto, os autores observaram diferenças numéricas entre os tratamentos suplementados sugerindo que o BG pode influenciar a microbiota. Nesse estudo, o tempo de suplementação do BG (21 dias) foi inferior ao avaliado por Pilarski et al. (2017) e por El Murr et al. (2019), a saber 30 e 90 dias, respectivamente. Considerando as diferenças numéricas observadas por Souza et al. (2020) e o curto tempo de suplementação em comparação a outros estudos, além do

método de suplementação, é possível inferir que efeitos positivos de BG na microbiota e ganho de peso podem estar associados a maiores períodos de suplementação. Com isso, explicita-se a necessidade de estudos futuros focados na saúde intestinal e desempenho produtivo de tilápias com tempos de suplementações superiores.

Com a constante intensificação da piscicultura, os peixes têm sido cada vez mais expostos a patógenos e ambientes de pior qualidade favorecendo surtos infecciosos, o que torna o fato, uma das principais preocupações para a produção intensiva de peixes (Barros et al., 2014). Dentre as bactérias de maior impacto na produção de tilápias, estão *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus Inae* e *S. agalactiae* (Kuebutornye et al., 2020). A necessidade da busca por alternativa a antimicrobianos resultou no reconhecimento do  $\beta$ -glucano como imunoestimulante capaz de aumentar a resistência contra patógenos. Nos estudos considerados nesta meta-análise, a taxa de sobrevivência em grupos que receberam BG (Figura 2) foi 63,25% maior. Dentre as pesquisas consideradas, observou-se a prevalência de desafios realizados com *A. hydrophila* (33,3%), *S. inae* (25%) e *S. agalactiae* (16%), indicando seu potencial contra os principais patógenos de interesse comercial, tanto bactérias gram-positivas como gram-negativas, corroborando os resultados obtidos por Salah et al. (2017), Neamat-Allah et al. (2020a) e Koch et al. (2020).

Apesar dos resultados positivos, não foi observado relação entre a dose e a sobrevivência. Para recomendação da dosagem de imunoestimulantes, diversos parâmetros são considerados, entre eles: espécie, método e tempo de aplicação (dieta, injeção ou imersão) além da fonte de extração do BG. Por exemplo, levedura e trigo contém glucanos de cadeia 1,3/1,6 com maior peso molecular e maior atividade biológica comparado aos glucanos encontrados em cevada (Akramiene et al., 2007; Meena et al., 2013; Mugwanya et al., 2022). Atualmente, a administração de  $\beta$ -glucano via dieta é a

mais utilizada devido a facilidade de administração, não sendo estressante como a injeção ou não havendo limitação do tamanho do animal e espaço como em banhos de imersão, tendo a inclusão de 0,1% na dieta considerada ideal (Sado et al., 2016; Koch et al., 2021). Com isso, o estudo considerou apenas pesquisas realizadas com a suplementação via oral na dieta para relação de dose. No entanto, diversos estudos não forneciam descrição da fonte do  $\beta$ -glucano utilizado ou caracterização das estruturas presentes. Os fatores descritos inviabilizaram a recomendação de dosagem específica para aumentar a sobrevivência de tilápias-do-Nilo.

Neste estudo, os dados dos parâmetros hematológicos, imunológicos e expressão gênica foram agrupados em duas categorias: sem ou com desafio (ex. bacteriano, térmico, químico). A hematologia é um dos parâmetros em estudos com peixes que reflete seu estado fisiológico demonstrando, portanto, o estado de saúde animal e, por consequência, a capacidade de resposta imune (Fazio, 2019, Ahmed et al., 2020). Nesta análise foi observado efeito positivo da suplementação do  $\beta$ -glucano em índices como Htc, Hb e CE em situações sem desafio e na PPT e Gb após desafio. Essa melhora nos parâmetros está de acordo com Dawood et al. (2020a) que observaram aumento na PPT e Gb em tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 0,5% de BG (85% Daigon Japan<sup>®</sup>) e Sahan e Duman (2010) que observaram efeito positivo na CE em tilápias alimentadas com dietas suplementadas com 0,1% e 0,5% de BG (Immunex<sup>®</sup>). A manutenção desses parâmetros permite que o animal tenha capacidade de resposta fisiológica frente a desafios, com melhor capacidade de transporte de oxigênio e manutenção da homeostase, corroborando com o aumento na taxa de sobrevivência após desafios observado neste estudo.

Adicionalmente, foi avaliado a influência da suplementação de BG na atividade da lisozima. Tal enzima é componente do sistema imune inato, sendo produzida por

leucócitos, principalmente neutrófilos e macrófagos, com alto poder antimicrobiano. Devido a maior participação na imunidade de peixes quando comparado a mamíferos, sua atividade é comumente utilizada como biomarcador de respostas imunológicas não específicas (Magnadottir, 2005; Firdaus-Nawi e Saad, 2016). Nesta meta-análise, observou-se que a suplementação de BG foi capaz de promover melhora na atividade da lisozima sérica tanto em situação ausente de desafio quanto após, reforçando a capacidade de atuação no sistema imune de tilápias, como observado em estudos prévios (El-Boshy et al. 2010; Lu et al., 2019; Neamat-Allah et al., 2020a). Este aumento pode ser atribuído a afinidade de ligação do  $\beta$ -glucano aos receptores em macrófagos, estimulando sua ativação (Muller et al., 2000) e também pela capacidade do produto em estimular a diferenciação de macrófagos imaturos (Paulsen, 2001). Esta hipótese é corroborada, ainda, pela maior produção de ânion óxido ( $O_2^-$ ) em tilápias alimentadas com dietas suplementadas com 0,1% de BG (MacroGard<sup>®</sup>), conforme observado por Koch et al. (2020), sugerindo maior atividade fagocitária dos leucócitos.

A fagocitose é um componente celular do sistema imune inato essencial na defesa contra patógenos capaz de limitar o desenvolvimento dos microrganismos, desempenhando ainda função de reconhecimento dos patógenos, atuando como meio de ativação da imunidade adaptativa no animal (Harikrishnan et al., 2011; Biller e Takahashi, 2018). No presente estudo, não foi observada diferença estatística na atividade fagocítica entre os grupos que receberam BG apesar da expressiva diferença numérica. Controversamente, quando os estudos realizados com tilápias alimentadas com dietas suplementadas com BG foram analisados separadamente, observou-se aumento da atividade fagocitária a exemplo de Dawood et al. (2020c), Sahan e Duman (2010) e El-Boshy et al. (2010), sendo este aumento atribuído a capacidade de ligação com receptores específicos de BG na membrana das células fagocíticas, como observado em salmão do

Atlântico (*Salmo salar L.*) por Engstad (1993). Esta discrepância entre resultados possivelmente ocorreu devido a diferença dos modelos estatísticos possíveis de serem utilizados em uma meta-análise.

