

## **B18 - AVALIAÇÃO DE UMA FRAÇÃO PROTEICA DE 38 A 40 KDA ISOLADA DE *Acinetobacter baumannii*, COMO ALVO PARA IMUNOTERAPIA**

Lucas de Almeida Machado<sup>1</sup>, Renata Fajardo Bonin<sup>1</sup>, Anna Érika Vieira de Araujo<sup>1</sup>, José Procópio Moreno Senna<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Vice-diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, Laboratório de Tecnologia Recombinante, Programa de Biofármacos, Rio de Janeiro, Brasil

**INTRODUÇÃO:** *Acinetobacter baumannii* é um importante patógeno oportunista no mundo, com alta incidência em unidades de tratamento intensivo, acometendo principalmente pacientes imunossuprimidos. Este patógeno vem apresentando resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, incluindo os carbapenens, perfil que se mostra presente em 15 a 25% dos isolados no Brasil, o que dificulta a terapêutica, abrindo espaço para alternativas como a imunoterapia.

**OBJETIVOS:** Em trabalho anterior realizado por nosso grupo, foi identificada uma proteína com massa de 38 a 40 kDa com potencial imunogênico, presente em processos infecciosos causados por este patógeno. Neste trabalho, realizamos ensaios de imunização em modelo murino com a utilização da fração proteica de 38 a 40 kDa de *A. baumannii*, avaliando a proteção gerada pela imunização, os anticorpos gerados e sua capacidade de neutralizar o crescimento bacteriano *in vitro*.

**METODOLOGIA:** Para a obtenção das proteínas, foram preparadas culturas de *A. baumannii* em caldo de Luria-Bertani suplementado com ampicilina. Estas foram centrifugadas e os *pellets* submetidos à eletroforese desnaturante em gel de poliacrilamida. Após a eletroforese, a banda de interesse (38-40kDa) foi recortada e submetida à eletroeluição. As proteínas foram precipitadas pela adição de acetona e quantificadas pelo método de Lowry. Para os ensaios em modelo animal, foram utilizados dois grupos de camundongos balb/C. Um grupo foi imunizado com a fração proteica e hidróxido de alumínio como adjuvante (*priming*) e o grupo controle recebeu apenas o adjuvante; após o *priming* foi realizado o reforço (*booster*) 12 dias após a primeira imunização. O sangue dos animais foi coletado no dia anterior ao *priming*, 11 dias após o *priming* e 10 dias após o *booster*. A avaliação da presença de anticorpos foi feita por

imunoensaio enzimático utilizando a fração proteica ou a bactéria íntegra como antígeno. A fim de avaliar a capacidade de neutralização *in vitro*, um *pool* de soro hiperimune murino foi incubado junto a um inóculo de *A. baumannii*, sendo realizada a quantificação bacteriana ao longo do tempo. Os camundongos receberam após a etapa de imunização, um inóculo de *A. baumannii* suplementado com mucina, e foi realizada uma curva de sobrevivência.

**RESULTADOS:** Foi observada uma significativa geração de anticorpos, que foram capazes de reconhecer tanto a fração proteica isolada quanto na superfície da bactéria íntegra. Os anticorpos foram também capazes de reduzir a quantidade de bactérias no ensaio de neutralização *in vitro*. Os testes de proteção demonstram tendência à sobrevivência no grupo imunizado, mas ainda não foram conclusivos.

**CONCLUSÃO:** Os resultados obtidos mostraram que a fração proteica de 38 a 40 kDa é imunogênica e capaz de gerar anticorpos neutralizantes; indicando que esta proteína é um alvo promissor para a imunoterapia. Serão testados camundongos C57/B16 como modelo, já que segundo dados recentes na literatura, esta linhagem parece se adequar melhor.