



XXIV
Mostra
de Iniciação
Científica

SEMANA DO
CONHECIMENTO

A Universidade em movimento

De **7 a 10** de outubro de 2014



RESUMO

Cinética da resposta imune humoral de jundiás (*Rhamdia quelen*) imunizados com bacterina de *Aeromonas hydrophila* e diferentes combinações de adjuvantes

AUTOR PRINCIPAL:

Márcia Bortoluzzi

E-MAIL:

93167@upf.br

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Probic Fapergs

CO-AUTORES:

Tatiana Rohde Pavan, Cristian Olivio Nied, Rafael Frandoloso, Leonardo José Gil Barcellos

ORIENTADOR:

Luiz Carlos Kreutz

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

Piscicultura

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

O uso de vacinas constitui na principal ferramenta de prevenção de doenças e foi de fundamental importância para o salto qualitativo e quantitativo na produção de peixes cultivados. A pesquisa por novas vacinas e adjuvantes é de fundamental importância para garantir o crescimento de peixes cultivados e a crescente demanda por carne de pescado (Sommerset et al., 2005). Adjuvantes funcionam como intensificadores da resposta imunológica e são utilizados em vacinas para aumentar a resposta imune à vacina melhorando, portanto a proteção imunológica frente à determinado patógeno (Mckee et al., 2007). Na piscicultura, a escolha do adjuvante para uso vacinal tem diversas implicações relacionadas tanto à intensidade da resposta imune como no bem-estar animal e desenvolvimento de possíveis lesões patológicas. Nesse estudo, o principal objetivo foi avaliar a resposta imune de jundiás imunizados com bacterina de *Aeromonas hydrophila* combinada com adjuvantes clássicos e adjuvantes de nova geração.

METODOLOGIA:

Os experimentos foram conduzidos utilizando jundiás (60 - 80g) adaptados em tanques de 1000 L de água corrente. Pelo menos 15 peixes de cada grupo foram inoculados intraperitonealmente com o antígeno (*Aeromonas hydrophila*; 1x10⁸ UFC/peixe) misturada à diferentes adjuvantes: Adjuvante Incompleto de Freund; Hidróxido de Alumínio; Montanide; e Oligodeoxinucleotídeos (ODN) CpG. Diferentes composições de ODN CpG foram sintetizadas para utilização como imunomoduladores. A sequência dos ODN CpGs foi definida conforme sugerida por Carrington and Secombes (2006). Após as inoculações, amostras de sangue foram coletadas para mensurar a resposta imune humoral por meio de um teste de aglutinação em placas (Kreutz et al., 2010). A inoculação e coletas de sangue foram realizadas em peixes anestesiados (Eugenol, 50 mg/L). Os resultados obtidos foram avaliados utilizando-se o teste de Anova e o software GraphPad Prims 5.0, e as diferenças foram consideradas significativas quando o valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nesse estudo diferentes combinações de antígenos e adjuvantes foram utilizadas para avaliar a resposta imune humoral em jundiás. Recentemente, em um estudo sobre a cinética da resposta imune, nós demonstramos que jundiás imunizados com bacterina de *A. hydrophila* (1×10^8 UFC/peixe) possuíam anticorpos específicos já aos 7 dias p.i. (Kreutz et al., 2014) e que a produção de anticorpos aumentou gradativa e significativamente até os 35 dias p.i. No presente estudo, o objetivo principal foi avaliar a eficácia de adjuvantes na indução de anticorpos e, conseqüentemente, a resposta imune foi mensurada somente aos 42 dias pós-inoculação. Todos os peixes imunizados soroconverteram à inoculação com *A. hydrophila*, no entanto houve uma diferença significativa ($p < 0.05$) entre o grupo controle (*A. hydrophila* + PBS) e os demais grupos inoculados. E, entre os grupos inoculados com *A. hydrophila* e diferentes combinações de adjuvantes, houve uma diferença significativamente menor ($p < 0.05$) no título de anticorpos do grupo de peixes inoculado com *A. hydrophila* + ODN CpG 1688 em relação aos grupos inoculados com *A. hydrophila* + ODN CpG 2133, CpG 2102 e CpG 2143. Interessantemente, de forma geral, os títulos de anticorpos detectados nesse experimento foram inferiores aos detectados anteriormente (Kreutz et al., 2010) quando os peixes receberam um inóculo de *A. hydrophila* sem adjuvante. Observa-se, no entanto, que no experimento anterior cada peixe foi inoculado com 2×10^8 UFC de *A. hydrophila*, ou seja, o dobro de antígenos usados no experimento atual. Pode-se inferir, dessa forma, que a dose de antígeno é mais importante que o tipo de adjuvante na indução de anticorpos contra bacterinas de *A. hydrophila*. Além disso, é importante salientar que devido a constituição da parede celular, bactérias Gram negativas como a *A. hydrophila* possuem lipopolissacarídeos (LPS) que são bons imunógenos e podem, de certa forma, mascarar um possível efeito dos adjuvantes, principalmente os ODN CpGs.

CONCLUSÃO:

A combinação de antígeno e adjuvante influi na intensidade e cinética da resposta imune e a combinação adequada deve ser investigada para cada tipo de vacina. Os títulos de anticorpos anti-*A. hydrophila*, detectados aos 42 dias p.i., foram similares nos diferentes grupos de jundiás, exceto no grupo imunizado com *A. hydrophila* + ODN CpG 1668.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- CARRINGTON, A. C.; SECOMBES, C. J. *Vet immunol immunopath*, v. 112, n. 3-4, p. 87-101, 15 ago. 2006.
KREUTZ, L. C. et al. *Fish & shellfish immunol*, v. 29, n. 4, p. 694-707, out. 2010.
MCKEE, A. S.; MUNKS, M. W.; MARRACK, P. *Immunity*, v. 27, n. 5, p. 687-90, nov. 2007.
SOMMERSET, I. et al. *Expert review of vaccines*, v. 4, n. 1, p. 89-101, fev. 2005.

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador