

BI - Avaliação da proteína recombinante rOmpA de *Acinetobacter baumannii* como alvo para imunoterapia

Anna Erika Vieira de Araújo^{1*}; Luis Vidal Conde¹; José Procópio Moreno Senna¹

1 - Bio-Manguinhos/FIOCRUZ

Introdução:

Acinetobacter baumannii é um importante patógeno oportunista no mundo inteiro, com alta incidência em unidades de tratamento intensivo, acometendo principalmente pacientes imunossuprimidos. Recentemente foi relatado que, no Brasil, de 15 a 20% dos isolados desta bactéria apresenta resistência aos antibióticos β -lactâmicos, incluindo os carbapenems, o que dificulta o tratamento e abre espaço para a busca de terapias alternativas como as imunoterapias. Em trabalhos anteriores, foi identificada uma proteína com potencial imunogênico denominada OmpA e através da tecnologia do DNA recombinante foi possível obter esta proteína para avaliação de seu potencial imunogênico.

Objetivo:

Avaliar a imunogenicidade da proteína recombinante rOmpA de *Acinetobacter baumannii* em modelo murino.

Metodologia:

A proteína recombinante foi obtida por clonagem em vetor pET28a (Novagen®) e expressa por *Escherichia coli* BL21. A purificação foi realizada a por cromatografia de afinidade em coluna de níquel. A partir desse passo, foram feitas imunizações em camundongos c57bl06 (n=5) com 25 μ g de rOmpA em Al(OH)₃ como adjuvante, seguindo o protocolo de duas doses imunizantes (*priming* e *booster*) com intervalos de 15 dias entre cada dose, tendo sido realizadas coletas de sangue via plexo retro orbital antes e depois das imunizações. Para avaliação da resposta imune, os soros obtidos pelas coletas foram analisados por ensaios imunoenzimáticos como ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) e *Western blot*. Para o ELISA as placas foram sensibilizadas com 5 μ g/mL de rOmpA e, como anticorpo primário, foram utilizados os soros nas diluições de 1:800 e 1:1600, como anticorpo secundário foi usado um anticorpo anti-IgG murina conjugado com HRP (horseradish peroxidase) sendo a revelação feita com o rea-

gente TMB (3,3', 5,5'- tetrametilbenzidina). No *Western blot*, a proteína rOmpA e proteínas de lisado de *A. baumannii* foram transferidas para membranas de nitrocelulose, os soros foram utilizados na diluição de 1:400 e foi usado um anticorpo secundário anti-IgG murina conjugado com fosfatase alcalina, sendo a revelação feita com um substrato para fosfatase alcalina.

Resultados:

A rOmpA se apresenta com peso molecular aproximado de 45 kDa. Os ensaios de ELISA demonstraram que a imunização foi capaz de produzir títulos satisfatórios de anticorpos contra a rOmpA, quando analisados nas diluições de 1:800 e 1:1600. No *Western blot* foi possível visualizar a banda referente à rOmpA, mostrando que os anticorpos obtidos com a imunização foram capazes de reconhecer tanto a proteína imunizante, como a proteína OmpA no lisado bacteriano, sugerindo que esses anticorpos são capazes de se ligar à proteína de interesse na própria bactéria.

Conclusão:

Este estudo mostrou que é possível obter a proteína recombinante rOmpA de *A. baumannii* e que as imunizações são capazes de produzir anticorpos contra a proteína imunizante que reconhecem a proteína OmpA em lisado bacteriano, demonstrando que a proteína rOmpA é imunogênica, com potencial importante para ser utilizada como alvo imunoterápico.

Palavras-Chave: *Acinetobacter baumannii*, proteína recombinante rOmpA, imunoterapias