A imunoglobulina M (IgM) é a principal classe de imunoglobulinas presente em peixes e vital como indicador da resposta adaptativa humoral, desempenhando papel fundamental na prevenção e controle de doenças (Magnadóttir, 1998; Chen et al., 2013). A análise do estudo demonstrou que a suplementação com BG para tilápias resultou no aumento da IgM sérica. De fato, o  $\beta$ -glucano apresenta alta capacidade imunomoduladora na resposta adaptativa em peixes, assim como comprovado por Hosseney et al. (2018) em tilápias-do-Nilo e em truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) por Ghaedi et al. (2011). No entanto, seu mecanismo de ação não foi completamente elucidado, tendo o efeito potencialmente atribuído a capacidade prebiótica do  $\beta$ -glucano, estimulando a proliferação e ativação de linfócitos B, responsáveis pela produção de imunoglobulinas (Ringø et al., 2010).

O incremento na capacidade de produção de anticorpos suporta ainda mais a eficácia da suplementação de  $\beta$ -glucano frente a desafios bacterianos, podendo ainda se tornar, na prática, ferramenta estratégica na vacinação dos peixes como coadjuvante, melhorando a capacidade de resposta imunológica após vacinação. A exemplo, Suanyuk e Itsaro (2011) observaram melhora no percentual de sobrevivência relativa após desafio com *S. inae* em tilápias vermelhas (*O. niloticus x O. mossambicus*) vacinadas (*S. inae* + 2% BG MacroGard<sup>®</sup>) quando comparado ao tratamento que recebeu somente a vacina isolada. Como discutido anteriormente, por estar associada a saúde geral do animal, a produção de imunoglobulinas ainda pode melhorar o desempenho produtivo principalmente em situações de desafio. El-Murr et al. (2019) sugeriram que a análise em associação de IgM e lisozima, a qual demonstrou melhora em ambos os parâmetros, pode

explicar o melhor desempenho produtivo observado em tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 0,4% de BG (Best Choice Pharma<sup>®</sup>), não desafiadas ou desafiadas com fipronil, agrotóxico comumente utilizado em práticas agropecuárias (Moreira et al., 2021).

As proteínas de choque térmico (HSPs) desempenham papel fundamental na síntese e reparação de proteínas (Bolhassani e Agi, 2019). Também são responsáveis pela manutenção da homeostase celular em situações de estresse ou choque térmico, tendo como resposta o aumento na produção e liberação das HSPs em casos de mudanças ambientais adversas (Quintana e Cohen, 2005; Yamashita et al., 2010). O presente estudo observou grande variação nos resultados da expressão do gene HSP70 em tilápias que receberam  $\beta$ -glucano após desafio.

Dawood et al. (2020a; 2020c) atribuíram a não alteração ou diminuição na expressão de HSP70 a capacidade antioxidante promovida pela suplementação de BG, protegendo as células do estresse oxidativo e poupando a necessidade da produção de novas proteínas. Por outro lado, Salah et al. (2017) e Reis et al. (2021) observaram aumento na expressão do gene HSP70 após desafio, atribuindo a suplementação de BG a melhor capacidade de resposta do organismo frente ao desafio. Estas divergências podem ser resultantes dos diferentes desafios realizados, sendo nos casos que foram observados diminuição ou não alteração da expressão do gene, realizado desafio químico e estresse por adensamento, com os peixes em contato crônico com o agente estressor. Por outro lado, os estudos nos quais observou-se o aumento na expressão do gene, foram feitos desafios bacterianos, caracterizado por desafio súbito com menor tempo de resposta e maior danos ao animal.

O estresse oxidativo ocorre quando há desbalanceamento entre a produção de radicais livres e a atividade do sistema antioxidante, com os produtos gerados não sendo efetivamente neutralizados no organismo (Sies, 1985). As enzimas SOD e CAT são essenciais na defesa fisiológica do animal (Lesser, 2006), sendo a primeira responsável por catalisar a dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), e a segunda em converter o  $H_2O_2$  gerado em oxigênio molecular e água (Halliwell e Gutteridge, 2007). O uso de  $\beta$ -glucano é ferramenta estratégica no combate ao estresse oxidativo devido não somente a capacidade de modulação do sistema antioxidante, promovendo maior resposta a produção das enzimas antioxidantes SOD, CAT, glutathione transferase (GSTs) e glutathione peroxidase (GPx) (Pogue et al., 2021), como também devido a possível capacidade antioxidante do produto demonstrada em estudos *in vitro*, capaz de sequestrar radicais livres (Kofuji et al., 2012; Zhang et al., 2022).

Neste estudo, foi observado, em maior frequência, que a suplementação de  $\beta$ -glucano promoveu melhora na expressão do gene de SOD e CAT. El-Murr et al. (2019) constataram que a suplementação de 0,4% BG (Best Choice Pharma<sup>®</sup>) em tilápias-do-Nilo intoxicadas com Fipronil promoveu diminuição nos níveis de malondialdeído (MDA), aumento da atividade da enzima glutathione redutase (GSH) e maior expressão dos genes de enzimas antioxidantes SOD e CAT. Dawood et al. (2020a) analisaram amostras histológicas das guelras, intestino, fígado e baço de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 0,5% BG (Daigon Japan<sup>®</sup>) e intoxicadas com deltametrina. O autor observou a manutenção ou melhora dos tecidos quando comparado ao grupo controle intoxicado, comprovando a efetividade do  $\beta$ -glucano na mitigação dos danos causados pelo estresse celular.

Com isso, é possível inferir que o  $\beta$ -glucano é capaz de proteger do estresse celular em casos de desordem leve ou crônica, por meio da neutralização dos radicais livres

promovidas pela sua propriedade antioxidante mas, caso necessário, ainda é capaz de promover a modulação do sistema antioxidante por meio da estimulação da produção de enzimas antioxidantes ou das proteínas de choque térmico.

As citocinas IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , produzidas principalmente por células de defesa como macrófagos e linfócitos, são responsáveis pelo desencadeamento da resposta inflamatória além de regular a produção de outras citocinas, garantindo resposta imune apropriada e auxiliando na prevenção de doenças e mortalidade (Dinarello, 2000; Striz et al., 2014). É esperado que o  $\beta$ -glucano atue na expressão de citocinas pró-inflamatórias por meio da ativação das células responsáveis pela produção de citocinas, como nas células de defesa (i.e., macrófagos e leucócitos) devido à capacidade de ligação a receptores específicos na superfície (Brown e Gordon, 2003), como também por meio da presença dos padrões de reconhecimento de patógenos (PAMPs) nas células dendríticas (Dinarello et al., 2010; Meena et al., 2013). De fato, os resultados demonstrados no estudo indicam maior frequência no aumento da expressão de TNF- $\alpha$  após desafio, no entanto há grande divergência entre os resultados para a expressão do gene IL-1 $\beta$ . Esta variedade de resultados pode estar associada a diferença do órgão de análise utilizado para realização da expressão gênica, com órgãos desempenhando diferentes papéis na hematopoiese e imunidade do animal. A exemplo, Xu et al. (2020) analisaram a expressão do gene TNF- $\alpha$  em tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com 0,2% e 0,4% de BG (SwissABAC<sup>®</sup>) em condição de hiper salinidade, sendo observada diminuição da expressão do gene no fígado dos animais alimentados com dietas suplementadas com BG; no entanto, houve aumento na expressão do gene no rim cranial. Reis et al. (2021) propõem ainda que há casos de troca na expressão dos genes entre o fígado e o rim cranial, com a diminuição no primeiro órgão e, conseqüente, elevação da expressão no segundo.

