

EXPRESSÃO DE FLAGELINA DE *Clostridium chauvoei* EM *Escherichia coli* PARA PRODUÇÃO DE BACTERINA PARA USO VETERINÁRIO

IAGO LIMA FERREIRA¹; WELINGTON MATEUS PINTO DE MORAES²; MARCELO ROSADO FURTADO³; FLÁVIA ROCHA MEDEIROS⁴; FABRICIO ROCHEDO CONCEIÇÃO⁵ e ANGELA NUNES MOREIRA⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – iagolf2007@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – welingtonmateuspdemoraes@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – marcelorosado2011@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – rochamedeirosflavia@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – fabricao.rochedo@ufpel.edu.br

⁶ Universidade Federal de Pelotas – angelanmoreira@yahoo.com.br

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

Clostridium chauvoei é o agente causador de mionecroses de importante impacto econômico para pecuária mundial, como o carbúnculo sintomático, que causam alta mortalidade em ruminantes (LOBATO *et al.*, 2013). Essa bactéria é um bacilo Gram-positivo, anaeróbico, formador de esporos, ubíquo e de difícil erradicação, sendo a vacinação a estratégia de controle mais eficaz (LOBATO *et al.*, 2013). Atualmente, os imunizantes disponíveis no mercado são polivalentes e compostos por bacterinas-toxoides inativados. Embora sejam amplamente utilizadas, esse tipo de vacina apresenta desvantagens operacionais pois exige o cultivo do patógeno, etapas de inativação e detoxificação, tornando um processo com riscos de biossegurança, além da ausência de uniformidade na produção dos lotes que resulta na resposta imune individual do gado variável, o que permite a ocorrência de surtos mesmo em animais imunizados (GREGORY *et al.*, 2006; ROSSI *et al.*, 2018; SPINELLI, 2024). Essas limitações da tecnologia atual evidenciam a necessidade de um produto que utiliza processos mais modernos, seguros e econômicos que resultam em uma vacina mais eficiente.

Para solucionar esta demanda, a presente inovação propõe o desenvolvimento de uma bacterina recombinante que tem como antígeno-alvo a flagelina de *C. chauvoei*. Esse antígeno é a proteína estrutural do flagelo, uma estrutura locomotora de bactérias. Ela é imunogênica e capaz de ativar a imunidade inata e adaptativa via receptor tipo Toll 5, também conhecido como TLR5 (KOJIMA *et al.*, 2000; KUI *et al.*, 2018). Por meio da tecnologia do DNA recombinante, o trabalho descreve a clonagem do gene desse antígeno no vetor pET28a e sua expressão em *Escherichia coli*. A estratégia inova ao utilizar uma *E. coli* inativada que expressa a flagelina de *C. chauvoei*, como uma plataforma vacinal. Assim utilizando um microrganismo não patogênico e de fácil cultivo como uma forma de entrega vacinal eficiente (TANG; ZHAO; ZHU, 2024).

Essa alternativa biotecnológica oferece diferenciais competitivos frente a tecnologia convencional. Promove uma maior biossegurança e custos reduzidos ao eliminar a necessidade do cultivo do patógeno, além de dispensar a necessidade de inativação e detoxificação das toxinas de *C. chauvoei*, como por exemplo a CctA (FREY *et al.*, 2012). Ademais, a tecnologia garante padronização e eficácia por permitir a quantificação do antígeno alvo por lote vacinal, solucionando o problema da variação da resposta imune individual dos animais (FERREIRA *et al.*, 2019; NICHOLSON *et al.*, 2019; ROSSI *et al.*, 2025). Por fim, a utilização de *E. coli*, uma bactéria de crescimento rápido e barato, simplifica significativamente a cadeia de

produção, viabilizando a escalabilidade industrial e tornando o produto economicamente viável para o mercado veterinário.

2. ANÁLISE DE MERCADO

Existe uma demanda crescente para a inovação de vacinas no mercado veterinário. Uma vacina mais eficiente para o *C. chauvoei* geraria mais lucro para produtores rurais de médio a grande porte, que praticam bovinocultura e ovinocultura. A inovação oferece uma prática mais segura e padronizada para o carbúnculo sintomático, que diminuiria a mortalidade, assim aumentando a produtividade e lucro dos rebanhos.

