

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico
Curso de Biotecnologia



Trabalho de Conclusão de Curso

**Estratégias vacinais contra linfadenite caseosa utilizando fatores de
virulência de *Corynebacterium pseudotuberculosis***

Nicole Ramos Scholl

Pelotas, 2021

Resumo

SCHOLL, Nicole Ramos. **Estratégias vacinais contra linfadenite caseosa utilizando fatores de virulência de *Corynebacterium pseudotuberculosis***. 2021. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biotecnologia) – Curso de Graduação Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2021.

A linfadenite caseosa (LC) é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Os tratamentos existentes são ineficazes, por isso a melhor maneira de controlar a LC é através da profilaxia. Vacinas de subunidade são estudadas como estratégia pela sua segurança, neste contexto, os fatores de virulência aparentam ser bons alvos devido aos seus papéis na patogênese de *C. pseudotuberculosis*. O presente trabalho teve como objetivo avaliar dois fatores de virulência (FA e FB) de *C. pseudotuberculosis* em formulações vacinais contra LC. Para tal, as proteínas FA e FB foram expressas em *E. coli*, purificadas e caracterizadas por *Western blot*. Foram utilizados 40 camundongos Balb/c alocados em 4 grupos, que foram inoculados com as seguintes formulações vacinais, G1 com solução salina 0,9% e G2, G3 e G4 com FA, FB e FA+FB, respectivamente, adjuvados com $Al(OH)_3$. Os animais receberam 2 doses vacinais intercaladas por 21 dias por via subcutânea. Amostras de sangue foram coletadas para o ELISA indireto. No dia 42 do experimento, os animais foram desafiados com 2×10^4 da cepa virulenta MIC-6 de *C. pseudotuberculosis*. A maior proteção obtida foi de 50% (G2), porém diferenças significativas entre os grupos experimentais não foram observadas. O grupo 2 gerou os índices mais significativos de IgG total ($p < 0,05$) e maiores níveis de IgG2a, apontando uma resposta Th1, e G3 indicou para uma resposta Th2. De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que FA e FB apresentam resultados promissores, no entanto associações com outras proteínas de *C. pseudotuberculosis* ou uso de outros adjuvantes que possam aumentar os níveis de proteção obtidos devem ser estudados.

Palavras-chave: Vacina de subunidade; Antígenos associados; Hidróxido de alumínio; Anticorpos.

Abstract

SCHOLL, Nicole Ramos. **Vaccination strategies against caseous lymphadenitis using factors of virulence of *Corynebacterium pseudotuberculosis***. 2021. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biotecnologia) – Curso de Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

Caseous lymphadenitis (CLA) is an infectious disease, caused by the bacteria *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Existing treatments are ineffective and therefore, the best strategy for controlling CLA is prophylaxis. Subunit vaccines are being studied as a strategy because of their safety and, in this context, the virulence factors seem to be good targets due to their role in *C. pseudotuberculosis* pathogenesis. This work aimed to evaluate two virulence factors (FA and FB) in vaccine formulations against CL. For such, FA and FB were expressed in *E. coli*, purified, and characterized by Western blot. 40 Balb/c mice were used, divided into 4 groups, which were inoculated with the following vaccine formulations, G1 with 0.9% saline solution and G2, G3 and G4 with FA, FB e FA+FB, respectively, with Al-adjuvant (OH)₃. Animals received 2 vaccine doses applied subcutaneously in a 21-days interval. Blood samples were collected for indirect ELISA. On day 42 of the experiment, animals were challenged with 2×10^4 virulent *C. pseudotuberculosis* MIC-6 strain. The highest protection obtained was 50% (G2), however, no significant difference was observed between experimental groups. The group 2 also presented the most significant rates of total IgG ($p < 0.05$) and the highest levels of IgG2a, thus, eliciting a Th1 response while a Th2 response was generated by G3. Our data lead to the conclusion that the FA and FB presented promising results, however, their combinations with other proteins of *C. pseudotuberculosis* or the use of other adjuvants that may increase the levels of protection obtained should be studied.

Keywords: Subunit vaccine; Combined antigens; Aluminium hydroxide; Antibodies.