O objetivo deste estudo foi explorar os benefícios do  $\beta$ -glucano com foco na tilápia, espécie de peixe mais produzida no Brasil, fornecendo respostas mais contundentes e demonstrando a capacidade do produto como alternativa ao uso de antibióticos na indústria de produção de peixes. A análise dos artigos considerados nessa pesquisa, indica que o método de administração mais utilizado do  $\beta$ -glucano em tilápias é via dieta, com doses entre 0,1% e 0,5%. No entanto, é importante ressaltar a variação encontrada entre trabalhos publicados nas doses devido a diferentes graus de pureza e concentrações do  $\beta$ -glucano utilizado. Debate-se também sobre a utilização de  $\beta$ -glucano por períodos prolongados, o qual poderia causar imunossupressão. Entre os estudos analisados, observou-se efeito positivo nos parâmetros imunológicos de tilápias alimentadas com dietas suplementadas por 15 até 90 dias, demonstrando que é possível utilizar o produto por longos períodos sem prejuízo ao animal.

No geral, a suplementação de  $\beta$ -glucano contribui na saúde do animal por meio da melhora nos parâmetros hematológicos e imunológicos, sendo efetivo na modulação do sistema imune inato e adaptativo que resultam, na prática, em melhora de até 62,5% na sobrevivência contra infecções bacterianas. O  $\beta$ -glucano também apresenta capacidade antioxidante e pode, portanto, proteger o animal em situações de estresse como manejos e contatos com químicos na água, sendo que a melhora na saúde geral pode, ainda, contribuir para o maior ganho de peso. Novos estudos ainda devem ser conduzidos para investigar melhor a relação da suplementação de  $\beta$ -glucano com o desempenho produtivo, explorando tempos superiores de administração e realizando análises específicas para esta finalidade.

Com isso, conclui-se que o  $\beta$ -glucano se apresenta como estratégia nutricional e alternativa sustentável efetiva para a tilapicultura, capaz de diminuir os prejuízos econômicos causados pela intensificação da produção e, também, pelos novos desafios

sanitários, reduzindo a utilização de antimicrobianos que potencialmente trazem riscos ao consumo humano e meio ambiente.

## 5. Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O autor agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (130095/2021-4) pelo auxílio da bolsa de estudos.

## 6. Referências

- Ahmed, I., Reshi, Q. M., Fazio, F., 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. *Aquaculture international* v.28, p.869-899. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00501-3>
- Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Xu, W., Li, H., 2007. Effects of dietary beta-1,3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Fish & Shellfish Immunology*, v.22, n.4, p.394-402. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.06.011>
- Akramiene, D., Kondrotas, A., Didziapetriene, J., Kevelaitis, E., 2007. Effects of  $\beta$ -glucans on the immune system. *Medicina*. v.43, n.8, p.597–606. <https://doi.org/10.4110/in.2011.11.4.191>
- Aramli, M. S., Kamangar, B., Nazari, R. M., 2015. Effects of dietary beta-glucan on the growth and innate immune response of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, v.47, n.1, p.606-610. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.10.004>
- Barros, M. M., Falcon, D. R., Orsi, R. O., Pezzato, L. E., Fernandes Jr., A. C., Guimaraes, I. G., Fernandes Jr., A., Padovani, C. R., Sartori, M. M., 2014. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed beta-glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, v.39, p.188–195. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.004>
- Biller, J. D., Takahashi, L. S., 2018. Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.90, n.4, p.3403-3414. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170730>
- Bolhassani, Agi, E., 2019. Heat shock proteins in infection. *Clin. Chim. Acta* v.490, p.90–100. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.08.015>
- Brown, G. D., Gordon, S., 2003. Fungal  $\beta$ -glucans and mammalian immunity. *Immunity*, Cambridge, v. 19, n. 3, p.311-315. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00233-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00233-4)
- Brown, G. D., Gordon, S., 2005. Immune recognition of fungal. *Cellular Microbiology*, Oxford, v.7, n.4, p.471-479. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00505.x>

- Burridge, L., Weis, J. S., Cabello, F., Pizarro, J., Bostick, K., 2010. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, v. 306, n. 1–4, p. 7–23. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.020>
- Chen, C. L., Sun, X. Y., Liao, L. J., Luo, S. X., Li, Z. Q., Zhang, X. H., Wang, Y. P., Guo, Q. L., Fang, Q., & Dai, H. P., 2013. Antigenic analysis of grass carp reovirus using single-chain variable fragment antibody against IgM from *Ctenopharyngodon idella*. *Science China Life Sciences*, v.56, n.1, p.59–65. <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4425-5>
- Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., Li, Q. X., 2020. Antibiotics and food safety in aquaculture. *J. Agric. Food Chem.* v.68, p.11908–11919. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03996>
- Citarasu, T., 2020. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, v. 18, n. 3, p. 403–414. <https://doi.org/10.1007/s10499-009-9253-7>
- Ching, J. J., Shuib, A. S., Abdul Majid, N., Mohd Taufek, N., 2020. Immunomodulatory activity of  $\beta$ -glucans in fish: Relationship between  $\beta$ -glucan administration parameters and immune response induced. *Aquaculture Research*, v.52, n.5, p.1824–1845. <https://doi.org/10.1111/are.15086>
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., Ghasemi, Y., 2019. Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, v.8, n.3, p.92. <https://doi.org/10.3390/foods8030092>
- Dawood(a), M. A. O., Abdo, S. E., Gewaily, M. S., Moustafa, E. M., Saadallah, M. S., Abdel-Kader, M. F., Hamouda, A. H., Omar, A. A., Alwakeel, R. A., 2020. The influence of dietary  $\beta$ -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. v. 98, p.301-311. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.035>
- Dawood(b), M. A. O., Abdel-Razik, N. I., Geaily, M. S., Swilam, H., Paray, B. A., Soliman, A. A., Abdelhiee, E. Y., Aboubakr, M., Van Doan, H., El-Sabagh, M., El Basuini, M. F., 2020.  $\beta$ -Glucan improved the immunity, hepato-renal, and histopathology disorders induced by chlpyrifos in Nile tilapia. *Aquaculture reports*, v.18, 1-100549. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100549>
- Dawood(c), M. A. O., Metwally, A. E., El-Sharawy, M. E., Atta, A. M., Elbially, Z. I., Abdel-Latif, H. M. R., Paray, B. A., 2020. The role of  $\beta$ -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. *Aquaculture*, v.523, 735205. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735205>
- Dinarello, C. A., 2000. Proinflammatory cytokines. *Chest* v.118, p.503–508. <https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>
- Dinarello, C., Arend, W., Sims, J., Smith, D., Blumberg, H., O'Neill, L., Mansky, R. G., Pizarro, T., Hoffma, H., Bufler, P., Nold, M., Ghezzi, P., Mantovani, A., Garlanda, C., Boraschi, D., Rubartelli, A., Netea, M., van der Meer, J., Joosten, L., Mandrup-Poulsen, T., Donath, M., Lewis, E., Pfeilschifter, J., Martin, M., Kracht, M., Muehl, H., Novick, D., Lukic, M., Conti, B., Solinger, A., Kelk, P., Van de Veerdonk, F., Gabel, C., 2010.