O mercado é competitivo e consolidado por empresas veterinárias e farmacêuticas como Biovet/Vaxxinova (Resguard Multi), Zoetis (com as linhas Fortress® e UltraChoice®), Virbac (Clostrisan® 11), Ourofino (Ourovac 10 TH e Ourovac Poli BT), MSD Saúde Animal (Bovilis® Poli-Star® T) e Ceva Saúde Animal (Multivac® 9 e Biovina S®). Mas, diferente da inovação desse trabalho, as empresas utilizam tecnologias convencionais. Elas usam uma bacterina feita a partir cultivo do patógeno inativado. Entretanto, mesmo que elas sejam eficazes, existem riscos de biossegurança ao trabalhar com o patógeno, processos laboriosos e caros de inativação e detoxificação do antígeno e diferenças significantes da resposta imune individual dos animais, devido a variação na produção dos antígenos em cada lote vacinal (ZARAGOZA *et al.*, 2019).

De acordo com a *Fortune Business Insight* (2026), o Mercado Total Endereçável (TAM) corresponde ao mercado global de vacinas veterinárias, que deve expandir de USD 13,05 bilhões até o final de 2026 para USD 21,86 bilhões em 2034, gerando uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 6,66%. Este valor está maior que a expectativa do ano anterior de 5,8%. O Mercado Endereçável Acessível (SAM), que representa especificamente vacinas contra clostridioses, foi estimado entre USD 800 milhões e 847,1 milhões entre os anos de 2024 e 2025, respectivamente, segundo o Market Research Future. E no mercado brasileiro a relevância do mercado de saúde animal atingiu R\$12,8 bilhões em 2025, o que reforça a relevância nacional desse tipo de produto.

Dessa forma, a substituição da tecnologia convencional para uma bacterina recombinante é uma estratégia viável e possui vantagens, como a biossegurança incrementada na criação do produto, já que uma vacina recombinante desfaz a necessidade do cultivo direto do patógeno. Além disso, facilita o processo de produção e padronização do produto, por conta da quantificação mais eficiente do antígeno na composição da vacina.

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

O projeto encontra-se atualmente na fase de Prova de Conceito (PoC), assim enquadrando-se entre os níveis 1 e 3 da escala de Maturidade Tecnológica (TLR). Os ensaios iniciais da expressão da proteína recombinante foram conduzidos apenas na linhagem de *E. coli* BL21 (DE3) Star. No momento, é necessário otimizar os protocolos de expressão. E realizar a triagem de novas cepas hospedeiras para maximizar o rendimento do antígeno. Caso a flagelina (fliC) falhe em alcançar os parâmetros exigidos, a plataforma biotecnológica estabelecida permite a mudança facilitada para outros antígenos promissores de *C. chauvoei*.

Confirmada a viabilidade do alvo, o desenvolvimento avançará para a validação da molécula *in vivo*. Essa etapa avaliará a eficácia imunogênica, através da produção de anticorpos anti-fliC quantificados via ELISA, em modelo murino nas instalações do biotério da UFPel, seguindo as diretrizes éticas do CONCEA (Lei nº 11.794/2008).

Atingindo resultados promissores, a estratégia de implementação baseia-se na transferência de tecnologia. O projeto já conta com um modelo de negócios B2B estruturado e formalizado através de um Acordo de Parceria para Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) com a Biovet/Vaxxinova (Processo UFPel nº 23110.033038/2020-79). Sob este acordo, a tecnologia será transferida para que a empresa parceira, que possui experiência na formulação e comercialização de vacinas contra clostridioses, assume o escalonamento industrial e os testes veterinários. A contrapartida financeira para a Universidade se dará por meio do licenciamento e pagamento de *royalties* sobre a comercialização, fechando o ciclo de introdução de uma tecnologia acadêmica de impacto no mercado.

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

Com a validação da tecnologia, a introdução desta bacterina recombinante no mercado entregará valor estratégico, através de uma produção mais barata em comparação às vacinas convencionais. A imunização de ruminantes com essa bacteriana asseguraria uma queda na mortalidade e nos casos subclínicos do carbúnculo sintomático. Assim garantindo segurança financeira e aumento da rentabilidade dos produtores rurais, fortalecendo o ciclo de produção do agronegócio. Em paralelo, a inovação gera um relevante impacto social ao promover a segurança alimentar e a saúde pública, protegendo rebanhos destinados ao consumo humano. No âmbito ambiental, o projeto estimula práticas de pecuária mais sustentáveis. Ao utilizar o sistema recombinante em *E. coli*, a tecnologia inova ao eliminar a necessidade de cultivo em larga escala do patógeno original.

Para o avanço da tecnologia, a estratégia de pesquisa e desenvolvimento (P&D) concentra-se atualmente na conclusão dos ensaios laboratoriais *in vitro*. Caso o antígeno alvo não atinja os índices de imunogenicidade desejados, a plataforma biotecnológica já estabelecida, permite a triagem de novos antígenos estratégicos do *C. chauvoei* de forma facilitada, garantindo a continuidade do desenvolvimento até a formulação do produto.

