

Xantana como ADJUVANTE em VACINA CONTRA Herpes suíno tipo 1

ROOS, Talita Bandeira^{1*}; MORAES, Carina Martins²; VIDOR, Telmo³;
VENDRUSCOLO, Claire Tondo⁴; LEITE, Fábio Pereira Leivas⁵

INTRODUÇÃO

Vacinação tem sido uma prática comum para prevenir ou minimizar os sintomas de doenças causadas por agentes infecciosos. Vacinas têm sido desenvolvidas utilizando-se microrganismos atenuados ou inativados. Recentemente peptídeos sintéticos e proteínas recombinantes constituem a base da nova geração de vacinas. Entretanto, ainda há necessidade de associação destes antígenos a adjuvantes para potencializar seu efeito imunológico (LEAL, et al., 2002).

Apesar de um grande número de adjuvantes de diversas origens terem sido avaliados, grandes partes das vacinas comerciais continuam utilizando sais de alumínio. Em animais de produção são utilizados os adjuvantes a base de óleo, podendo causar lesões musculares ocasionando perdas econômicas. Embora várias substâncias tenham sido avaliadas para sua utilização em vacinas de uso veterinário (JANSEN et al., 2006) a produção de vacinas continua atrelada à utilização dos sais de alumínio ou de emulsões oleosas (LECLERC, 2003).

O reconhecimento de moléculas comuns em patógenos específicos é mediado primariamente pelos membros da família dos receptores Toll-like (TLR). O estímulo através desses receptores resulta em mudanças quantitativas e qualitativas na apresentação do antígeno e ativação celular, com isso relacionando a imunidade adaptativa com a imunidade inata (DOHERTY & ARDITI, 2005). Conseqüentemente, a incorporação dos adjuvantes que se ligue a receptores TLR poderá resultar em vacinas mais eficazes.

O polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas* sp., é uma nova alternativa para utilização como adjuvante vacinal. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação adjuvante da Xantana na resposta humoral de camundongos a uma vacina de Herpes Suíno tipo 1 (SuHV-1).

MATERIAIS E MÉTODOS

Cinquenta fêmeas, de 21 dias de idade, foram divididos aleatoriamente em cinco grupos de 10 animais cada (Tabela 1).

As vacinas foram preparadas utilizando como antígeno SuHV-1 inativado na concentração de 1×10^6 mL⁻¹, adicionando-se Xantana, Hidróxido de Alumínio (Al(OH)₃), Óleo (Marcol 52 - Esso Standart Oil Co.) ou adjuvante completo de

¹ M.C., Doutoranda em Veterinária/UFPel

² M.C. Doutoranda em Biotecnologia/UFPel

³ Dr. Professor Adjunto, Faculdade de Veterinária/UFPel

⁴ Dr. Professor Adjunto, Centro de Biotecnologia/UFPel

⁵ Dr. Professor Adjunto, Departamento de Microbiologia/UFPel

Freud. No dia zero do experimento os animais foram vacinados com 0,25 mL da respectiva vacina, sendo revacinados no dia 28.

Os adjuvantes foram adicionados ao antígeno para preparo das vacinas como demonstra a tabela 2.

Tabela 1: Divisão dos grupos utilizados no experimento, com o respectivo adjuvante e via de administração utilizados.

Grupo	Adjuvante	Via de aplicação
A	Al(OH) ₃	Sub-cutânea (SC)
B	Xantana	Sub-cutânea (SC)
C	Xantana	Intra-muscular (IM)
D	Óleo	Intra-muscular (IM)
E	Freud	Intra-muscular (IM)

Tabela 2: Preparo da vacina, demonstrando as quantidades e concentrações dos adjuvantes utilizados.

Grupo	Adjuvante	Concentração do adjuvante
A	Al(OH) ₃ a 4%	15%
B	Xantana	5mg/mL
C	Xantana	5mg/mL
D	Óleo	50%
E	Freud	50%

Os títulos de anticorpos foram determinados por ELISA, utilizando como antígeno a respectiva cepa vacinal. Coletou-se sangue do seio venoso retro-orbital nos dias 0, 14, 28, 42 e 56 do experimento. Os títulos individuais e a média dos grupos foram transformados em soroconversões, dividindo a absorbância respectiva pela da amostra do mesmo animal no dia 0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cinco grupos apresentaram o efeito da vacinação e revacinação, como demonstra a Figura 1 e 2. O adjuvante a base de Xantana apresentou a maior soroconversão dentre os adjuvantes testados. Este efeito foi mais pronunciado quando a via SC foi utilizada.

Quando comparado o efeito adjuvante na resposta humoral contra SuHV-1 a vacina com xantana foi significativamente superior ($p < 0.05$) ao Al(OH)₃. Esta diferença foi observada já a partir da segunda coleta (7 dias após a vacinação). Demonstrando a potencialidade deste polissacarídeo como adjuvante e sugerindo a possível substituição de adjuvantes a base de sais de alumínio.