IL1 family nomenclature. *Nat. Immunology*. v.11, n.11, p.973. <https://doi.org/10.1038/ni1110-973>

El-Boshy, M. E., El-Ashram, A. M., AbdelHamid, F. M., Gadalla, H. A., 2010. Immunomodulatory effect of dietary *Saccharomyces cerevisiae*,  $\beta$ -glucan and laminaran in mercuric chloride treated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, v.28, p. 802-808. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.017>

El-Murr, A. I., Hakim, Y. A. E., Neamat-Allah, A. N. F., Baeshen, M., Ali, H. A., 2019. Immune-protective, antioxidant and relative genes expression impacts of  $\beta$ -glucan against fipronil toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. v.94, p.427-433. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.033>

Engstad, R.E., 1993. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages. *Dev. Comp. Immunol.* v.17, n.4, p.319–330. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(93\)90004-A](https://doi.org/10.1016/0145-305X(93)90004-A)

FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*. v.500, p.237-242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>

Firdaus-Nawi M., Saad, M. Z., 2016. Major Components of fish immunity: A review. *Tropical Agricultural Science*. v. 39, n. 4, p. 393-420.

Ghaedi, G., Keyvanshokoh, S., Azarm, H. M., Akhlaghi, M., 2015. Effects of dietary  $\beta$ -glucan on maternal immunity and fry quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, v.441, p.78–83. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.023>

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed. Oxford University Press, Oxford 888p.

Harikrishnan, R., Kim, J.S., Kim, M.C., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. *Prunella vulgaris* enhances the non-specific immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Aquaculture*. v.318, p.61–66. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.020>

Hosseney, H. M., Abdel Motaal, S. M., Kamel, M. A., El-Murr, A. H. I., 2018. Ameliorative Effect of Betaglucan Diet In *Oreochromis Niloticus* Against *Aeromonas Hydrophila*. *Res. J. Pharma., Biological and Chem. Sci.*, v.9, n.6, p.391-404. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.009>

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produtos de origem animal, por tipo de produto. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>. Acesso em: 18 de maio, 2022.

Itami, T., Takahashi, Y., Nakamura, Y., 1989. Efficacy of vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawns *Penaeus japonicus*. *J. Aquat. Anim. Health* v.1, n.3, p.238–242. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1989\)001<0238:EOVAVI>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1989)001<0238:EOVAVI>2.3.CO;2)

Koch, J. F. A., Oliveira, C. A. F., Zanuzzo, F. S., 2021. Dietary  $\beta$ -glucan (MacroGard®) improves innate immune responses and disease resistance in Nile tilapia regardless of the

administration period. *Fish and Shellfish Immunology*. v. 112, p. 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.02.014>

Kofuji K, Aoki, A. Tsubaki, K., Konishi, M., Isobe T., Murata, Y., 2012. Antioxidant Activity of  $\beta$ -Glucan. *ISRN Pharm*, v.12. <https://doi.org/10.5402/2012/125864>

Kuebutornye, F. K. A., Abarike, E. D., Sakyi, M. E., Lu, Y., Wang, Z., 2020. Modulation of nutrient utilization, growth, and immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: the role of probiotics. *Aquaculture International* v.28, n.1, p.277–291. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00463-6>

Lesser, M.P., 2006. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annual Review of Physiology*. v.68, p.253–278. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001>

Limbu, S. M., Zhou, L., Sun, S. X., Zhang, M. L., Du, Z. Y., 2018. Chronic exposure to low environmental concentrations and legal aquaculture doses of antibiotics cause systemic adverse effects in Nile tilapia and provoke differential human health risk. *Environ. Int.* v.115, p.205–219. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.034>

Lu, D., Limbu, S. M., Lv, H., Ma, Q., Chen, L., 2019. The comparisons in protective mechanisms and efficiencies among dietary  $\alpha$ -lipoic acid,  $\beta$ -glucan and L-carnitine on Nile tilapia infected by *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, v.86, p. 785-793. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.023>

Magnadottir, B., 1998. Comparison of immunoglobulin (IgM) from four fish species. *Icelandic Agricultural Sciences*, v.12, p.47–59.

Magnadottir, B., Lange, S., Gudmundsdottir, S., Bogwald, J., Dalmo, R. A., 2005. Ontogeny of humoral immune parameters in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, v.19, n.5, p.429–439. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.010>

Magnani, M., Castro-Goméz, R. J. H., 2008.  $\beta$ -glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 29, n. 3, p. 631-650.

Meena, D. K., Das, P., Kumar, S., Mandal, S. C., Prusty, A. K., Singh, S. K., Aaktar, M. S., Behera, B. K., Kumar, K., Pal, A. K., Mukherjee, S. C., 2013. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 39, n. 3, p.431-57. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9710-5>

Moher D, Liberati A., Tetzlaff J, Altman DG, The PG., 2009. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Medicine* 6: e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>

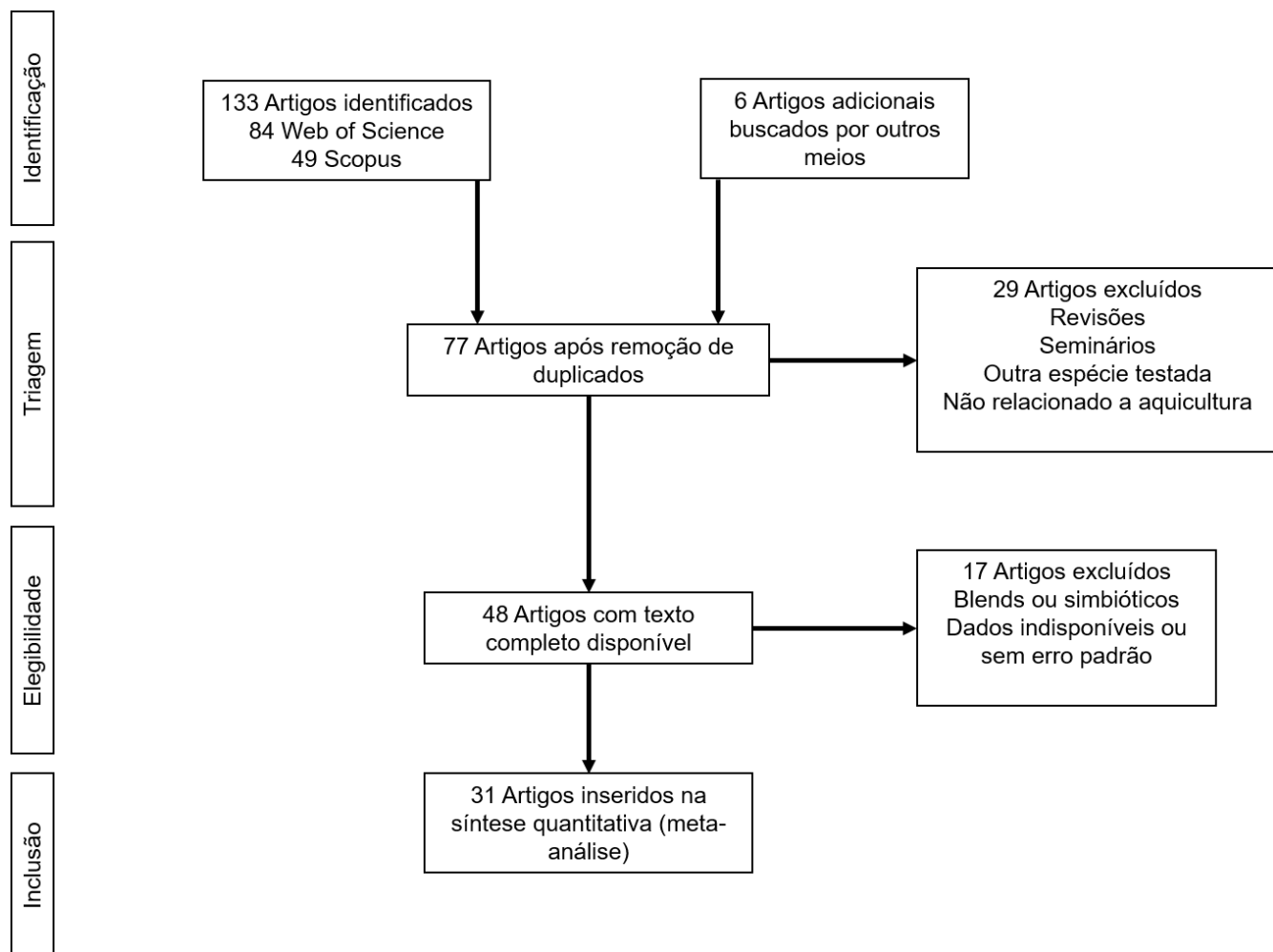
Moreira, I. do R. C., Barros, D. C. B. de, Lunardi, J. S., Orsi, R. de O., 2021. Effect of Protein Supplementation in the Bee *Apis mellifera* L. Exposed to the Agrochemical Fipronil. *Sociobiology*, v.68. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v68i3.5830>