5. CONCLUSÕES

A vacina recombinante contra a flagelina de *C. chauvoei* emerge como uma alternativa profilática, oferecendo uma solução biotecnológica capaz de superar os desafios das formulações convencionais, que necessitam do cultivo direto do patógeno, ao otimizar a biossegurança, reduzir custos de produção e garantir uma padronização dos lotes. A continuidade desta pesquisa é uma etapa para consolidar a viabilidade tecnológica e os impactos projetados por esse trabalho.

Para o avanço e validação da eficácia da molécula como um alvo vacinal definitivo, as etapas imediatas concentram-se na revisão das cepas hospedeiras de *E. coli* e no ajuste dos protocolos de expressão. Superada essa fase de otimização laboratorial, o projeto entregará um produto profilático inovador, seguro e escalável para a pecuária. Acima de tudo, o estabelecimento prévio de uma parceria industrial garante um caminho de implementação, assegurando que o conhecimento e a

tecnologia gerados no ecossistema da UFPel sejam efetivamente transferidos para o mercado e transformados em inovação acessível ao produtor.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEZERRA SPINELLI, Eron. Carbúnculo sintomático em bovinos: Uma revisão. **Revista VIDA: Exatas e Ciências da Terra (VIECIT)**, v. 2, n. 1, p. 62–74, 2024.

FERREIRA, M. R. A. *et al.* Inactivated recombinant *Escherichia coli* as a candidate vaccine against *Clostridium perfringens* alpha toxin in sheep. **Anaerobe**, v. 59, p. 163–166, 2019.

FORTUNE BUSINESS INSIGHT. **Veterinary Vaccines Market Size, Share & Industry Analysis**, By Product [...], and Regional Forecast, 2026-2034. [S. l.], [2026?]. Disponível em: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/veterinary-animal-vaccines-market-101532>. Acesso em: 6 set. 2026.

FREY, J. *et al.* Cytotoxin CctA, a major virulence factor of *Clostridium chauvoei* conferring protective immunity against myonecrosis. **Vaccine**, v. 30, n. 37, p. 5500–5505, 2012.

GREGORY, L. dos *et al.* Carbúnculo Sintomático: Ocorrência, Evolução Clínica E Acompanhamento Da Recuperação De Bovino Acometido De “Manqueira”. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 243–246, 2006.

HUSSAIN, H. *et al.* Clostridial myonecrosis: A comprehensive review of toxin pathophysiology and management strategies. **Microorganisms**, v. 12, n. 7, p. 1464, 2024.

KOJIMA, A. *et al.* Characterization of flagellin from *Clostridium chauvoei*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 76, n. 4, p. 359 - 372, 2000.

KUI, L. *et al.* Flagellin as a vaccine adjuvant. **Expert Review of Vaccines**, Londres, v. 17, n. 4, p. 339 - 349, 2018.

LOBATO, F. C. *et al.* CLOSTRIDIOSES DOS ANIMAIS DE PRODUÇÃO. **Veterinaria e Zootecnia**, v. 20, p. 29–48, 2013.

MARKET RESEARCH FUTURE. **Global Veterinary Clostridium Vaccine Market Research Report** By Type [...], By End Use and By Regional - Forecast to 2035. [S. l.], [2026?]. Disponível em: <https://www.marketresearchfuture.com/reports/veterinary-clostridium-vaccine-market-7463>. Acesso em: 6 set. 2026.

NICHOLSON, P. *et al.* Production of neutralizing antibodies against the secreted *Clostridium chauvoei* toxin A (CctA) upon blackleg vaccination. **Anaerobe**, v. 56, p. 78–87, 2019.

ROSSI, A. *et al.* Temporal evolution of anti-Clostridium antibody responses in sheep after vaccination with polyvalent clostridial vaccines. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 202, p. 46–51, 2018.

ROSSI, A. *et al.* Humoral and cellular immune responses in cattle upon *Clostridium chauvoei* vaccination and challenge. **Frontiers in Immunology**, v. 16, p. 1584168, 2025.

Sidan. **Mercado de saúde animal cresce 7,9% em 2025, alcançando 12,8 bilhões**. Disponível em: <<https://sindan.org.br/noticias/mercado-de-saude-animal-cresce-79-em-2025-alcancando-128-bilhoes>>. Acesso em: 06 set. 2026.

TANG, Shubing; ZHAO, Chen; ZHU, Xianchao. Engineering *Escherichia coli*-derived nanoparticles for vaccine development. **Vaccines**, v. 12, n. 11, p. 1287, 2024

ZARAGOZA, N. E. *et al.* Vaccine production to protect animals against pathogenic Clostridia. **Toxins**, v. 11, n. 9, p. 525, 2019.