

IgY: UM ANTICORPO PROMISSOR PARA IMUNOPROTEÇÃO CONTRA LEPTOSPIROSE

VASCONCELLOS, Flávia ¹; GALEANO, Valéria R.; FEBRY, Samuel ²; RODRIGUES, Juliana Alcoforado ¹; SILVA, Everton ¹; FÁBREGA, Gabriel ¹

¹Universidade Federal de Pelotas - Núcleo de Biologia e ²Universidade Federal de Pelotas – Faculdade de Veterinária e efsilva@ufpel.edu.br

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma importante zoonose que ocorre em todo o mundo, sendo causada por um dos mais difundidos do gênero *Leptospira* (LEVETT, 2001). No Brasil e no restante da América Latina a doença tem se expandido rapidamente para determinar a causa de epidemias, as quais são associadas ao período de enchimento das chuvas (KOEHLER et al., 2009). As medidas terapêuticas atuais não têm tido o impacto esperado, portanto, novas abordagens para o diagnóstico da leptospirose precisam ser urgentemente desenvolvidas.

Neste contexto, bactérias patogênicas *Leptospira* foram utilizadas pelo grupo de VASCONCELLOS (2010), o qual produziu e caracterizou anticorpos policlonais IgY anti-*Leptospira*. Esse anticorpo foi utilizado no desenvolvimento de diferentes formatos de diagnóstico por ELISA. Os anticorpos de galinha IgY possuem vantagens em relação aos anticorpos de mamíferos, sendo de fácil obtenção, e os quais são capazes de reconhecer e eliminar a semente reprodutiva dos parasitas, tornando o uso de animais de experimentação no desenvolvimento de vacinas (SILVA et al., 2005).

Sendo assim, objetivamos nesse trabalho testar o potencial de imunoproteção por anticorpos policlonais IgY anti-*Leptospira* em hamsters, um modelo biológico suscetível à leptospirose.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Neste trabalho, foram utilizados anticorpos IgY anti-*Leptospira interrogans*, cepa FIOCRUZ L1-130 produzidos e caracterizados por VASCONCELLOS (2010) no laboratório de Imunologia aplicada do Desenvolvimento do Núcleo de Biologia em Pelotas.

Para o experimento de imunização os quatro grupos, contendo três fêmeas hamsters, foram utilizados conforme a Tab.1. Ao final do processo de purificação da IgY, se a quantidade de 1,5 mg/mL. A dose foi ajustada para cada grupo de hamsters, conforme a Tab. 1, e a imunização intraperitoneal, foi realizada no dia 1.

Tabela 1 – Delineamento experimental.

Grupos	Preparação e Dose
1	PBS
2	100 µg IgY
3	200 µg IgY
4	300 µg IgY

Após a imunização com IgY, o teste de desafio por via intraperitoneal com a cepa Fiocruz L1-130 virulenta, contendo 10^2 leptospiros/mL, conforme o protocolo de SILVA (2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o desafio, os animais foram monitorados durante o período de observação. Os três óbitos do Grupo 1 ocorreram entre os dias 14 e 15 após o desafio. No Grupo 2, dois animais morreram no 14º dia e no Grupo 4, o qual foi imunizado com 300 µg de IgY todos os animais sobreviveram após o desafio com a cepa Fiocruz L1-130, conforme a Tab.2. O experimento teve a duração de 23 dias e os animais sobreviventes foram eutanasiados.

Tabela 2 – Sumário dos resultados de sobrevivência após o desafio.

Grupos	Preparação e Dose	Dias para a sobrevivência	Sobrevivência
1	PBS	14, 14, 15	0%
2	100 µg IgY	14, 14, 14	0%
3	200 µg IgY	14, 14	33%
4	300 µg IgY	-	100%

Existem inúmeras vantagens para o uso de anticorpos policlonais IgY em reações imunológicas. A principal vantagem é a facilidade de obtenção dos anticorpos produzidos, a redução do custo da sua produção, uma vez que as galinhas produzem maior quantidade de anticorpos do que outros animais, a eliminação de punções sanguíneas nos animais ao final do experimento, o menor custo de manutenção das aves e o fato de os ovos poderem ser usados como uma fonte de anticorpos, justificam pesquisas com IgY ao invés de anticorpos produzidos em células, preservando o bem-estar dos animais (SILVA e TAMBOURGI, 2010).

O desenvolvimento de vacinas para a prevenção da leptospirose é necessário. Algumas estratégias tem sido desenvolvidas nos últimos anos, através do uso de vacinas recombinantes e para as cepas existentes (SILVA et al., 2007). Os resultados obtidos neste estudo, demonstram o potencial de imunoproteção conferido nos hamsters. Porém, novos estudos devem ser realizados com o uso de outras cepas isoladas da região.

4 CONCLUSÃO

A dose de 300 µg de IgY anti-*Leptospira interrogans* protege hamsters da leptospirose letal. Os resultados obtidos neste trabalho são inéditos e promissores. Novos experimentos com esse formato devem ser realizados.

5 REFERÊNCIAS

KO, A.I, GOARANT, C., PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p.736-749, 2009.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**. v.14, n. 2, p. 296-326, 2001.

SCHADE R., CALZADO E. G., SARMIENTO R., CHACANA P. A., PORANKIEWICZ-ASPLUND J., TERZOLO H.R. Chicken egg yolk antibodies in research and human and veterinary medicine. **Altern Lab Anim**, v. 33, p. 129–54, 2005.

SCHOONE G. J., EVERARD C. O. R., KORVER H., CARRINGTON D. G., INNISS, V. A., BAULU J, TERPSTRAI, W. J. An Immunoprotective Monoclonal Antibody Directed against *Leptospira interrogans* Serovar copenhageni **Journal of General Microbiology**, v.135, p. 73-78, 1989.

SILVA, W. D., TAMBOURGI, D.V. IgY: A promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.135, p.173–180, 2010.

VASCONCELLOS, F. A.; COUTINHO, M. L.; SILVA, E. F.; FERNANDES, C. P.; MONTE, L. G.; SEYFFERT, N.; DELLAGOSTIN, O. A.; ALEIXO, J. A. Testing different antigen capture ELISA formats for detection of *Leptospira* spp. in human blood serum. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 4, p. 259-264, 2010.