Mountzouris, K. C., 2022. Prebiotics: Types. *Encyclopedia of dairy sciences* (3rd ed., pp. 352–358). Academic Press.

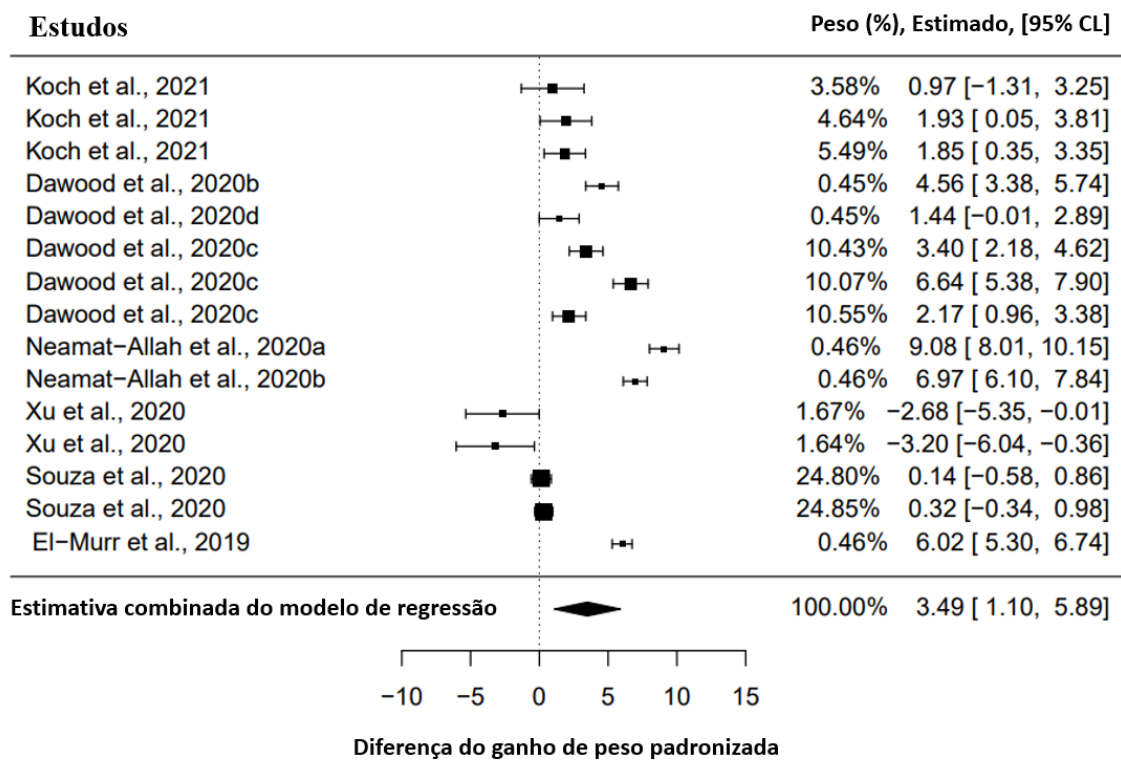
Mugwanya, M., Dawood, M. A. O., Kimera, F., Sewilam, H., 2022. Updating the Role of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics for Tilapia Aquaculture as Leading Candidates for Food Sustainability: A Review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v.14, p.130-157. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09852-x>

- Neamat-Allah(a), A. N. F., Hakim, Y. A. E., Mahmoud, E. A., 2020. Alleviating effects of  $\beta$ -glucan in *Oreochromis niloticus* on growth performance, immune reactions, antioxidant, transcriptomics disorders and resistance to *Aeromonas sobria* caused by atrazine. *Aquaculture Research*. v. 00, p.1-12. <https://doi.org/10.1111/are.14529>
- Neamat-Allah(b), A. N. F., Hakim, Y. A. E., Mahmoud, E. A., 2020. The potential benefits of dietary  $\beta$ -glucan against growth retardation, immunosuppression, oxidative stress and expression of related genes and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* challenge in *Oreochromis niloticus* induced by herbicide pendimethalin. *Aquaculture Research*. v. 00, p.1-11. <https://doi.org/10.1111/are.14910>
- Paulsen, S. M., Engstad, R. E., Robertsen, B., 2001. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast beta-glucan and bacterial lipopolysaccharide. *Fish Shellfish Immunol*, v.11, n.1, p.23–37, <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0291>
- Pilarski, F., Oliveira, C. A. F., Souza, F. P. B. D., Zanuzzo, F. S., 2017. Different b-glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*. v. 70, p.25-29. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.059>
- Pogue, R., Murphy, E. J., Fehrenbach, G. W., Rezoagli, E., Rowan, N. J. 2021. Exploiting immunomodulatory properties of b-glucans derived from natural products for improving health and sustainability in aquaculture-farmed organisms: Concise review of existing knowledge, innovation and future opportunities. *Environmental Science & Health*. v. 21, n. 100248. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100248>
- Quintana, F. J., Cohen, I. R., 2005. Heat shock proteins as endogenous adjuvants in sterile and septic inflammation, *J. Immunol.* v.175, p.2777–2782. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.5.2777>
- Reis, I. C., Fierro-Castro, C., Gonçalves, G. S., Moroizato, B. S., Tort, L., Biller, J. D., 2021.  $\beta$ -glucan mimics tissue damage signaling and generates a trade-off between head kidney and spleen to activate acquired immunity in vaccinated tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. v. 117, p.179-187. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.08.003>
- Ringø, E., Olsen, R. E., Gifstad, T. O., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G.-I., Bakke, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*. v.16, p.117-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>
- Sado, R. Y., Gimbo, R. Y., Salles, F. B., 2016. Routes of  $\beta$ -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. *Archivos de Zootecnia*. v. 65, n. 252, p. 519-524.
- Sahan, A., Duman, S., 2010. Influence of  $\beta$ -1,3/1,6 glucan applications on some non-specific cellular immune response and haematologic parameters of healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L., 1758). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, v.34, n.1, p.75-81. <https://doi.org/10.3906/vet-0810-21>
- Salah, A. S., El Nahas, A. F., Mahmoud, S. 2017. Modulatory effect of different doses of b-1,3/1,6-glucan on the expression of antioxidant, inflammatory, stress and immune-related genes of *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus iniae*. *Fish & Shellfish Immunology*, v.70, p.204-213. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.09.008>