Nos animais vacinados por via IM, o polissacarídeo apresentou uma resposta humoral semelhante aos demais adjuvantes. Entretanto, a reação local foi

menor do que os outros dois adjuvantes (dados não apresentados), tanto na primeira vacinação como no reforço. Observamos o mesmo efeito da soroconversão após sete dias da aplicação da vacina como na via SC sendo superior aos dois adjuvantes. Este fato é relevante, principalmente tratando-se de antígeno inativado, pois houve uma diminuição no período necessário para imunoproteção. Na revacinação, levou a uma soroconversão superior ao adjuvante Freud e similar ao Óleo. Os adjuvantes oleosos possuem uma propriedade importante que é a indução prolongada da resposta imune (COX & COULTER, 1997). Neste experimento com Xantana este fato não pode ser observado, pois a duração do experimento foi de dois meses. Estes dados mostram que a Xantana pode ser utilizada por via IM o que é de importância, pois dependendo do antígeno esta é a via de eleição (LEVY et al., 1994).

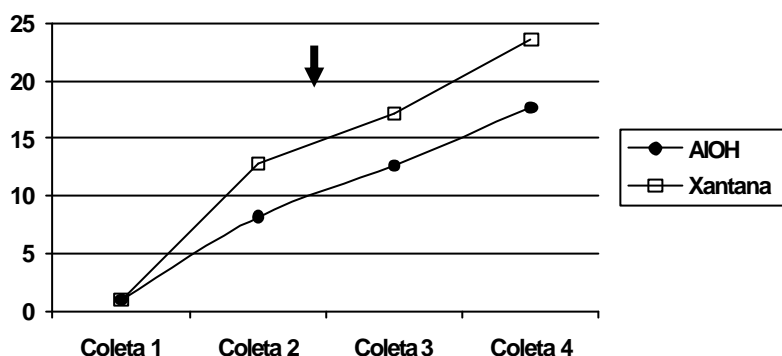


Figura 1: Soroconversão vacinal por via SC. Médias (+/- EPM) das soroconversões avaliadas por ELISA (a seta indica a revacinação, * $p < 0,05$).

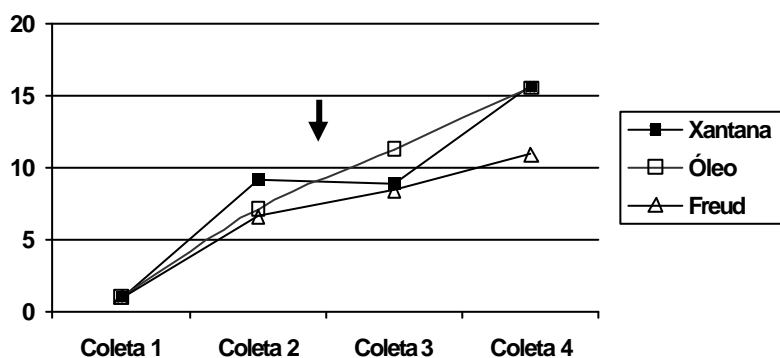


Figura 2: Soroconversão vacinal por via IM. Médias (+/- EPM) das soroconversões avaliadas por ELISA (a seta indica a revacinação, * $p < 0,05$).

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, conclui-se que o polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas* sp. possui ação adjuvante superior ou igual aos adjuvantes utilizados em vacinas comerciais. A mesma apresentou-se inócua aos animais imunizados. Sugerindo que a Xantana possui um grande potencial para ser incorporada como adjuvante em vacinas para animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COX, J.C., COULTER, A.R. Adjuvants – a classification and review of their modes of action. **Vaccine**, v.15, p. 246-256, 1997.

DOHERTY, T. M. & ARDITI, M. Innate Immunity, Toll-Like Receptors and Host Response to Infection. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 24, p. 643–644, 2005.

JANSEN, T.; HOFMANS, M.P.M.; THEELEN, M.J.G.; MANDERS, F.; SCHIJNS, V.E.J.C. Structure and oil type-based efficacy of emulsion adjuvants. **Vaccine**, v.24, p.5400-5405, 2006.

LEAL, A. T.; SANTURIO, J. M.; LEAL, A. B. M.; PINTO, A. M.; GRIEBELER, J.; FLORES, E.F.; FERREIRO, L.; CATTOET, J.B. Resposta sorológica de coelhos imunizados com antígenos de *pythium insidiosum* associados a diferentes adjuvantes. **Ciência Rural**, v. 32, nº6, p. 1027-1032, 2002.

LECLERC, C. New approaches in vaccine development. Comparative Immunology, **Microbiology & Infectious Diseases**, v.26, p.329-341, 2003.

LEVY, J. A.; FRAENKEL-CONRAT, H.; OWENS, R. A. 1994. Virology, 3 edição, Editora Prentice Hall, New York.447 p.