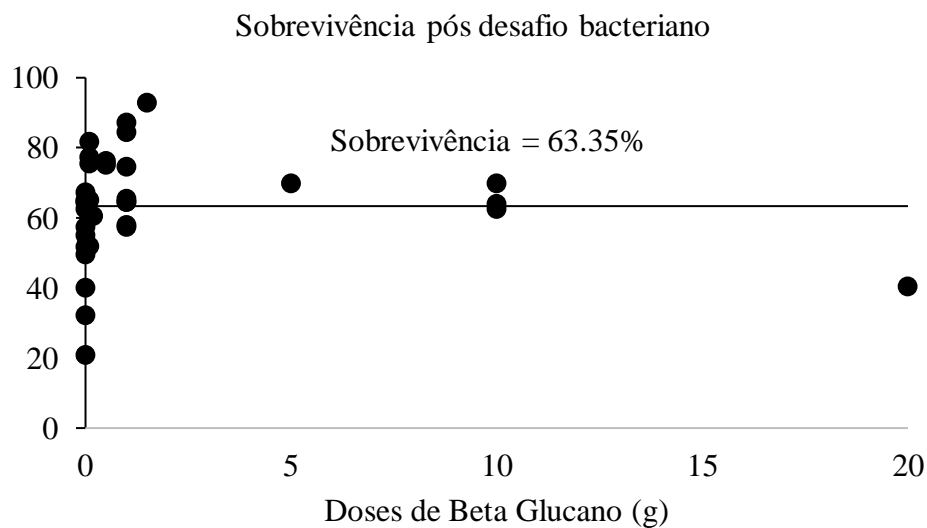
- Santos, L., Ramos, F., 2016. Analytical strategies for the detection and quantification of antibiotic residues in aquaculture fishes: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 52, p. 16-30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.015>
- Segner, H., Sundh, H., Buchmann, K., Douxfils, J., Sundell, K. S., Mathieu, C., Ruane, N., Jutfelt, F., Toften, H., Vaughan, L., 2012. Health of farmed fish: Its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 38, n. 1, p. 85–105. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9517-9>
- Sies, H., 1985. Hydroperoxides and thiol oxidants in the study of oxidative stress in intact cells and organs. *Oxidative Stress* v.1, p.73–90. <https://doi.org/10.1098/rstb.1985.0168>
- Sneddon, L. U., Wolfenden, D. C. C., Thomson, J. S., 2016. *Stress Management and Welfare*. [s.l.] Elsevier Inc., v. 35.
- Souza, F. P., Lima, E. C. S., Pandolfi, V. C. F., Leite, N. G., Furlan-Murari, P. J., Leal, C. N. S., Mainardi, R. M., Suphoronski, S. A., Favero, L. M., Koch, J. F. A., Pereira, U. P., Lopera-Barrero, N. M., 2020. Effect of  $\beta$ -glucan in water on growth performance, blood status and intestinal microbiota in tilapia under hypoxia. *Aquaculture Reports*, v.17, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100369>
- Striz, I., Brabcova, E., Kolesar, L., Sekerkova, A., 2014. Cytokine networking of innate immunity cells: a potential target of therapy. *Clin. Sci.* v.126, p.593–612. <https://doi.org/10.1042/CS20130497>
- Suanyuk, N., Itsaro, A., 2011. Efficacy of inactivated *Streptococcus iniae* vaccine and protective effect of  $\beta$ -(1,3/1,6)-glucan on the effectiveness of vaccine in red tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, v.33, n.2, p. 143-149.
- Sung, H. H., Kou, G. H., Song, Y. L., 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathol.* v.29, n.1, p.11–17.
- Vetvicka, V., Vanucci, L., Sima, P., 2013. The Effects of  $\beta$ -Glucan on Fish Immunity. *North American Journal of Medical Sciences*. v. 5, n. 10, p. 580-588. DOI: 10.4103/1947-2714.120792
- Wee, W., Hamid, N. K. A., Mat, K. Khalif, R. I. A. R., Rusli, N. D., Rahman, M. M., Kabir, M. A., Wei, L. S., 2022. The Effects of mixed prebiotics in aquaculture: A review. *Aquaculture and Fisheries*. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.02.005>
- Xu, C., Suo, Y., Wang, X., Qin, J. G., Chen, L., Li, E., 2020. Recovery from Hypersaline-Stress-Induced Immunity Damage and Intestinal-Microbiota Changes through Dietary  $\beta$ -glucan Supplementation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, v.10, n.12, p.2243. <https://doi.org/10.3390/ani10122243>
- Yamashita, M., Yabu, T., Ojima, N., 2010. Stress Protein HSP70 in Fish. *Aqua-BioScience Monographs*, v. 3, n. 4, p. 111-141. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.5.2777>
- Zhang, J., Wang, P., Tan, C., Zhao, Y., Zhu, Y., Bai, J., Xiao, X., Zhang, L., Teng, D., Tian, J., Liu, L., Zhang, H., 2022. Effects of *L.plantarum* dy-1 fermentation time on the characteristic structure and antioxidant activity of barley  $\beta$ -glucan in vitro. *Current Research in Food Science*, v.5, p.125-130. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.12.005>



**Figura 1.** Fluxograma das informações em um processo de revisão sistemática de meta-análise (Moher et al., 2009).



**Figura 2.** Efeito do  $\beta$ -glucano no ganho de peso em tilápias em comparação ao tratamento controle.



**Figura 3.** Efeito do  $\beta$ -glucano na sobrevivência em tilápias submetidas a desafio bacteriano

**Figura 4.** Parâmetros hematológicos de tilápias que receberam β-glucano antes e após desafio (Letras minúsculas comparam grupo não desafiado; letras maiúsculas comparam grupo desafiado onde P<0,05).

Hematócrito (%)

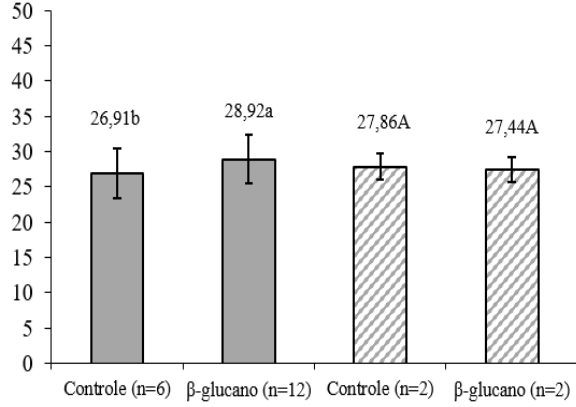


Figura 4.1

Hemoglobina (g/dL)

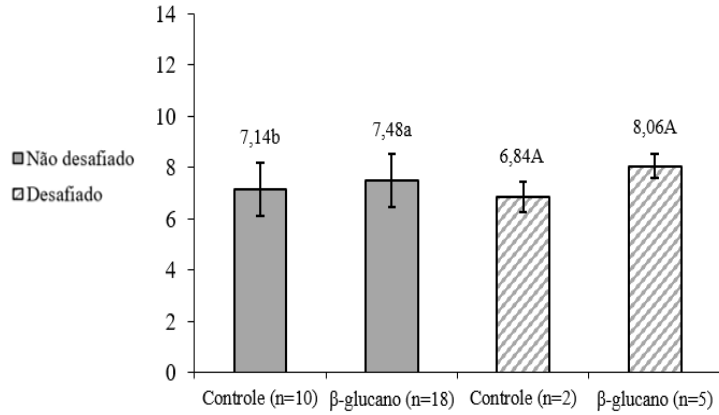


Figura 4.2

Proteína Plasmática Total (g/dL)

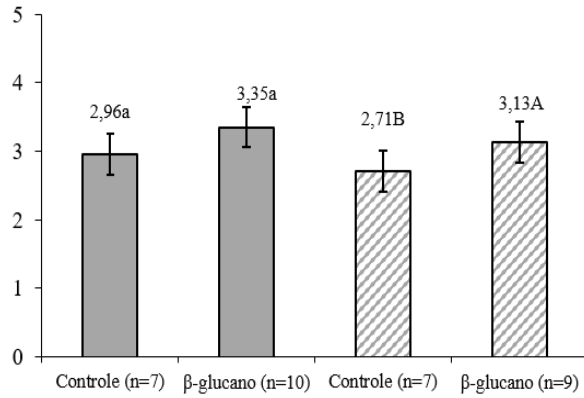


Figura 4.3

Globulina(g/dL)

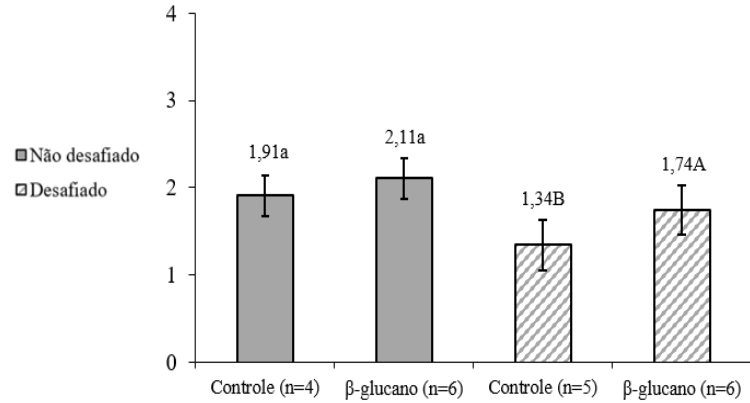


Figura 4.4

Contagem de Eritrócitos(10<sup>6</sup> células/mm<sup>3</sup>)

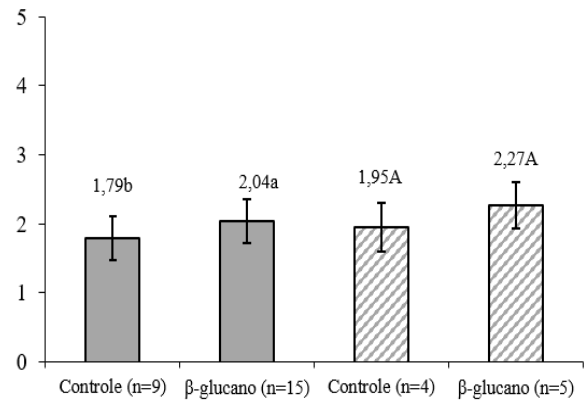
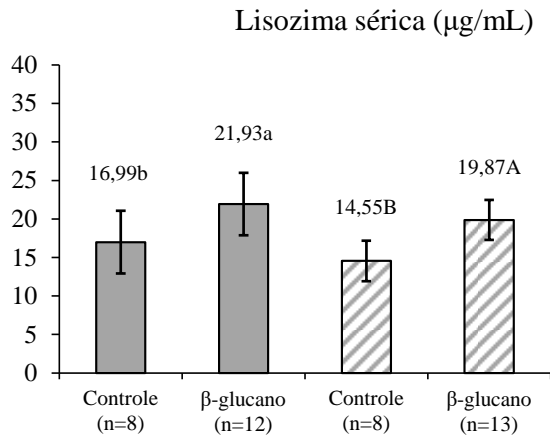


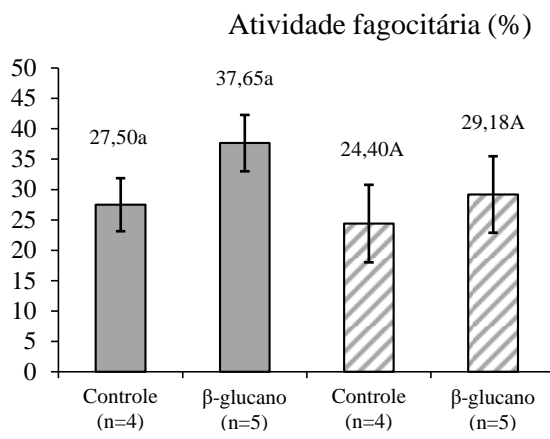
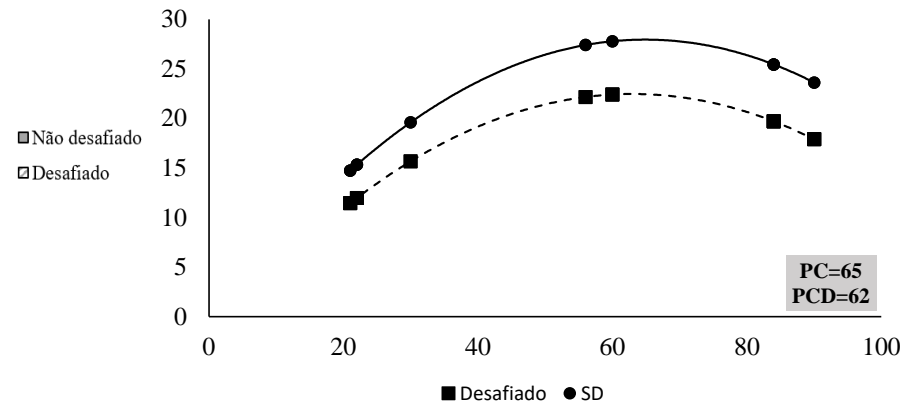
Figura 4.5

**Figura 5.** Parâmetros imunológicos de tilápias que receberam  $\beta$ -glucano antes e após desafio (PC = Ponto crítico, PCD = Ponto crítico desafiado) (Letras minúsculas comparam grupo não desafiado; letras maiúsculas comparam grupo desafiado onde  $P < 0,05$ ).



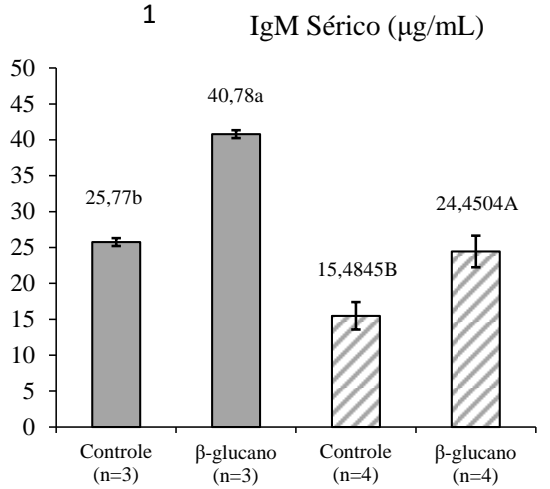
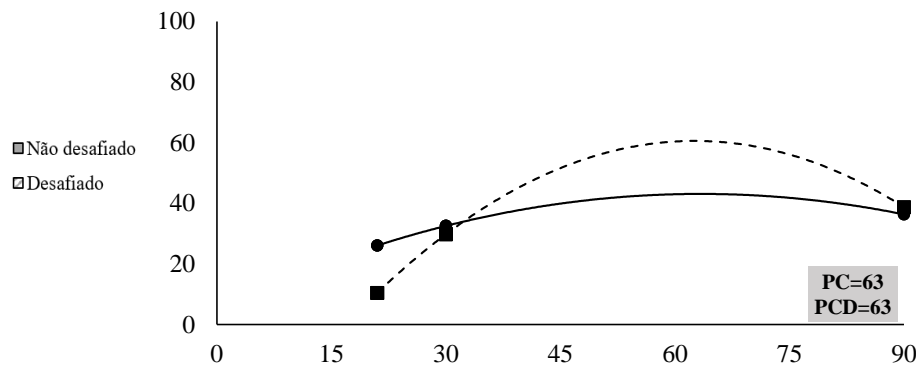
**Figura 5.1**

Relação Lisozima ( $\mu\text{g/mL}$ ) X Tempo (d) **Figura 5.2**



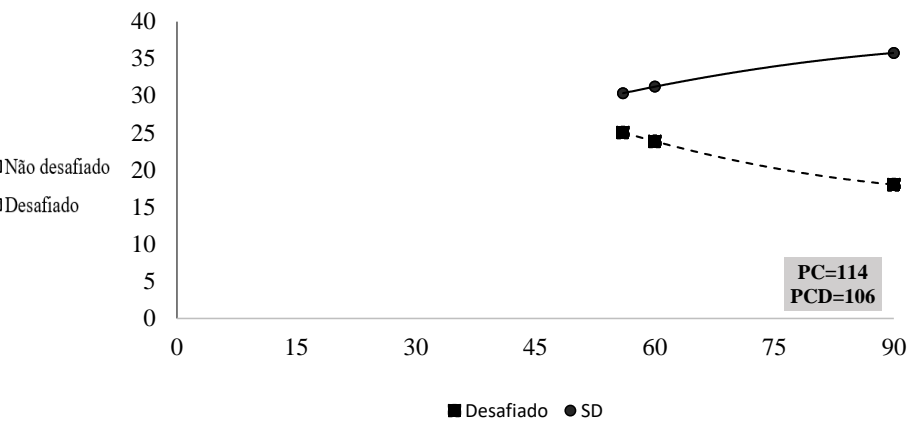
**Figura 5.3**

Atividade Fagocitária (%) x Tempo (d) **Figura 5.4**



**Figura 5.5**

IgM ( $\mu\text{g/mL}$ ) x Tempo (d) **Figura 5.6**



**Tabela 1.** Análise descritiva de genes expressados em tilápias suplementadas com  $\beta$ -glucano com ou sem desafio. (Fi = Frequência inferida, Fr = Frequência relativa, HSP70 = Heat Protein Shock 70, TNF- $\alpha$  = Fator de Necrose Tumoral Alfa, IL-1 $\beta$  = Interleucina 1 beta, CAT = Catalase, SOD = Superóxido dismutase ).

Efeito do beta glucano na expressão de gene em relação ao tratamento controle sem desafio

Gene expressado	HSP70 (n=5)		TNF- $\alpha$ (n=8)		IL-1 $\beta$ (n=6)		CAT (n=4)		SOD (n=4)	
	Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Sem alteração	3	60	3	37,5	1	16,66	3	75	3	75
Aumento	2	40	5	62,5	5	83,33	1	25	-	-
Diminuição	-	-	-	-	-	-	-	-	1	25

**Tabela 1.1**

Efeito do beta glucano na expressão de gene em relação ao tratamento controle desafiado

Gene expressado	HSP70 (n=5)		TNF- $\alpha$ (n=8)		IL-1 $\beta$ (n=6)		CAT (n=4)		SOD (n=4)	
	Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr	Fi	Fr
Sem alteração	2	40	2	25	2	33,33	1	20	1	25
Aumento	2	40	5	62,5	2	33,33	4	80	3	75
Diminuição	1	20	1	12,5	2	33,33	-	-	-	-

**Tabela 1.2**

## **Capítulo III**

## Implicações

A piscicultura tem sido um dos setores de produção animal que mais tem crescido no Brasil, com a tilápia sendo a principal espécie produzida. Este crescimento trouxe também novos desafios, sendo a questão sanitária uma das principais causas de prejuízo econômico ao produtor. Aliado a esse problema, a utilização de antimicrobianos tem sido cada vez mais questionada, com restrições de uso ou proibição em diversos países. Desta forma, alternativas como o  $\beta$ -glucano tem sido estudado visto sua alta capacidade imunomoduladora, melhorando a capacidade de resposta do animal quando desafiados.

A suplementação de  $\beta$ -glucano, no geral, promoveu melhora na saúde, o qual foi comprovada pela maior produção de imunoglobulinas G, lisozima e melhora nos parâmetros hematológicos. Além disso, foi observado aumento na expressão de genes relacionados a resposta inflamatória e antioxidante, principalmente em situações de desafio sanitário, podendo serem químicos, de manejo ou microbiológicos. Esta melhora na saúde geral corrobora com o aumento observado na sobrevivência das tilápias desafiadas contra as principais bactérias de interesse comercial.

Apesar dos estudos com  $\beta$ -glucano focarem sua capacidade imunomoduladora, a presente análise também demonstrou, com maior amostragem de dados, que o aditivo é capaz de promover aumento no ganho de peso dos animais, algo recentemente discutido na literatura e que reforça o apelo comercial do produto para os produtores.

Em suma, fica evidenciado o potencial do uso de  $\beta$ -glucano como imunomodulador na tilapicultura, sendo efetivo tanto na redução da mortalidade como também na melhora do desempenho produtivo.